

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA

ESCUELA DE POSGRADO

MAESTRÍA EN INGENIERÍA DE LOS ALIMENTOS

MENCIÓN INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



**“DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE UN MICRODISPOSITIVO
EN PAPEL PARA MEDIR pH USANDO EXTRACTOS DE LA
CÁSCARA DE AGUAJE (*Mauritia flexuosa*)”**

TESIS

PARA OPTAR EL GRADO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS E INGENIERÍA DE LOS
ALIMENTOS CON MENCIÓN EN INGENIERÍA
AGROINDUSTRIAL**

IRIS OLIVIA RUIZ YANCE

TINGO MARÍA – PERÚ

2019



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
ESCUELA DE POSGRADO
DIRECCIÓN



"Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad"

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS
Nro. 031-2019-EPG-UNAS

En la ciudad universitaria, siendo las 1:00pm, del día viernes 27 de setiembre del 2019, reunidos en la Sala de Grados de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, se instaló el Jurado Calificador a fin de proceder a la sustentación de la tesis titulada:

"DESARROLLO Y VALIDACIÓN DE UN MICRODISPOSITIVO EN PAPEL PARA MEDIR pH USANDO EXTRACTOS DE LA CÁSCARA DE AGUAJE (*Mauritia flexuosa*)"

A cargo del candidato al Grado de Maestro en Ciencias de Ingeniería de Alimentos, mención Ingeniería Agroindustrial nombre Iris Olivia RUIZ YANCE.

Luego de la exposición y absueltas las preguntas de rigor, el Jurado Calificador procedió a emitir su fallo declarando **APROBADO** con el calificativo de **MUY BUENO**.

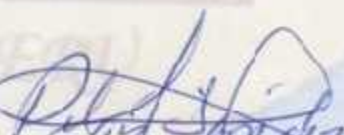
Acto seguido, a horas 2:30pm. el presidente dio por culminada la sustentación; procediéndose a la suscripción de la presente acta por parte de los miembros del jurado, quienes dejan constancia de su firma en señal de conformidad.


.....
M.Sc. WILLIAMS V. ROLDÁN CARBAJAL
Presidente del Jurado


.....
M.Sc. MILAGROS FOLLEGATTI ROMERO
Miembro del Jurado


.....
M.Sc. JAIME BASILIO ATENCIO
Miembro del Jurado




.....
Dr. PEDRO PELAEZ SÁNCHEZ
Asesor

DEDICATORIA

*A Dios por darme la oportunidad
de estar bien de salud y por lograr
cumplir con uno de mis objetivos
en mi vida profesional.*

*A mis padres que gracias a su constante
apoyo y su incalculable amor con sus hijos, siempre
están conmigo en los momentos más difíciles.*

*A mi fiel compañero que está en los
difíciles episodios de la vida.*

AGRADECIMIENTO

Al asesor de la presente investigación Dr. Pedro Pablo Peláez Sánchez y Ph. Dr. Luis Alberto Condezo Hoyos por su apoyo incondicional en toda la ejecución de la tesis.

Al Ing. MSc. Williams Vicente Roldan Carbajal como presidente de jurado calificador por contribuir con sus observaciones acertadas en la investigación realizada.

Al Ing. MSc. Jaime Basilio Atencio como Miembro de Jurado calificador por haber contribuido con sus conocimiento y aportes en el desarrollo de la investigación.

A la Ing. MSc. Milagros Follegatti Romero quien con sus observaciones y aportes contribuyo a mejorar la redacción de la presente investigación.

A todos los que contribuyeron para la ejecución y redacción de mi tesis...

Muchas gracias

INDICE GENERAL

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
I. INTRODUCCIÓN	3
II. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1. Antecedentes	4
2.2. Aspectos generales del aguaje	8
2.2.1. Aspectos botánicos	8
2.3. Aguaje	9
2.3.1. Composición química del aguaje	10
2.4. pH	11
2.4.1. Buffer	11
2.5. Microdispositivo de papel	11
2.6. Antioxidantes	12
2.6.1. Principales Antioxidantes	12
2.6.2. Efectos benéficos de los antioxidantes	12
2.6.3. Fuentes naturales de los antioxidantes	13
2.6.4. Radicales libres	13
2.7. Polifenoles Totales	13
2.7.1. Definición	13
2.7.2. Clasificación de compuestos fenólicos	13
2.7.3. Principales polifenoles	14
2.7.4. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos	14
2.8. Antocianinas	14
2.9. Técnica de medición del color en bebidas	14
2.10. Imagen J	15
2.11. Validación	16
2.12. Definiciones	16
2.12.1. Sensor de pH óptico verde	16
2.12.2. Extracto de cáscara de aguaje (<i>Mauritia flexuosa</i>)	18

III. MATERIALES Y MÉTODOS	19
3.1. Lugar de ejecución	19
3.2. Material biológico	19
3.3. Materiales, equipos y reactivos	20
3.4. Métodos de análisis	21
2.4.1. Método de determinación de actividad antioxidante	21
3.5. Metodología experimental	22
3.5.1. Desarrollo y diseño del microdispositivo en papel para medir pH	23
a) Desarrollo del microdispositivo en papel filtro	
¡Error! Marcador no definido.	
b) Diseño del microdispositivo en papel filtro	23
c) Diseño trébol en papel filtro para medir pH	23
d) Diseño rectangular en papel filtro de café para medir pH	23
e) Desarrollo del microdispositivo trebol en papel filtro	24
f) Desarrollo del microdispositivo rectangular en papel	24
3.6. Preparación del solvente y la concentración en los extractos de cáscara de aguaje	24
a) Procedimiento para la obtención de la cáscara pulverizada	24
b) Procedimiento para la evaluación del solvente y concentración	27
3.7. Procedimiento para la evaluación de análisis antioxidantes en los extractos de cáscara de aguaje	29
3.8. Evaluación del efecto de pHs frente al extracto de cáscara de aguaje	31
3.9. Efecto del buffer a diferentes pHs frente al extracto de la cáscara de aguaje en función al tiempo	32
3.10. Evaluación la variación del color en las imágenes del extracto de cáscara de aguaje frente a diferentes pHs	32
3.11. Validación del microdispositivo en papel para medir pH en bebidas comerciales	33
3.12. Diseño experimental	34
3.13. Diseño estadístico experimental	36
IV. RESULTADOS	37
4.1. Desarrollar y diseñar el microdispositivo de papel para medir pH usando extractos de cáscara de aguaje	37

