UNIVERSIDAD NACIONAL DE UCAYALI

FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

CARRERA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

"EFECTO DE LA TEMPERATURA DE SECADO Y EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LA HOJA DE ACHIOTE (*Bixa orellana L.*), PARA LA UTILIZACIÓN EN LA ELABORACIÓN DE FILTRANTE EN LA PROVINCIA DE CORONEL PORTILLO"

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

ZARINA ANDREA TUESTA GÓMEZ

PUCALLPA - PERÚ

2020

UNIVERSIDAD NACIONAL DE UCAYALI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL
CARRERA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

ANEXO 1

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN O TESIS

Los Miembros del Jurado que suscriben, reunidos para estudiar y escuchar la sustentación de tesis, presentada por **ZARINA ANDREA TUESTA GÓMEZ**, denominada: **"EFECTO DE LA TEMPERATURA DE SECADO Y EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LA HOJA DE ACHIOTE (*Bixa Orellana L.*), PARA LA UTILIZACIÓN EN LA ELABORACIÓN DE FILTRANTE EN LA PROVINCIA DE CORONEL PORTILLO"**, para cumplir con el requisito (académico o título profesional) de **TÍTULO PROFESIONAL**.

Teniendo en consideración los méritos del referido trabajo, así como los conocimientos demostrados por el sustentante lo declaramos: **APROBADO POR UNANIMIDAD** con el calificativo (*) **BUENO**.

En consecuencia, queda en condición de ser considerado Apto por el Consejo Universitario y recibir el: Título de **INGENIERO AGROINDUSTRIAL**, de conformidad con lo estipulado en el Art. 3 y 6 del reglamento para el otorgamiento de grado académico de bachiller y título profesional de la Universidad Nacional de Ucayali.

Pucallpa, 30 de enero del 2019.

Ing. Carlos Pandura Carbajal, Dr.
Presidente

Ing. Javier Amacifuen Vigo, Dr.
Miembro

Ing. Luis Alberto Díaz Sandoval, M.Sc.
Secretario

Ing. Edgardo García Saavedra, Dr.
Asesor

Ing. Carlos Ruíz Padilla, M.Sc.
Co - Asesor

(*) De acuerdo con el Art. 21 del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Nacional de Ucayali; éstas deberán ser calificadas con términos de Sobresaliente, aprobado por Unanimidad, aprobado por Mayoría y Desaprobado.

Esta tesis fue aprobada por el Jurado Evaluador de la Facultad de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Nacional de Ucayali, como requisito parcial para optar el Título Profesional de Ingeniero Agroindustrial.

Ing. Carlos Panduro Carbajal, Dr.

Presidente

Ing. Javier Amacifuen Vigo, Dr.

Miembro

Ing. Luis Alberto Díaz Sandoval, M.Sc.

Secretario

Ing. Edgardo García Saavedra, Dr.

Asesor

Ing. Carlos Ruíz Padilla, M.Sc.

Co–Asesor

Bach. Zarina Andrea Tuesta Gómez

Tesista

UNIVERSIDAD NACIONAL DE UCAYALI
VICERRECTORADO DE INESTIGACION
DIRECCION GENERAL DE PROPIEDAD INTELECTUAL

Constancia

N° 103

ORIGINALIDAD DE TRABAJO DE INVESTIGACION SISTEMA ANTIPLAGIO URKUND

La Dirección General de Producción Intelectual, hace constar por la presente, que el PROYECTO DE INVESTIGACION titulado:

"EFECTO DE LA TEMPERATURA DE SECADO Y EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LA HOJA DE ACHIOTE (Bixa Orellana L.) PARA LA UTILIZACIÓN EN LA ELABORACIÓN DE FILTRANTE EN LA PROVINCIA DE CORONEL PORTILLO"

Cuyo autor es:

Zarina Andrea, Tuesta Gómez

Asesor: **Dr. Edgardo, García Saavedra**

Escuela: **Ingeniería Agroindustrial**

Facultad: **Ciencias Agropecuarias**

Después de realizado el análisis correspondiente en el Sistema Antiplagio, dicho documento presenta un porcentaje de similitud de **03%.**

El tal que de acuerdo a los criterios de porcentaje establecidos en la DIRECTIVA DE USO

DEL SISTEMA ANTIPLAGIO (10%), en el artículo 9: "Criterios de porcentaje de similitud". Se declara, que dicho trabajo de investigación: SI Contiene un porcentaje aceptable de plagio, por lo que SI se aprueba su originalidad.

En señal de verificación se FIRMA Y SELLA la presente constancia.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE UCAYALI
DIRECCION GENERAL DE PROPIEDAD INTELECTUAL
Dirección General de Produccion Intelectual
MGRA. DINA PARI QUISPE
Direc. Gral Prod Intel

Firma:

Fecha: 13/03/2019

DUPLICADO
REF. SOLICITUD CON FECHA 13/09/2019

REPOSITORIO DE TESIS DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE UCAYALI
AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN DE TESIS

Yo, Zarina Andrea Tuesta Gómez

Autor de la TESIS titulada:

"Efecto de la temperatura de secado y evaluación de la capacidad antioxidante de la hoja de achiote (Bixa Orellana L.), para la utilización en la elaboración de filtrante en la provincia de Coronel Portillo"

Sustentada el año: 2019

Con la asesoría de: Dr. Edgardo García Saavedra

En la Facultad de: Ciencias Agropecuarias

Carrera Profesional de: Ingeniería Agroindustrial

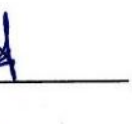
Autorizo la publicación de mi trabajo de investigación en el Repositorio Institucional de la Universidad Nacional de Ucayali, bajo los siguiente términos:
Primero: otorgo a la Universidad Nacional de Ucayali licencia no exclusiva para reproducir, distribuir, comunicar, transformar (únicamente mediante su traducción a otros idiomas) y poner a disposición del público en general mi tesis (incluido el resumen) a través del Repositorio Institucional de la UNU, en forma digital sin modificar su contenido, en el Perú y en el extranjero; por el tiempo y las veces que considere necesario y libre de remuneraciones.
Segundo: declaro que la tesis es una creación de mi autoría y exclusiva titularidad, por tanto me encuentro facultado a conceder la presente autorización, garantizando que la tesis no infringe derechos de autor de terceras personas.
Tercero: autorizo la publicación,

- [x] Total (significa que todo el contenido de la tesis en PDF será compartido en el repositorio).
- [ ] Parcial (significa que solo la carátula, la dedicatoria y el resumen en PDF serán compartidos en el repositorio).

De mi TESIS de investigación en la página web del Repositorio Institucional de la UNU.
En señal de conformidad firma la presente autorización.

Fecha: 17 / 12 / 20

Email: andreatg.02081994@gmail.con

Firma: 

Teléfono: 061 - 571087

DNI: 73571586

DEDICATORIA.

A mis padres Fidelia Gómez Gómez y Vladimiro Tuesta Tuesta, por el apoyo incondicional, por la educación y sobre todo por el amor; que me brindaron para conseguir mí más anhelado objetivo.

A mi hermano James Andre Tuesta Gómez, por estar siempre presente, acompañándome y por el apoyo moral, que me brindó a lo largo de esta etapa de mi vida.

AGRADECIMIENTO.

A Dios por bendecirme la vida, por guiarme a lo largo de mi existencia, por ser el apoyo y fortaleza en aquellos momentos de dificultad y de debilidad.

A la Universidad Nacional Agraria de la Selva por acogerme durante el tiempo que se desarrolló este proyecto de investigación.

A la Universidad Nacional de Ucayali, mi casa de estudios; por haberme acogido en toda mi formación académica.

A cada uno de los docentes de la Carrera de Ingeniería Agroindustrial, por brindarme sus enseñanzas para mi formación académica.

Al Dr. Edgardo García Saavedra, Ing. Caleb Leandro Laguna, Ing. Carlos Ruíz Padilla, por el apoyo y enseñanza para ejecutar este trabajo de investigación.

ÍNDICE.

RESUMEN……xiii
LISTA DE CUADROS……..xv
LISTA DE FIGURAS……xvi
I. INTRODUCCIÓN 1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....2
2.1. El achiote (*Bixa orellana* L.)……..2
2.1.1. Origen y distribución……2
2.2. Descripción botánica……...5
2.2.1. Hojas……5
2.2.2. Tallo……5
2.2.3. Flores……..5
2.2.4. Frutos y semillas……5
2.2.5. Usos tradicionales……5
2.2.6. Clasificación taxonómica……..6
2.2.7. Descripción morfológica……...8
2.3. Propiedades medicinales……9
2.4. Composición química……..9
2.4.1. Hojas.....9
2.4.2. Semillas……10
2.4.3. Propiedades antioxidantes……..……10
2.5. Radicales libres……..11
2.5.1. Oxidación y producción de radicales libres……11
2.6. Antioxidantes……..…13
2.7. Polifenoles……...15
2.8. Flavonoides……17
2.9. Filtrantes de hierbas aromáticas para infusión……...18
2.10. Material de empaque para filtrantes……20
2.10.1. Papel filtrante……20
2.11. Empaque final……21
2.12. Modelo in vitro DPPH para el estudio de la capacidad antioxidante……21
2.13. Proceso para la obtención de una infusión filtrante……22

2.13.1. Cosecha……22
2.13.2. Selección y limpieza……23
2.13.3. Lavado y desinfección……23
2.13.4. Secado……24
2.13.5. Molienda ……25
2.13.6. Tamizado ……25
2.13.7. Empaque de plantas medicinales. ……25
2.14. Características de una infusión filtrante……27
2.14.1. Características externas. ……27
2.14.2. Características de composición ……28
2.14.3. Características organolépticas.……28
2.14.4. Características físico químicas. ……28
2.14.5. Características microbiológicas. ……28
2.14.6. Empaque ……28
2.14.7. Sobre empaque ……29
2.14.8. Rotulado ……29
2.14.9. Vida útil……29
III. MATERIALES Y MÉTODOS……30
3.1. Lugar de ejecución……30
3.2. Materiales y equipos ……31
3.2.1. Materia prima……31
3.2.2. Materiales para colectar la muestra ……31
3.2.3. Materiales de laboratorio……31
3.2.4. Indumentaria……32
3.2.5. Insumos. ……32
3.2.6. Equipos.……32
3.2.7. Reactivos y soluciones. ……32
3.3. Métodos……32
3.3.1. Análisis a las hojas de achiote……32
3.4. Elaboración de filtrante de las hojas de achiote……37
3.5. Descripción del proceso. ……38
3.5.1. Recepción de materia prima……38
3.5.2. Pesado……38
3.5.3. Selección y clasificación. ……38

3.5.4. Lavado y desinfección……38
3.5.5. Oreado……38
3.5.6. Pesado……38
3.5.7. Secado……39
3.5.8. Molienda……39
3.5.9. Tamizado……40
3.5.10.Envasado……40
3.5.11.Etiquetado……40
3.5.12.Almacenado……41
3.6. Evaluación de la actividad antioxidante de la infusión filtrante de la hoja de achiote……41
3.7. Análisis organoléptico de la infusión filtrante de la hoja de achiote.. .41
3.8. Diseño estadístico de la investigación……42
3.8.1. Evaluación paramétrica……42
3.8.2. Evaluación no paramétricas para la evaluación no sensorial…43
3.8.3. Tipo de investigación……44
3.8.4. Población y muestra……44
3.9. Medición de las variables independientes y dependientes……44
3.9.1. Variable Independiente……44
3.9.2. Variable Dependiente……44
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN……45
4.1. ANOVA para pH por temperatura de las hojas de achiote……45
4.2. Múltiple rango para pH por temperatura de las hojas de achiote……45
4.3. Comportamiento del pH con la temperatura de las hojas de achiote……46
4.4. ANOVA para acidez por temperatura de las hojas de achiote……47
4.5. Múltiple rangos para acidez por temperatura de las hojas de achiote……47
4.6. Comportamiento de la acidez para cada temperatura en estudio……49
4.7. ANOVA para humedad por temperatura de las hojas de achiote……49
4.8. Pruebas de múltiple rangos para humedad por temperatura de las hojas de achiote……50
4.9. Comportamiento de la humedad para cada temperatura……50
4.10. ANOVA para polifenoles totales de las hojas de achiote……51

4.11. Múltiple rangos para polifenoles por temperatura en las hojas de achiote…….....……...52
4.12. Comportamiento de los polifenoles totales para cada temperatura....53
4.13. ANOVA para antioxidante de las hojas de achiote por temperatura..53
4.14. Pruebas de múltiple rangos para actividad antioxidante de las hojas de achiote por temperatura…….....54
4.15. Comportamiento de la actividad antioxidante de la hoja de achiote para cada una de las temperaturas en estudio……..……...55
4.16. ANOVA para infusión de la hoja de achiote para polifenoles totales por temperatura……...55
4.17. Pruebas de múltiple rangos para la infusión de la hoja de achiote en cuanto a polifenoles por temperatura…….....56
4.18. Comportamiento para polifenoles de la infusión de las hojas de achiote para cada temperatura…….……...57
4.19. ANOVA para infusión de la hoja de achiote en cuanto a la actividad antioxidante por temperatura……..……..58
4.20. Pruebas de múltiple rangos para infusión actividad antioxidante por temperatura……...58
4.21. Comportamiento de los polifenoles totales de la infusión para cada temperatura……...……..…...59
4.22. ANOVA del olor de la infusión filtrante de la hoja de achiote……...59
4.23. Pruebas de múltiple rangos del olor de la infusión filtrante de las hojas de achiote…….……..60
4.24. ANOVA del sabor de la infusión filtrante de la hoja de achiote……....61
4.25. Pruebas de múltiple rangos del sabor de la infusión filtrante de la hoja de achiote……..……..61
4.26. ANOVA del color de la infusión filtrante de la hoja de achiote…….62
4.27. Pruebas de múltiple rangos del color de la infusión filtrante de la hoja de achiote…….……..62
4.28. Rendimientos de los filtrantes de las hojas de achiote……..63
4.28.1. Balance de materia para el Tratamiento 1, T1: 30 ºC……...64
4.28.2. Balance de materia para el Tratamiento 2, T2: 35 ºC……....66
4.28.3. Balance de materia para el Tratamiento 3, T3: 40 ºC……...68
V. CONCLUSIONES……70

VI. RECOMENDACIONES ……..71
VII. LITERATURA CITADA……72
VIII.ANEXO……..78

RESUMEN.

El achiote (*Bixa Orellana L*.) es un árbol pequeño cuyo origen se encuentra en las zonas tropicales de la Amazonía del Perú; en cuanto a sus hojas son simples, alternas, con pecíolo corto, cordiformes o acorazonadas, enteras, tienen un ápice acuminado y un borde cordado; son brillantes de color verde oscuro, y variables en su tamaño dependiendo del tipo de achiote que se cultive, el cual contienen un sin número de flavonoides como son la quercetina y la rutina las cuales confieren propiedades antioxidantes a estas hojas. El objetivo de la investigación fue aprovechar satisfactoriamente las hojas de achiote, debido a que estas no son utilizadas brindándole un valor agregado. Por tal motivo se pretende elaborar filtrantes para obtener una infusión beneficiosa para la salud por el antioxidante que contendrá. Al mismo tiempo brindando al consumidor final, ciertas características benéficas por ser esta una hoja medicinal. Para obtener el filtrante característico como resultado final, las hojas de achiote se sometieron a un proceso de secado, en tres diferentes temperaturas: 30 ºC, 35 ºC y 40 ºC, cada una con sus respectivas tres repeticiones; para posteriormente proceder a las operaciones unitarias como son la molienda y el tamizado, para obtener el filtrante, el cual cada paquetito será envasado en papel termosellables, con un peso de 1g. La infusión obtenida a partir de los tres tratamientos realizados para el filtrante elaborado, fueron sometidas, a los análisis de pH, acidez titulable, humedad, análisis sensorial (color, olor y sabor), polifenoles mediante el método de folin-ciocalteau, y evaluación de su capacidad antioxidante mediante el método DPPH (1,1-diphenyl2-picrilhydrazil); dando como el mejor tratamiento al T1, con una temperatura de 30 ºC, con un tiempo de secado de 43 horas, cuyo contenido de polifenoles totales fue de 0.08 mg/ml en ácido gálico y en cuanto a antioxidante fue de 0.42 mg/ml en equivalente de trolox.

Palabras claves: Achiote, flavonoides, antioxidantes, polifenoles, secado, filtrante, infusión, actividad antioxidante, método DPPH, trolox, acidez titulabe.

ABSTRACT.

The achiote (*Bixa Orellana L*.) is a small tree whose origin is found in the tropical zones of the Amazon of Peru; as for its leaves they are simple, alternate, with short petiole, cordiform or heart-shaped, whole, they have an acuminate apex and a rounded edge; They are bright dark green, and variable in size depending on the type of achiote that is grown, which contains a number of flavonoids such as quercetin and rutin which confer antioxidant properties to these leaves. The objective of the research is to take advantage of Annatto leaves, because they are not used, providing added value. For this reason it is intended to develop filtering to obtain a beneficial infusion for health by the antioxidant that will contain. At the same time providing the final consumer with certain beneficial characteristics as this is a medicinal leaf. To obtain the characteristic filter as a final result, achiote leaves were subjected to a drying process, in three different temperatures: 30 ºC, 35 ºC and 40 ºC, each with its three repetitions; tomercery and sieving, to obtain the filter, which each packet will be packaged in heat-sealing paper, with a weight of 1g. The infusion obtained from the three treatments carried out for the elaborate filter was subjected to pH analysis, titratable acidity, humidity, sensory analysis (color, smell and taste), polyphenols by the folin–ciocalteau method, and evaluation of its antioxidant capacity through the DPPH method (1,1-diphenyl2-picrilhydrazil); giving as the best treatment to T1, with a temperature of 30 ºC, with a drying time of 43 hours, whose content of total polyphenols was 0.08 mg / ml in gallic acid and in terms of antioxidant was 0.42 mg / ml in equivalent of trolox.

Keywords: achiote, flavonoids, antioxidants, polyphenols, drying, filter, infusion, antioxidant activity, DPPH method, trolox, acidity titulabe.

LISTA DE CUADROS.

En el texto: **Pág.**

Cuadro 1. Clasificación de polifenoles totales…….…….. 17

Cuadro 2. Tratamientos en estudio……... 42

Cuadro 3. Tratamientos y repeticiones…… 43

Cuadro 4. ANOVA para pH por temperatura de las hojas……..... 45

Cuadro 5. Comparación múltiple de Tukey para el pH en función a la temperatura……..… 45

Cuadro 6. ANOVA para acidez por temperatura…… 47

Cuadro 7. Comparación múltiple de Tukey para la acidez en función de la temperatura…….…….. 48

Cuadro 8. ANOVA para humedad por temperatura de las hojas……..... 49

Cuadro 9. Comparación múltiple de Tukey para la humedad en función de la temperatura……..……..…. 50

Cuadro 10. ANOVA para polifenoles por temperatura……..……..…. 51

Cuadro 11. Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD……..……. 52

Cuadro 12. ANOVA para actividad antioxidante por temperatura……..... 53

Cuadro 13. Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD……. 54

Cuadro 14. ANOVA para infusión polifenoles por temperatura…….. 55

Cuadro 15. Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD……. 56

Cuadro 16. ANOVA para infusión actividad antioxidante por temperatura…….…. 58

Cuadro 17. Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD……. 58

Cuadro 18. ANOVA del análisis sensorial, olor……. 59

Cuadro 19. Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD……..…….. 60

Cuadro 20. ANOVA del análisis sensorial, sabor……..….. 61

Cuadro 21. Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD……..…….. 61

Cuadro 22. ANOVA del análisis sensorial, color……..……... 62

Cuadro 23. Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD……..…….. 62

En el anexo:

Cuadro 24A. Equivalente de trolox de la capacidad antioxidante del filtrante…….……. 79

Cuadro 25A. Equivalente de trolox de la capacidad antioxidante de la infusión…….. 79

Cuadro 26A. Resultado del contenido de polifenoles del filtrante……..... 80

Cuadro 27A. Resultado del contenido de polifenoles de la infusión……... 80

Cuadro 28A. Resultado del análisis sensorial de los 20 panelistas no entrenados……... 81

Cuadro 29A. Resultados del pH y acidez del filtrante……..…….. 82

Cuadro 30A. Resultado final de la humedad del filtrante……..… 82

Cuadro 31A. Ficha de la evaluación sensorial de la infusión filtrante de la hoja de achiote……..…… 83

Cuadro 32A. Resumen estadístico para pH…….……... 85

Cuadro 33A. Medias para pH por temperatura con intervalos de confianza del 95.0%..... 85

Cuadro 34A. Verificación de varianza para el pH…….…. 85

Cuadro 35A. Resumen estadístico para acidez…… 86

Cuadro 36A. Sesfo estandarizado y curtosis estandarizada para acidez.. 86

Cuadro 37A. Medias para acidez por temperatura con intervalos de confianza del 95.0%..... 87

Cuadro 38A. Verificación de varianza para la acidez…….…….. 87

Cuadro 39ª. Resumen estadístico para polifenoles de las hojas de achiote……..... 87

Cuadro 40A. Medias para polifenoles por temperatura con intervalos de confianza del 95.0%..... 87

Cuadro 41A. Resumen estadístico para humedad…….…….. 89

Cuadro 42A. Sesgo estandarizado y curtosis estandarizada para la humedad…….……... 89

Cuadro 43A. Medias para humedad por temperatura con intervalos de confianza del 95.0%..... 89

Cuadro 44A. Verificación de varianza para humedad……..... 89

Cuadro 45A. Resumen estadístico para polifenoles…….. 90
Cuadro 46A. Medias para polifenoles por Temperatura con intervalos de confianza del 95.0%..... 90
Cuadro 47A. Verificación de varianza para polifenoles de las hojas de achiote……..... 91
Cuadro 48A. Resumen estadístico para actividad antioxidante de las hojas de achiote……... 92
Cuadro 49A. Medias para actividad antioxidante por temperatura con intervalos de confianza del 95.0%..... 92
Cuadro 50A. Verificación de varianza de la actividad antioxidante de las hojas de achiote……. 92
Cuadro 51A. Resumen estadístico para infusión de las hojas de achiote, en cuanto a polifenoles totales……. 94
Cuadro 52A. Medias para infusión polifenoles por temperatura con intervalos de confianza del 95.0%..... 94
Cuadro 53A. Verificación de varianza para polifenoles en infusión……. 94
Cuadro 54A. Costo de producción para el filtrante de hoja de achiote elaborado……..…. 95

LISTA DE FIGURAS.

En el texto: **Pág.**

Figura 1. Árbol de achiote en su fase de fructificación…….. 8

Figura 2. Estructuras mayoritarias de flavonoideS……..…. 18

Figura 3. Ubicación Geográfica de la U.N.U……..…. 30

Figura 4. Ubicación Geográfica de la U.N.A.S…….. 31

Figura 5. Diagrama del proceso de elaboración de la infusión filtrante……..… 37

Figura 6. Comportamiento del pH para cada temperatura……..…. 46

Figura 7. Comportamiento de la acidez para cada temperatura……. 49

Figura 8. Comportamiento de la humedad para cada temperatura…. 51

Figura 9. Comportamiento de polifenoles totales de las hojas de achiote para cada temperatura……. 53

Figura 10. Comportamiento de la actividad antioxidante de las hojas de achiote para cada temperatura……. 55

Figura 11. Comportamiento para polifenoles totales de la infusión de las hojas de achiote para cada temperatura…….. 57

Figura 12. Comportamiento para polifenoles totales de la infusión de las hojas de achiote para cada temperatura……. 59

Figura 13. Rendimiento del T1 para la elaboración de filtrante de la hoja de achiote…… 64

Figura 14. Rendimiento del T2 para la elaboración de filtrante de la hoja de achiote…… 66

Figura 15. Rendimiento del T3 para la elaboración de filtrante de la hoja de achiote……. 68

En el anexo:

Figura 16A. Curva de absorbancia para la actividad antioxidante expresados por equivalente de trolox…….. 79

Figura 17A. Curva estándar para polifenoles expresado en equivalente de ácido gálico (AG)…… 80

Figura 18A. Residuos para pH…… 85

Figura 19A. Caja y bigotes para pH……..…… 86

Figura 20A. Residuos para acidez……. 88
Figura 21A. Caja y bigotes para acidez…… 88
Figura 22A. Residuos para humedad…….. 90
Figura 23A. Cajas y bigotes para polifenoles de las hojas de achiote…. 91
Figura 24A. Residuos para polifenoles de las hojas de achiote……. 91
Figura 25A. Cajas y bigotes para antioxidantes de las hojas de achiote. 93
Figura 26A. Residuos para antioxidantes de las hojas de achiote…….. 93
Figura 27A. Caja y bigotes para polifenoles de la infusión filtrante de la hoja de achiote…… 95
Figura 28A. Recolección de las hojas de achiote…….. 96
Figura 29A. Selección de las hojas de achiote…… 96
Figura 30A. Lavado de las hojas de achiote……... 96
Figura 31A. Desinfección de las hojas de achiote a 8 ppm…….. 96
Figura 32A. Pesado de las hojas de achiote, antes del secado…….. 97
Figura 33A. Secado de las hojas de achiote en una estufa…….. 97
Figura 34A. Molienda y tamizado (Nº 40) de las hojas de achiote…….. 97
Figura 35A. Pesado de las hojas molidas y tamizadas, para la elaboración del filtrante……. 97
Figura 36A. Peso exacto 1 g para el filtrante de hoja de achiote……. 98
Figura 37A. Preparación del empaque del filtrante de la hoja de achiote. 98
Figura 38A. Elaboración del filtrante de la hoja de achiote……. 98
Figura 39A. Preparación de las muestras para determinar pH y acidez titulable…… 98
Figura 40A. Determinacióndel pH, con ayuda de un potenciómetro de la muestra seca…….. 99
Figura 41A. Determinaciónde la acidez titulable de la muestra seca….. 99
Figura 42A. Determinaciónde la humedad de la muestra seca…… 99
Figura 43A. Preparación de la muestra seca e infusión de la hoja de achiote……. 99
Figura 44A. Determinación de polifenoles y antioxidantes con el equipo espectrofotómetro…….. 100
Figura 45A. Filtrante elaborado y etiquetado…….. 100
Figura 46A. Análisis sensorial de la infusión filtrante de la hoja de achiote……. 100

Figura 47A. Aceptación del mejor tratamiento a través del análisis sensorial por medio de una ficha hedónica…… 100

I. INTRODUCCIÓN.

El achiote (*Bixa Orellana L*.), es un pequeño árbol, en general de 3 a 5 metros de altura. Crece en clima tropical, desde México hasta Argentina y Brasil, algunos de sus componentes se usan como medicamentos y como cosméticos (Karlon 2010). Tiene diferentes propiedades terapéuticas: antiinflamatorio, cicatrizante, hepátroprotector, antidiarréico, antihipertensivo. Se usa también en los tratamientos de inflamaciones prostáticas y como diurético y antiinflamatorio. En las hojas encontramos: Bixaganeno, ishwarano (aceite esencial) entre otros monos y sesquiterpenos; flavonoides: 7 - bisulfato de apigenina, 7- bisulfato de luteolina, 8-bisulfato de hipolaetina, glucósido de apigenina, bisulfato de apigenina, hipoaletina, cosmosiina, entre otros como: flavonas, antocianidinas y sesquiterpenlactonas (Ramírez 2001).

Las hojas contienen alcaloides, flavonoides (Cáceres 1996) y el sesquiterpeno ishwarano (Lawrence 1973). Uno de los principales componentes de estas hojas son los flavonoides, los cuales poseen efectos antioxidantes, los cuales son beneficiosos para la salud. Durante la investigación realizada se pudo determinar la temperatura adecuada, en cuanto al secado de las hojas de achiote, para la elaboración de filtrantes, obteniendo así una infusión con actividad antioxidante, en cuanto a otros filtrantes se refiere; como el caso del té verde, canela y clavo.

El presente trabajo tuvo como objetivo determinar la actividad antioxidante y contenido de polifenoles tanto de las hojas de achiote secas como de la infusión filtrante; como también determinar características fisicoquímicas como pH, acidez titulable y humedad de las hojas secas molidas; y por último se realizó un análisis sensorial (color, olor y sabor) de la infusión filtrante de los tres tratamientos en estudio; para determinar cuál de todos los tratamientos es el mejor y el más aceptable.

II. REVISIÓN DE LITERATURA.

2.1. EL ACHIOTE (*Bixa Orellana* L.).

2.1.1. Origen y distribución.

El achiote (*Bixa orellana* L.) conocido también con los nombres de achiote, bija, bixa, anoto, annatto, ocote y otros, es un pequeño árbol de 2.5 a 4m de altura, es nativo de zonas tropicales, desarrollándose principalmente en climas cálidos-húmedos y semi-cálido (Yalta 2016).

El achiote se lo encuentra en racimos, las formas varían pudiendo ser “esférica, ovoide, elipsoidal o cónica” (Arce 2007), generalmente los racimos tienen una cubierta de espinas, pudiendo presentarse también sin ellas. El número de semillas es de 30 a 45 semillas, con un diámetro de 3 a 4 mm de largo, la forma es cónica o piramidal, siendo el color anaranjado o rojo, están cubiertas por “una fina membrana blanquecina debajo de la cual, hay una capa de parénquima acuoso (bixina) que contiene un colorante” (Yalta 2016).

Pertenece a la familia (Bixaceae) su fruto es ovoide mide 2 o 5 cm, que posee espinas sedosas, pueden ser de color naranja, verde o rojo y en su interior se puede encontrar entre semillas rojas viscosas, que contienen la sustancia bixina (es una sustancia cristalina soluble en alcohol, aceites, grasas, pero insoluble en agua). El achiote es de clima tropical se adapta a distintos tipos de clima y suelos, además de ser un colorante y repelente. Los españoles lo dispersaron por todo el mundo, el uso del achiote actualmente es un condimento utilizado en la cocina Asiática, Africana y Europea, es usado frecuentemente para teñir ropa y dar color a ciertas preparaciones, se lo utiliza en la amazonia contra las infecciones de la piel, vómitos bebiéndolo en infusión (Suarez y Baylón 2017).

La planta es nativa de América Tropical, pero es conocido su cultivo en muchos otros países. Los principales productores comerciales son: Bolivia, Brasil, Ceylán, Costa Rica, República Dominicana, Ecuador, Guayana, India,

Jamaica, México y Perú.

En Ecuador se cultiva achiote principalmente en las provincias de Pichincha, Manabí, y Napo. En las restantes provincias de la costa y oriente estás se encuentran en estado natural. Las plantaciones comerciales existentes se encuentran en la provincia de Napo, Puerto Napo con una superficie de 160 ha y otra con 50 ha, en la provincia de Pichincha en la vía Sto. Domingo – Quinindé 45 ha en la Amazonía: El Coca vía Lago Agrio, principalmente (Ninahualpa 2018).

El achiote es un árbol originario de la américa Tropical donde crece en forma espontánea, es de rápido desarrollo y alcanza de 3 a 4 metros de altura y tiene 20 a 30 cm. De diámetro en la base del tallo. Su raíz es pivotante y bien desarrollada, las hojas son cordiformes y las flores hermafroditas de un color rosado a blanco, dispuestas en panojas terminales. El fruto es una cápsula que contiene de 30 a 60 semillas, las mismas que están cubiertas de una pulpa rojiza y cerosa que constituye el tinte llamado achiote. Este árbol se lo cultiva bien entre los 300 a 1.000 metros de altura, aunque se adapta bien desde el nivel del mar. El achiote crece en óptimas condiciones en un amplio margen de suelos, desde los francos arenosos hasta los arcillosos; pero, los mejores resultados se han conseguido en suelos francos con un marcado índice de fertilidad y si bien es cierto que crece en todo tipo de suelo, también es cierto que es muy exigente en cuanto al drenaje, ya que su desarrollo en suelos mal drenados es deficiente y aún improbable. En lo que se refiere al agua, el achiote es muy resistente a la sequía, y se ha observado que a pesar que durante el periodo seco sufre ciertos trastornos fisiológicos como es la fuerte defoliación, se repone rápidamente después de caer las primeras lluvias. Las plantaciones establecidas en buenas condiciones de humedad durante todo el año, producen excelentes rendimientos y la temperatura varía entre los 24 a 30 grados centígrados (Campos 2014).

Los aborígenes de américa poseían el conocimiento de muchas plantas medicinales, y transmitieron su sabiduría a los viajeros y misioneros españoles que llegaron a sus tierras, quienes recopilaron información y publicaron importantes obras donde se hace referencia al achiote como planta

medicinal (Campos 2014).

El achiote era cultivado en épocas precolombinas desde Brasil y Bolivia hasta México. El nombre popular, “achiote”, es el más conocido en el comercio mundial y procedería de la palabra orellan “axiotl”. Este vegetal sería nativo, según algunos autores, de una región del alto Amazonas en el Brasil, aunque otros lo dicen oriundo de una zona comprendida entre el centro de México y Panamá. En Argentina existe espontánea en el norte y noreste, donde se la reconoce con el nombre popular de “Urucú”. También se la cultivó en las provincias de Misiones, Corrientes, Chaco y Salta. Actualmente su cultivo se ha extendido ampliamente en los trópicos de África y Asia, hasta la India, Filipinas e islas de Hawai, aunque la mayor producción se concentra en América Latina y el Caribe: Perú, Ecuador, Colombia, República Dominicana y Jamaica (Campos 2014).

En la actualidad se tiene 58 colecciones de diferentes lugares de amazonia. Los ecotipos muestran gran diversidad en lo que se refiere habito de crecimiento, coloración del tallo (gris, anaranjado y marrón), color de las hojas (verdes con diferentes tonalidades), color de flores (blancas y violetas de diferentes tonalidades), color de fruto (amarillo con diferentes tonalidades, anaranjado, rojo con diferentes tonalidades, marrón y negro), forma de los frutos (ovoide, redondo, elíptico y cónico), presencia de espinas en los frutos, numero de semillas por fruto. El material está registrado en el campo experimental de Allpahuayo del Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP) (Campos 2014).

El cultivo de achiote habita en zonas tropicales, con precipitación pluvial de 1 800 a 3 500 mm/año, temperaturas entre 24 a 30 ºC, se cultiva desde el nivel del mar hasta los 1 200 msnm (Campos 2014).

El cultivo de achiote soporta:

- Altitud: crece entre 0 y 1 200 metros sobre el nivel del mar.
- Temperatura: la media óptima se encuentra entre 19 y 27 °C.
- Precipitación: puede crecer bajo regímenes entre 1200 y 2500 mm, aunque se han obtenido buenos rendimientos en localidades de baja precipitación

con uso de riego suplementario. En general, soporta bien la sequía.

- Luz: se produce tanto en áreas con abundante nubosidad como en zonas muy soleadas (Campos 2014).

2.2. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA.

La planta de achiote tiene características botánicas muy importantes, el cual esta descrito por Mora (2014).

2.2.1. Hojas.

Son grandes, cordiformes, color verde pardo con algunas vetas rojizas. Son alternas, sencillas, de borde liso y ápice acuminado, con un peciolo de 4 a 6 cm de largo.

2.2.2. Tallo.

Es redondo, de corteza ligeramente fisurada y numerosas lenticelas y puede presentar hasta 20 o 30 cm de diámetro en la base.

2.2.3. Flores.

Son hermafroditas, muy vistosas, son blancas o rosadas. Se agrupan en panículas terminales al final al final de las ramas.

2.2.4. Frutos y semillas.

Cápsula roja, de 2 a 6 cm de largo, con pelos gruesos espinosos, dehiscente, verdosa oscura a morada (según variedades), que al madurar pasa a pardo rojizo oscuro. En cada valva hay semillas en número de 30 a 45. Es comprimida, de 5 mm de largo, con tegumento recubierto de una sustancia viscosa rojiza intensa.

2.2.5. Usos tradicionales.

Los curanderos de la Amazonía y las comunidades indígenas lo utilizan en prácticas culturales, la pintura obtenida de las semillas la aplican en la fontanela de los lactantes, mezclada con la resina de “caucho-masha” (*Sapium*

marmieri) para protegerlos contra el susto y los espíritus del bosque y de los ríos. Los Matsigenka y los Shipibo-Conibo hacen baños con el “Achiote” para evitar que los deudos de un pariente fallecido “sean cutipados” por los aires del occiso. Algunos curanderos de la Amazonía peruana colocan el jugo de las hojas frescas exprimidas del Achiote en los ojos, para la inflamación e infección; para la epilepsia, el jugo es utilizado en combinación con doce frutas y tomado dos veces diariamente por cinco días. El achiote es usado por los curanderos como un antídoto para las mordeduras de serpientes y se cree que las semillas son un expectorante, mientras se piensa que las raíces ayudan en la digestión y suprimen la tos. Asimismo, el Achiote tradicionalmente ha sido utilizado para desórdenes de la próstata e inflamaciones internas, hipertensión arterial, colesterol elevado, cisititis, obesidad, insuficiencia renal y para eliminar ácido úrico. Los Cojedes (Venezuela) usan la infusión de las flores para estimular los intestinos, así como también para evitar la flema en los recién nacidos. De acuerdo a un estudio basado en entrevistas etnobotánicas llevadas a cabo desde 1996-2000 en Trinidad y Tobago, se halló que la Bixa orellana es utilizada para la Diabetes mellitus y la ictericia (Lans 2006).

Las hojas se emplean en casos de gonorrea, afecciones de la garganta y como antiemético. Las semillas se usan como tónico gastrointestinal, antidiarreico, purgante, antipruritico, antiinflamatorio, antidiabético y en casos de tumores bucales y estados gripales. La masa obtenida de las semillas se emplea por vía tópica en casos de quemaduras y otras afecciones cutáneas, especialmente para evitar la formación de ampollas (Mora 2014).

2.2.6. Clasificación taxonómica.

El achiote (*Bixa orellana L*.) es un arbusto originario de américa tropical, posiblemente de la olla amazónica; por eso lo vemos crecer en forma silvestre en toda nuestra selva, mostrando una amplia heterogeneidad en sus características botánicas tales como tamaño y forma de planta, así como forma y color de sus hojas, flores y frutos.

Así mismo propone la siguiente clasificación botánica:

- Subdivisión: Angiosperma

- Clase: Dicotiledonea
- Orden: Parietales
- Familia: Bixaceae
- Género: Bixa
- Especie: Orellana Linneo

Es una planta oriunda del Brasil, crece hasta los 1800 msnm en zonas tropicales, desde la región amazónica del Brasil hasta Centro América. Los cultivos se han extendido a muchos países tropicales de África y Asia (Campos 2014).

El cultivo del achiote (*Bixa Orellana* L.), conocido también como annato, achote, onnote, cocote, bija, bixa, orell, etc., es originario de la América Tropical. A la llegada de los europeos, el achiote era cultivado desde México hasta Brasil, siendo su área de origen, posiblemente, la hoya amazónica. El uso inicial del achiote fue para pintura y tatuaje del cuerpo, como se utiliza aún entre ciertas tribus nativas de Sur América, protegiéndose así de los insectos, además de utilizarlo para teñir telas de algodón y algunos utensilios de cocina (Saldarriaga 2002).

La planta del achiote es un arbusto de rápido crecimiento, que alcanza de cuatro a seis metros de altura, su aspecto es robusto, con flores muy vistosas y de color blancas o rosadas según sea la variedad; el fruto es una cápsula de color pardo rojizo o amarillo verdoso que contiene de 30 a 45 semillas cubiertas por una delgada capa o arilo que, por su contenido de Bixina, es de color rojo o anaranjado y constituye la sustancia tintórea propiamente dicho. De acuerdo a Saldarriaga (2002):

- Subdivisión: Angiosperma
- Clase: Dicotiledóneas
- Orden: Parietales
- Familia: Bixáceas
- Género: Bixa
- Especies: B. Orellana Linneo, B. Sphaerocarpa Triana, B. Urucurana Willd, B. Purpurea Hort, etc.

Según el tipo de flores, se pueden considerar dos variedades de achiote, clasificadas así: la de flores blancas que da cápsulas amarillo-verdosas, con igual coloración de la tintura y tiene un 10.4% de colorante; y la de flores rosadas que dan cápsulas rojizas y tiene un 8.2% de colorante (Seminario de Agronomía, 1975, 1990). Sin embargo, en los mercados nacional y extranjero no se establece diferencia de precios.

2.2.7. Descripción morfológica.

Bixa es un árbol de 2-10 m de altura, con copa piramidal, redondeada o irregular y ramificación dicotómica. La corteza del tallo es lisa o poco fisurada, de color pardo-rojizo, pardo-oscuro, pardo-verdoso o pardo-grisáceo, con pocas o muchas lenticelas de color pardo claro o amarillento. Las hojas son simples, dorsiventrales, alternas, de textura cartácea, forma deltoide, cordiforme o lanceolada, lámina simétrica o asimétrica y pubescentes (Valeria 2015).

Las flores se producen en panículas terminales de 10-25 cm de longitud, con 5-60 primordios florales. Los pétalos son imbricados y su color varía de blanco a rosado intenso; los sépalos son cóncavos, de color pardo-rojizo o pardo-verdoso, con 5 glándulas basales persistentes aún en el fruto maduro y la época de floración y madurez del achiote varía según la latitud y según la temperatura de la zona, siendo más temprana en las regiones cálidas y húmedas. La floración dura entre 3 y 4 meses y no es sincronizada (Valeria 2015).



Fuente: Infojardin, 2014.

Figura 1. Árbol de achiote en su fase de fructificación.

Las semillas de Achiote están principalmente constituidas por Bixina representando un 80% de los pigmentos presentes, lo cual facilita su extracción; los componentes principales de la semilla del achiote son: Bixina (materia colorante roja) (80%); Resina; Orellina (materia colorante amarilla); Aceite Volátil y aceite Graso.

La Humedad oscila entre 8 -13%, Proteína 13 -14,24%; Celulosa 13,8%; Fibra Cruda 18,48%; Almidones 11,45%; Carbohidratos Totales 39,91%; Ceniza 4,50 – 7,97%; Energía 54 kcal.

El análisis de las semillas de achiote ha dado como resultado lo siguiente: 40% - 45% de celulosa; 3.5% - 5.5% sacarosa; 0.3% - 0.9% aceite esencial; 3% aceite fijo; 4.5% - 5.5% pigmentos y de 13% - 16% proteína (Bolt, citado por Valeria 2015).

2.3. PROPIEDADES MEDICINALES.

Se le atribuyen diferentes propiedades terapéuticas astringente, antiséptico, emoliente, antibacterial, antioxidante, expectorante, cicatrizante, febrífugo, estomáquico y antidisentérico, diurético y antigonorreico, purgante, desinflamatorio e hipoglicemiante. La semilla molida es utilizada para tratar sarampión, viruela, afecciones estomacales, enfermedades del riñón, disentería y febrífugo, astringente y ligero purgante. Los frutos y semillas en infusión controlan el dolor de cabeza. También tiene propiedades cicatrizantes (Valeria 2015).

2.4. COMPOSICIÓN QUÍMICA.

Numerosas investigaciones científicas evidencian la actividad antiofídica del extracto etanólico de hojas y tallos (Otero 2000). El extracto metanólico de las hojas de achiote presentó actividad captadora de radicales libres. Igualmente, mostró actividad analgésica y antidiarreica, en ratones (Shilpi 2006).

2.4.1. Hojas.

Bixaganeno, ishwarano (aceite esencial) entre otros mono y

sesquiterpenos; flavonoides: 7-bisulfato de apigenina, 7- bisulfato de luteolina, 8-bisulfato de hipolaetina, glucósido de apigenina, bisulfato de apigenina, hipoaletina, cosmosiina, entre otros como: flavonas, antocianidinas y sesquiterpenlactonas (Ramírez 2001); carotenoides: bixina, norbixina, orelina, β-caroteno, criptoxantina, metilbixina, zeaxantina, luteína; ácido tomentósico; vitaminas (A, B, y C); proteínas; azúcares; celulosa; grasas; calcio, fierro y fósforo; diterpenos: farnesilacetona, geraniol, geranil formato, alcaloides (vestigios), ácido gálico (benzenoide) y ácido alfitólico.

2.4.2. Semillas.

Contiene dos principios colorantes, uno de los cuales es la "bixina". rojo-anaranjado, una sustancia algo cristalina de color rojo oscuro. El otro, que también es un elemento colorante, es la "nor-bixina" (orellina) amarillo. La bixina es soluble en alcohol, más lo es en alcohol hirviente, éter y cloroformo, aceites y grasas; es poco soluble en agua. La nor-bixina, en cambio, es insoluble en éter, pero soluble en agua y alcohol. ENSAYOS IN VITRO DE LA HOJA DE ACHIOTE.

2.4.3. Propiedades antioxidantes.

Se encontró que el extracto de Achiote tiene carotenoides con actividad antioxidante. Se ha evaluado los efectos de la norbixina sobre la lesión de las células de Escherichia coli DNA-inducido por radiación ultravioleta, peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y aniones superóxidos, y se encontró que la norbixina protege a las células contra estos agentes, incrementando su sobrevivencia en por lo menos 10 veces. También se ha encontrado que tiene propiedades antimutagénicas con un máximo de inhibición de la actividad mutagénica H_2O_2-inducida de 87%, según la prueba de mutagenicidad en salmonella (Júnior y col., 2005). Por otro lado, el extracto metanólico de las hojas de Bixa orellana L mostró un IC50=22,36 µg/mL en la prueba de DPPH, es decir mostró una actividad atrapadora de radicales libres (Shilpi 2006).

2.5. RADICALES LIBRES.

Los radicales libres son moléculas inestables porque contienen un electrón no apareado. Para poder convertirse en moléculas estables, los radicales libres buscan electrones de otras moléculas tales como el ADN, lípidos en las membranas celulares y en las proteínas de los tejidos corporales. Cuando estas moléculas son atacadas por los radicales libres, su estructura molecular se altera. Estas moléculas alteradas se convierten entonces en radicales libres que buscan, atacan y dañan moléculas aledañas, continuando así una reacción en cadena que crea radicales libres y causa daños moleculares. Los científicos creen que los radicales libres también podrían contribuir en muchas enfermedades y a la aceleración de los signos de envejecimiento (Irene 2017).

La excesiva producción y/o exposición de un organismo a radicales libres induce en éste alteraciones biológicas potencialmente conducentes a un daño celular, denominado “estrés oxidativo”. Los radicales libres más comunes en el organismo son el radical superóxido, el radical hidroxilo y el peróxido de hidrógeno, que, aunque no cumple con el requisito de tener electrones desapareados tiene la actividad necesaria para ser considerado dentro del grupo. El anión radical superóxido, puede actuar como agente oxidante en un medio hidrofóbico, como son las membranas celulares y como agente reductor en medio acuoso. A niveles intracelulares son reducidos por dismutación, lo que puede ocurrir espontáneamente (Irene 2017).

2.5.1. Oxidación y producción de radicales libres.

Todos los seres vivos que utilizan el oxígeno para la generación de energía liberan radicales libres, lo que es incompatible con la vida a menos que existan mecanismos de defensa contra estas especies.

La doctora Gerschman (1954), sugirió que los radicales libres eran agentes patógenos y estableció en este trabajo 3 postulados básicos:

- Los radicales libres constituyen un mecanismo molecular común de daño cuando los animales de experimentación son sometidos a altas presiones de oxígeno y a radiaciones ionizantes.

- El desequilibrio entre oxidantes y antioxidantes produce efectos tóxicos.
- La producción de radical libre es un fenómeno continuo con implicaciones en el envejecimiento y la carcinogénesis.

Los radicales libres producidos durante la respiración aerobia causan daño oxidativo que se acumula y resulta una pérdida gradual de los mecanismos homeostáticos en una interferencia en patrones de expresión génica y pérdida de la capacidad funcional de la célula, lo que conduce al envejecimiento y a la muerte. Los radicales libres son átomos o grupos de átomos que tienen un electrón desapareado por lo que son muy reactivos ya que tienden a robar un electrón de moléculas estables con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica. Una vez que el radical libre ha conseguido sustraer el electrón que necesita para aparear su electrón libre, la molécula estable que lo cede se convierte a su vez en su radical libre por quedar con un electrón desapareado iniciándose así a una verdadera reacción en cadena que destruye nuestras células. La vida media biológica del radical libre es de microsegundos, pero tiene la capacidad de reaccionar con todo lo que este a su alrededor provocando un gran daño a moléculas y a membranas celulares. Las especies reactivas del oxígeno (EROS) son moléculas radicales y no radicales que son agentes oxidantes y son fácilmente convertidos a radicales, en la última década se han acumulado evidencias que permiten afirmar que los radicales libres y el conjunto de especies reactivas que se les asocian juegan un papel central en nuestro equilibrio homeostático (Vela 2010).

Las especies oxigenadas reactivas (ROS), formadas metabólicamente como intermediarios parcialmente reducidos, son especies moleculares activadas, dotadas de un electrón desapareado (radical libre) en un nivel energético superior y por tanto dotadas de propiedades paramagnéticas que les confieren una alta e indiscriminada reactividad (Vela 2010).

La oxidación de todas las moléculas orgánicas bivalentes ocurre con la formación de un radical libre intermediario y fue capaz de mostrar por titulación oxidante la formación de las semiquinonas en la oxidación de las benzoquinonas y naftaquinonas (Vela 2010).

La reducción univalente secuencial del oxígeno como mecanismo molecular de cuatro pasos de transferencia de un electrón, con formación de radical superóxido (02-), peróxido de hidrógeno (H_20_2) y radical hidroxilo (OH-) como los intermediarios de la reducción parcial del oxígeno y con formación de agua como producto final y de reducción total (Vela 2010).

Los radicales libres son resultado de los procesos fisiológicos propios del organismo, como en el metabolismo de los alimentos, la respiración y el ejercicio o bien son generados por factores ambientales como la contaminación industrial, el tabaco, la radiación, los medicamentos, los aditivos químicos en alimentos procesados y los pesticidas. Los radicales libres son átomos o moléculas extremadamente reactivas, debido a que en el orbital más externo de su estructura tiene uno o más electrones sin aparear. Esta inestabilidad les confiere una avidez física por la captura de un electrón de cualquier otra molécula de su entorno, ocasionando que la estructura afectada quede inestable. De esta forma pueden establecer reacciones en cadena por medio de varios transportadores que se oxidan y se reducen secuencialmente, cuando una radical libre inicial modifica una biomolécula después de transferir o capturar un electrón (Vela 2010).

2.6. ANTIOXIDANTES.

Antioxidante es toda sustancia que hallándose presente a bajas concentraciones respecto a las de una molécula oxidable (biomolécula), retarda o previene la oxidación de este sustrato. El antioxidante al colisionar con el radical libre le cede un electrón, se debilita su acción en algunos casos como la vitamina E, puede regenerarse a su forma primitiva por la acción de otros antioxidantes. No todos los antioxidantes actúan de esta manera, los llamados enzimáticos catalizan o aceleran reacciones químicas que utilizan a su vez reacciones con los radicales libres (Vela 2010).

Los antioxidantes se definen como aquellas sustancias que presentes en bajas concentraciones respecto a la de un sustrato oxidable, retardan o previenen la oxidación. Al interactuar con el radical libre, el antioxidante cede un electrón, se oxida y se transforma en un radical libre no tóxico. Así cuando se

incrementa la producción de radicales libres, estos mecanismos se activan para controlar y estabilizar al ambiente rédox intra o extracelular (Vela 2010).

Un antioxidante es una sustancia capaz de neutralizar la acción oxidante de los radicales libres, liberando electrones en la sangre que son captados por los radicales libres, manteniendo su estabilidad. Nuestro organismo está constantemente luchando contra los radicales libres (Vela 2010).

Los Antioxidantes son compuestos como ácidos fenólicos, polifenoles y flavonoides mientras que los radicales libres son aquellos como peróxidos, hidroperóxidos. Estos antioxidantes inhiben el mecanismo oxidatívos que termina con la generación de enfermedades (Prakash 2001).

Los antioxidantes son compuestos que inhiben o retrasan la oxidación de otras moléculas mediante la inhibición de la propagación de la reacción de oxidación.

Los antioxidantes pueden clasificarse en naturales y sintéticos, estando estos últimos en desuso debido a estudios que les atribuyen efectos carcinógenos. Este hecho ha despertado un creciente interés en el estudio de los antioxidantes naturales entre los que se encuentran distintos compuestos fenólicos (Irene 2017).

Los antioxidantes de origen natural son aquellas sustancias que se presentan o pueden ser extraídas de los tejidos de las plantas y aquellas que se forman durante el cocinado o el procesado de compuestos alimenticios de origen vegetal o animal (Irene 2017).

Existen numerosos estudios sobre la capacidad antioxidante de los alimentos de consumo corriente en las diferentes culturas: las frutas, las hierbas, el té, el cacao, las verduras, los cereales, etc.

Los antioxidantes naturales se encuentran presentes en, prácticamente, todas las plantas, microorganismos, hongos e incluso en los tejidos animales (Irene 2017).

En las frutas, las legumbres y algunos vegetales se encuentran muchas sustancias capaces de atrapar radicales libres, mejorando nuestra defensa antioxidante, reportándose que son capaces de detener o prevenir el desarrollo de tumores y los efectos bioquímicos asociados con la progresión de los mismos; este potencial se atribuye, principalmente, a sus propiedades antioxidantes. (Irene 2017).

2.7. POLIFENOLES.

Los Polifenoles son metabolitos secundarios de las plantas y constituyen un amplio grupo de sustancias químicas de numerosas especies de plantas. Su función principal en las plantas es de actuar como metabolitos esenciales frente al ataque de agentes patógenos, incluyendo bacterias, fungi y virus, así como metabolitos esenciales para el crecimiento y reproducción de estas. En la actualidad se ha encontrado más de 800 compuestos diferentes reportándose que los polifenoles son un conjunto heterogéneo de moléculas que comparten la característica de poseer en su estructura varios grupos bencénicos sustituidos por funciones hidroxílicas (Vela 2010).

Los compuestos fenólicos o polifenoles se encuentran ampliamente distribuidos en el reino vegetal y tiene su origen en lo derivados metabólicos de la ruta del shikímico y de los fenilpropanoides. La ruta del shikímico, que genera los fenilpropanoides y cumarinas, o la ruta del acetato que proporciona las fenonas más simples y varias quinonas. Además, pueden generarse a través de una ruta metabólica intermedia que genera flavonoides, siendo este el grupo más importante y numero de compuestos fenólicos (Vela 2010).

Los compuestos fenólicos son todos aquellos compuestos “que poseen en común un anillo aromático con uno o más sustituyentes hidroxilos y que suelen encontrarse frecuentemente como glicósidos combinados con unidades de azúcar” (Lock 1988).

Valencia (1995), indica además que, por lo general, estos compuestos suelen alojarse en las vacuolas de las plantas. Ambos autores mencionan entre

los compuestos fenólicos a los flavonoides, los taninos, las quinonas, cumarinas, entre otros (Luque 2009).

El término “compuestos fenólicos” engloba a todas aquellas sustancias que poseen varias funciones fenol (nombre popular del hidroxibenceno), unidas a estructuras aromáticas o alifáticas. Los compuestos fenólicos tienen su origen en el mundo vegetal. Son unos de los principales metabolitos secundarios de las plantas y su presencia en el reino animal se debe a la ingestión de éstas (Gimeno 2004).

Los compuestos fenólicos son metabolitos secundarios ampliamente distribuidos en el reino vegetal. Se localizan en todas partes de las plantas y su concentración es variable a lo largo del ciclo vegetativo. Estos compuestos participan de diversas funciones, tales como la asimilación de nutrientes, la síntesis proteica, la actividad enzimática, la fotosíntesis, la formación de componentes estructurales, la alelopatía y la defensa ante los factores adversos del ambiente (Paladino 2006).

Los compuestos fenólicos son metabolitos esenciales para el crecimiento y reproducción de las plantas y actúan como agentes protectores frente a patógenos, siendo secretados como mecanismo de defensa a condiciones de estrés, tales como infecciones, radiaciones UV, entre otros. Esta síntesis se da a partir de fenilalanina por la vía del shikimato (Muñoz 2007).

Juegan un rol vital en las plantas y regulan el metabolismo y síntesis de la lignina, por lo que las plantas presentan un gran número de componentes fenólicos (flavanoles, flavonoles, chalconas, flavonas, flavanomas, isoflavonas, taninos, estilbenos, curcuminoides, ácidos fenólicos, coumarinas, lignanos, etc) (Valverde 2000).

La naturaleza de los polifenoles varía desde moléculas simples como los ácidos fenólicos hasta compuestos altamente polimerizados, como los taninos. Entre los compuestos fenólicos existentes en los alimentos, se pueden distinguir dos grandes familias los: no flavonoides y flavonoides, constituidas cada una de ellas por diferentes subfamilias de compuestos (Sánchez 2010).