4.2.	Evaluación del solvente y la concentración en extractos de cáscara de aguaje	37
4.3.	Evaluación del efecto del buffer a diferentes pHs frente a los extractos de cáscara de aguaje	39
4.4.	Evaluación de la variación del color en las imágenes del extracto de cáscara de aguaje frente a diferentes pHs	42
4.5.	Validación del microdispositivo en papel para medir pH en muestra de bebidas comerciales	42
V.	DISCUSIONES	44
5.1.	Desarrollo y diseño del microdispositivo en papel para medir pH usando extractos de cáscara de aguaje	44
5.2.	Evaluación del solvente y la concentración en extractos de cáscara de aguaje	45
5.3.	Evaluación del efecto del buffer a diferentes pHs frente al extracto de cáscara de aguaje	48
5.4.	Evaluación de la variación del color en las imágenes del extracto de cáscara de aguaje frente a diferentes pHs.	50
5.5.	Validación del microdispositivo en papel para medir pH en muestras de bebidas comerciales	54
VI.	CONCLUSIONES	59
	RECOMENDACIONES	60
	REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	61
	ANEXOS	68

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Preparación de Buffers a diferentes valores de pH	31
2. Bebidas comerciales utilizadas	34
3. Actividad antioxidante para DPPH° y ABTS ⁺ ° de cáscara de aguaje	37
4. Fenoles totales y flavonoides totales de cáscara de aguaje.	38
5. Antocianinas y carotenoides de cáscara de aguaje.	38
6. Medición del pH a 40 °C y 50 °C a diferentes tiempos.	39
7. Medición del pH de diferentes solvente en cáscara de aguaje.	39
8. Efecto del pH del extracto hidroalcohólico de cáscara de aguaje	40
9. pH de bebidas comerciales según dispositivo	41
10. Valores del análisis de parámetros de color RGB de microdispositivo de papel rectangular para medir pH en bebidas comerciales	55
11. Valores del análisis de color RGB de microdispositivo de papel trébol para medir pH bebidas comerciales	55
12. Valores del pH-metro instrumental y el pH estimado en bebidas comerciales	56

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Fruto de aguaje (<i>Mauritia flexuosa</i>)	9
2. Medidas biométricas del fruto de aguaje (<i>Mauritia flexuosa</i>)	10
3. A:Cáscara de aguaje B:cáscara pulverizada de aguaje (<i>Mauritia flexuosa</i>).	10
4. Escala de medida del pH.	11
5. Esquema de la conducción experimental	22
6. Diseño del microdispositivo trébol de papel para medir pH en el extracto de la cáscara de aguaje	23
7. Diseño del microdispositivo rectangular de papel para medir pH en el extracto de la cáscara de aguaje	23
8. Flujograma para la obtención pulverizado de cáscara de aguaje	25
9. Flujograma para la obtención de extracto acuoso hidroalcohólico de cáscara de aguaje	28
10. Diseño experimental para evaluar el efecto del pH sobre el extracto de la cáscara de aguaje	35
11. Diseño experimental para evaluar el efecto de las bebidas comerciales sobre los extractos de la cáscara de aguaje (<i>Mauritia flexuosa</i>)	35
12. Diseño del microdispositivo en papel para medir pH	37
13. Espectros de absorción UV-VIS del extracto hidroalcohólico de cáscara de aguaje a diferentes tiempos y temperaturas	38
14. Espectros de absorción UV-VIS del extracto hidroalcohólico de cáscara de aguaje (100 g/mL)	38
15. Espectros de absorción UV-VIS del extracto de cáscara de aguaje frente a pHs diferentes (100 mg/mL)	39
16. Espectros de absorción UV-VIS del extracto de cáscara de aguaje frente a diferentes bebidas comerciales (100 mg/mL)	40

17. Extracto hidroalcohólico frente al buffers a diferentes pHs	41
18. Extracto hidroalcohólico frente a diferentes bebidas comerciales	41
19. Espectros de absorción UV-VIS del extracto hidroalcohólico de cáscara de aguaje	48
20. Evaluación del efecto del buffers en diferentes pHs sobre el extracto hidroalcohólico de cáscara de aguaje.	49
21. Variación del color sobre el efecto del buffers a diferentes pH.	51
22. Evaluación brillo percibido de color RGB en % de luminosidad del extracto hidroalcohólico frente a buffers de pH 3 a 9	53
23. Microdispositivos en papel para medir pH de bebidas comerciales	54
24. Bebidas comerciales con extracto de cáscara de aguaje en microdispositivo rectangular.	57
25. Bebidas comerciales con extracto de cáscara de aguaje en microdispositivo trébol.	58

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo	Página
1. Características biométricas del fruto de aguaje	68
2. Curvas de calibración para la actividad antioxidante	69
3. Curva de calibración para polifenoles	70
4. Tabla Anova para antioxidantes, fenoles, flavonoides, antocianinas y carotenoides	71
5. Histograma de measure RGB del extracto hidroalcohólico de cáscara de aguaje frente al buffer en diferentes pHs	73
6. Histograma de measure RGB del extracto hidroalcohólico de cáscara de aguaje frente a bebidas comerciales	75

RESUMEN

El objetivo del trabajo de investigación fue desarrollar, diseñar y validar un microdispositivo en papel para medir pH usando extractos de cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*), se determinó el tipo de solvente a partir de la cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*), se evaluó la actividad antioxidante con DPPH° obteniendo el valor de 6.323 ± 0.58 mM TEAC/ 100 mL, ABTS°+ con el valor de 6.32 ± 0.5 mM TEAC/ 100 mL, fenoles totales con 3.89 ± 0.01 mg AGE/100 g, flavonoides totales con 3.43 ± 0.04 mg de catequina/100 g, y antocianinas con 2.59 ± 0.64 mg de cianidina-3-glucosido/L y finalmente carotenoides con $1.54 \times 10^{-4} \pm 0.00$ mg/100 g. Todos estos resultaron permitieron definir el solvente, utilizándose el hidroalcohólico para la cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*), luego se evaluó el efecto del pH de las cáscara de aguaje frente a buffers de pH 3 a 9; asimismo se evaluó el efecto del pH frente a bebidas comerciales, permitiendo el desarrollo de un microdispositivo de papel diseñado en Corell Draw X6, impreso en papel filtro para café, determinándose la variación del color en las imágenes percibidas con el programa Imagen J calculado en los parámetros Red, Green, Blue, (RGB), validándose el microdispositivo en papel con muestras de bebidas comerciales, utilizándose el pH instrumental y el pH estimado que se acerca a dichos valores, concluyendo que el microdispositivo arroja valores frente al pH instrumental, siendo una propuesta de alternativa sencilla, de control, barato, versátil y fácil de usar.

Palabras claves: cáscara de aguaje, pH estimado, variación de color, diseño, validación, microdispositivo.

ABSTRACT

The objective of the research work was to develop, design and validate a paper microdevice to measure pH using extracts of aguaje peel (*Mauritia flexuosa*), the type of solvent was determined from the aguaje peel (*Mauritia flexuosa*), it was evaluated the antioxidant activity with DPPH ° obtaining the value of 6.323 ± 0.58 mM TEAC / 100 mL, ABTS ° + with the value of 6.32 ± 0.5 mM TEAC / 100 mL, total phenols with 3.89 ± 0.01 mg AGE / 100 g, total flavonoids with 3.43 ± 0.04 mg of catechin / 100 g, and anthocyanins with 2.59 ± 0.64 mg of cyanidin-3-glucoside / L and finally carotenoids of $1.54 \times 10^{-4} \pm 0.00$ mg / 100 g. All these resulted allowed to define the hydroalcoholic solvent for the aguaje shell (*Mauritia flexuosa*), then the effect of pH was evaluated against buffers of pH 3 to 9; Likewise, the effect of pH against commercial beverages was evaluated, allowing the development of a paper microdevice designed in Corell Draw X6, printed on filter paper for coffee, determining the color variation in the images perceived with the Image J program calculated in the parameters Red, Green, Blue, (RGB), the microdevice was validated on paper with samples of commercial beverages, using the instrumental pH and the estimated pH that is close to said values, concluding that the microdevice shows values compared to the instrumental pH, being a proposal for a simple, control, cheap, versatile and easy to use alternative.

Keywords: aguaje skin, estimated pH, color variation, design, validation, micro device.

I. INTRODUCCIÓN

En la industria alimentaria se utilizan colorantes sintéticos, como insumo para el procesamiento de productos alimentarios, estos colorantes sintéticos son cancerígenos y causan daños al ser humanos. Por ello en la actualidad, el interés de los colorantes naturales son las antocianinas, en la actualidad se ha incrementado debido a su potencial como colorantes naturales. Las antocianinas tienen aplicaciones en quimioterapia taxonómica y estudios ecológicos. Estos tienen colores brillantes y atractivos, son solubles en agua. Las antocianinas de la cáscara de aguaje se encuentran disponibles como residuos de la utilización del fruto. Existe una gran variedad de colorantes naturales que son extraídas a partir extracción hidroalcohólica de la cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*), contribuyendo a minimizar el uso de colorantes sintéticos planteándose la extracción de las antocianinas a partir de la cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*), se determinó el color y su acción como biosensor del pH. Se puede medir el pH utilizando un microdispositivo en papel, como un indicador de frescura y de estabilidad en productos envasados en el almacenamiento. Planteandose el desarrollo y la validación de un microdispositivo en papel para medir pH, usando extractos de la cáscara de aguaje, considerando buffer de pH 3 a 9. En la presente investigación, se planteo los siguientes objetivos:

- Desarrollar y diseñar un microdispositivo en papel para medir pH usando extractos de cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*).
- Evaluar el solvente y la concentración en extractos de cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*).
- Evaluar el efecto del buffer a diferentes pHs frente a los extracto de cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*) en función al tiempo.
- Evaluar la variación del color en las imágenes del extracto de cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*), frente a diferentes pHs.
- Validar el microdispositivo en papel para medir pH en muestra de bebidas comerciales.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Antecedentes

Según Ma y Wang (2016) menciona que, en la detección general de pH, los pigmentos químicos se utilizan como colorantes sensibles, tales como verde de bromocresol, púrpura de bromocresol, azul de bromofenol y rojo de cresol y para la seguridad alimentaria es importante debido a su posible toxicidad. Por ello los colorantes sintéticos son carcinógenos o mutágenos, estos podrían causar un daño potencial para la vida acuática y los seres humanos. Por lo tanto, tintes naturales extraídos de plantas son alternativas para su uso en materiales de embalaje biodegradables, los indicadores fluorescentes se han utilizado en indicadores de frescura en alimentos almacenados que fueron identificados por radiofrecuencia y sensores. Todos estos dispositivos inteligentes podrían integrarse dentro de los materiales de embalaje para determinar el grado de frescura en alimentos envasados, los indicadores de pH se han utilizado para controlar e indicar la frescura de los alimentos en el almacenamiento debido a que el proceso de deterioro suele ir acompañada de un cambio de pH. De esta manera, los consumidores pueden distinguir los alimentos frescos en descomposición de acuerdo con una diferencia de color visual sin necesidad de abrir el embalaje.