Cuadro 1. Clasificación de polifenoles totales.

ESTRUCTURA	CLASE FENÓLICA
C6	Fenoles
C6-C1	Ácidos hidroxibenzoicos
C6-C2	Acetofenonas y ácidos fenilacéticos
C6-C3	Ácidos cinámicos, cumarinas, isocumarinas y cromonas
C6-C4	Naftoquinonas
C6-C1-C6	Benzofenonas, xantonas
C6-C2-C6	Estilbenos, antraquinonas
C6-C3-C6	Flavonoides: flavononas, flavonoles, antocianidinas, chalconas, flavanoles auronas, flavonas e isoflavonas.
(C6-C3)2	Lignanos
(C6-C3-C6)2	Bioflavonoides, biflavanos
(C6-C3)n	Ligninas
(C6-C3-C6)	Proantocianidinas

Fuente: Piñeiro, 2005.

2.8. FLAVONOIDES.

Los flavonoides son un ejemplo de compuestos antioxidantes naturales que están ampliamente distribuidos en los alimentos vegetales presentes en la dieta normal humana y son un amplio grupo de compuestos polifenólicos de bajo peso molecular que tienen en común el esqueleto 2- fenilcromano (C6-C3-C6). Esta estructura base puede presentar muchas sustituciones y variaciones que dan lugar a diversos tipos de flavonoides: flavanoles, flaconas, flavanonas, catequinas, antocianinas, isoflavonas y charconas identificándose hasta la actualidad más de 4000 flavonoides siendo las principales fuentes dietéticas: cebollas, vino, manzana y el té (Luis y Aller 2008).

Dentro de este grupo grande podemos encontrar distribuidos a las antocianinas, flavanoles, flavanonas, flavanoles, flaconas, isoflavanoides y chalconas. Este conjunto se caracteriza por poseer un flavonoide no unido a

ninguna otra sustancia química al que se conoce como "aglicona". Por otro lado a los flavonoides unidos a cualquier tipo de azúcar se les llama "glicósidos" (Piñeiro 2005).

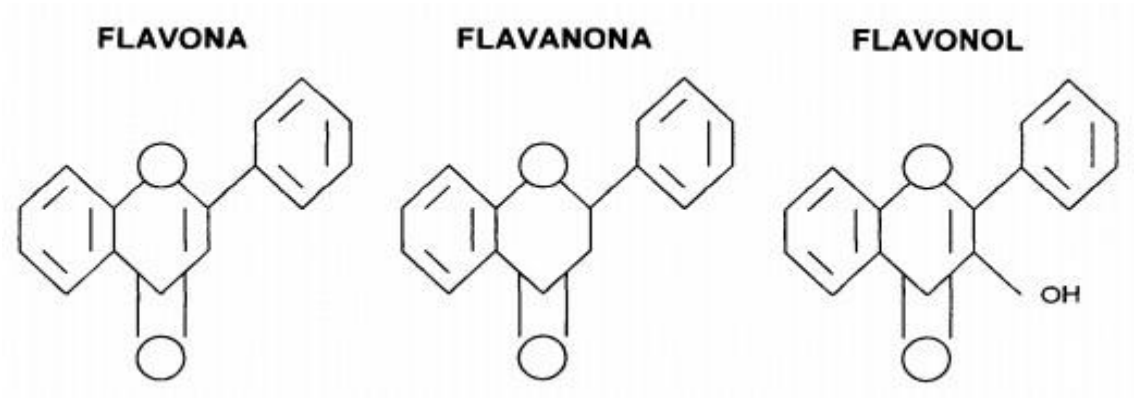


Figura 2. Estructuras mayoritarias de flavonoides.

2.9. FILTRANTES DE HIERBAS AROMÁTICAS PARA INFUSIÓN.

Son aquellos materiales ricos en compuestos solubles que se encuentran en saquitos sellados de un papel poroso, llamado papel filtro, y de las cuales mediante un proceso lixiviación, en condiciones de operación adecuadas, se obtienen líquidos llamados tizana o infusión de interés sensorial o terapéutico (Vásquez 1987).

Las hierbas aromáticas que son procesadas y empacadas en bolsitas filtrantes, reciben diversas denominaciones como: té herbales, hierbas filtrantes, aromáticas filtrantes, filtrante de infusiones, etc. Se ha pronunciado en lo siguiente: “Los tés herbales son parte de la tradición y cultura europea, su creciente popularidad se origina por un lado del reconocimiento tradicional de su valor como remedios domésticos, suaves para malestares menores y por otro lado, de una creciente apreciación de la amplia variedad de sabores naturales y refrescantes que ellos ofrecen” (EHIA Asociación de Europea de Infusión Herbales 1981 y Vásquez 1987).

Es el producto constituido por las hojas secas de la hierba aromática envasado en bolsas filtrantes para su uso inmediato y que cumpla los requisitos de la norma. Se aceptan valores dentro del rango de 5-8% de humedad, en fibra sugiere como máximo 28%, es necesario controlar esta variable, porque

productos con demasiada fibra tiende a ser muy pobres en esencias, lo que representa baja calidad. En el cuadro 5, se indican los requisitos que debe tener la hierba luisa y manzanilla como filtrantes para ser usados en infusión (EHIA Asociación de Europea de Infusión Herbales 1981 y Vásquez 1987).

La infusión de filtrantes de hierba luisa en sus primeros 5 días de procesada, presenta un pronunciado color verde claro, que puede durar de 5 a 10 minutos después de ser preparada, luego por alguna causa, que puede ser la oxidación de las esencias, el color se va tomando amarillo hasta quedar estable en un color amarillo oro. Igualmente, el sabor característico (EHIA Asociación de Europea de Infusión Herbales 1981 y Vásquez 1987).

Las plantas aromáticas o medicinales nos brindan innumerables cualidades a la hora de preparar una infusión. Ellas deleitan a nuestro paladar con un agradable aroma y sabor, contribuyendo al buen funcionamiento del organismo. Estas plantas contienen principios activos (fotoquímicos), que varían en función a la especie y al momento de maduración de las mismas. Muchos de estos compuestos actúan como antioxidantes protegiendo a nuestro cuerpo (ácidos nucleicos, proteínas, lípidos, etc.) del daño oxidativo, el cual afecta o mata las células del organismo. Diversos factores ambientales causan estrés oxidativo: la contaminación atmosférica, la acción de los herbicidas, las temperaturas extremas, la luz ultravioleta, además de las infecciones causadas por patógenos y el humo del tabaco. Aproximadamente el 40% de los factores que afectan a la esperanza de vida se controlan, esto sugiere que no sólo se pueda prolongar la vida, sino también que se puede mejorar su calidad a través de una buena salud (Felipe 2005).

Numerosos trabajos han demostrado que los antioxidantes naturales de plantas medicinales y aromáticas están relacionados con la reducción de enfermedades crónicas. Por tal motivo, los antioxidantes naturales aparecen como una alternativa interesante, en especial los aceites esenciales o los extractos obtenidos de plantas comestibles que pueden utilizarse como aditivos de los alimentos (Hui 2006).

2.10. MATERIAL DE EMPAQUE PARA FILTRANTES.

2.10.1. Papel filtrante.

El papel filtro son productos filtrantes, puede ser de dos tipos: papel no termosellable y papel termosellable (Anny y Luis 2011).

- **Papel para bolsitas de Té regular-Ref-710 (plana):**

Es un papel a base de combinar la alta calidad de manila y otras fibras celulósicas las que proporcionan un sabor neutral, una infusión rápida y una excelente retención de las partículas de té, tiene una característica de un buen doblez y un alto grado de resistencia a la humedad. Todos los materiales usados en la fabricación de este papel han sido aprobados por la entidad de los Estados Unidos “Food and Drug Administration” (Anny y Luis 2011).

- **Papel para bolsitas de Té Termosellable-Ref-746 (plana):**

Papel mixto que incorpora una capa de alta calidad de manila hemp y otras fibras celulósicas además de una capa de fibra termoplástica, seleccionada para proporcionar y mejorar la fuerza del sellado bajo condiciones del agua hervida; esta cualidad proporciona un gusto completamente natural y una excelente retención del polvo además de dar una buena infusión (Anny y Luis 2011).

- **Papel para bolsitas de Té Regular-Ref-780 (plana):**

Papel a base de combinar la alta calidad de la manila hemp y otras fibras celulósicas, las que proporcionan un sabor neutral, una infusión rápida y una excelente retención de las partículas de té. Como características posee un buen doblez y un alto grado de resistencia a la humedad (Anny y Luis 2011).

- **Papel para bolsitas de Té-Supersellable-Ref-784 (plana):**

Es un papel que consiste de una mezcla de fibras termoplásticas las cuales proporcionan una neutralidad absoluta en el gusto una rápida infusión y

una buena retención de partículas de té. Con alta fuerza del sellado-humedad se obtiene una fuerza disponible en ninguna clase de papel para té, las bolsitas de té fabricadas con la referencia 784 pueden permanecer sumergidas en el agua hervida por horas (Anny y Luis 2011).

- **Papel para bolsitas de Té Termosellable–ref-785 (moldeado):**

Papel mixto moldeados que incorpora una capa de alta de la manila hemp y otra de fibra celulósica, además de una capa de fibra termoplástica seleccionada para mejorar la fuerza del sellado bajo condiciones del agua hervida. Esta cualidad proporciona un gusto completamente neutral y una excelente retención del polvo y una buena infusión (Anny y Luis 2011).

2.11. EMPAQUE FINAL.

Todo material de empaque debe cumplir con los siguientes requisitos:

- Máxima impermeabilidad posible a gases, luz y vapor de agua.
- Ser resistente frente a las posibles acciones de manipuleo que podrían poner en libertad algún componente del material de envase.
- No formar combinación con ningún componente del producto (Anny y Luis 2011).

Las exigencias que deben cumplir cierto tipo de envase son: Especies desecadas; cierta impermeabilidad frente al vapor de agua, altamente impermeable a los olores y opacos. Té; altamente impermeable al vapor del agua; opaco, impermeable a los olores (Anny y Luis 2011).

2.12. MODELO IN VITRO DPPH PARA EL ESTUDIO DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE.

La evaluación de la actividad antioxidante a través de fuentes generadoras de radicales libres, asume que la oxidación es inhibida en un alto porcentaje por la captura de éstos; por tanto, se enfoca en monitorear la capacidad de aditivos y extractos para la captura de radicales o la inhibición de su formación (Mozquera 2005).

Los métodos de ensayo más modernos para medir la actividad antioxidante mediante la capacidad de secuestro de radicales libres, son los ensayos de ABTS (ácido 2,2'azinobis-(3- etilbenzotiazolina)-6-sulfónico) y DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo). Debe mencionarse que estos métodos, para la medición de la actividad antioxidante, son medidos mediante absorbancia a diferente longitud de onda en el espectrofotómetro Ultravioleta Visible (UV/VIS) (Butterfield 2002).

Desarrollado por Brand Williams (1995), el método DPPH evalúa la capacidad que tiene un posible antioxidante para neutralizar un radical. El compuesto 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) es un radical estable que presenta una intensa coloración violeta y que absorbe radiación a 517 nm, de forma que su concentración se puede determinar mediante métodos espectrofotométricos. Siguiendo este ensayo se determina la concentración inicial de DPPH y la concentración resultante una vez que se ha añadido el posible antioxidante, de forma que una disminución de la absorción de radiación se traduce en una disminución de la concentración de DPPH debida a la cesión de electrones de la especie antioxidante (Rivero 2006).

2.13. PROCESO PARA LA OBTENCIÓN DE UNA INFUSIÓN FILTRANTE.

2.13.1. Cosecha.

Las plantas medicinales deben cosecharse durante la temporada o período óptimos para garantizar la obtención de material vegetal de uso medicinal y productos terminados de la mejor calidad posible. También recalca que la época de cosecha depende de la parte de la planta que sea de interés medicinal y que, si la cosecha se realiza en condiciones húmedas, el material cosechado debe transportarse inmediatamente a una planta de secado bajo techo para acelerar el secado y evitar así los posibles efectos perjudiciales de los niveles de humedad altos, que fomentan la fermentación microbiana y el enmohecimiento. Las hierbas se recolectarán cuando se presenten sanas y muy verdes. Es importante descartar sin titubeos toda planta marchita desecada por el sol estropeada o ennegrecida. La cosecha debe hacerse utilizando pequeños cuchillos bien afilados o tijeras de podar, con estos instrumentos se procurará limpiar a fin de evitar estropear las plantas (Tonguino 2011).

Los tallos deben ser recogidos al comienzo de la temporada invernal, las hojas deben recogerse en el momento de su pleno desarrollo, cuando la planta esté cubierta de botones o capullos, pero antes de la floración. (Cárdenas 2009).

Las plantas enteras jamás deben ser transportadas en sacos, donde corren el riesgo de sufrir un comienzo de fermentación (Cárdenas 2009).

Es importante cosechar las hojas cuando han llegado a la madures porque es el momento en que alcanzan el máximo peso seco, un indicador de que las hojas están maduras es cuando los pecíolos con el tallo forman un ángulo aproximadamente recto (Seminario 2003).

2.13.2. Selección y Limpieza.

Una vez recolectadas las plantas medicinales deben ser sometidas a un proceso de selección y limpieza cuidadosa, desechando las partes decoloradas, manchadas, enfermas o deterioradas por insectos, parásitos o microbios obtenidos durante la recolección. Con esta operación se busca eliminar los elementos físicos que no son propios de la materia prima a utilizar, que podrían alterar la calidad deseada del producto final (Caicedo y Otavalo 2007).

2.13.3. Lavado y Desinfección.

El material proveniente del campo suele tener alta contaminación microbiana, arrastrados durante todo el proceso, los propios de la planta, los del suelo y los del medio ambiente en que se desarrollan, además de los adquiridos por manipulación inadecuada. Se deben someter a operaciones previas antes del secado para reducir o en los mejores casos eliminar los elementos y agentes ya mencionados.

El lavado es una operación que consiste en aplicar agua potable a la parte de la planta que se va a deshidratar con el propósito de eliminar la tierra y otros materiales extraños. Mientras que Desinfección consiste en la eliminación de los microorganismos patógenos para el hombre por diferentes vías, hasta los niveles establecidos por las normas (Álvarez y Martínez 2004).

Para el lavado se trata el material con abundante agua potable, o sea, con ausencia de productos químicos y metales pesados, así como apta microbiológicamente, primero se hace por circulación continua y luego por inmersión en un recipiente o tanque de acero inoxidable que contiene agua con las características ya planteadas. Con esta operación se arrastra la tierra y cualquier materia extraña y con ello decrecen los microorganismos, pero para eliminar los contaminantes patógenos se requiere de la desinfección.

Puede darse por dos métodos: Químicos y físicos. La desinfección química utiliza el tratamiento con sales clorinadas como el hipoclorito de sodio o de calcio a diferentes concentraciones y tiempo de inmersión hasta la disminución de la contaminación a los niveles permisibles; se prefiere la sal de sodio por ser de más fácil dilución. Por otro lado, la desinfección física consiste en exponer el material a deshidratar a radiaciones gamma, este método se emplea cuando la desinfección química no resulta eficiente y cuando la entrega de material vegetal proviene de áreas tecnificadas donde el flujo de entrega es constante y la aparición de materias inorgánicas es poca (Acosta 2003).

2.13.4. Secado.

El secado es la operación por medio de la cual se extrae humedad de un sólido, involucrando transferencia de masa y calor simultáneamente. La transferencia de masa en el secado se efectúa en la forma de flujo de líquido y de vapor dentro del sólido y en forma de flujo de vapor desde las superficies externas húmedas.

El estudio de la adecuada regulación del secado incluye una serie de factores como la temperatura empleada, la humedad relativa del aire, el método de secado, la velocidad del aire y la duración del secado. El manejo adecuado de estos factores es importante ya que determinan el secado correcto para cada producto. El secado rápido ocasiona endurecimiento en la capa superficial del material y humedad en su interior e impide que se produzca una correcta deshidratación. El secado lento ocasiona un gasto energético alto por el tiempo (Torres 2011).

La temperatura de secado es determinada por la sensibilidad de los principios activos de la planta, por lo tanto, para cada especie, tiene una temperatura ideal de secado. Por todo esto algunos investigadores estudian el efecto del secado sobre la calidad y cantidad de aceite esencial extraído en determinadas plantas. El secado es el paso más importante para lograr un producto de óptima calidad, ya que de este depende que el producto esté en condiciones de comercializarse, consumirse y conservase por períodos prolongados (1-2 años las hojas y flores y 2-3 años las cortezas y rizomas). Lo óptimo es secar el material a un 10% de humedad. El secado de debe llevarse a cabo hasta que el producto llegue a tener un contenido de agua máximo de 12%, según la especie y la parte de la planta que estemos secando (Cárdenas 2009).

2.13.5. Molienda.

La molienda es una operación unitaria que reduce el volumen promedio de las partículas de una muestra sólida. La reducción se lleva a cabo dividiendo o fraccionando la muestra por medios mecánicos hasta el tamaño deseado. Este método se hace también con el fin de homogeneizar el material a utilizar, ya que muchas veces los compuestos de interés se encuentran distribuidos heterogéneamente en un mismo órgano vegetal (Torres 2011).

2.13.6. Tamizado.

Es una operación unitaria destinada a la separación por tamaños de partículas de una mezcla sólida. Se basa en hacer pasar las partículas de menor tamaño a través de una malla de paso definido (luz de malla). Las partículas se clasifican así en cernido o partículas que atraviesan la malla, y rechazo, que quedan retenidas (Costa 2004).

Las mallas de los tamices están construidas con materiales metálicos o plásticos y sus dimensiones están normalizados (normas ASTM, DIN. Tyler).

2.13.7. Empaque de plantas medicinales.

El material del envase debe ser resistente e inerte a la acción del

producto y no debe alterar las características del mismo. El embalaje debe hacerse en condiciones que mantengan las características del producto durante el almacenamiento, transporte y expendio (Tonguino 2011).

El envasado de los productos alimenticios viene a darse como el resultado de una necesidad del producto de aumentar la vida útil para dar al consumidor productos de primera calidad y libre de patógenos que puedan dañar la salud humana.

El material usado para envasar plantas deshidratadas debe cumplir ciertos requisitos como tener una máxima impermeabilidad posible a gases, luz y vapor de agua; ser resistentes frente a las posibles acciones de las especias molidas, que podrían poner en libertad algún componente del material de envase; y no formar combinación con ningún componente del producto (Tonguino 2010).

El material de empaque debe guardarse en lugares limpios y secos, libre de plagas y de animales domésticos. Para el caso de la elaboración de infusiones filtrantes de plantas medicinales, el producto ya seco y molido se envasa en proporciones pequeñas en bolsitas para té.

La bolsita para té o saquito de té es una bolsa pequeña sellada de papel poroso, seda o nailon conteniendo hojas molidas de la planta medicinal deshidratada. La bolsita mantiene el producto dentro mientras se hace la infusión, por lo que resulta más fácil retirar las hojas, realizando así la misma función que un infusor de té. Algunas bolsitas para infusión filtrante tienen unida un trozo de cordel con una etiqueta de papel en su extremo para facilitar su retirada y también identificar la variedad de la planta medicinal.

El envasado se debe realizar en condiciones higiénicas. El material utilizado se tiene que almacenar en condiciones de limpieza. Los envases se deben rotular en forma clara y precisa según las normas vigentes. Los envases deben estar en buen estado y secos, y ser apropiados para el producto como para las condiciones de almacenamiento (Dellacassa 2010).

2.14. CARACTERÍCTICAS DE UNA INFUSIÓN FILTRANTE.

Las características de una infusión filtrante van a depender del tipo de planta de la que está elaborada y del tipo de proceso seguido para obtenerla. (Cárdenas 2009).

El conjunto de estas características, únicas de cada infusión, son las que determinan la preferencia del consumidor, en la que se tomara en cuenta características generales, físicas, microbiológicas y organolépticas

Cuando se usan plantas medicinales tendremos en cuenta la dosificación, el tiempo en reposo con el agua caliente adecuados y si existen contraindicaciones para cada planta.

2.14.1. Características externas.

Cada saquito está diseñado de papel filtro termosellable de calidad, blanco, transparente, resistente al agua hervida, el cual se le añade un hilo de algodón y una etiqueta. Estas características incluyen la presentación comercial de la infusión.

En ellas se consideran el empleo de materiales adecuados como:

Papel filtro: Deberá ser termosellable en la parte exterior y deberá mantener herméticamente a la planta medicinal ya seca, molida y tamizada. Por lo general el peso del contenido del producto es de 1 g por bolsita filtrante.

El papel filtro en la actualidad, es un material que se emplea en muchos aspectos de la vida para purificar o diluir una sustancia.

En este caso, al igual que los tés de infusión, el papel filtro que se utilizara para extraer el sabor y el color de la infusión molido a través de agua caliente. De este modo, se separa la sustancia líquida del polvo que no se consume.

Puesto que estas infusiones sólo se pueden obtener al pasarlas por

agua caliente, el papel de filtro que se va envasar la infusión que son resistentes a las altas temperaturas.

- Hilo: El hilo debe de ser de color blanco, en lo posible sin nudos y de 20 cm de largo.
- Etiquetas: Con las etiquetas se busca identificar la marca del producto. Por lo general se ponen al final del hilo y como estuche del producto.

2.14.2. Características de composición.

Las hierbas aromáticas deben estar limpias y exentas de materia extraña. Por lo general no debe contener más de 12 % de otras partes del vegetal exentas de propiedades aromatizantes y saborizantes (Cárdenas 2009).

Las plantas medicinales deben contener los compuestos activos que caracteriza a cada una.

2.14.3. Características organolépticas.

Sabor, color y aroma característico de la especie de planta utilizada, para la elaboración de infusión; no presentara olores desagradables.

2.14.4. Características físico químicas.

Humedad máxima 10%.

2.14.5. Características microbiológicas.

La infusión filtrante debe estar elaborada considerando que el producto final tenga niveles permisibles de carga microbiana, con este fin se busca no afectar la salud del consumidor. Estos niveles los establecen las normas técnicas de cada país (Cárdenas 2009).

2.14.6. Empaque.

Cada filtrante contiene 1.0 g de infusión envuelto en papel filtro termosellable. Cada filtrante se encuentra individualmente sobre envasado por una cubierta de papel trilaminado.

2.14.7. Sobre empaque.

Cajas de cartón frobi con 25 o 100 sobres filtrantes, las cuales son celofanadas y puestas en paquetes de 40 o 10 unidades respectivamente.

2.14.8. Rotulado.

Nombre del producto y Marca, Ingredientes, Nombre y dirección del fabricante, Número de registro sanitario, Recomendación para conservar el producto, Instrucciones para su uso, Lote (N° producto - Fecha de producción (dd/mm/aa)), Fecha de vencimiento (mm/aaaa), Peso Neto, Servicio al Consumidor y Código de Barras.

2.14.9. Vida útil.

24 meses.

III. MATERIALES Y MÉTODOS.

3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN.

El presente trabajo se realizó en los siguientes lugares:

Las hojas de achiote (*Bixa Orellana L.*) se recolectó en el caserío “San Juan”, a tres horas río arriba del río Ucayali.

El análisis de pH, de humedad y de acidez se realizaron en el laboratorio de suelos de la Universidad Nacional de Ucayali.

Asimismo, el secado de las hojas de achiote en sus tres tratamientos con sus respectivas repeticiones y su posterior molienda se realizó en el laboratorio de suelos de la Universidad Nacional de Ucayali, así mismo el tamizado, la elaboración de los filtrantes y el análisis sensorial de la infusión final, se llevaron a cabo en el mismo laboratorio de la Universidad Nacional de Ucayali (UNU); ubicado en la Carretera Federico Basadre Km 6.200, distrito de Callería, provincia de Coronel Portillo, departamento de Ucayali, con coordenadas: latitud de - 8.396699° y longitud de -74.586368° (Google Maps 2017).

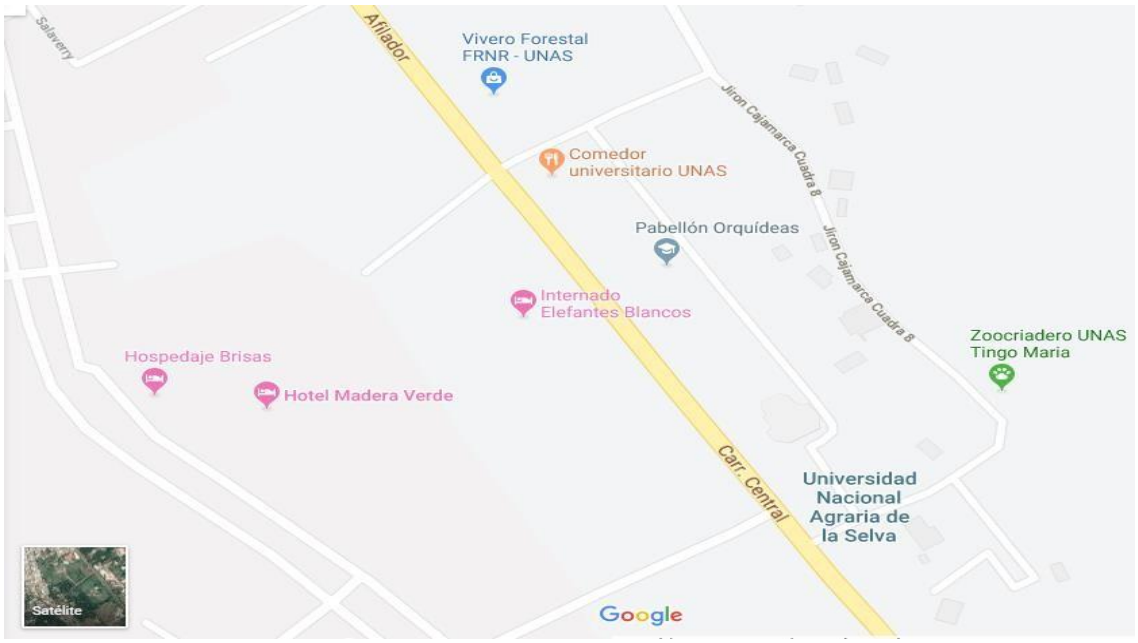


Fuente: Google Maps (2017).

Figura 3. Ubicación geográfica de la Universidad Nacional de Ucayali.

La evaluación de la actividad antioxidante y polifenoles, fue realizada en el Centro de Investigación para el Desarrollo Biotecnológico de la Amazonía (CIDBAM), de la Universidad Nacional Agraria de la Selva (UNAS), ubicada en

el distrito de Rupa Rupa, provincia de Leoncio Prado, región Huánuco; cuyas coordenadas son: Este: 390368, Norte: 8971142 Google Maps (2017) y a una altitud de 660 msnm con clima tropical húmedo y con una HR de 84% y temperatura media de 25 ºC.



Fuente: Google Maps (2017).

Figura 4. Ubicación geográfica de la Universidad Nacional Agraria de La Selva.

3.2. MATERIALES Y EQUIPOS.

3.2.1. Materia prima.

Hojas de achiote *(Bixa orellana L.)*.

3.2.2. Materiales para colectar la muestra.

Registro de campo y taper transparente hermético.

3.2.3. Materiales de laboratorio.

Cubetas de poliestireno (1 mL), tubos de vidrios, micropipetas (1000 µL, 200 µL, 100 µL), pipetas, tips, probetas (25 mL, 1000 mL), bureta, vasos precipitados (1000 mL, 250 mL y 500 mL), termómetro, papel filtro termosellable, pizeta, crisoles, espátula, tinas de plástico, tazas de infusión, bolsas plásticas con cierre hermético (ziploc), tijeras, hilo de torsión nula de color blanco, matraz, recogedor magnético, magneto y papel trilaminado.

3.2.4. Indumentaria.

Guantes, mascarilla, cofia, botas y mandil.

3.2.5. Insumos.

Agua y agua tratada.

3.2.6. Equipos.

Balanza analítica de peso min: 0.0001 g. y máx: 220 g (Pioner), balanza de precisión de peso min: 0.01 g. y máx: 3.200 g (Kossodo), estufa de marca Fisher y de temperatura min: 0º a máx: 200º, molino de mesa tipo helicoidal, centrífuga, espectrofotómetro UV- Visible, pH-metro, cocina eléctrica (Miray), campana desecadora y agitador magnético de 540 w con 50/60 Hz.