Según Mir *et al.* (2015) menciona, que el desarrollo de un nuevo sensor de pH óptico verde para un amplio rango de valores de pH se describe en base a la inmovilización de extracto de uva en un biopolímero de agarosa ópticamente transparente. Las antocianinas de uva Siah Sardasht se extrajeron y se utilizan como un colorante adecuado para la preparación de un sensor óptico de pH, por su inmovilización sobre una película de agarosa transparente. En un acoplamiento optimizado, pH de 10 y un colorante de concentración se obtuvo un sensor sensible con estabilidad a largo plazo 100 mg mL⁻¹. El sensor responde rápidamente a los cambios de

pH en una gama de 1 a 10 con un tiempo de respuesta de 3.0 min y repetibilidad mejor que 0.3 % (RSD). El sensor se montó en las células de cuarzo y se aplica con éxito para la monitorización del pH. No se observó evidencia de lixiviación del colorante o cualquier señal.

Según Shao *et. al.* (2013) menciona que una película detectora de polielectrolito se ha depositado con éxito en superficies TFBG por el LbL técnica de autoensamblaje electrostática para fabricar un novedoso sensor de pH de fibra óptica. La nanocobertura era caracterizado por QCM y AFM. El principal beneficio de este tipo de recubrimiento es su alta porosidad RMS, lo cual hace que la respuesta dinámica muy rápido, del orden de 10 segundos, nuestro análisis cuantitativo técnica para la respuesta del sensor se obtiene una precisión de pH de 0.01, suficiente para muchos en la biomédica y aplicaciones de monitorización de procesos, especialmente teniendo en cuenta el hecho de que este sensor en miniatura (menos de 1 cm de largo, con un diámetro de 125 micrómetros) puede ser fácilmente interrogado de forma remota. Una desventaja de este sensor es el rango de funcionamiento lineal limitado de pH (4.66 a 6.02) debido a la alta IR del recubrimiento. Esperamos que otros polielectrolitos o hidrogeles con menor RI se pueden mezclar en el recubrimiento de reducir el IR eficaz y aumentar el rango de medición. La optimización de espesor está en curso para obtener mayor sensibilidad al pH.

Según Manjakkal *et. al.* (2013) dice “si bien no existen obstáculos tecnológicos fundamentales para la implementación de redes de sensores de gran superficie, su viabilidad se ve limitada por el costo unitario de los nodos sensores en donde se describe un sensor de pH bajo costo, destinado a ser utilizado en el monitoreo de agua dulce”. El sensor se fabricó en un proceso de película gruesa estándar y se utiliza como un material de detección. Las soluciones de ensayo con pH que varía de 2 a 10 se prepararon a partir de soluciones de HCl o KOH. El sensor fabricado exhibe respuesta nernstiana a pH. También se investigó la influencia de las condiciones de almacenamiento sobre el rendimiento de detección.

Según Chen y Gu (2013) menciona que una película sensible al pH óptica nueva del tipo de absorción se preparó mediante la inmovilización de pigmento repollo morado de la película de sol-gel. Para la preparación de la

película sensible al pH, El pigmento de repollo morado fue atrapado en la película de sol-gel y luego se cubre en portaobjetos de vidrio por el método de recubrimiento por inmersión. Las propiedades de detección de la película sensible del pigmento de repollo morado los pH fueron examinados por el método de reflectancia-polarizada, ultravioleta-visible en el espectrofotómetro.

Los resultados indican que la película responde rápidamente (dentro de 1 a 2 min) en un amplio rango de pH de 2 - 11 con linealmente calibración. La desviación estándar relativa (R.S.D.) de su reproducibilidad es menor que 0.3 %. Además, el índice de refracción y el espesor de la película no se cambian con diferentes valores de pH sin embargo, el coeficiente de extinción de la película cambia regularmente como cambios de pH, la tendencia de los cuales es consistente con la de la absorbancia que es una película a 633 nm. Por lo tanto, la película sensible del pH del pigmento del repollo morado se demostró ser un tipo de película de absorción, que es prometedor para diseñar un sensor de pH del tipo de absorción.

Según Alcalde *et. al.* (2004) menciona que los colorantes naturales, sustituido en uso por los sintéticos en los dos últimos siglos, son, hoy en día, la creciente preocupación de los consumidores. El principal inconveniente de estos pigmentos naturales es, su falta de estabilidad. Por lo tanto, el color de los productos alimenticios a la que se han añadido pueden cambiar o incluso en fases con el tiempo. Esta es la razón por la cual estos colorantes naturales están siendo ampliamente estudiados. Un grupo interesante entre ellos son las antocianinas. Las antocianinas están presentes en la mayor parte de las plantas, no sólo en flores y frutos de la floración, sino también en tallos, hojas, raíces y órganos de almacenamiento, proporcionándoles diferentes colores, principalmente rojo y azul, pero también naranja, púrpura y violeta. Además, algunos estudios han revelado su actividad antioxidante, lo que sugiere su beneficioso efecto sobre la salud humana (efectos cardiovasculares-protectoras, reducción del riesgo de cáncer, enfermedades del corazón, enfermedades antivirales y los efectos anti-inflamatorios).