3.2.7. Reactivos y Soluciones.

Hipoclorito de sodio al 5%, solución del radical libre estable radical 2,2-diphenyl-I-picrilhydrazyl (DPPH), agua destilada, 95% Etanol, 90% Etanol, cinta de magnesio, HCl concentrado, NaOH (0.01N), fenoftaleina, (+)-Ácido Gálico, solución de fenol de Folin – Ciocalteu y carbonato de sodio ($NaCO_3$).

3.3. MÉTODOS.

La metodología que se utilizó para el trabajo de investigación se describe seguidamente:

3.3.1. Análisis a las hojas de achiote.

3.3.1.1. Determinación del porcentaje de humedad.

Se determinó el porcentaje de humedad, llevando la muestra a la estufa según el método AOAC 925.10 (1990). Se mantuvo en la estufa por 24 horas a 105 °C, se anotó el peso inicial y el peso final tras el secado, para obtener el porcentaje de humedad.

$$\% \, Humedad = \frac{M2 - M3}{M2 - M1} \times 100$$

Dónde:

M1= masa de la capsula vacía en gramos.
M2= masa de la capsula más la muestra antes del secado en gramos.
M3= masa de la capsula más la muestra después del secado en gramos.

3.3.1.2. Método para determinar pH.

Para la medición del pH se usó un potenciómetro (Orion 420-A, Estados Unidos), previa calibración del potenciómetro, se enjuagó el electrodo con agua destilada y se secó cuidadosamente, el potenciómetro se calibró con buffer pH 7 y buffer pH 4, posteriormente el electrodo se introdujo en la muestra y se leyó el pH, las determinaciones se hicieron por triplicado (Moreno 2003).

3.3.1.3. Método para determinar acidez titulable.

La acidez titulable se determinó por triplicado por el método AOAC (2000) 939.05. La acidez se realizó con la muestra diluida con agua destilada. La determinación se hizo por titulación con una solución valorada de hidróxido de sodio 0.1 N, se transfirieron 10 mL de la muestra a un matraz estándar y se adicionó 4 gotas de solución de fenolftaleína. Posteriormente se tituló la muestra hasta que se mantuvo el vire al color rosa por 1 minuto. La acidez titulable es expresada como porcentaje de ácido abscísico y es calculada por medio de:

$$\%\ acidez = \frac{g\ ácido \times}{100\ mL\ muestra}$$

$$\%acidez = \frac{V_{NaOH} * N_{NaOH} * meq_{àcidoX} * 100}{V}$$

Dónde:

V_{NaOH} = Volumen de NaOH usado para la titulación.

N_{NaOh} = Normalidad del NaOH.

$meq_{àcidox}$= Miliequivalentes de ácido.

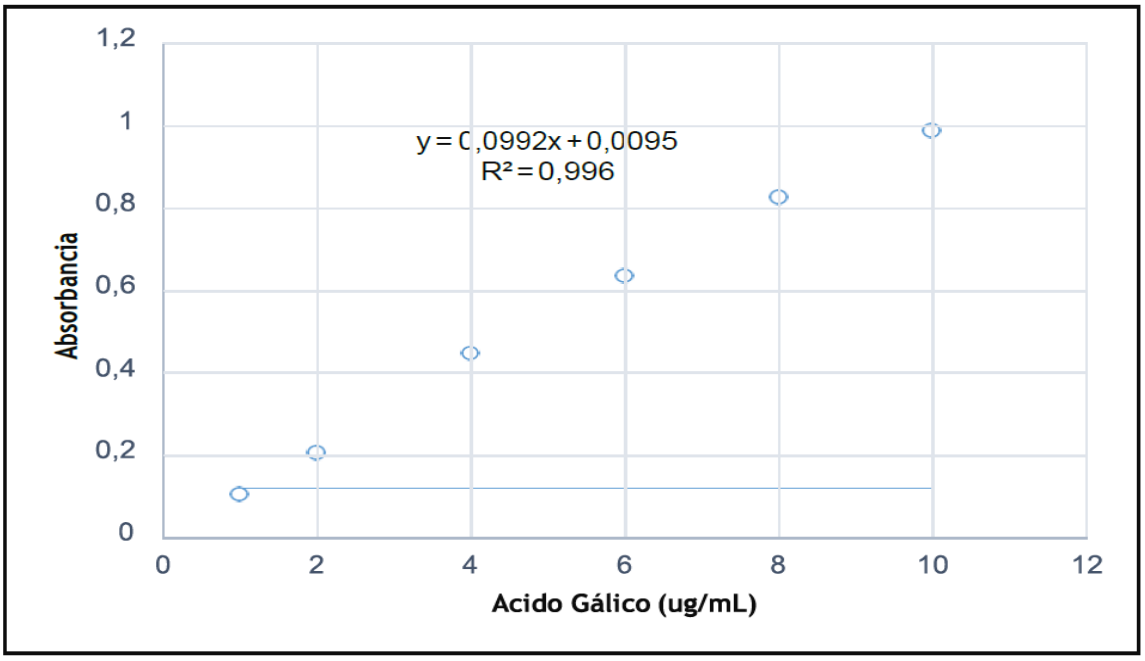
3.3.1.4. Polifenoles.

- Preparar las siguientes soluciones stocks:

$NaCO_3$ al 20% 100 mL

Ácido Gálico 1000 µg/mL 10 mL

- Agregar a cada tubo 20 µl de agua destilada (blanco), o estándar, o muestra; luego 1580 µL de agua destilada desionizada (ddH_2O). Vortear ligeramente.
- Luego agregar 100 µL de la solución de fenol Folin-Ciocalteu. Mezclar nuevamente.
- Incubar por 1 minuto a temperatura de ambiente.
- Para neutralizar la reacción agregar 300 µL de $NaCO_3$ al 20%.
- Las muestras, controles o estándares deben ser corridos en triplicados para mayor precisión y reproducibilidad en los resultados.
- Incubar por 2 horas a temperatura de ambiente, tiempo en el que hay una completa reacción.
- Para determinar la cantidad de compuestos fenólicos producidos durante la reacción, agregar 1 mL de muestra, control o estándar en una cubeta de poliestireno (1 cm x 1 cm x 4.5 cm) y leer la absorbancia por espectrofotómetro a 740 nm.
- Determinar el contenido de fenoles totales a partir de una curva estándar generada por las absorbancias obtenidas con el estándar Ácido Gálico a 740 nm**.**



Fuente: CIDBAM.

3.3.1.5. Evaluación de la Actividad Antioxidante, método de 2,2-Difenil-1-picrilhidrazil (DPPH).

El radical libre y estable 2,2-Difenil-1-picrilhidraizil (DPPH) es un indicador para medir capacidad de secuestro de cualquier compuesto con actividad antioxidativa. Su mecanismo de reacción consiste en la sustracción de un átomo de hidrógeno proveniente de un donador (ej. compuesto fenólico) para generar el compuesto difenilpicrilhidrazine y una especie radical (ej. radical fenoxil). La reacción desarrolla un cambio de color violeta a amarillo a medida que disminuye la absorbancia a 515 nm. La reducción de DPPH sigue la siguiente reacción:

$DPPH^{o} + AH \rightarrow DPPH + A^{o}$
$DPPH^{o} + R^{o} \rightarrow DPPH\text{-}R$
$DPPH^{o}$: Forma radical de DPPH.
AH: Antioxidante.
R^{o}: Especies radicales.

Procedimiento.

Preparar las siguientes soluciones stock en agua destilada desionizada (*Ver Lista de reactivos y pesos moleculares*).

Soluciones.

Solución Stock Trolox a 2mM (Estándar) 10 ml
Solución Stock 1 mM DPPH en 95% Etanol 100 ml
Solución de trabajo de DPPH 100 µM en 95% Etanol 50 ml

Luego de preparar la solución de DPPH vortear por 2-3 minutos hasta una completa solubilización del compuesto. Almacenar a 4 ºC protegido de la luz. Una vez preparado la solución stock se recomienda hacer uso de ello por una semana, luego descartar.

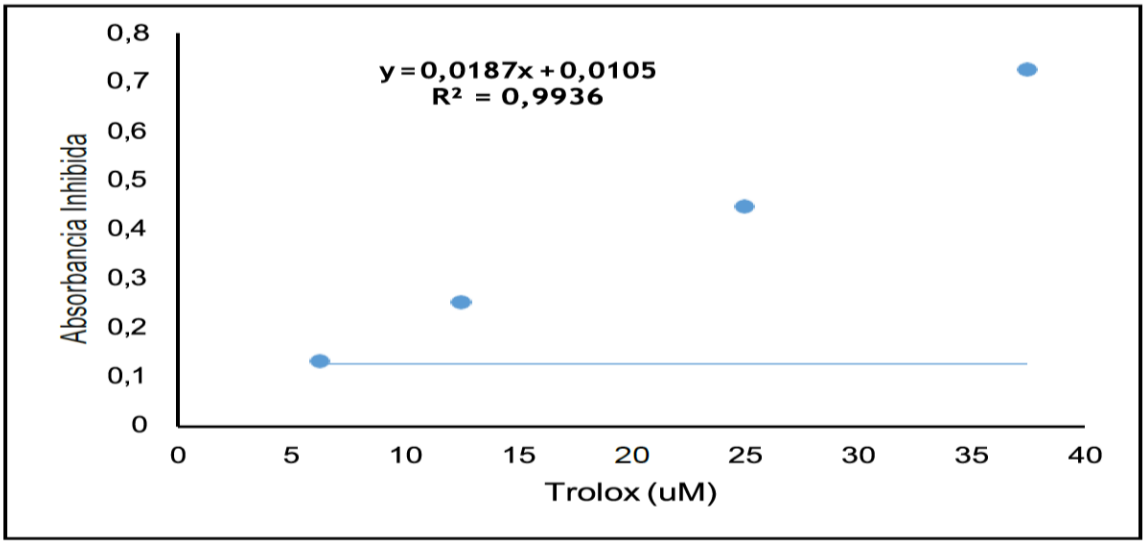
A partir de la solución stock preparar 50 mL de 100 µM DPPH en 95% etanol, como concentración final para medir la capacidad de secuestro de las muestras experimentales.

Las concentraciones finales de DPPH pueden variar de acuerdo al investigador y a las condiciones del experimento. Se sugiere utilizar concentraciones entre (50 –100 uM).

Agregar 25 µL de muestra a 975 µL de la solución de DPPH en una cubeta de poliestireno (1 cm x 1 cm x 4.5 cm).

La inhibición de los radicales libres $DPPH^{+o}$ es determinado por la decoloración de la solución de violeta a amarillo, el cual es medido por espectrofotometría a 515 nm durante un tiempo de 10 minutos o hasta que se observe un valor de absorbancia constante. El valor de absorbancia se comparará con una curva de Trolox en concentraciones entre 0,25 - 1.5 mM y los resultados se expresarán en mg de Trolox equivalente (TE) por 100 mL de infusión y mg de Trolox equivalente (TE) por 100 g de muestra seca.

Las muestras y los controles deben correrse 3 réplicas como mínimo para conseguir una mejor precisión y reproducibilidad de datos.



Fuente: CIDBAM.

3.3.1.6. Análisis sensorial.

Se utilizó la Prueba F de Snedecor Aplicada a una Categorización Cuantitativa Absoluta descrito por (Ureña 1999). De esta manera se evaluó la intensidad de los atributos (color, olor y sabor).

3.4. ELABORACIÓN DE FILTRANTE DE LAS HOJAS DE ACHIOTE.

Para la elaboración de los filtrantes de la hoja de achiote se tomó como referencia los pasos propuestos en la investigación de Tonguino (2011), Saavedra y Zurita (2013), el diagrama de bloques se muestra en la figura 5.

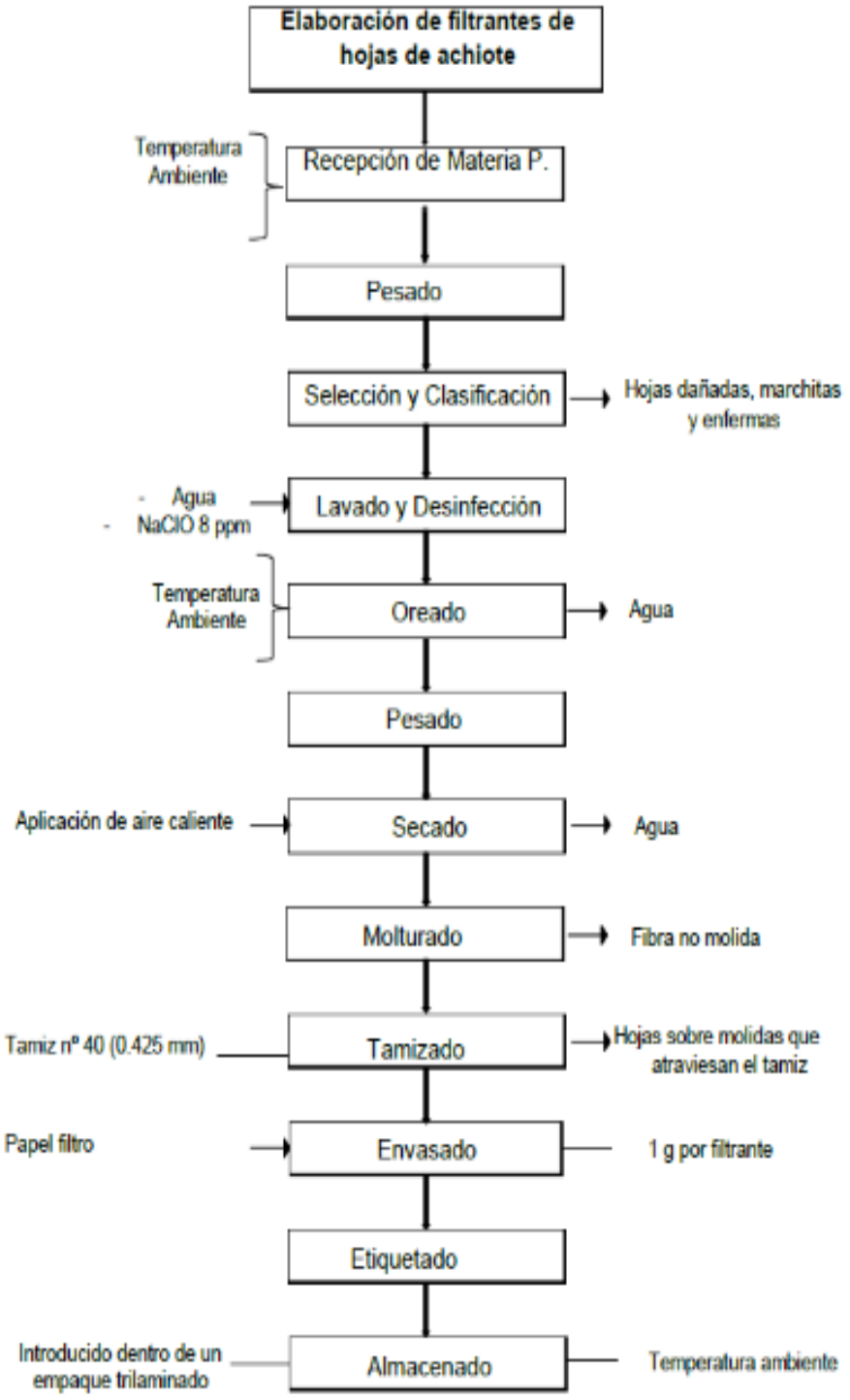


Figura 5. Diagrama del proceso de elaboración de la infusión filtrante.

3.5. DESCRIPCIÓN DEL PROCESO.

3.5.1. Recepción de materia prima.

Se tomaron en cuenta que las hojas recepcionadas estén exceptos de materias extrañas, hongos, polvo blanco, insectos; pero sobre todo estas deben estar en estado fresco.

3.5.2. Pesado.

Peso de la materia prima, para obtener rendimientos; realizado en una balanza de precisión.

3.5.3. Selección y clasificación.

Con la finalidad de separar la materia prima que se encuentra en un estado de deterioro, de aquellas que, si se encuentran en un buen estado para la realización de un producto determinado, separando la materia prima que se encuentre con insectos, hongos, materias extrañas, entre otros y que estas estén uniformes. Esta operación se realizó en una mesa del laboratorio de suelos, el cual este fue de mayólica.

3.5.4. Lavado y desinfección.

Las hojas seleccionadas y clasificadas se realizaron un posterior lavado con agua potable y luego se sumergieron en un balde 10 L de capacidad de agua potable; para luego sumergir estas hojas en un balde con agua tratada de 5 L a 8ppm, por un tiempo de 3 min, para retirarlas y frotarlas con paños suaves hasta eliminar toda materia extraña, como el polvo.

3.5.5. Oreado.

Se realizó antes del secado, con el propósito de eliminar el agua absorbida en el lavado y desinfección. Esta operación se realizó en una mesa del laboratorio de suelos, para eliminar el agua ganado.

3.5.6. Pesado.

Se pesó la materia prima obtenida luego de las operaciones de lavado y oreado; el pesado se realizó con una balanza de precisión.

3.5.7. Secado.

El secado se describe como un proceso de eliminación de substancias volátiles (humedad) para producir un producto sólido y seco. La humedad se presenta como una solución líquida dentro del sólido; en la microestructura del mismo.

La determinación de secado en estufa se basa en la pérdida de peso de la muestra por evaporación del agua. Para esto se requiere que la muestra sea térmicamente estable y que no contenga una cantidad significativa de compuestos volátiles. El principio operacional del método de determinación de humedad utilizando estufa y balanza analítica, incluye la preparación de la muestra, pesado, secado, enfriado y pesado nuevamente de la muestra (Nollet 1996).

En este proceso se colocaron las hojas ya pesadas, en unas bandejas de aluminio, con el fin de eliminar el agua hasta obtener un peso constante. Se realizó el secado en una estufa del laboratorio de suelos, de la Universidad Nacional de Ucayali. Este secado se realizó en diferentes temperaturas; 30º, 35º y 40º.

3.5.8. Molienda.

Es una operación unitaria que reduce el volumen promedio de las partículas de una muestra sólida. Generalmente se habla de molienda cuando se tratan partículas de tamaños inferiores a 1" (1" = 2.54 cm) siendo el grado de desintegración mayor al de trituración.

La reducción se lleva a cabo dividiendo o fraccionando la muestra por medios mecánicos hasta el tamaño deseado. Los métodos de reducción más empleados en las máquinas de molienda son compresión, impacto, rotamiento de cizalla y cortado.

Las hojas de achiote se sometieron a una reducción de tamaño, con el objetivo de ampliar el área, pero sin pulverizar tanto la muestra secada.

3.5.9. Tamizado.

Esta operación consistió en separar el producto molido del sobre molido (pulverizado), con el objetivo de no causar mal sabor al filtrante por elaborar, el tamiz utilizado fue el Nº 40.

3.5.10. Envasado.

Para darle una característica al filtrante, se envasaron en paquetitos de papel filtrante termosellable, con unas sogas de 20 cm de hilo de torsión nula de color blanco.

Para ser los paquetitos de papel filtro, estas se midieron 6 cm x 6 cm, en forma cuadrada. Sellando primero los lados laterales y posteriormente la parte inferior, con ayuda de la selladora eléctrica de impulso (manual), aplicando una fuerte presión, con el objetivo de obtener un sellado hermético.

Los paquetitos se llenaron con la muestra ya molida y tamizada, con un peso de 1 g, una vez obtenida todos los pesos de los paquetitos, se procedió a colocar el hilo de torsión nula de color blanco dentro del paquetito, para posteriormente sellarlo.

Después de haber realizado los paquetitos de filtrantes de hoja de achiote, estas se sometieron a un último envasado dentro de un papel trilaminado, que midieron 7 cm x 7 cm, selladas por completo para su posterior almacenamiento.

3.5.11. Etiquetado.

Esta operación se realizó con la finalidad de presentar mejor el producto ya terminado. Colocando toda la información necesaria para que el consumidor final pueda saber todo acerca de esta infusión filtrante.





3.5.12. Almacenado.

El producto envasado dentro de los paquetitos, fueron almacenados dentro de un papel trilamido, a su vez estas fueron introducidas dentro de una bolsa ziploc con cierre hermético, colocadas en un ambiente fresco, para mantener sus características fisicoquímicas y organolépticas del producto.

3.6. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LA INFUSIÓN FILTRANTE DE LA HOJA DE ACHIOTE.

Para la evaluación de la actividad antioxidante se utilizó el método descrito por Brand Williams (1995) del radical 2,2-diphenyl-I-picrilhydrazyl (DPPH*).* En primer lugar, se preparó 10 mL de solución stock de DPPH a 1mM en etanol al 70%; a partir de ésta solución se preparó 50 mL de DPPH a 100 µM en etanol al 70%.

Luego se procedió a preparar la infusión, la preparación de las muestras consistió en colocar un filtrante de 1 g en vasos precipitados con 150 ml de agua según Cerrano (2015), a una temperatura de 80 °C por un tiempo de 3 minutos según La Vanguardia (2013); los vasos fueron cubiertos con luna de reloj como tapa para no perder compuestos activos.

En una cubeta de poliestireno se adicionó 25 µL de la infusión y 975 µL de solución DPPH a 100 µM, un total de 1000 µL teniendo un factor de dilución de la reacción de 40.

Se realizó la lectura en un espectrofotómetro de UV/VIS a 515 nm con intervalos de 30s por un tiempo de 10 min.

3.7. ANÁLISIS ORGANOLÉPTICO DE LA INFUSIÓN FILTRANTE DE LA HOJA DE ACHIOTE.

A la infusión filtrante no se le agregó ningún aditivo ni acompañante, con el fin de no distraer la percepción de los sentidos. Como también a cada panelista se le entregó un vaso de agua, a temperatura ambiente, con el fin de enjuagarse

la boca.

Las características que se evaluaron fueron: color, sabor y olor; mediante fichas de evaluación sensorial a una escala hedónica, cuyas intensidades variaron de 1 a 5.

A mayor intensidad, este marcara el mayor puntaje; según sea el agrado o disconformidad del panelista no entrenado. La ficha de evaluación sensorial que se entregaron, se muestra en el anexo.

3.8. DISEÑO ESTADÍSTICO DE LA INVESTIGACIÓN.

3.8.1. Evaluación paramétrica.

3.8.1.1. Modelo matemático.

$$Yij = \mu + \tau i + \varepsilon ij$$

Donde:

- Yij: Resultado del "i" sujeto bajo el "i" tratamiento.
- μ: Media común de todos los datos del experimento.
- τi: Efecto del "i" tratamiento.
- εij: Error experimental o efecto aleatorio de muestreo.

3.8.1.2. Análisis de Varianza DCA.

Se realizó de manera aleatoria la designación y el orden de los tratamientos.

Cuadro 2. Tratamientos en estudio.

TRATAMIENTO	TEMPERATURA DE SECADO
T1	30 ºC
T2	35 ºC
T3	40 ºC

Se realizó de manera aleatoria la designación de tres tratamientos y tres repeticiones.

Cuadro 3. Tratamientos y repeticiones.

TRATAMIENTO	REPETICIONES		
	1	2	3
T1: 30 ºC	R1	R2	R3
T2: 35 ºC	R1	R2	R3
T3: 40 ºC	R1	R2	R3

3.8.1.3. Análisis de datos.

Se realizaron las pruebas estadísticas: Prueba de DCA, y Prueba de comparación múltiple de medias de Tukey a un nivel de significación de 5%, para determinar el grado de variabilidad entre tratamientos en estudio.

Para el tratamiento de los datos se empleó el software estadístico Microsoft Excel y Statgraphics XV Centurión, además, para la presentación y gráfico de los datos se realizó mediante Microsoft Word.

3.8.2. Evaluación no paramétrica para la evaluación no sensorial.

3.8.2.1. Modelo matemático.

Se utilizó el modelo de TUKEY.

$$W_{ij} = q \times \sqrt{\frac{CME}{2}\left[\frac{1}{r_i + r_j}\right]}$$

Dónde:

W_{ij}= Comparador para el par de tratamientos i, j.

q = Valor de la tabla de Tukey, con grados de libertad de tratamientos y grados de libertad del error.

CME= Cuadrado medio del error.

r_i y r_j = Son las repeticiones de los tratamientos i, j.

3.8.2.2. Análisis de datos.

Los tratamientos se aplicaron a 20 panelistas no entrenados, completamente al azar, para el tratamiento de los datos se empleó el software estadístico Statgraphics XV Centurión.

3.8.3. Tipo de investigación.

Investigación experimental cuantitativa.

3.8.4. Población y muestra.

La población de las hojas de achiote (*Bixa Orellana L*.) para el presente trabajo de investigación corresponde a la disposición del pueblo del caserío de San Juan, ubicado aguas arriba del río Ucayali, la cual cuenta con 10 árboles adultos con gran frondosidad y altura. De esta población se tomó una muestra que corresponde a 3 kg para los tres tratamientos.

3.9. MEDICIÓN DE LAS VARIABLES INDEPENDIENTES Y DEPENDIENTES.

3.9.1. Variable Independiente

- Temperatura de secado
  T1: 30 ºC
  T2: 35 °C
  T3: 40 °C

3.9.2. Variable Dependiente.

- La Actividad antioxidante de la infusión filtrante de las hojas de achiote (*Bixa Orellana* L.).
- Polifenoles totales de la infusión filtrante de la hoja de achiote (*Bixa Orellana* L.).
- Acidez titulable del filtrante de la hoja de achiote.
- pH del filtrante de la hoja de achiote.
- Análisis sensorial de la infusión de las hojas de achiote: Olor, sabor y color.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

4.1. ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA) PARA pH POR TEMPERATURA.

En el cuadro 4, se observa el ANOVA para pH por temperatura de las hojas de achiote.

Cuadro 4. ANOVA para pH por temperatura de las hojas.

Fuente	S. C.	gl	C. M.	Fc	Pv
Tratamientos	0.128	2	0.064	14.84	0.005
Error experimental	0.026	6	0.004		
Total	0.154	8			

Fuente: Software estadístico Statgraphics XV Centurión.

Ya que el valor-P de la prueba-F es menor a 0.05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media del pH entre un nivel de temperatura y otro, con un nivel del 95.0% de confianza. Para determinar cuáles de las medias son significativamente diferentes de otras, se usó la prueba de Tukey al 95.0% de confianza.

4.2. PRUEBAS DE MÚLTIPLE RANGOS PARA pH POR TEMPERATURA DE LAS HOJAS DE ACHIOTE.

En el cuadro 5, se observa las pruebas múltiples para pH por temperatura de las hojas de achiote.

Cuadro 5. Comparación múltiple de Tukey para el pH en función a la temperatura.

Temperatura	Casos	Media [1]
40 °C	3	4.01 ± 0.11 [a]
35 °C	3	4.06 ± 0.02 [a]
30 °C	3	4.28 ± 0.02 [b]

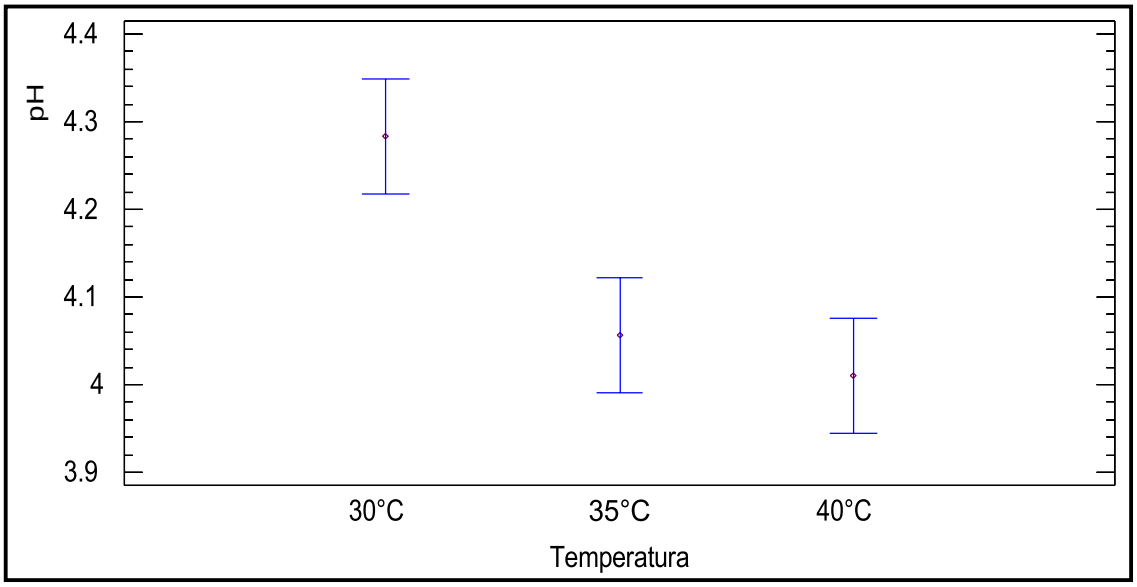
Fuente: Software estadístico Statgraphics XV Centurión.