Según Zhang *et. al.* (2015) menciona que los sensores de pH ópticos (optrodes) se basan en los cambios dependientes del pH, propiedades de

las capas delgadas y de protones-permeable en el que un indicador de pH ha sido químicamente o inmovilizado físicamente. Varios autores han informado de la inmovilización de reactivos colorimétricos en varias películas como un método eficaz para la construcción de sensores para pH (2 - 6). Aunque las propiedades deseadas de una fase indicador inmovilizado variarían dependiendo de la aplicación prevista. En general, las técnicas de inmovilización ideal deben producir un conjunto altamente estable de moléculas que permanecen estrictamente accesible para colorante disuelto. La unión covalente a un soporte funcionalizado y atrapamiento físico, ya sea en una matriz polimérica porosa o detrás de una membrana selectivamente poroso, son dos comúnmente empleado técnicas. Atrapamiento es la técnica más simple técnicamente, pero la respuesta es a menudo relativamente largo.

Un método para la unión de la enzima al soporte de celulosa covalente, que incluye la activación de la celulosa por urea y formaldehído. El propósito de este trabajo fue investigar la posibilidad de desarrollar una modificación de los anteriores métodos, para la inmovilización covalente de nuevos indicadores sobre acetilcelulosa ópticamente transparente membrana que se ha hidrolizado y activado previamente utilizando tio-urea y alcohol de polivinilo. De acuerdo a nuestro conocimiento, hasta ahora, sólo el tinte que tiene moléculas con grupos amino en el ciclo del anillo eran utilizado para construir sensores de pH óptico basado en la modificación química de las películas de polímero. En este trabajo se utilizó tio-urea en la vinculación de cada tipo de medio de contraste (con o sin grupos amino en el anillo) a la celulosa película de acetato con resultados satisfactorios.

Según Ma y Wang (2016) dice: “que las antocianinas son un gran grupo de colorantes naturales utilizados para supervisar las variaciones del pH debido a la presencia de sustancias fenólico o conjugados”. Se han realizado varios estudios de antocianinas extraídas de frutas como la uva, coronta de maíz, hojas, y plantas etc., como colorantes indicadores de pH. Ellos encontraron que el color alterado claramente de rojo a verde en el intervalo de pH de 2 - 9 y que las películas que incorporan estos compuestos podrían ser utilizados para controlar visualmente el deterioro de la carne de cerdo. Además, las antocianinas en la piel de la uva tienen la mayor

actividad antioxidante. Por lo tanto, la incorporación de extractos de piel de uva (EGS) en polímeros para desarrollar el envasado de alimentos son potencialmente biopolímero biodegradable son la primera opción para hacer films sin problemas ni preocupaciones sobre el medio ambiente.

2.2. Aspectos generales del aguaje

2.2.1. Aspectos botánicos

Morfología: es una palmera polígama dioica, tiene una copa esférica, puede alcanzar una altura de 35 m. Las hojas son compuestas, flabeladas, de 5 - 6 m de longitud, agrupadas en número de 10 - 20 en la parte terminal del tallo formando la copa. En ciertas regiones, su producción de frutos es asombrosa: cerca de 10.000 frutos pueden ser producidos por un solo árbol en el transcurso de un año. El fruto es una drupa, subglobosa o elíptica, mide 5 - 7 cm de longitud y 4 - 5 cm de diámetro, el peso varía 40 - 85 g; el mesocarpo es suave, amiláceo, de color amarillo, anaranjado o anaranjado rojizo, tiene un espesor de 4 - 6 mm" y constituye entre el 10 – 21 % del fruto (Gutshe, 2008).

Taxonomía Mostacero *et. al.* (2002) reporta la siguiente clasificación taxonómica:

Reino : Plantae

División : Angeospermae

Clase : Monocotyledonae

Orden : Arecales

Familia : Arecaceae

Género : *Mauritia*

Especie : *Flexuosa*

Nombre científico : *Mauritia flexuosa* L. F.

Nombres comunes: aguaje, achual (Perú); caranday-guazu, ideui (Bolivia); Buriti, aguaje, mirita (Colombia); moriche (Venezuela).

Utilización: para Región Loreto (2007) el fruto maduro se ablanda en agua, la cascara se eliminan y se extrae el mesocarpo. Las bebidas de aguaje se preparan diluyendo la pulpa del fruto, en agua con azúcar o sometiendo a fermentación; Según Gutshe (2008) dice: "en la amazonía peruana, los

pobladores gustan mucho del jugo de aguaje, de suave textura, sabor delicado y color amarillo pálido”.

Otros productos que se obtienen de la pulpa; son harinas y aceite. De las hojas se obtienen fibras para uso doméstico y artesanía, las hojas se usan directamente en el techado de viviendas rústicas (Gutshe, 2008).

2.3. Aguaje

El fruto es una drupa, subglobosa o elíptica, mide 5 - 7 cm de longitud y 4 - 5 cm de diámetro, él peso varía 40 - 85 g; él mesocarpo es suave, amiláceo, de color amarillo, anaranjado o anaranjado rojizo, tiene un espesor de 4 - 6 mm y constituye entre 11 – 21 % del fruto (Región Loreto, 2006). Los frutos de aguaje se parecen a unas pequeñas granadas de mano de color rojo vino, y su pulpa amarilla o naranja se consume en varias formas, pero sobre todo en su forma fresca del fruto (Gutshe, 2008). A continuación se muestra una fotografía del fruto de aguaje.