[1] Los resultados corresponden a la media ± S.D. para n= 3.
Letras diferentes indican diferencia significativa.

La prueba de Tukey nos muestra que hay diferencia significativa entre la temperatura de 30 ºC y 40 ºC en cuanto al pH con un 95.0% de confianza. En cambio, se nota que no hay diferencia significativa entre la temperatura de 35 ºC y 40 ºC, dando a entender que esto nos muestra que la temperatura tiene relación con el pH, ya que esta es afectada según se disminuya o aumente la temperatura. Confirmando lo dicho por Domingo Giribaldo (1930). De modo que, según este modo de expresar la reacción, la acidez de un medio es tanto mayor cuanto menor es su pH. Pero esta consecuencia no es siempre cierta, pues está condicionada a la temperatura. Para que no haya error en el enunciado de este principio, es necesario agregar: “a una temperatura dada”, porque la reacción correspondiente a un pH determinado depende de la temperatura. Así, por ejemplo, el pH=6 puede corresponder a la misma reacción que el pH=7, si el primero ha sido determinado a la temperatura de 100” y el segundo, a la temperatura de 22º.

4.3. COMPORTAMIENTO DEL pH CON LA TEMPERATURA DE LAS HOJAS DE ACHIOTE.

En la figura 6, se observa el comportamiento del pH con la temperatura de las hojas de achiote.



Fuente: Software estadístico Statgraphics XV Centurión.

Figura 6. Comportamiento del pH para cada temperatura.

Al observar la figura, podemos ver que el tratamiento 1, que es a una temperatura de 30 ºC que tiene el mayor pH en relación con la temperatura, ya que esta se encuentra en un rango de 4,18 – 4,40. Estos resultados fueron similares a las que obtuvieron Fernández (2013), en cuanto al aprovechamiento de orujo de uva borgoña negra (Vitis labrusca) en bolsa filtrante y stevia (Stevia rebaudiana Bertoni) (Reyes 2015).

4.4. ANOVA PARA ACIDEZ POR TEMPERATURA DE LAS HOJAS DE ACHIOTE.

En el cuadro 6, se observa el ANOVA para acidez por temperatura de las hojas de las hojas de achiote.

Cuadro 6. ANOVA para acidez por temperatura.

Fuente	S. C.	gl	C. M.	Fc	Pv
Tratamientos	2.20	2	1.10	28.31	0.0009
Error Experimental	0.23	6	0.04		
Total (Corr.)	2.43	8			

Fuente: Software estadístico Statgraphics XV Centurión.

El análisis de varianza muestra que el valor “P” de la prueba “F” es menor que 0.05, con este resultado se rechaza la hipótesis nula. Después de haber realizado el experimento y las pruebas estadísticas correspondientes al análisis de varianza, utilizando un 95% del nivel de confianza. Se puede asumir que las diferentes temperaturas utilizadas al elaborar la infusión filtrante, tiene un efecto estadísticamente significativo en cuanto a la acidez.

4.5. PRUEBAS DE MÚLTIPLE RANGOS PARA ACIDEZ POR TEMPERATURA DE LAS HOJAS DE ACHIOTE.

En el cuadro 7, se observa las pruebas múltiples para acidez por temperatura de las hojas de achiote.

Cuadro 7. Comparación múltiple de Tukey para la acidez en función de la temperatura.

Temperatura	Casos	Media [1]
35 °C	3	1.93 ± 0.2 a
40 °C	3	2.23 ± 0.15a
30 °C	3	3.1 ± 0.23b

Fuente: Software estadístico Statgraphics XV Centurión.

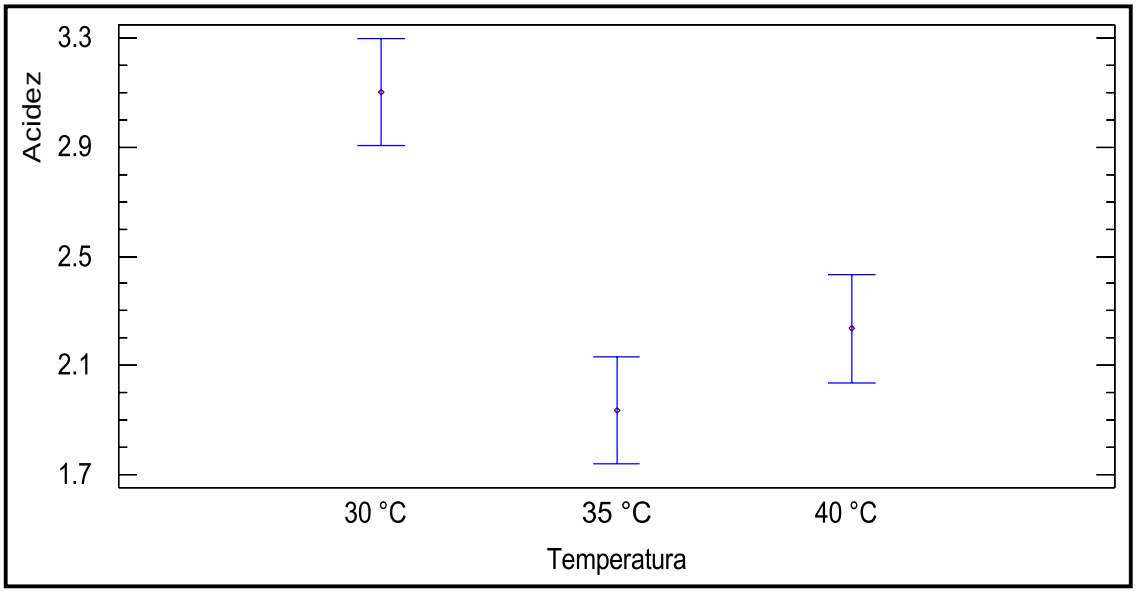
[1] Los resultados corresponden a la media ± S.D. para n= 3.
Letras diferentes indican diferencia significativa.

Ya que se encontró diferencias significativas ahora se tiene que determinar cuál de las medias son significativamente diferentes de otras, para esto se aplica la prueba de Tukey con un nivel de confianza de un 95.0%.

Se pudo determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. Estamos hablando de los tratamientos T1 (30 °C) y el T3 (40 °C) estos exhiben una diferencia estadísticamente significativa con un nivel de confianza del 95.0%. Esto quiere decir que la temperatura utilizada influye en el resultado de la acidez ya que existe diferencia estadísticamente significativa entre 30 °C y 40 °C, el mismo resultado se obtiene al comparar las temperaturas de 30 °C con 35 °C, sin embargo entre estos dos grupos se puede identificar que la mayor diferencia existe entre la temperatura de 30 °C y 40 °C. La comparación múltiple de Tukey también no dice que entre la temperatura de 30 °C y 35 °C no hay una diferencia estadísticamente significativa, lo cual nos indica que al usar la temperatura de 30 °C o 35 °C no habrá mucha relevancia con respecto a la acidez de la infusión.

Al usar este método (HSD) hay un 5.0% de riesgo de decir que uno o más pares de medias son estadísticamente diferentes cuando su diferencia real es igual a 0. Comprobando lo dicho por Pérez (1997) que indica que La acidez titulable disminuyó a medida que se incrementó el tiempo de almacenamiento.

4.6. COMPORTAMIENTO DE LA ACIDEZ PARA CADA TEMPERATURA EN ESTUDIO.



Fuente: Software estadístico Statgraphics XV Centurión.

Figura 7. Comportamiento de la acidez para cada temperatura.

4.7. ANOVA PARA HUMEDAD POR TEMPERATURA DE LAS HOJAS DE ACHIOTE.

Cuadro 8. ANOVA para humedad por temperatura de las hojas.

Fuente	S. C.	gl	C. M.	Fc	Pv
Tratamientos	513.64	2	256.82	443.17	0.0000
Error experimental	3.48	6	0.58		
Total (Corr.)	517.11	8			

Fuente: Software estadístico Statgraphics XV Centurión.

Ya que el valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de la humedad y el nivel de temperatura y otro, con un nivel del 95.0% de confianza. Para determinar cuál de estas medias son significativamente diferentes de otras, se usó la prueba de Tukey al 95.0% de confianza.

4.8. PRUEBAS DE MÚLTIPLE RANGOS PARA HUMEDAD POR TEMPERATURA DE LAS HOJAS DE ACHIOTE.

Cuadro 9. Comparación múltiple de Tukey para la humedad en función de la temperatura.

Temperatura	Casos	Media [1]
35 °C	3	39.27 ± 0.61[a]
30 °C	3	40.04 ± 1.15 [a]
40 °C	3	55.66 ± 0.23 [b]

Fuente: Software estadístico Statgraphics XV Centurión.

[1] Los resultados corresponden a la media ± S.D. para n= 3.

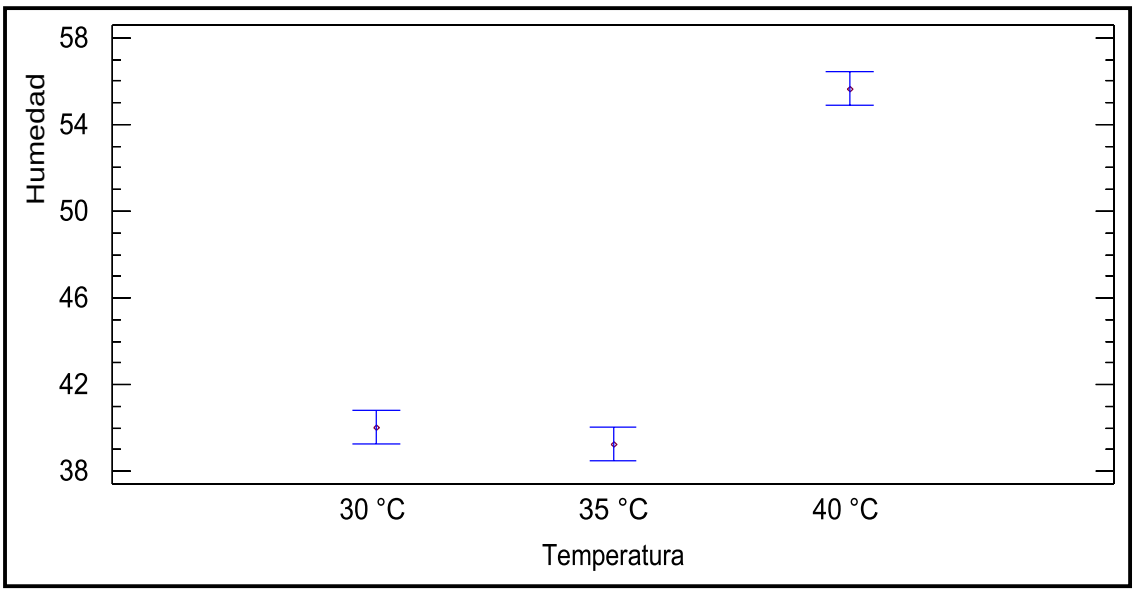
Letras diferentes indican diferencia significativa.

La prueba de Tukey nos muestra que existe diferencia significativa entre las dos temperaturas que son 35 ºC y 40 ºC con un 95.0% de confianza. En cambio, no existe diferencia entre las temperaturas de 30 ºC y 35 ºC, ya que estas se encuentran casi en el mismo rango de tiempo de secado y eliminación de humedad.

Así se puede afirmar que la perdida de humedad en las hojas de achiote depende de la temperatura del aire. Confirmando lo dicho por Brooker (1992): El tiempo de secado depende de la temperatura y de la humedad relativa de aire. Cuanto mayor es la temperatura, más rápido es el secado. Para el desarrollo de estas pruebas la velocidad del aire fue constante en el equipo, que en este caso fue la estufa. De otra manera el factor variable de “temperatura” tuvo mayor influencia en cuanto al tiempo de reducción de humedad, aplicándose que a mayor temperatura menor tiempo de secado.

4.9. COMPORTAMIENTO DE LA HUMEDAD PARA CADA TEMEPERATURA.

En la figura 8, se observa el comportamiento de la humedad para cada temperatura.



Fuente: Sotfware estadístico Statgraphics XV Centurión.

Figura 8. Comportamiento de la humedad para cada temperatura.

Al observar la figura del comportamiento de humedad en cuanto a la temperatura, se aprecia que el aumento se desarrolla en la temperatura de 40 ºC, siendo esta la temperatura más elevada en cuanto a los tratamientos de estudios; es decir similares a los tratamientos de estudios de 75 °C y 90 °C de las hojas de morera (*Morus alba*), al igual que García (2014) para las hoja de Stevia (*Stevia rebaudiana Bertoni)* y para la Hierba buena (*Mentha spicata*) a las temperaturas de 30 °C, 40 °C, 50 °C y 60 °C, y por último García (2010) para el cilantro (*Coriandrun sativum*) y perejil (*Petrosilenum crispum*) a las temperaturas de 50 °C y 60 °C.

4.10. ANOVA PARA POLIFENOLES TOTALES DE LAS HOJAS DE ACHIOTE.

Cuadro 10. ANOVA para polifenoles por temperatura.

Fuente	S. C.	Gl	C. M.	Fc	Vp
Entre grupos	16371.0	2	8185.51	458.64	0.0000
Intra grupos	107.085	6	17.8474		
Total (Corr.)	16478.1	8			

Fuente: Software estadístico Statgraphics XV Centurión.

El valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de polifenoles con un nivel de

temperatura y otro, siendo este un nivel del 95.0% de confianza. Para determinar cuál de estas medias son significativamente diferentes de otras, se usó la prueba de Tukey al 95.0% de confianza.

4.11. PRUEBAS DE MÚLTIPLE RANGOS PARA POLIFENOLES POR TEMPERATURA EN LAS HOJAS DE ACHIOTE.

Cuadro 11. Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD.

Temperatura	Casos	Media [1]
40 °C	3	125.14 ± 3.34 a
35 °C	3	209.18 ± 4.78 b
30 °C	3	220.90 ± 4.34 c

Fuente: Software estadístico Statgraphics XV Centurión.

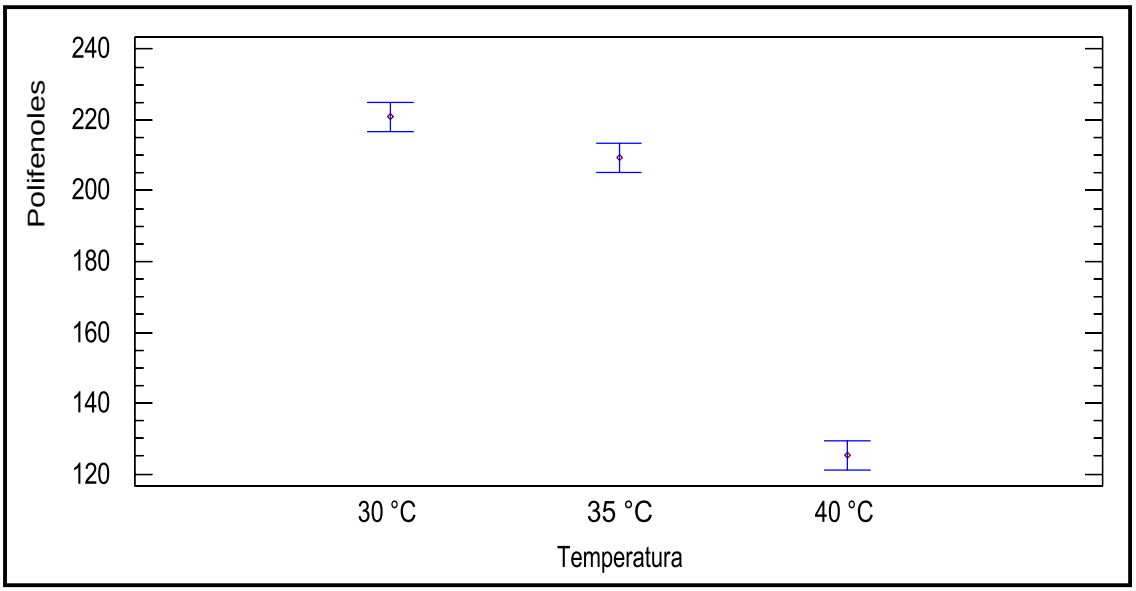
[1] Los resultados corresponden a la media ± S.D. para n= 3.

Letras diferentes indican diferencia significativa.

La prueba de Tukey nos muestra que hay diferencia significativa entre las tres temperaturas con un 95.0% de confianza.

Estos resultados guardan diferentes grados de disimilitud con los reportados por otros autores como Napolitano (2004) quien afirma que se puede observar que el tratamiento control a temperatura ambiente sufrió un aumento a lo largo del tiempo, un estudio con manzana sufrió un aumento en polifenoles en diferentes condiciones de almacenamiento, se atribuyó a la variedad de la manzana, ya que al comparar varias sólo sucedía con una variedad en específico; en otro estudio brindado por Klaiber (2002) se observó un aumento significativo en ácidos fenólicos presentes en zanahoria sometida a diferentes condiciones de almacenamiento aeróbico. El comportamiento usual de los polifenoles en diferentes condiciones de allanamiento es la tendencia a disminuir por acción de degradación por oxidación (Mullen 2002, Vallejo 2003, Gliszczynska-Swiglo y Tyrakowska 2003).

4.12. COMPORTAMIENTO DE LOS POLIFENOLES TOTALES PARA CADA TEMPERATURA.



Fuente: Software estadíctico Statgraphics XV Centurión.

Figura 9. Comportamiento de polifenoles totales de las hojas de achiote para cada temperatura.

4.13. ANOVA PARA ANTIOXIDANTE DE LAS HOJAS DE ACHIOTE POR TEMPERATURA.

Cuadro 12. ANOVA para actividad antioxidante por temperatura.

Fuente	S. C.	gl	C. M.	Fc	Pv
Entre grupos	117605.	2	58802.3	538.64	0.0000
Intra grupos	655.014	6	109.169		
Total (Corr.)	118260.	8			

Fuente: Software estadístico Statgraphics XV Centurión.

El análisis de varianza muestra que el valor “P” de la prueba “F” es menor que 0.05, con este resultado se rechaza la hipótesis nula. Después de haber realizado el experimento y las pruebas estadísticas correspondientes al análisis de varianza, utilizando un 95% del nivel de confianza. Se puede asumir que las diferentes temperaturas utilizadas al elaborar el filtrante, tiene un efecto estadísticamente significativo en la actividad antioxidante expresado en trolox.

4.14. PRUEBAS DE MÚLTIPLE RANGOS PARA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LAS HOJAS DE ACHIOTE POR TEMPERATURA.

Cuadro 13. Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD.

Temperatura	Casos	Media [1]
40 °C	3	286.94 ± 6.87 [a]
35 °C	3	519.45 ± 16.65 [b]
30 °C	3	538.31 ± 1.78 [b]

Fuente: Software estadístico Statgraphics XV Centurión.

[1] Los resultados corresponden a la media ± S.D. para n= 3.
Letras diferentes indican diferencia significativa.

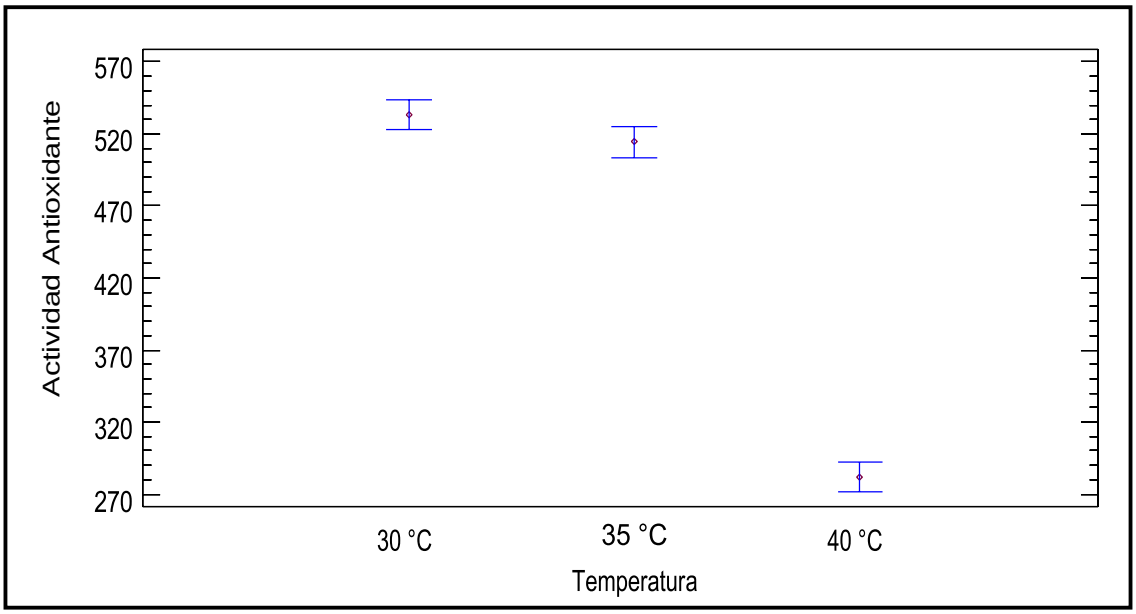
Ya que se pudo encontrar diferencias significativas ahora se tiene que determinar cuál de las medias son significativamente diferentes de otras, para esto se aplica la prueba de Tukey con un nivel de confianza de un 95.0%.

Se observó que existe diferencia significativa con las temperaturas de 35 ºC y 40 ºC, estos exhiben una diferencia estadísticamente significativa con un nivel de confianza del 95.0% y una similitud en cuanto a que a se encuentra diferencias significativas con un valor de varianza en las temperaturas de 30 ºC y 40 ºC.

La comparación múltiple de Tukey también no dice que entre la temperatura de 30 °C y 35 °C no hay una diferencia estadísticamente significativa, lo cual nos indica que al usar la temperatura de 30 °C o 35 °C no habrá mucha relevancia con respecto a la actividad antioxidante del filtrante elaborado.

Esto nos indica que la actividad antioxidante tiene que ver en cuanto al efecto de temperatura indica; en el caso de autores pueden afirmar que esto es verídico, como Soto y Barraza (2014) que menciona que se observó influencia significativa de la temperatura y tiempo de almacenamiento sobre la capacidad antioxidante de la pulpa de guayaba, valor que fue disminuyendo en el tiempo, siendo menor a la temperatura de 8 °C.

4.15. COMPORTAMIENTO DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LA HOJA DE ACHIOTE PARA CADA UNA DE LAS TEMPERATURAS EN ESTUDIO.



Fuente: Software estadístico Statgraphics XV Centurión.

Figura 10. Comportamiento de la actividad antioxidante de las hojas de achiote para cada temperatura.

4.16. ANOVA PARA INFUSIÓN DE LA HOJA DE ACHIOTE PARA POLIFENOLES TOTALES POR TEMPERATURA.

Cuadro 14. ANOVA para infusión polifenoles por temperatura.

Fuente	S.C.	gl	C. M.	Fc	Pv
Entre grupos	1.05	2	0.53	109.43	0.0000
Intra grupos	0.03	6	0.00		
Total (Corr.)	1.08	8			

Fuente: Software estadístico Statgraphics XV Centurión.

El valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de polifenoles con un nivel de temperatura y otro, siendo este un nivel del 95.0% de confianza. Para determinar cuál de estas medias son significativamente diferentes de otras, se usó la prueba de Tukey al 95.0% de confianza.

4.17. PRUEBAS DE MÚLTIPLE RANGOS PARA LA INFUSIÓN DE LA HOJA DE ACHIOTE EN CUANTO A POLIFENOLES POR TEMPERATURA.

Cuadro 15. Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD.

Temperatura	Casos	Media [1]
40 °C	3	1.52 ± 0.08 a
35 °C	3	2.08 ± 0.07 b
30 °C	3	2.33 ± 0.05 c

Fuente: Software estadístico Statgraphics XV Centurión.

[1] Los resultados corresponden a la media ± S.D. para n= 3.

Letras diferentes indican diferencia significativa.

En el cuadro 15, se puede apreciar que entre los tres tratamientos se encontró diferencia estadística significativa y esto nos demuestra la prueba de Tukey con un 95.0% de confianza. Demostrando de esta manera que en la infusión filtrante la temperatura juega un rol importante. Comprobando lo dicho por autores que muestran que estos valores hacen evidente que la degradación térmica de los polifenoles totales presentan una cinética de primer orden, tal como lo han propuesto otros autores para la pérdida de compuestos bioactivos (Van Den Broeck 1998; Fratianni 2010), antocianinas en fresas (Verbeyst 2010), ácido ascórbico en jugo de naranja (Zanoni 2005), espinacas, fríjoles verdes y peras en diferentes condiciones de almacenamiento (Giannakourou and Taoukis 2003).

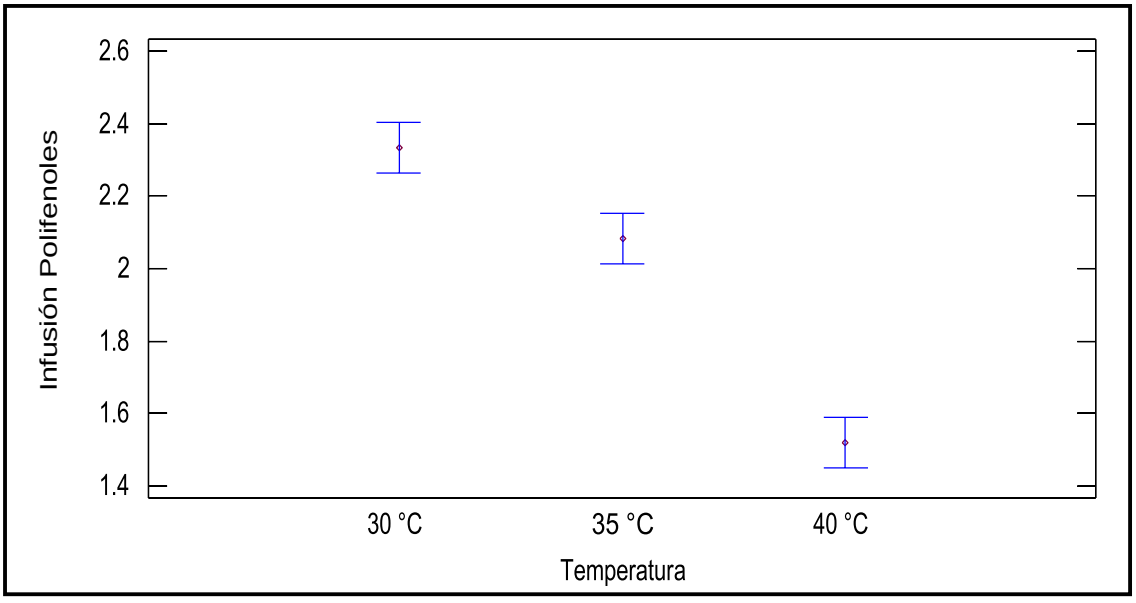
Las temperaturas elevadas de almacenamiento para la bebida de borojó, podrían acelerar la degradación oxidativa de los polifenoles y de esta forma la actividad antioxidante, resultados similares han sido reportados para bebida de mora según lo publicado por Wu (2010). En este sentido, diversos estudios indican que los tratamientos de procesamiento térmico y el almacenamiento no refrigerado afectan directamente los parámetros fisicoquímicos y de esta forma los compuestos bioactivos e intrínsecamente la capacidad antioxidante de diferentes productos (Van Den Broeck 1998; Fratianni 2010; Wu 2010). Investigadores como (Jiménez-Escrig 2001; Nakai 2006; Choi 2010), han

relacionado la capacidad antioxidante dependiente del contenido de fenoles totales, en donde los productos con alto contenido de polifenoles poseen una alta capacidad antioxidante. Adicionalmente, Velioglu (1998) mostraron una correlación significante entre el contenido de fenoles y la capacidad antioxidante en frutas, vegetales y cereales.

En contraste, el comportamiento cinético encontrado puede ser diferente a otras bebidas o productos debido a las diferencias en la composición fenólica y/o actividad polifenoloxidasa de las frutas (Wu 2010).

Las condiciones de tiempo y temperatura de almacenamiento afectan significativamente el contenido total de polifenoles determinados por el método de Folin-Ciocalteu (Klimczak 2007).

4.18. COMPORTAMIENTO PARA POLIFENOLES DE LA INFUSIÓN DE LAS HOJAS DE ACHIOTE PARA CADA TEMPERATURA.



Fuente: Sotfware estadístico Statgraphics XV Centurión.

Figura 11. Comportamiento para polifenoles totales de la infusión de las hojas de achiote para cada temperatura.

4.19. ANOVA PARA INFUSIÓN DE LA HOJA DE ACHIOTE EN CUANTO A LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE POR TEMPERATURA.

Cuadro 16. ANOVA para infusión actividad antioxidante por temperatura.

Fuente	S. C.	gl	C. M.	Fc	Pv
Entre grupos	10.93	2	5.47	86.84	0.0000
Intra grupos	0.38	6	0.06		
Total (Corr.)	11.31	8			

Fuente: Software estadístico Statgraphics XV Centurión.

En el cuadro 16, se puede observar que existe claramente diferencia estadística significativa ($p \leq 0.05$) en los tres tratamientos dados, con un grado de confianza del 95.0%.

4.20. PRUEBAS DE MÚLTIPLE RANGOS PARA INFUSIÓN ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE POR TEMPERATURA.

Cuadro 17. Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD.

Temperatura	Casos	Media [1]
40°C	3	2.65467 ± 0.42 [a]
35°C	3	4.822 ± 0.05 [b]
30°C	3	5.13267 ± 0.10 [b]

Fuente: Software estadístico Statgraphics XV Centurión.

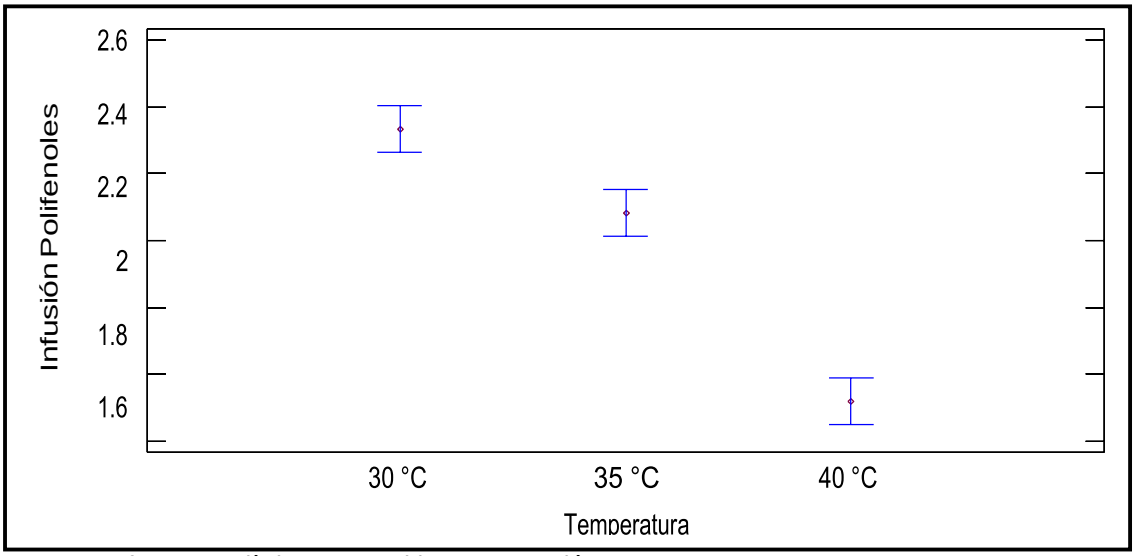
[1] Los resultados corresponden a la media ± S.D. para n= 3.

Letras diferentes indican diferencia significativa.

En la prueba de Tukey se puede observar una diferencia significativa entre la temperatura de 35 ºC y 40 ºC, como también se observa una diferencia significativa en las temperaturas de 30 ºC y 40 ºC; pero lo que si se demuestra es que en temperaturas relevantes y casi similares no se encuentra diferencia significativa como es en el caso de las temperaturas de 30 ºC y 35 ºC con un 95.0% de confianza, según lo demuestra la prueba de Tukey.

Este resultado se debe claramente a que la temperatura afecta en cuanto a polifenoles totales, en infusiones filtrantes a la hora de su elaboración. Verificando lo dicho por autores como Wu (2010) que menciona que los resultados de la disminución en la actividad antioxidante pueden ser debidos a que compuestos inhibidores de radicales libres DPPH son susceptibles a la oxidación y lixiviación en soluciones de envasado y en condiciones de almacenamiento.

4.21. COMPORTAMIENTO DE LOS POLIFENOLES TOTALES DE LA INFUSIÓN FILTRANTE DE LA HOJA DE ACHIOTE PARA CADA TEMPERATURA.



Fuente: Sotfware estadístico Statgraphics XV Centurión.

Figura 12. Comportamiento para polifenoles totales de la infusión de las hojas de achiote para cada temperatura.

4.22. ANOVA DEL OLOR DE LA INFUSIÓN FILTRANTE DE LA HOJA DE ACHIOTE.

Cuadro 18. ANOVA del análisis sensorial, olor.

Fuente	S. C.	gl	C. M.	Fc	Pv
Entre grupos	6.3	2	3.15	4.26	0.02
Intra grupos	42.1	57	0.74		
Total (Corr.)	48.4	59			

Fuente: Software estadístico Statgraphics XV Centurión.

En el cuadro 18, se puede observar que el p-valor, es menor ($p \leq 0.05$), dando a entender de esa manera que existe una diferencia significativa con un 95.0% de confianza; en cuanto al olor de la infusión filtrante, con un total de 20 panelistas.

4.23. PRUEBAS DE MÚLTIPLE RANGOS DEL OLOR DE LA INFUSIÓN FILTRANTE DE LAS HOJAS DE ACHIOTE.

Cuadro 19. Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD.

	Casos	Media [1]
OLOR 35 °C	20	3.3 ± 0.83 a
OLOR 40 °C	20	3.45 ± 0.86 ab
OLOR 30 °C	20	4.05 ± 0.89 b

Fuente: Software estadístico Statgraphics XV Centurión.

[1] Los resultados corresponden a la media ± S.D. para n= 20.

Letras diferentes indican diferencia significativa.

En el cuadro 19, podemos observar que en el porcentaje de Tukey a un 95.0% de confianza muestra una clara diferencia significativa en la temperatura 30 ºC y 35 ºC en cuanto al olor, y una aceptación en la temperatura de 30 ºC con una S.D. de 0.89, la temperatura de 40 ºC se encuentra entre la temperatura de 30 ºC y 35 ºC, dando a entender que la menos aceptada fue la temperatura de 35 ºC. Esto puede deberse a que el olor se ve afectada debido a componentes como los polifenoles o antioxidantes. Como lo menciona el autor Rizzo (2006) que indica que los compuestos fenólicos o polifenoles se encuentran distribuidos ampliamente en el reino vegetal, en plantas medicinales, especias, vegetales, frutas, granos y semillas, donde su presencia contribuye a las cualidades sensoriales como color, aroma, pardeamiento, amargor y la astringencia.

4.24. ANOVA DEL SABOR DE LA INFUSIÓN FILTRANTE DE LA HOJA DE ACHIOTE.

Cuadro 20. ANOVA del análisis sensorial, sabor.

Fuente	S. C.	Gl	C. M.	Fc	Pv
Entre grupos	11.03	2	5.52	9.62	0.0003
Intra grupos	32.7	57	0.57		
Total (Corr.)	43.73	59			

Fuente: Software estadístico Statgraphics XV Centurión.

En el siguiente cuadro, se puede observar que existe una diferencia significativa en cuanto al p-valor indica. Esto lo podemos verificar en el cuadro 21 según el porcentaje de Tukey a un 95.0% de confianza.

4.25. PRUEBAS DE MÚLTIPLE RANGOS DEL SABOR DE LA INFUSIÓN FILTRANTE DE LA HOJA DE ACHIOTE.

Cuadro 21. Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD.

	Casos	Media [1]
SABOR 35 °C	20	2.75 ± 0.89 a
SABOR 40 °C	20	3.25 ± 0.55 ab
SABOR 30 °C	20	3.8 ± 0.79 b

Fuente: Software estadístico Statgraphics XV Centurión.

[1] Los resultados corresponden a la media ± S.D. para n= 20.
Letras diferentes indican diferencia significativa.

En el cuadro 21, se observa que existe una diferencia significativa en las temperaturas 30 ºC y 35 ºC en cuanto al sabor, dando como el mejor resultado en a la temperatura de 35 ºC. Esto quiere decir que los polifenoles encontrados en la hoja de achiote afectan mucho en cuanto al sabor. Esto o menciona el autor García et al. (2015) afirmando que las antocianinas son pigmentos responsables del color rojo-azulado de muchas frutas como las fresas, uva, ciruelas, etc., los

flavonoles aportan el color amarillo característico de algunas partes externas de frutas o vegetales, las flavanonas son responsables del sabor amargo de algunos cítricos (por ejemplo, la naringina en el pomelo o la neohesperidina en la naranja), el eugenol caracteriza el intenso aroma de los plántanos o los toninos que confieren la astringencia a algunas frutas.

4.26. ANOVA DEL COLOR DE LA INFUSIÓN FILTRANTE DE LA HOJA DE ACHIOTE.

Cuadro 22. ANOVA del análisis sensorial, color.

Fuente	S. C.	gl	C. M.	Fc	Pv
Entre grupos	0.3	2	0.15	0.64	0.53
Intra grupos	13.35	57	0.23		
Total (Corr.)	13.65	59			

Fuente: Software estadístico Statgraphics XV Centurión.

En el cuadro 22 en cuanto al análisis sensorial, color; podemos observar que no existe diferencia significativa en cuanto al p-valor ($p \leq 0.05$). En la siguiente tabla del porcentaje de Tukey lo demostraremos.

4.27. PRUEBAS DE MÚLTIPLE RANGOS DEL COLOR DE LA INFUSIÓN FILTRANTE DE LA HOJA DE ACHIOTE.

Cuadro 23. Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD.

	Casos	Media [1]
COLOR 30 °C	20	4.6 ± 0.50 A
COLOR 40 °C	20	4.6 ± 0.44 A
COLOR 35 °C	20	4.75 ± 0.50 A

Fuente: Software estadístico Statgraphics XV Centurión.

[1] Los resultados corresponden a la media ± S.D. para n= 20.

Letras diferentes indican diferencia significativa.

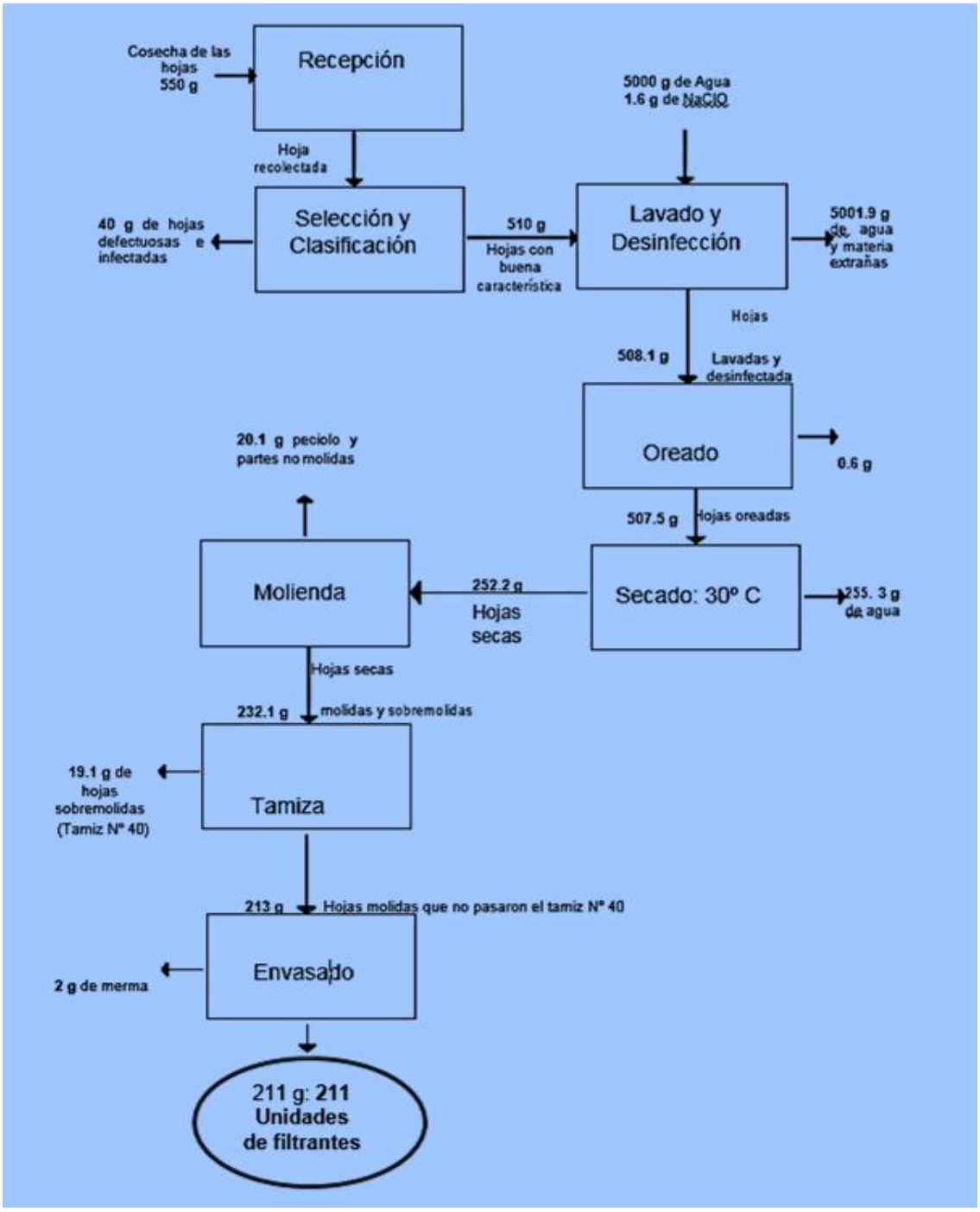
En el cuadro de Tukey con un 95% de confianza se puede notar que en las tres temperaturas dadas no existe diferencia significativa en cuanto al color, pero también se puede observar que en la temperatura 30 ºC y 35 ºC no hay diferencia más aun, al ser estas temperaturas casi similares. Esto se debe que, en el color a la hora de elaborar la infusión, los mismos polifenoles afectan en cuanto al color de algún producto terminado.

Comprobando así lo dicho por los autores Escudero y Muñoz (2005), que afirman que los polifenoles contribuyen a la pigmentación de los alimentos vegetales a través de las antocianidinas. Igualmente, los taninos condensados o proantocianidinas se asocian con la astringencia que presentan muchas frutas comestibles antes de la maduración. Esto se hace evidente en la infusión elaborada que por efecto del contenido de los polifenoles las muestras resultaron de diferentes tonalidades, pero predominando el marrón ya sea claro u oscuro. Asimismo, García (2015) afirma que otros polifenoles, como los ácidos hidroxicinámicos y sus derivados, pueden ser oxidados por enzimas presentes en los tejidos vegetales, dando lugar a productos de color pardo.

4.28. RENDIMIENTOS DE LOS FILTRANTES DE LAS HOJAS DE ACHIOTE.

Para la cosecha de las hojas se realiza una pre selección; recolectando las hojas que estén libres de insectos, hongos y sobre todo maltratadas, de esa manera poder obtener mayor rendimiento en cuanto a selección y clasificación en el laboratorio. En cuanto al lavado no se encuentra muchas materias extrañas como polvo; ya que al ser esta un árbol que está bastante lejos del suelo Thomsom y Evans (2006) las hojas tienden a estar más limpias, además se encuentran alejados de la ciudad y están cuidados adecuadamente en cuanto a su crecimiento.

4.28.1. Balance de materia para el Tratamiento 1 - T1: 30 ºC.



Fuente: Elaboración propia.

Figura 13. Rendimiento del T1 para la elaboración de filtrante de la hoja de achiote.

Cálculos

$$R = \frac{211 \times 100}{550}$$

$$R = 38.3636\%$$

El rendimiento en la elaboración de filtrantes de las hojas de achiote, en la temperatura de secado de 30 °C es de 38.3636% es decir por cada 550 g de hoja fresca se obtiene 211 g de hoja de achiote seca, molida, tamizada y envasada.

En la figura 13, se puede ver que hay una mayor merma en la molienda, ya que al tratarse de una temperatura baja en el secado estas no hacen bien crocantes el peciolo y los nervios de la hoja; impidiendo moler con facilidad y esto se debe también a que el molino también juega un rol importante, ya que al ser esta un molino de mesa, no cuenta con una regulación adecuada, por ende no muele uniformemente. Se puede apreciar que en el tamizado no hay tantas hojas sobre molidas. Como también se puede observar que en el envasado hay una mínima merma debido a que se realizó esta operación de forma cuidadosa.

4.28.2. Balance de materia para el Tratamiento 2 - T2: 35 ºC.

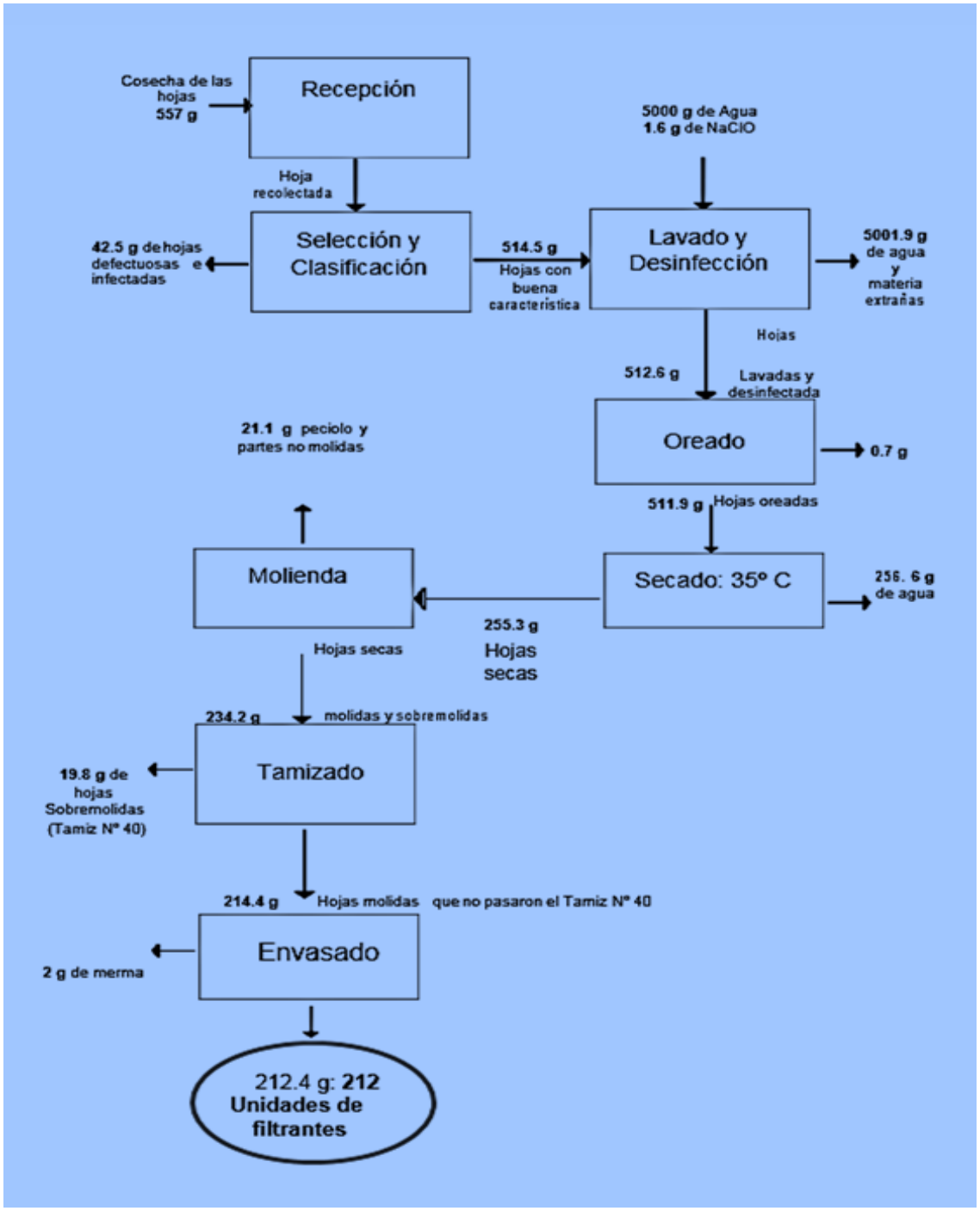


Figura 14. Rendimiento del T2 para la elaboración de filtrante de la hoja de achiote.

Cálculos

$$R = \frac{212 \times 100}{557}$$

$$R = 38.0610\%$$

El rendimiento en la elaboración de filtrantes de las hojas de achiote, en la temperatura de secado de 30 °C es de 38.0610% es decir por cada 557 g de hoja fresca se obtiene 212 g de hoja de achiote seca, molida, tamizada y envasada.

En la figura 14, se puede ver que hay una mayor merma en la molienda, ya que al tratarse de una temperatura baja en el secado estas no hacen bien crocantes el peciolo y los nervios de la hoja; impidiendo moler con facilidad y esto se debe también a que el molino también juega un rol importante, ya que al ser esta un molino de mesa, no cuenta con una regulación adecuada, por ende, no muele uniformemente. Se puede apreciar que en el tamizado no hay tantas hojas sobre molidas. Como también se puede observar que en el envasado hay una mínima merma debido a que se realizó esta operación de forma cuidadosa.

4.28.3. Balance de materia para el Tratamiento 3 - T3: 40 ºC.

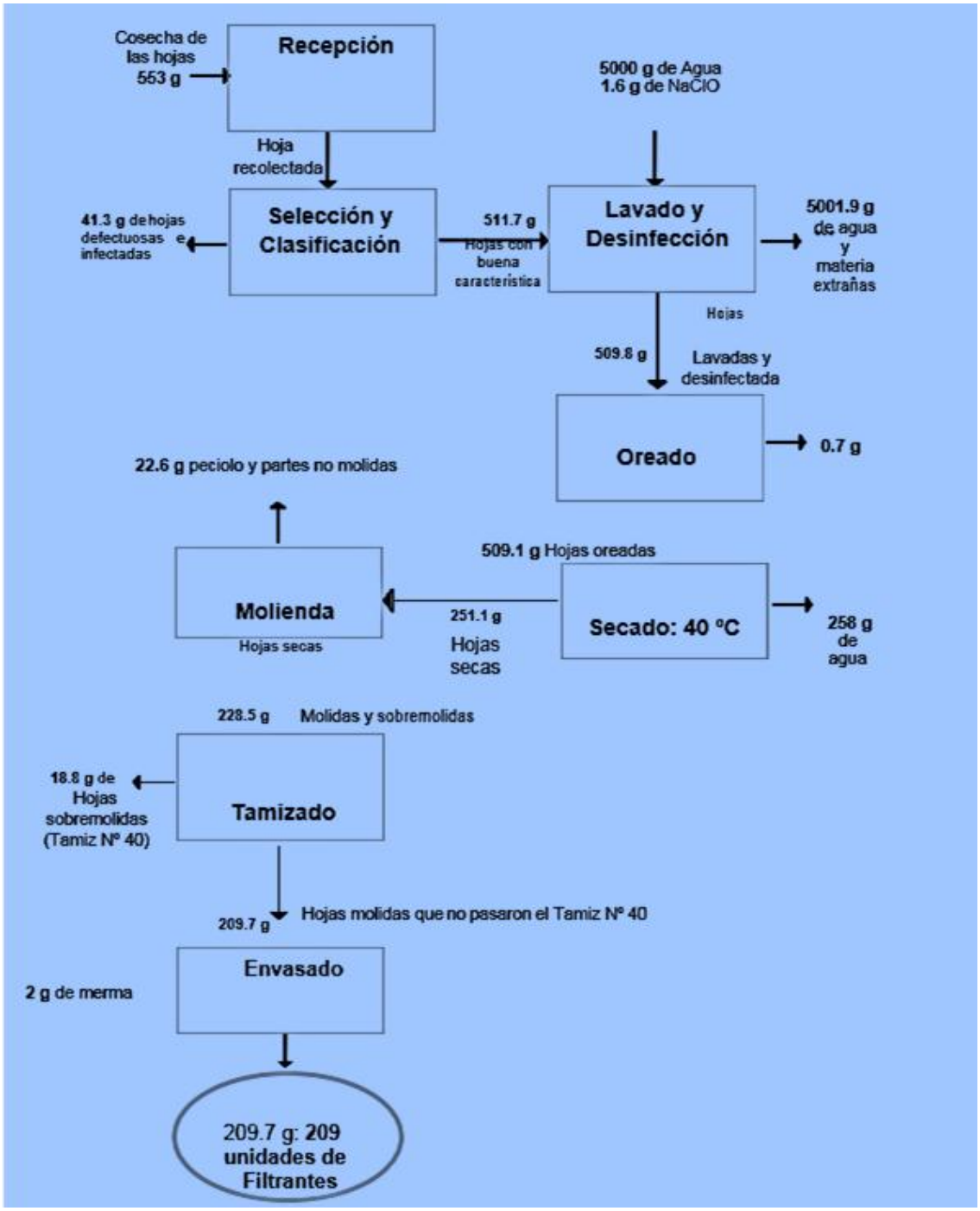


Figura 15. Rendimiento del T3 para la elaboración de filtrante de la hoja de achiote.

Cálculos

$$R = \frac{209 \times 100}{553}$$

$$R = 37.7939\%$$

El rendimiento en la elaboración de filtrantes de las hojas de achiote, en la temperatura de secado de 40 °C es de 37.7939% es decir por cada 553 g de hoja fresca se obtiene 209 g de hoja de achiote seca, molida, tamizada y envasada.

En la figura 15, se puede ver que hay una mayor merma en la molienda, ya que al tratarse de una temperatura baja en el secado estas no hacen bien crocantes el peciolo y los nervios de la hoja; impidiendo moler con facilidad y esto se debe también a que el molino también juega un rol importante, ya que al ser esta un molino de mesa, no cuenta con una regulación adecuada, por ende no muele uniformemente. Se puede apreciar que en el tamizado no hay tantas hojas sobre molidas. Como también se puede observar que en el envasado hay una mínima merma debido a que se realizó esta operación de forma cuidadosa.

V. CONCLUSIONES.

Al término de la investigación se concluye lo siguiente:

1. El tratamiento T1 (30 °C) ofrece los mejores resultados en cuanto al contenido de antioxidante presente en la infusión filtrante con una inhibición del radical DPPH en equivalencia de trolox (0.42 mg/ml).

2. En cuanto contenido de polifenoles totales el tratamiento T1 (30 ºC) es el que mejor comportamiento ha mostrado en la infusión filtrante con un resultado en equivalente de ácido gálico (0.08 mg/ml).

3. La infusión filtrante con mejor característica sensorial es el tratamiento T1 (30 ºC), según opinión de los panelistas.

4. En cuanto al rendimiento el mejor tratamiento fue el T1 (30 ºC), con un (38.36%) comparando con los otros tratamientos en estudio.

VI. RECOMENDACIONES.

De acuerdo a las conclusiones se recomienda lo siguiente:

1. Desarrollar trabajos de investigación con otros componentes de la planta del achiote (semilla, cáscara, corteza, flor, etc.).

2. Utilizar el papel trilaminado como envoltura, debido a que permite una mejor conservación de los polifenoles y antioxidantes de la infusión filtrante de la hoja de achiote.

3. Determinar la actividad antioxidante utilizando otros métodos; como son el caso del método ABTS y el método DMPD.

4. Desarrollar investigación en la hoja de achiote con otros principios activos saludables para el organismo.

5. Determinar el contenido de bixina presente en las diferentes variedades del achiote de la región.

VII. LITERATURA CITADA.

Amakura, Y.; Umino, Y.; Tsuji, S.; Tonogai, 2000. Influence of jam processing on the radical scavenging activity and phenolic content in berries. *J Agric Food Chem.* 48:6292-7.

AOAC. 2007. Oficial Methods of Analysis of the Associatión of Official Analytical (17° Ed.).

Avelllo, M.; Suwalsky, M. 2006. Radicales Libres, Estrés Oxidativo y Defensa Antioxidante Celular. Universidad de Concepción .Honduras .1-6 p.