Figura 1. Fruto de aguaje (*Mauritia flexuosa*)

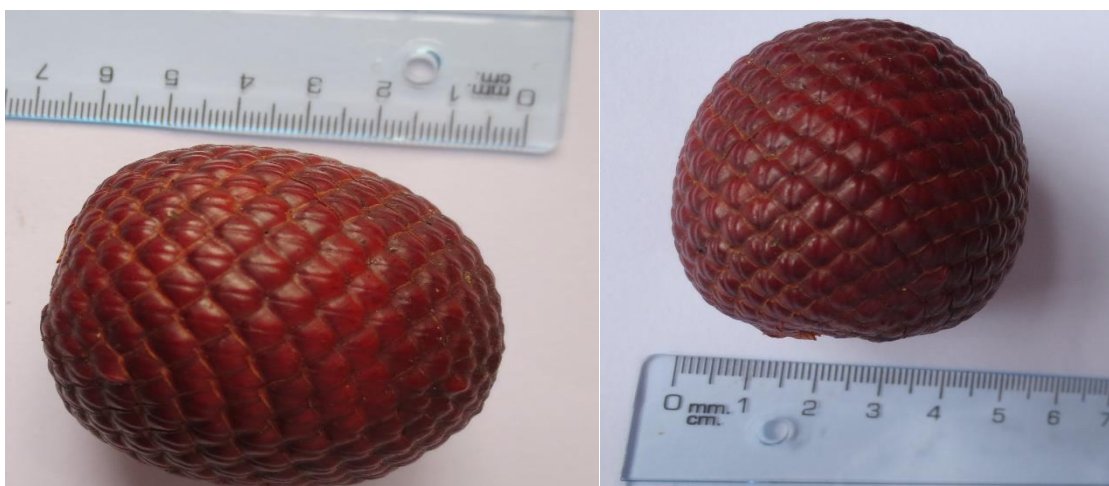


Figura 2. Medidas biométricas fruto de aguaje (*Mauritia flexuosa*)

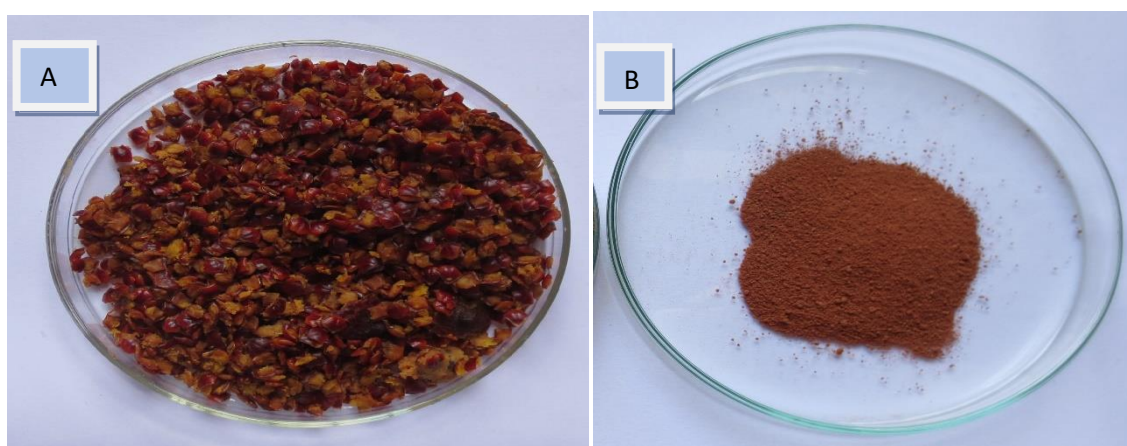


Figura 3. A: Cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*)
B: Cáscara pulverizada de aguaje (*Mauritia flexuosa*)

2.3.1. Composición química del aguaje

La pulpa de aguaje (*Mauritia flexuosa*), es altamente nutritiva y contiene proteínas, grasas, carbohidratos y vitaminas que cuidan nuestros ojos, piel y cabello. En 100 g de muestra, se encuentra de 173 a 300 mg de vitamina A, es una alternativa contra la hipovitaminosis A, de 80 a 100 mg de vitamina E y de 50 a 60 mg de vitamina C. Puede ser una fuente potencial de aceites comestibles, el mesocarpio contiene 29 % de aceite, principalmente compuesto por ácido oléico de 78.3 % y palmítico de 18.1 %. El aceite posee elevados tenores de pro-vitamina A (500 UI) en forma de β -caroteno, quien brinda el color característico rojo-anaranjado-amarillo la pulpa (Gutshe, 2006).

2.4. pH

El pH es una unidad de medida que sirve para establecer el nivel de acidez o alcalinidad de una sustancia y/o alimento natural o procesado, esta medida es de forma cuantitativa cuyo equipo a utilizar es un potenciómetro que registra escalas desde 1 a 14. (Romero, *et. al.* 2005). A continuación se muestra la escala de medida del pH.



Figura 4. Escala de medida del pH.

Cuando una sustancia registra valores ácidos, quiere decir que tiene una alta moderada o baja cantidad de iones de hidrógeno y tienden a entregar iones H^+ a la solución. Asimismo si una sustancia registra valores alcalinos quiere decir que tienden a tomar iones H^+ de la solución que tiene una alta alcalinidad moderada o baja que no presenta iones de hidrógeno. (Romero, *et. al.* 2005).

2.4.1. Buffer

El buffer es una sustancia reguladora, sistema que mantiene a la sustancia casi constante, para evitar que ocurra otras reacciones y mantenerlo dentro de la acidez o alcalinidad siendo este muy reducido, asimismo tiene múltiples utilidades, tanto en la industria como en el área médica, en el medio ambiente, etc. (Romero, *et. al.* 2005).

2.5. Microdispositivo de papel

Ahmed *et. al.* (2016) menciona que el uso de papel de celulosa en los métodos de análisis fueron usados desde la antigüedad. Yagoda (1937), reportó el primer patrón hidrofóbico de papel de filtro usando estampado en relieve de parafina para confinar la zona de detección, también explica la motivación inicial de lo que conocemos hoy como la microfluídica de papel.

Según Martínez *et al.* (2007) menciona que se ha desarrollado una gran variedad de técnicas de fabricación y se tiene: cortado, foto-litografiado, polidimetil-siloxano, inyección de tinta, inmersión en cera, impresión flexográfica, impresión en cera, estampado, tratamiento de plasma, impresión por inyección de tinta, deposición en fase de vapor (Akyazi *et al.* 2018).