Butterfield, D. 2002. Nutritional approaches to combat oxidative stress in Alzheimer's disease. En J Nut Biochem. Pp. 444-61.

Boveris, A. 2005. La Evolución del concepto de radicales libres en biología y medicina. Academia Iberoamericana de Farmacia. España .85-95p.

Brand-Williams, W.; Cuvelier, M.; Berset, C. 1995. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant. Laboratoire de Chimie des Substances Naturelles, 25-30.

Castañeda, B.; Ramos, E., Ibáñez, L. (2008). Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. Revista Horizonte Médico. 8(1), 56 -72.

Cáceres, A.; Menéndez, H.; Méndez, E.; Cohobón, E.; Samayoa, B.; Jauregui, E.; Peralta, E.; Carrillo, G. 1995. Antigonorrhoeal Activity of Plants Used in Guatemala for the Treatment of Sexually Transmitted Diseases. J Ethnopharmacol, 48(2):85-8.

Chant, S. 1993. Bixaceae. In: V. H. Heywood (ed.). Flowering Plants Of the World. Oxford University Press. New York. Pp. 105-106.

Choi, J-I.; Kim, H-J.; Kim, J-H.; Chun, BS.; Ahn, DH.; Kim, GH.; Lee, J-W. 2010. Changes in colour and antioxidant activities of Hizikia fusiformis cooking drips by gamma irradiation. Food Sc Technol 43: 1074 - 1078.

Daniela, NC. 2018. Efecto de la harina de Achiote (*Bixa orellana*) sobre la pigmentación a la canal e inmunoglobulinas en pollos de engorde. Tesis para optar el Título de Médico Veterinario y Zootecnista. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad Técnica de Ambato. Consultado el 10 de diciembre de 2018. Disponible en: htt://repositorio.uta.edu.ec/jspui/handle/123456789/27102.

De Luis, D.; Aller, R. 2008. Papel de los flavonoides del té en la protección cardiovascular. An. Med. Interna (Madrid) Vol. 25, N° 3, pp. 105-107.

Domínguez, S. 1979. Métodos de investigación Fitoquímica. Editorial LIMUSA. México. 281p.

Fratianni, A.; Cinquanta, L.; Panfili, G. 2010. Degradation of carotenoids in orange juice during microwave heating. LWT-Food Sc Technol 43: 867 - 871.

García, L.; Rojo, D.; Sánchez, E. 2001. Planta con propiedades Antioxidantes. Rev. Cubana invest. Biomédica 20(3):231-5p.

Germán, SZ.; Génesis, BE. 2017. Análisis Gastronómico del Encanutado de bocachico originario de la provincia de Los Ríos. Tesis para optar el Título de Licenciado en Gastronomía. Facultad de Ingeniería Química. Universidad de Guayaquil. Consultado el 10 de diciembre de 2018. Disponible en http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/20536.

Giannakourou, MC.; Taoukis, PS. 2003. Kinetic modelling of vitamin C loss in frozen green vegetables under variable storage conditions. Food Chem 83: 33 - 41.

Gimeno, E. 2004. Compuestos fenólicos. Un análisis de sus beneficios para la salud. OFFARM 23 (6), 80 – 84.

Gonzales, CA. 1999. Colección y mantenimiento de germoplasma de Achiote (*Bixa orellana* L.) en la Amazonía peruana. Folia Amazónica. IIAP. Perú. 1999.

Irene, RG. 2017. Capacidad antioxidante in vitro y actividad regeneradora in vivo de una crema cosmética con extracto hidroalcohólico de *Myrciaria dubia* (kunth) MC Vaugh Camu Camu. Tesis para optar el título de magister en Ciencias Farmacéuticas. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Consultado el 12 de diciembre de 2018.

Jiménez-Escrig, A.; Jiménez-Jiménez, I.; Pulido, R.; Saura-Calixto, F. 2001. Antioxidant activity of fresh and processed edible seaweeds. J Sc Food Agric 81: 530 - 534.

Johnny, CC. 2014. Identificación, Caracterización y Comportamiento ante principales enfermedades en (08) ocho morfotipos de *Bixa Orellana* "ACHIOTE", en Zúngarococha. Tesis para optar el título de Ingeniero Agrónomo. Facultad de Agronomía. Universidad Nacional de la Amazonía Peruana. Consultado el 10 de diciembre de 2018. Disponible en http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/3326/Johnny_ Tesis_Titulo_2014.pdf?sequence=1&isAllowed=y.

Karlson, P. 2010. Manual de Bioquímica, editorial Granizo, México: Marín.

Lans, CA. 2006. Ethnomedicines Used in Trinidad and Tobago for Urinary Problems and Diabetes mellitus. J Ethnobiol Ethnomed. Oct 13; 2:45.

Luque, C. 2009. Determinación preliminar de metabolitos en hojas y corteza de Camu - Camu *(Myrciaria dubia*) (H.B.K.) Mc Vaugh en tres etapas fenológicas. Tesis para optar el título de Ingeniero Forestal. Universidad Nacional La Molina. Lima-Perú.

Nakai M., Kageyama N, Nakahara K, Miki W. 2006. Phlorotannins as radical scavengers from the extract of Sargassum ringgoldianum. Marine Biotechnol 8: 409 - 414.

Muñoz, A.; Ramos–Escudero, D.; Alvarado – Ortiz, C.; Castañeda, B. 2007. Evaluación de la Capacidad Antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en recursos vegetales primarios. Revista Sociedad Química del Perú. 73(3), 142 – 149.

Mozquera, O. 2005. Universidad Tecnológica de Pereira. Obtenido de Estandarización del método de captura de radicales libres para la evaluación de la actividad antioxidante de extractos vegetales: http://www.utp.edu.co/php/revistas/ScientiaEtTechnica/docsFTP/8204423 1- 234.pdf.

Mora, Z. 1985. Medicina Tradicional Chilena. Editorial Universidad de Concepción, Chile.

Otero, R. et al. 2000. Snakebites and ethnobotany in the northwest region of Colombia: Part II: neutralization of lethal and enzymatic effects of Bothrops atrox venom. J. Ethnopharmacology., 71, 505-511.

Paladino, S. 2006. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos contenidos en las semillas de La vid (*Vitis vinifera* L.). Tesis de Maestría. Mendoza – Argentina.

Pérez, S.; Cuen, M.; Becerra, M. 2003. Conabio. Recuperado el 18 de Septiembre de 2014, de: www.biodiversidad.gob.mx/Biodiversitas/Articulos/biodiv46art2.pdf.

Piñeiro, Z. 2007. Desarrollo de nuevos métodos de extracción para el análisis de compuestos de interés enológico. Memoria para optar el grado de Doctora en Ciencias Químicas. Cádiz. España. Pp.15, 17, 21, 160, 164, 182.

Prakash, A. 2001. Antioxidant Activity. Medallion laboratories Analytical Progress. Minnesota. 1-6 p.

Pokorny, J. 2001. Antioxidantes de los alimentos. Editorial Acribia S.A. España.

Ramírez, T. 2001. Evaluación de la Actividad Hipoglicemiante del Extracto Acuoso de las Hojas de Bixa Orellana “Achiote” [Tesis]. Ayacucho (Perú): Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Pp. 23-26, 29-31.

Rivero Rosales, A.; Betancort Rodríguez, J. 2006. Evaluación de la actividad antioxidante de polifenoles de algas marinas. Las palmas de gran canaria,

Researchgate.

Sánchez, H. 2010. Evaluación de la capacidad antioxidante, compuestos fenólicos y actividad antimutágenica de los extractos de Camu Camu (*Myrciaria dubia*) y yacón (*Smollanthus sonchifolius*). Tesis para optar el título de Ingeniera en Industrias Alimentarias. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima-Perú.

Sanoner, P.; Guyot, S.; Marnet, N., Molle, D.; Drilleau, JP. 1999. Polyphenol profiles of French cider apple varieties (*Malus domestica* sp.). *J Agric Food Chem*. 47:4847-53.

Saucier, C.; Waterhouse, A., 1999 Synergetic Activity of Catechin and Other Antioxidants. *J. Agric. Food Chem*. 47:4491-4494.

Sahaza Cardona, D. 2001. El Achiote. Obtenido de URL: http://www.unalmed.edu.co/~crsequed/ ACHIOTE.htm (14 de marzo de 2001).

Sahaza, D. 2004. El Achiote (*Bixia orellana* L). Recuperado el 05 de junio del 2013, del sitio web: http://www.unalmed.edu.co/~crsequed/ACHIOTE.

Shilpi, JA.; Taufiq-Ur-Rahman, M.; Uddin, SJ.; Alam, MS.; Sadhu, SK.; Seidel, V. 2006. Preliminary pharmacological screening of *Bixa orellana* L. leaves. J. Ethnopharmacology, 108(2): 264-271.

Soto, CE.; Barraza, JG. 2014. Efecto de la temperatura y tiempo de almacenamiento en las características fisicoquímicas y capacidad antioxidante de pulpa de guayaba (*Psidium guajava L*.) variedad criolla roja. *Cientifi-k*, 2(2):44-50.

Valeria, SA. 2015. Obtención de un extracto acuoso con propiedad hipoglucemiante a partir de las semillas del achiote (*Bixa Orellana* Linn) para el tratamiento de la diabetes, Machala 2014. Tesis para optar el título de Bioquímica Farmacéutica. Facultad de Ciencias Químicas y de la Salud. Universidad Técnica de Machala. Consultado el 12 de Diciembre de 2018.

Velásquez, P.M.; Prieto, G.B.; Contreras, P.R. 2004. El envejecimiento y los radicales libres. Ciencias 75 julio-setiembre. México. 37-43p.

Velioglu, YS.; Mazza, G.; Gao, L.; Oomah, BD. 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables and grain products. J Agric Food Chem 46: 4113 - 4117.

Verbeyst, L.; Oey I, Van der Plancken I, Hendrickx M, Van Loey A. 2010. Kinetic study on the thermal and pressure degradation of anthocyanins in strawberries. Food Chem 123: 269 - 274.

Villanueva, J. 2001. Antiocianina, Ácido Ascórbico, Polifenoles Totales y Actividad Antioxidante en la Cáscara de Camu Camu (*Myrciaria dubia* Mc Vaugh H.B.K.). Tesis para optar el Título de Ingeniero en Industrias Alimentaría. Tingo María- Perú. p.47.

Wu, R.; Frei, B.; Kennedy, JA.; Zhao, Y. 2010. Effects of refrigerated storage and processing technologies on the bioactive compounds and antioxidant capacities of 'Marion' and 'Evergreen' blackberries. Food Sc Technol 43: 1253 - 1264.

Yalta, VM. 2016. Efecto del achiote *(Bixa orellana* L.) en los parámetros productivos y calidad del huevo en gallinas de postura línea Lohmann Brown – Classic. Tesis para optar el Título de Ingeniero Zootecnista. Facultad de Ingeniería Zootecnista, Agronegocios y Biotecnología. Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas. Consultado el 10 de diciembre de 2018. Disponible en http://repositorio.untrm.edu.pe/handle/UNTRM/437.

Zanoni, B.; Pagliarini, E.; Galli, A.; Laureati, M. 2005. Shelf-life prediction of fresh blood orange juice. J Food Eng 70: 512 - 517.

VIII. ANEXO.

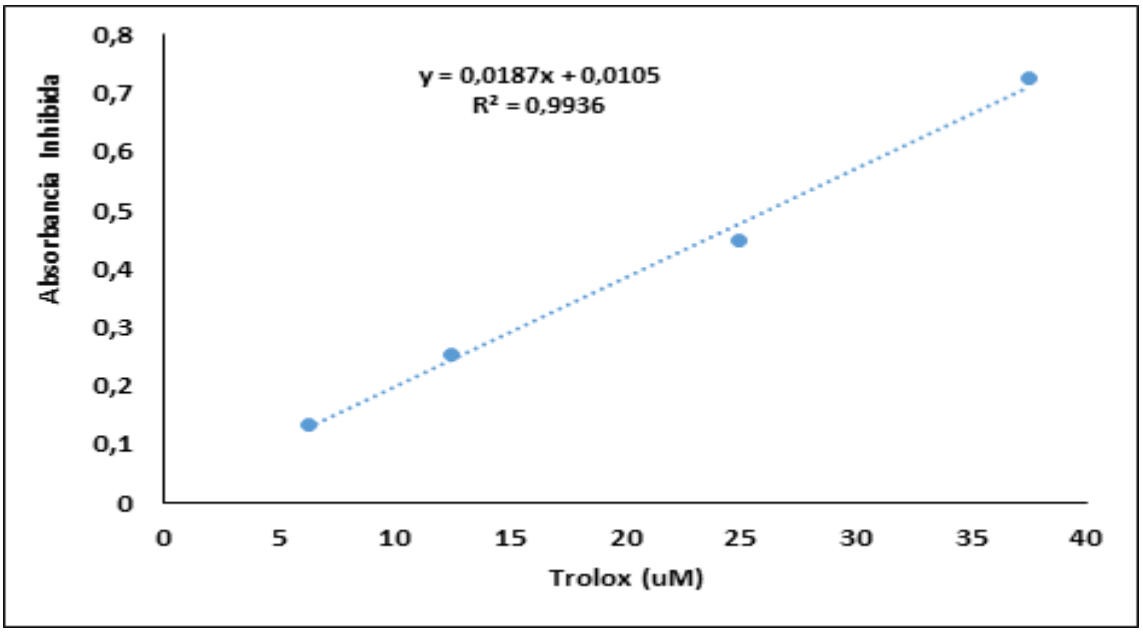


Figura 16A. Curva de absorbancia para la actividad antioxidante expresados por equivalente de trolox.

Cuadro 24A. Equivalente de Trolox de la capacidad antioxidante del filtrante.

uM Trolox equivalente/g				
Muestra	**FD**	**R1**	**R2**	**R3**
T1 (T. 30 ºC)	20	537,7	545	532
T2 (T: 35 ºC)	20	505,2	538	515
T3 (T: 40 ºC)	20	287,5	288	285

Cuadro 25A. Equivalente de trolox de la capacidad antioxidante de la infusión.

uM Trolox equivalente/Ml				
Muestra	**FD**	**R1**	**R2**	**R3**
INFUSIÓN (30 ºC)	5	5,168	5,53	4,7
INFUSIÓN (35 ºC)	5	4,772	4,88	4,81
INFUSIÓN (40 ºC)	5	2,651	2,76	2,55

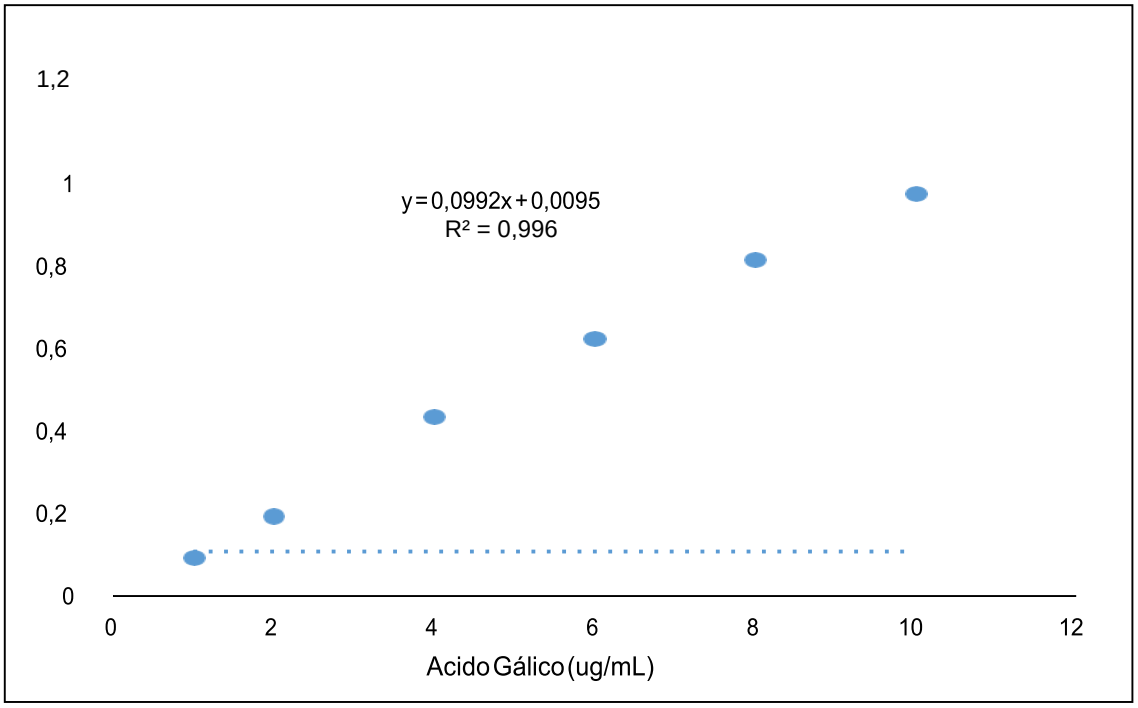


Figura 17A. Curva estándar para polifenoles expresado en equivalente de ácido gálico (AG).

Cuadro 26A. Resultado del contenido de polifenoles del filtrante.

Muestra	Polifenoles mgEAG/ 100 g muestra				SD	CV
	R1	R2	R3	Media		
T1 (30 ºC)	221,00	217,46	224,23	220,90	3,39	1,53
T2 (35 ºC)	210,36	213,27	203,92	209,18	4,79	2,29
T3 (40 ºC)	124,60	129,76	121,05	125,14	4,38	3,50

Cuadro 27A. Resultado del contenido de polifenoles de la infusión.

Muestra	Polifenoles mgEAG/ 100 mL infusión				SD	CV
	R1	R2	R3	Media		
INFUSIÓN (30 ºC)	2,34	2,41	2,25	2,33	0,08	3,48
INFUSIÓN (35 ºC)	2,15	2,01	2,09	2,08	0,07	3,49
INFUSIÓN (40 ºC)	1,52	1,57	1,46	1,52	0,06	3,73

Cuadro 28A. Resultado del análisis sensorial de los 20 panelistas no entrenados.

	Tratamiento 1 T: 30 ºC			Tratamiento 2 T: 35 ºC			Tratamiento 3 T: 40 ºC		
Nº Panelistas	Color	Olor	Sabor	Color	Olor	Sabor	Color	Olor	Sabor
1	5	4	3	5	4	3	5	4	3
2	5	4	4	5	4	3	5	4	4
3	4	2	2	4	3	3	4	4	4
4	5	4	4	5	4	2	5	5	3
5	5	4	2	5	4	3	5	4	3
6	5	4	3	5	2	2	5	2	2
7	5	5	4	5	5	4	5	5	4
8	4	4	3	5	4	2	4	3	3
9	4	3	5	5	2	3	4	4	3
10	4	4	4	5	3	3	5	3	4
11	5	5	3	5	2	3	5	4	5
12	4	5	4	5	3	3	4	3	3
13	5	4	4	4	4	2	5	2	3
14	5	5	4	5	2	3	4	4	4
15	5	4	5	4	4	2	5	3	2
16	5	5	5	5	3	3	4	3	4
17	4	3	4	4	3	2	5	2	3
18	4	5	5	5	3	3	4	3	3
19	4	4	4	4	4	3	5	3	3
20	5	3	4	5	3	3	4	4	2

Cuadro 29A. Resultados del pH y acidez del filtrante.

Tratamiento	Repetición	pH	Acidez Titulable
T1: 30 ºC	T1R1	4,40	2,90
	T1R2	4,27	3,30
	T1R3	4,18	3,10
T2: 35 ºC	T2R1	4,08	2,10
	T2R2	4,04	1,80
	T2R3	4,05	1,90
T3: 40 ºC	T3R1	4,03	2,50
	T3R2	4,00	2,10
	T3R3	4,00	2,10

Cuadro 30A. Resultado final de la humedad del filtrante.

Pcrisol	Pmuestra	Tratamiento	Repetición	% Humedad
34,82	5,05	T1: 30 ºC	T1R1	39,34
33,84	5,13		T1R1	38,41
32,79	5,06		T1R2	37,29
35,91	5,09		T1R2	40,44
35,84	5,09		T1R3	40,33
24,08	5,02		T1R3	28,56
22,99	5,07	T2: 35 ºC	T2R1	27,51
36,09	5,01		T2R1	41,36
34,04	5,04		T2R2	38,52
32,53	5,02		T2R2	37,00
34,18	5,08		T2R3	38,69
36,14	5,02		T2R3	40,59
24,63	5,01	T3: 40 ºC	T3R1	29,10
31,89	5,03		T3R1	36,37
24,69	5,05		T3R2	29,17
50,46	5,00		T3R2	55,88
51,24	5,01		T3R3	55,68
50,97	5,05		T3R3	55,43

Cuadro 31A. Ficha de la evaluación sensorial de la infusión filtrante de la hoja de achiote.

UNIVERIDAD NACIONAL DE UCAYALI
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS
CARRERA DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

FILTRANTE DE HOJA DE ACHIOTE

Fecha:……

Edad:……..

Sexo:

F	M

Frente a usted se presenta un cuadro, el cual le brindara datos de filtrantes según sus tratamientos; que gracias a su apoyo se podrá conocer su color, sabor y olor respectivo; ya sea de su agrado o no. Le agradeceré que tenga criterio al calificar.

A continuación se brindará la forma de calificar:

- Leer las instrucciones, de los códigos según Tratamientos.
- Escribir con número o “X”; según sea la forma de calificar e intensidad que a usted le parezca, debido a su análisis sensorial indicado.

COLOR

Marcar con un “X”, según la intensidad indicada por su criterio.

Códigos	Intensidad				
T1R1	 Me disgusta mucho	 Me disgusta un poco	 Ni me gusta ni me disgusta	 Me gusta poco	 Me gusta mucho
T2R1	 Me disgusta mucho	 Me disgusta un poco	 Ni me gusta ni me disgusta	 Me gusta poco	 Me gusta mucho
T3R1	 Me disgusta mucho	 Me disgusta un poco	 Ni me gusta ni me disgusta	 Me gusta poco	 Me gusta mucho

SABOR

Clasificar según el número que usted indique según su criterio.

Número	Intensidad
1	No me gusta nada
2	No me gusta mucho
3	Me gusta
4	Me gusta mucho

Códigos	Número
T1R1	
T2R1	
T3R1	

OLOR

Marca con una “X”, la alternativa que a usted le parezca la indicada.

Número	Intensidad
1	No me gusta nada
2	No me gusta mucho
3	Neutral
4	Me gusta
5	Me gusta mucho

Códigos	Intensidad				
T1R1	1	2	3	4	5
T2R1	1	2	3	4	5
T3R1	1	2	3	4	5

Gracias por su tiempo.

Cuadro 32A. Resumen estadístico para pH.

Temperatura	Recuento	Promedio	S.D.	C.V.	Mínimo	Máximo	Rango
30 °C	3	4.28	0.11	2.58%	4.18	4.4	0.22
35 °C	3	4.06	0.02	0.51%	4.04	4.08	0.04
40 °C	3	4.01	0.02	0.43%	4.0	4.03	0.03
Total	9	4.12	0.14	3.37%	4.0	4.4	0.4

Cuadro 33A. Medias para pH por temperatura con intervalos de confianza del 95.0%.

Temperatura	Casos	Media	(s agrupada)	Límite Inferior	Límite Superior
30 °C	3	4.28	0.038	4.22	4.35
35 °C	3	4.06	0.04	3.99	4.12
40 °C	3	4.01	0.04	3.94	4.08
Total	9	4.12			

Cuadro 34A. Verificación de varianza para el pH.

	Prueba	**Valor-P**
Levene's	2.30	0.18

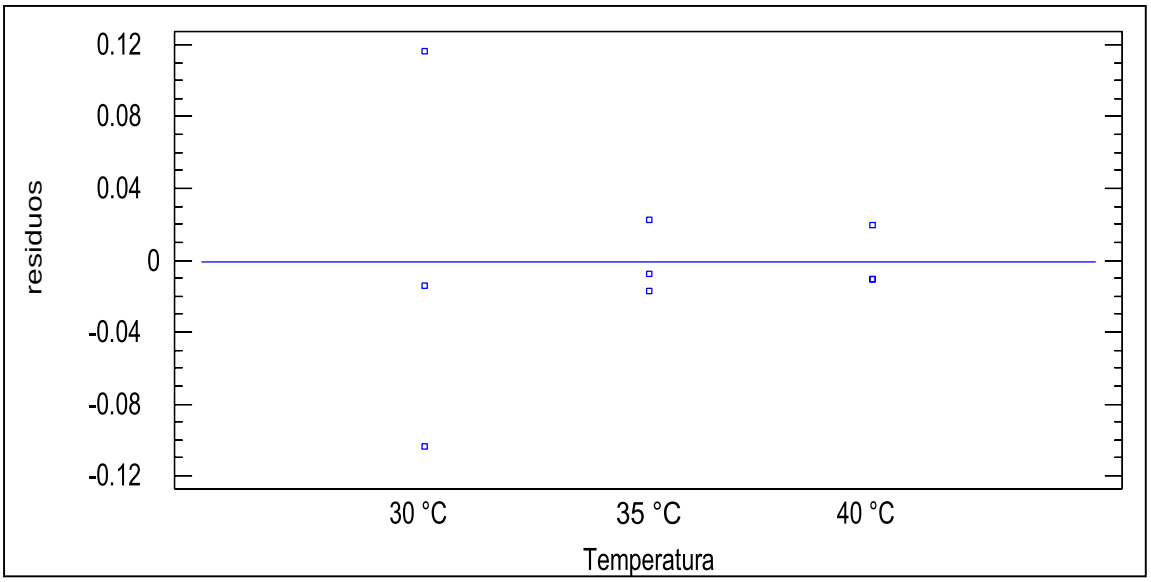


Figura 18A. Residuos para pH.

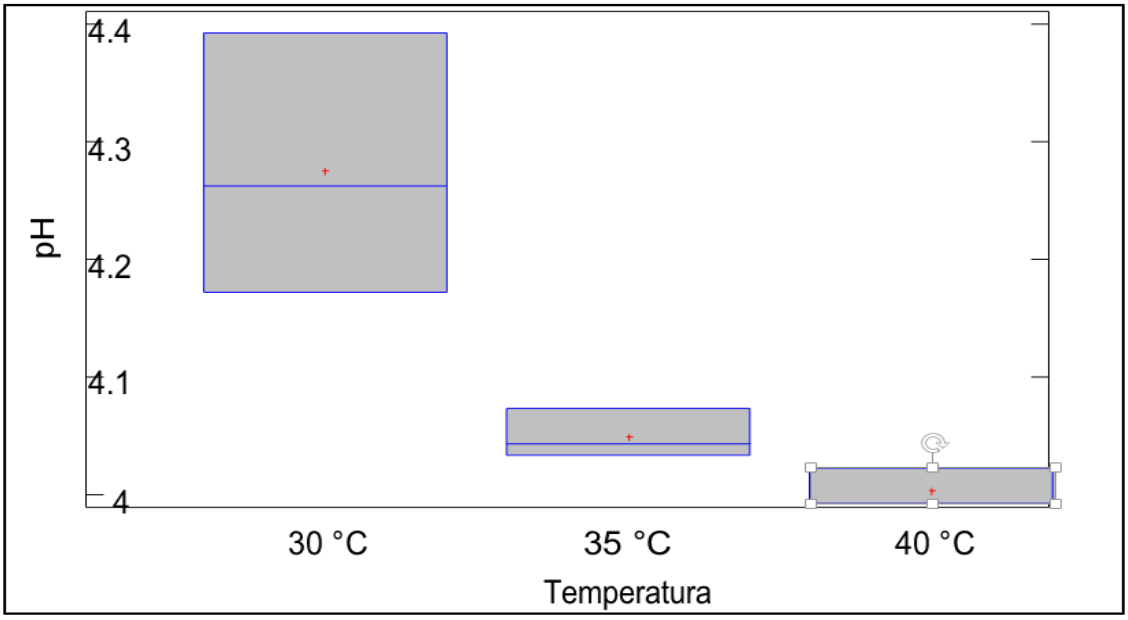


Figura 19A. Caja y bigotes para pH.

Cuadro 35A. Resumen estadístico para acidez.

Temperatura	*Recuento*	*Promedio*	*S. D.*	*C. V.*	*Mínimo*	*Máximo*	*Rango*
30 °C	3	3.1	0.2	6.45%	2.9	3.3	0.4
35 °C	3	1.93	0.15	7.90%	1.8	2.1	0.3
40 °C	3	2.23	0.23	10.34%	2.1	2.5	0.4
Total	9	2.42	0.55	22.78%	1.8	3.3	1.5

Cuadro 36A. Sesfo estandarizado y curtosis estandarizada para acidez.