Toley *et al.* (2015) menciona desarrollo de un dispositivo para microfluidos de papel con accionamiento de la válvula de control de fluido. El papel se considera un material de sustrato atractivo y prometedor para aplicaciones microfluídicas, el papel presenta propiedades mecánicas que incluyen flexibilidad, ligereza y bajo grosor. El papel se produce a partir de una suspensión acuosa diluida de fibras de celulosa que se escurren a través de un tamiz, se prensa y se seca, para producir una lámina formada por una red de fibras entrelazadas al azar.

2.6. Antioxidantes

Un antioxidante es una sustancia capaz de neutralizar la acción oxidante de los radicales libres, son muy reactivos ya que tienden a captar un electrón de moléculas estables con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica (Valenzuela, 2015).

2.6.1. Principales Antioxidantes

Entre los antioxidantes más importantes de los alimentos cabe destacar: vitamina A, vitamina C, carotenoides, vitamina E y en la actualidad los flavonoides (Valls, 2002).

2.6.2. Efectos benéficos de los antioxidantes

Los antioxidantes impiden que otras moléculas se unan al oxígeno, al reaccionar- interactuar más rápido con los radicales libres del oxígeno y las especies reactivas del oxígeno que con el resto de las moléculas presentes, en un determinado microambiente. La acción del antioxidante es de sacrificio de su propia integridad molecular para evitar alteraciones de moléculas, lípidos y proteínas, ADN (Venero, 2002).

2.6.3. Fuentes naturales de los antioxidantes

Según Quiñones (2017) la capacidad antioxidante presente en los vegetales puede ser debida a los polifenoles que poseen características biológicas. La actividad antioxidante de polifenoles es la propiedad de mayor interés, debido a que tiene un efecto que contiene en su estructura química un número variable de grupos hidróxilo fenólicos, los cuales reaccionan con los radicales libres.

2.6.4. Radicales libres

Los radicales libres actúan sobre el ADN mitocondrial, que es muy susceptible al estrés oxidativo y existe evidencia de que este mecanismo está implicado en procesos carcinogénicos. También producen oxidación de las proteínas, con la consiguiente desfiguración estructural de las mismas. (Guimet, 2012).

2.7. Polifenoles Totales

2.7.1. Definición

Los compuestos polifenólicos constituyen una clase de metabolitos secundarios biosintetizados por el reino vegetal, se ha reportado trabajos que atribuyen su acción antioxidante a la inhibición de enzimas prooxidantes como la lipooxigenasa (Guimet, 2012).

2.7.2. Clasificación de compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos se dividen en dos grandes grupos:

- Compuestos flavonoides: son sustancias polifenólicas de bajo peso molecular que comparten el esqueleto común de difenilpiranos; dos anillos bencenos unidos a través de un anillo pirona o piran heterocíclico y se clasifican a su vez en: flavan-3-oles, antocianinas (delfinidina, malvidina, cianidina), flavonas (crisina, rutina), flavonoles (quercetina, miricetina), flavanonas (herperidina, naringenina), catequinas (epicatequina, galato de epicatequina, epigallocatequina) y dihidroflavonoles (Quiñones, 2017).
- Compuestos no flavonoides: incluyen los ácidos hidroxibenzoico y hidroxicinámicos, estilbenos, etc (Quiñones, 2017).

2.7.3. Principales polifenoles

Entre ellos podemos mencionar a los flavonoides, isoflavonoides, antraquinonas, antocianidinas y xantonas, a los ácidos fenólicos, fenoles simples, ácidos hidroxicinámicos, fenilpropenos, ligninas, entre otros (Guimet, 2012).

2.7.4. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos

Algunos beneficios han sido atribuidos a los compuestos fenólicos, y un gran número de estudios han sugerido que el consumo de frutas y verduras pueden reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares y de cáncer, potencialmente a través de la actividad biológica de los compuestos fenólicos así como de las vitaminas como antioxidantes (Quiñones, 2017).

2.8. Antocianinas

Las antocianinas son glucósidos de antocianidinas conformadas por dos anillos aromáticos, A y B, unidos por una cadena de tres átomos de carbono (Garzón, 2008). Estos compuestos pertenecen a la familia de los flavonoides. Son glucósidos de antocianidinas, es decir, que están constituidos por una molécula de antocianidina, que es la aglicona, a la que se le une un azúcar por medio de un enlace glucosídico (Aguilera *et. al.* 2011). Las antocianinas pueden encontrarse en forma acilada debido a la acilación de los residuos de azúcares con derivados de ácidos orgánicos alifáticos (De Pascual *et. al.* 2002).

2.9. Técnica de medición del color en bebidas

El color es una característica de valoración física, de calidad, de medición que permitan la obtención de valores comparables y reproducibles (Mathias-Rettig & Ah-Hen, 2014).

Asimismo podemos observar el color en una bebida y podemos afirmar que existen factores que influyen mucho en la medición del color: como la iluminación, la observación, la presencia de los pigmentos de la muestra en estudio, el espectro propio de la muestra, la superficie, tamaño, textura, brillo de la muestra con respecto a la luz. Esto nos permite concluir que si

evaluamos la calidad y la seguridad, nos tenemos que aplicar normas de calidad y seguridad en los alimentos, estos resultados deben ser precisos, rápidos y objetiva. Esta metodología que nos da información de resultados computarizados nos proporciona una técnica automatizada, rápida, rentable, no destructiva y lograr la objetividad de los resultados computarizados, sin embargo existen aplicaciones de técnicas que miden el color en los alimentos como el cileab que atraves de la luminancia (Mathias-Rettig & Ah-Hen, 2014).

El color a menudo se utiliza para determinar el contenido de pigmentos de un producto, que a su vez es un índice de calidad, como lo es en el caso del salmón o del vino (González y Vicente, 2007).