Temperatura	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
30 °C	0.0	
35 °C	0.66	
40 °C	1.22	
Total	0.72	-0.83

Cuadro 37A. Medias para Acidez por temperatura con intervalos de confianza del 95.0%.

Temperatura	Casos	Media	(s agrupada)	Límite Inferior	Límite Superior
30 °C	3	3.1	0.11	2.90	3.30
35 °C	3	1.93	0.11	1.74	2.13
40 °C	3	2.23	0.11	2.04	2.43
Total	9	2.42			

Cuadro 38A. Verificación de Varianza para la acidez.

	Prueba	**Valor-P**
Levene's	0.04	0.96

Cuadro 39A. Resumen Estadístico para Polifenoles de las hojas de achiote.

Temperatura	Recuento	Promedio	S. D.	C. V.	Mínimo	Máximo	Rango
30 °C	3	220.90	3.39	1.53%	217.46	224.23	6.77
35 °C	3	209.18	4.78	2.29%	203.92	213.27	9.35
40 °C	3	125.14	4.38	3.50%	121.05	129.76	8.71
Total	9	185.07	45.38	24.52%	121.05	224.23	103.18

Cuadro 40A. Medias para Polifenoles por Temperatura con intervalos de confianza del 95.0%.

Temperatura	Casos	Media	(s agrupada)	Límite Inferior	Límite Superior
30 °C	3	220.897	2.43909	216.676	225.117
35 °C	3	209.183	2.43909	204.963	213.404
40 °C	3	125.137	2.43909	120.916	129.357
Total	9	185.072			

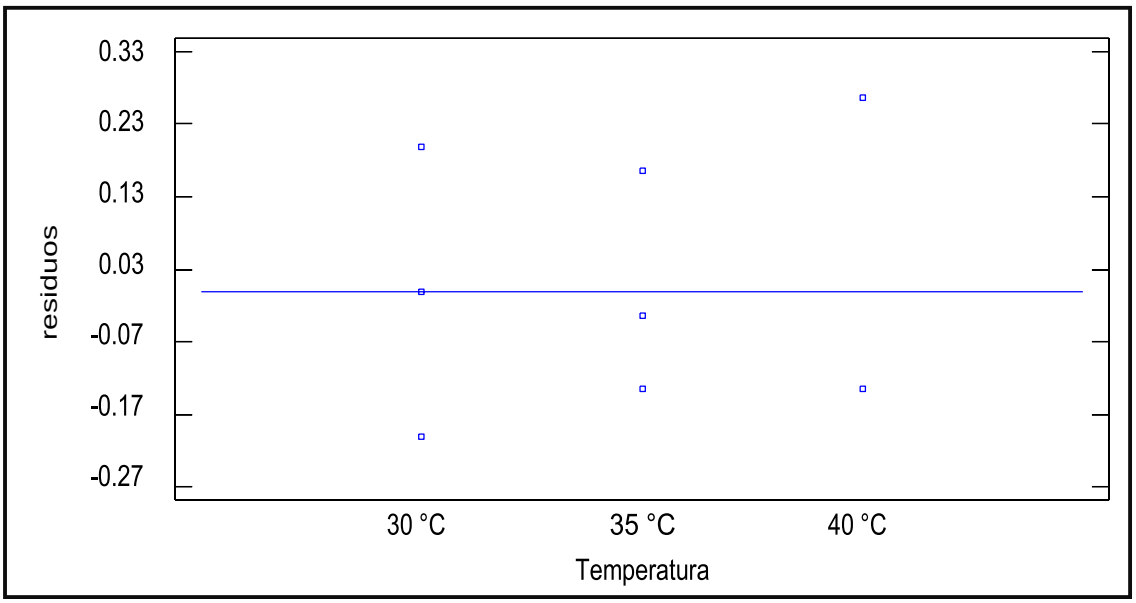


Figura 20A. Residuos para acidez.

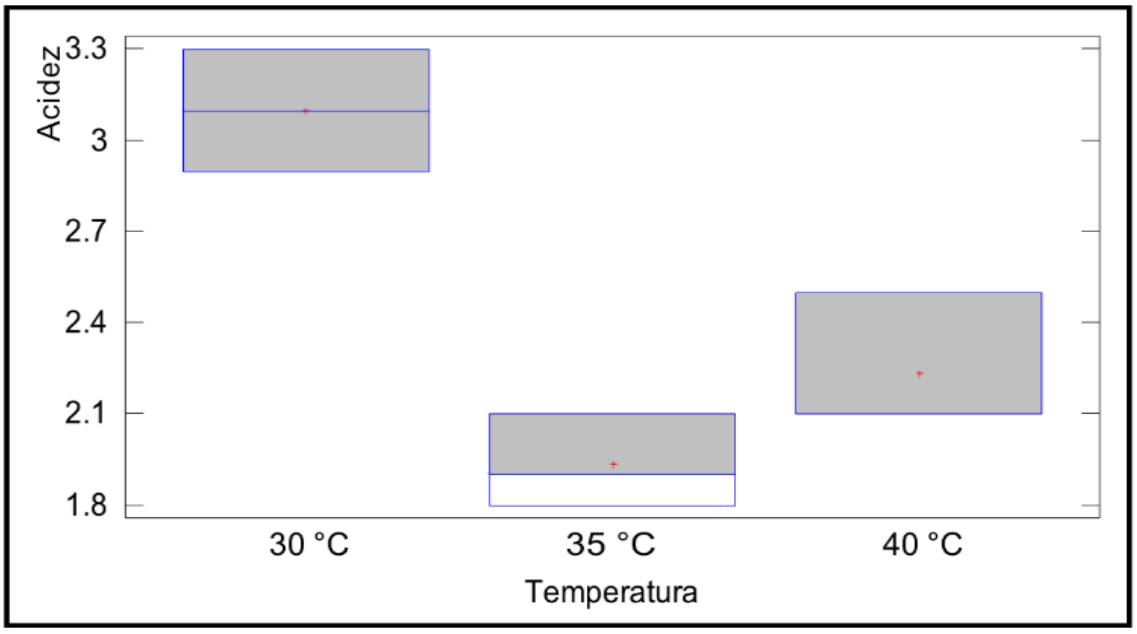


Figura 21A. Caja y bigotes para acidez.

Cuadro 41A. Resumen estadístico para humedad.

Temperatura	Recuento	Promedio	S. D.	C. V.	Mínimo	Máximo	Rango
30 °C	3	40.04	0.61	1.51%	39.34	40.44	1.1
35 °C	3	39.27	1.15	2.93%	38.52	40.59	2.07
40 °C	3	55.66	0.23	0.41%	55.43	55.88	0.45
Total	9	44.99	8.04	17.87%	38.52	55.88	17.36

Cuadro 42A. Sesgo estandarizado y curtosis estandarizada para la humedad.

Temperatura	Sesgo Estandarizado	Curtosis Estandarizada
30 °C	-1.18	
35 °C	1.19	
40 °C	-0.23	
Total	1.01	-1.05

Cuadro 43A. Medias para humedad por temperatura con intervalos de confianza del 95.0%.

Temperatura	Casos	Media	(s agrupada)	Límite Inferior	Límite Superior
30 °C	3	40.04	0.44	39.28	40.80
35 °C	3	39.27	0.44	38.51	40.03
40 °C	3	55.66	0.44	54.90	56.42
Total	9	44.99			

Cuadro 44A. Verificación de varianza para humedad.

	Prueba	**Valor-P**
Levene's	0.47	0.65

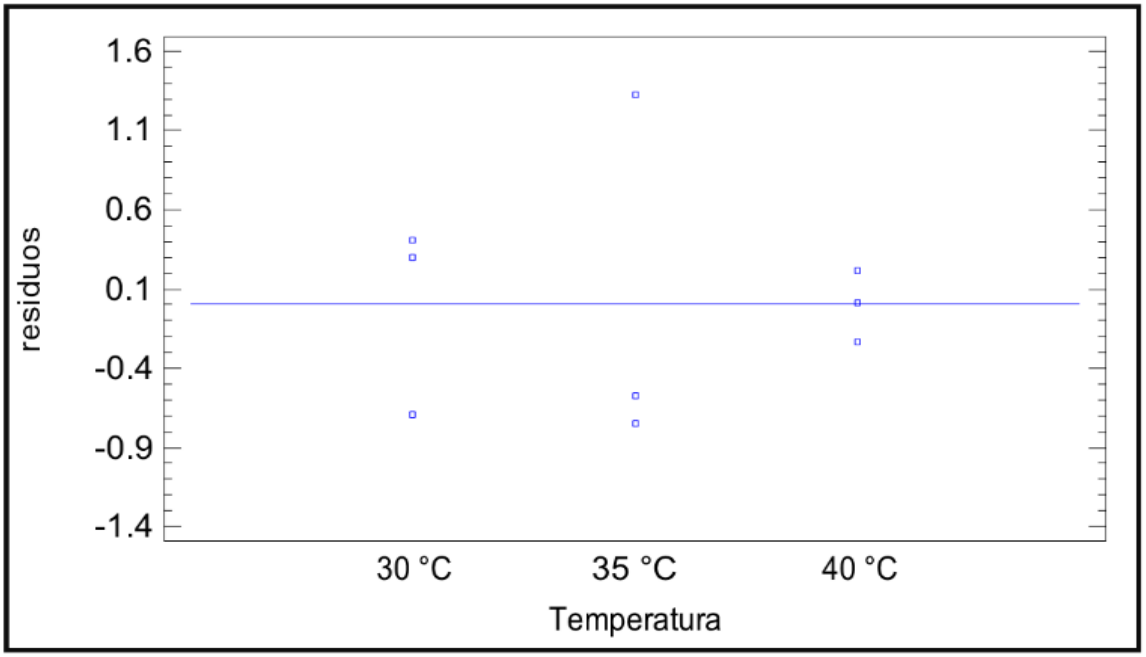


Figura 22A. Residuos para humedad.

Cuadro 45A. Resumen estadístico para polifenoles.

Temperatura	Recuento	Promedio	S. D.	C. V.	Mínimo	Máximo	Rango
30 °C	3	220.90	3.39	1.53%	217.46	224.23	6.77
35 °C	3	209.18	4.78	2.29%	203.92	213.27	9.35
40 °C	3	125.14	4.38	3.50%	121.05	129.76	8.71
Total	9	185.07	45.38	24.52%	121.05	224.23	103.18

Cuadro 46A. Medias para polifenoles por temperatura con intervalos de confianza del 95.0%.

Temperatura	Casos	Media	(s agrupada)	Límite Inferior	Límite Superior
30 °C	3	220.90	2.44	216.68	225.12
35 °C	3	209.18	2.44	204.96	213.40
40 °C	3	125.14	2.44	120.92	129.36
Total	9	185.07			

Cuadro 47A. Verificación de varianza para polifenoles de las hojas de achiote.

	Prueba	Valor-P
Levene's	0.09	0.92

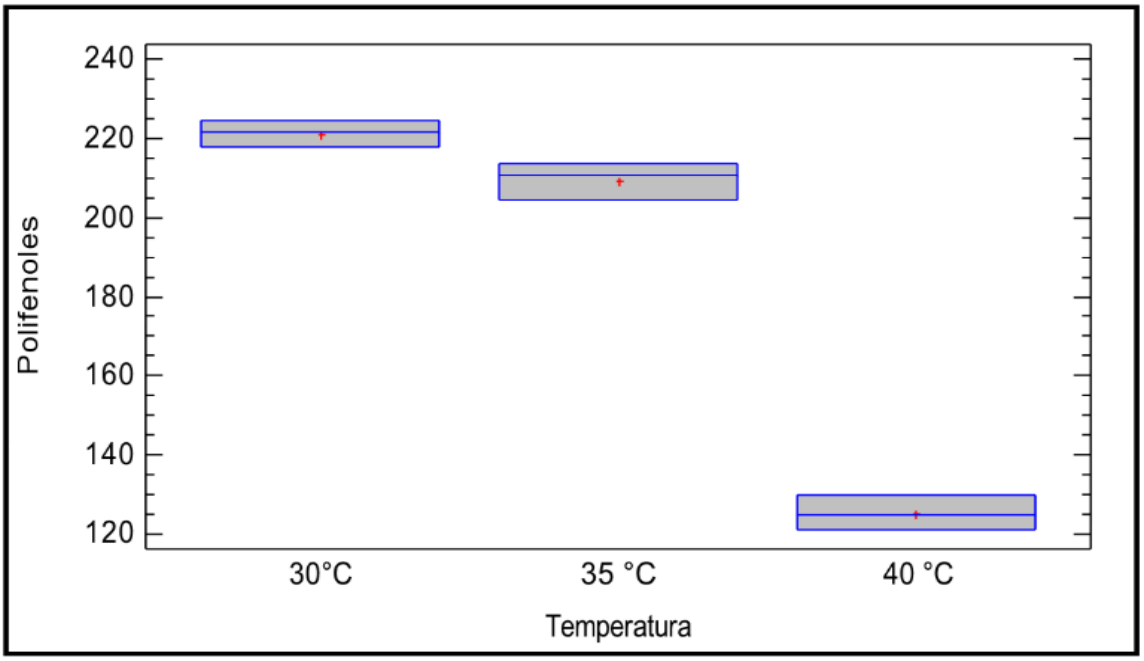


Figura 23A. Cajas y bigotes para polifenoles de las hojas de achiote.

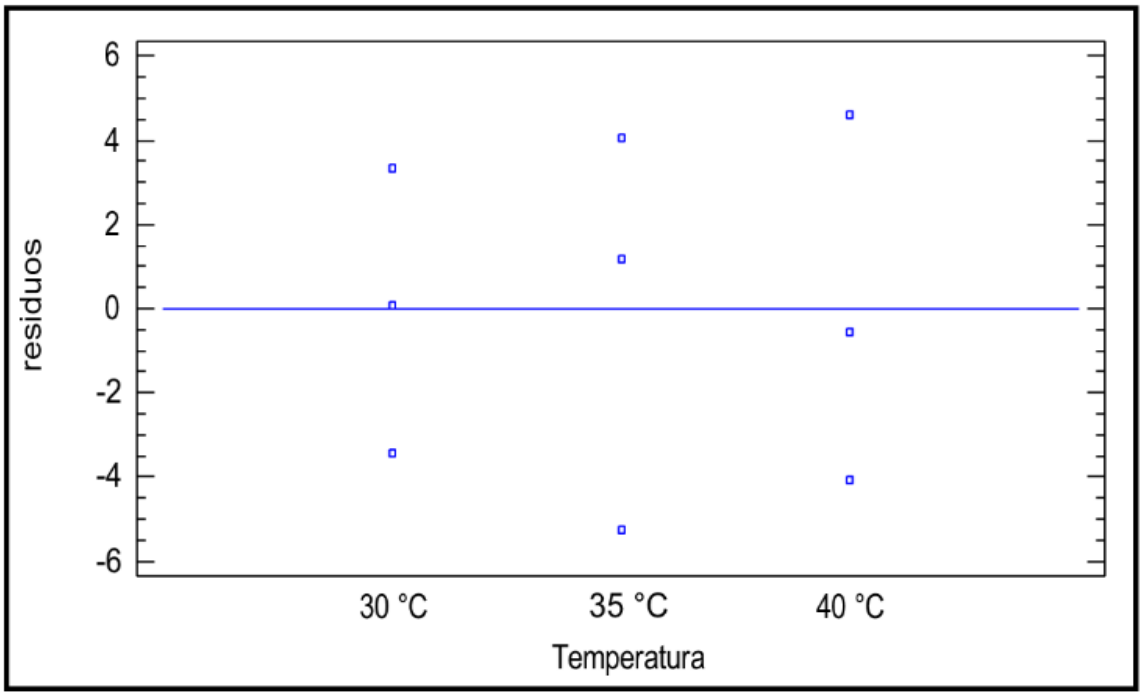


Figura 24A. Residuos para polifenoles de las hojas de achiote.

Cuadro 48A. Resumen estadístico para actividad antioxidante de las hojas de achiote.

Temperatura	Recuento	Promedio	S. D.	C. V.	Mínimo	Máximo	Rango
30 °C	3	538.31	6.87	1.28%	531.74	545.45	13.71
35 °C	3	519.45	16.65	3.20%	505.17	537.73	32.56
40 °C	3	286.94	1.78	0.62%	284.94	288.37	3.43
Total	9	448.23	121.58	27.13%	284.94	545.45	260.51

Cuadro 49A. Medias para Actividad Antioxidante por Temperatura con intervalos de confianza del 95.0%.

Temperatura	Casos	Media	(s agrupada)	Límite Inferior	Límite Superior
30 °C	3	538.31	6.03	527.87	548.74
35 °C	3	519.45	6.03	509.02	529.89
40 °C	3	286.94	6.03	276.5	297.38
Total	9	448.23			

Cuadro 50A. Verificación de varianza de la actividad antioxidante de las hojas de achiote.

	Prueba	**Valor-P**
Levene's	1.53	0.29

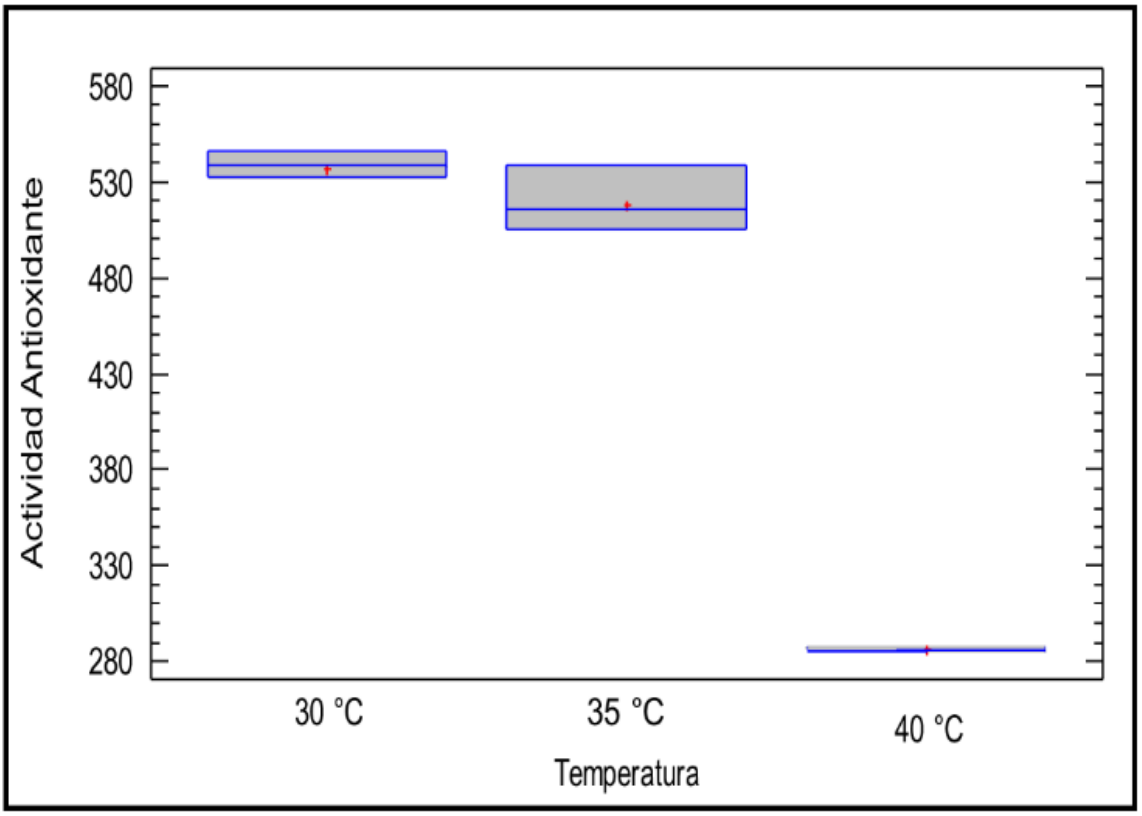


Figura 25A. Cajas y bigotes para antioxidantes de las hojas de achiote.

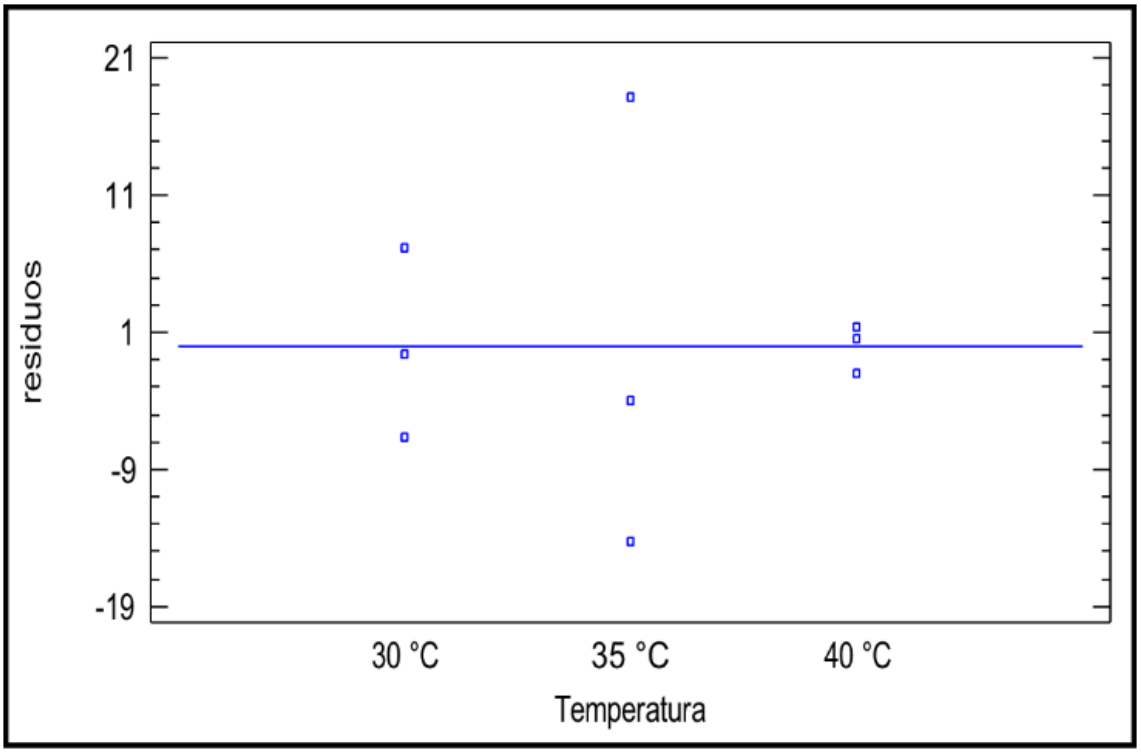


Figura 26A. Residuos para antioxidantes de las hojas de achiote.

Cuadro 51A. Resumen estadístico para infusión de las hojas de achiote, en cuanto a polifenoles totales.

Temperatura	Recuento	Promedio	S. D.	C. V.	Mínimo	Máximo	Rango
30 °C	3	2.33	0.08	3.44%	2.25	2.41	0.16
35 °C	3	2.08	0.07	3.37%	2.01	2.15	0.14
40 °C	3	1.52	0.06	3.63%	1.46	1.57	0.11
Total	9	1.98	0.37	18.57%	1.46	2.41	0.95

Cuadro 52A. Medias para infusión polifenoles por temperatura con intervalos de confianza del 95.0%.

Temperatura	Casos	Media	(s agrupada)	Límite Inferior	Límite Superior
30 °C	3	2.33333	0.04	2.26412	2.40254
35 °C	3	2.08333	0.04	2.01412	2.15254
40 °C	3	1.51667	0.04	1.44746	1.58588
Total	9	1.97778			

Cuadro 53A. Verificación de varianza para polifenoles en infusión.

	Prueba	**Valor-P**
Levene's	0.13	0.88

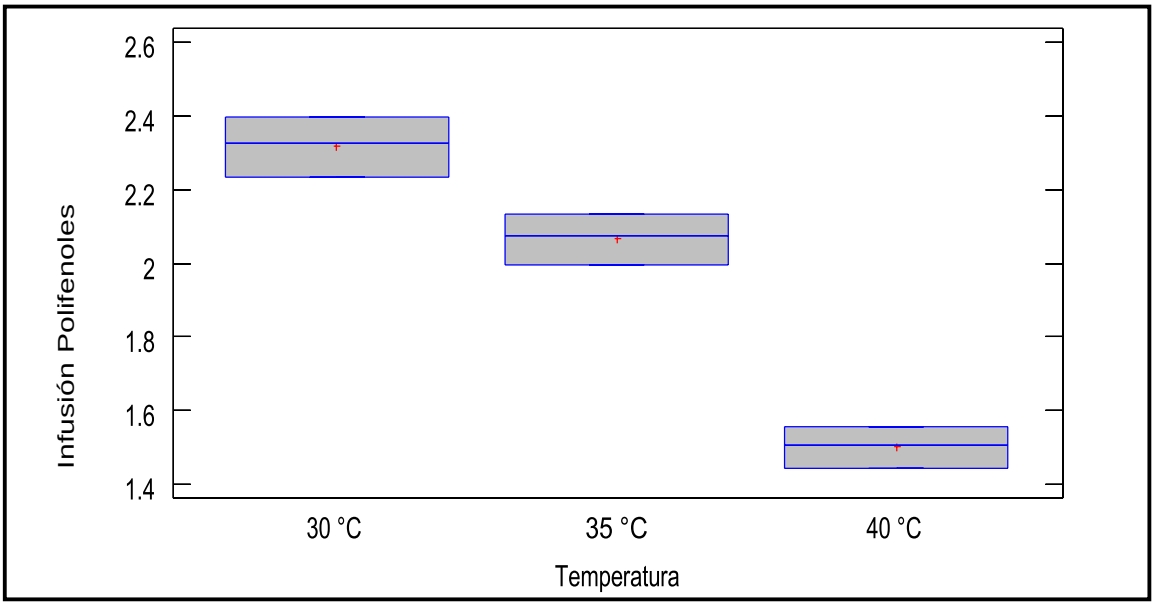


Figura 27A. Caja y bigotes para polifenoles de la infusión filtrante de la hoja de achiote.

Cuadro 54A. Costo de producción para el filtrante de hoja de achiote elaborado.

Descripción Materiales e Insumos	Unidad	Cantidad	Costo Unitario	Costo Total
Hojas de achiote	kg	3	0.20	0.6
Hipoclorito de sodio	L	2	0.100	0.2
Mano de obra	hora	8	5.00	40
Energía eléctrica	kw/h	20	0.60	12
Agua	L	40	0.20	8
Papel filtro	m	10	0.60	6
Papel trilaminado	m	12	0.80	9.6
Hilo de torisión blanca	m	20	0.03	0.6
TOTAL				**s./ 66.00**

Proceso de obtención la infusión filtrante y los análisis realizados a los compuestos activos, análisis fisicoquímicos y sensoriales.



Figura 28A. Recolección de las hojas de achiote.



Figura 29A. Selección de las hojas de achiote.



Figura 30A. Lavado de las hojas de achiote.



Figura 31A. Desinfección de las hojas de achiote a 8 ppm.



Figura 32A. Pesado de las hojas de achiote, antes del secado.



Figura 33A. Secado de las hojas de achiote en una estufa.



Figura 34A. Molienda y tamizado (Nº 40) de las hojas de achiote.



Figura 35A. Pesado de las hojas molidas y tamizadas, para la elaboración del filtrante.



Figura 36A. Peso exacto 1 g para filtrante de hoja de achiote.



Figura 37A. Preparación del empaque del filtrante de la hoja de achiote.



Figura 38A. Elaboración del filtrante de la hoja de achiote.



Figura 39A. Preparación de las muestras para determinar pH y acidez titulable.



Figura 40A. Determinación del pH, con ayuda de un potenciómetro de la muestra seca.



Figura 41A. Determinación de la acidez titulable de la muestra seca.



Figura 42A. Determinación de la humedad de la muestra seca.



Figura 43A. Preparación de la muestra seca e infusión de la hoja de achiote.



Figura 44A. Determinación de polifenoles y antioxidantes con el equipo espectrofotómetro.



Figura 45A. Filtrante elaborado y etiquetado.



Figura 46A. Análisis sensorial de la infusión filtrante de la hoja de achiote.



Figura 47A. Aceptación del mejor tratamiento a través del análisis sensorial por medio de una ficha hedónica.