Se ha comprobado que cuando el color de un alimento cambia sin alterar su forma, aroma u otros atributos de textura, se obtienen una respuesta de rechazo por parte de los consumidores, o incluso de los catadores entrenados (Badui, 2006). En conclusión el color es una característica sensorial que puede describir parámetros físicos cuantificables. En la industria de alimentos la medición instrumental del color sirve como herramienta de control de calidad. (Mathias-Rettig & Ah-Hen, 2014).

Existen diferentes formas de cuantificar el color, los métodos que se utilizan en la actualidad cada vez más rápido y no invasivos. Dentro de los métodos con mayor proyección se encuentra la visión digital. Sin embargo, su eficacia en las industrias ya se ha comprobado por diferentes técnicas espectrocópicas. Siendo un método rápido, eficiente, barato y no destructivo, y no contamina el medio ambiente, además de permite la captación de imágenes, implementación de proceso de automatización que permiten la inspección rutinaria que existen en las áreas de proceso. (Mathias-Rettig & Ah-Hen, 2014).

2.10. Imagen J

El Imagen J, es un software que maneja imágenes de microscopia, donde se puede medir áreas, cuantificar imágenes, etc. Asimismo existen opciones en el software de Imagen J que permite mejorar el aspecto de una imagen, además este software tiene muchas opciones que cuantifican el

área de la imagen, mediante el plugins se añaden varias funciones medibles, estas parámetros medibles están como Red Green Blue (RGB), permite cuantificar y analizar estadísticamente las imágenes digitales, que uno quiere analizar. <http://imagenj.nih.gov/ij/download.html>.

2.11. Validación

La validación de un método es el proceso para establecer las características de funcionamiento y limitaciones del método y la identificación de influencias que pueden cambiar estas características y hasta que punto; cuando el método se desarrolla sin un problema particular previsto. También es el proceso para verificar que un método es apto para ese propósito, es decir, para usarlo para resolver un problema analítico particular; cuando el método se desarrolla con un fin específico. En química analítica el otro uso del término de validación es en el contexto de instrumental.(FAO, 2005).

2.12. Definiciones

- Sensor de pH óptico verde

Según Zhang *et. al.* (2015) se investiga un nuevo punto cuántico basado en el diseño del sensor de pH. El sensor se sintetiza basado en el auto ensamblaje de los puntos cuánticos verdes en esporas tratadas para formar nano compuestos de esporas de puntos cuánticos, los nano compuestos se caracterizan mediante barrido láser microscopía focal, microscopio electrónico de transmisión y espectroscopia de fluorescencia, entre otros. Las mediciones de fluorescencia mostraron que estos nano compuestos son sensibles a pH en un amplio intervalo de pH de 5 a 10. Los sensores de pH desarrollados han sido satisfactoriamente aplicados para la estimación de pH de las muestras reales y son comparables con los puntos verdes y alimentos comerciales aplicando el método de ensayo, lo que indica el potencial de aplicación práctica de los sensores de pH.

Según Shao *et. al.* (2013) mencionan que un sensor de pH de fibra óptica basado en una fibra inclinada rejilla de Bragg, se presenta el autoensamblaje película multicapa de detección electrostática. El pH sensible película polimérica, poli (cloruro de dialildimetilamonio) y poli (ácido

acrílico) se depositó sobre la circunferencia de la fibra inclinada rejilla de Bragg con la capa por capa técnica de autoensamblaje electrostática. La película PDDA / PAA exhibe una reducción de índice de refracción por la hinchazón en diferentes soluciones de pH.

Este efecto resulta en longitud de onda desplazamientos y cambios de transmisión en el espectro de la fibra inclinada rejilla de Bragg. La amplitud de pico de las franjas espectrales dominantes más de una cierta ventana de espectro de transmisión, obtenida por análisis FFT, tiene una sensibilidad pH casi lineal de 117 unidad arbitraria (a.u.) / unidad de pH y una precisión de ± 1 A.U. (En el rango de pH 4.66 a pH 6.02). El espesor y la superficie morfología de la película de múltiples capas de detección se caracterizaron para investigar sus efectos en el rendimiento del sensor. La respuesta dinámica del sensor también se ha estudiado (10 s tiempo de subida y 18 s tiempo de caída de un sensor con seis dobles capas de PDDA / PAA).

Según Ensafi y Kazemzadeh (1999) también dice que un nuevo sensor de pH bajo costo desarrollado mediante la inmovilización de un indicador directo de tinte y porosa acetilcelulosa película transparente. Este sensor se fabricó, mediante la unión a-naftil Red y Alizarine GG amarilla para una película de acetato de celulosa que previamente habían sido sometidos a una base de hidrólisis exhaustiva.

Según Córdoba *et al.* (2004) dicen que el sensor obtenido es sensible a las variaciones de pH, tanto en líquidos como en gases húmedos, además es reversible y estable a los cambios químicos. Asimismo Hutchings (1999) el pH tiene efecto en la estructura y la estabilidad de las antocianinas. La acidez tiene un efecto protector sobre la molécula. En soluciones acuosas a valores de pH inferiores a dos, básicamente 100 % del pigmento se encuentra en su forma más estable o de ión oxonio o catión flavilio (AH^+) de color rojo intenso. A valores de pH más altos ocurre una pérdida del protón y adición de agua en la posición 2, dando lugar a un equilibrio entre la pseudobase carbinol o hemicetal (B) y la forma chalcona (C), Tanto el hemicetal como la chalcona, son formas incoloras y bastante inestables. A valores de pH superiores a 7 se presentan las formas quinoidales (A, A) de color púrpura que se degradan rápidamente por oxidación con el aire.

- Extracto de cáscara de aguaje

Es la separación de componentes en una mezcla de líquidos por contacto con un disolvente adecuado inmiscible en ella (Lewis y Irving, 1992). Chemat *et al.* (2016) dice que las aplicaciones de extracción asistida por ultrasonido es una zona verde y económicamente viable alternativa a las técnicas convencionales para alimentos y productos naturales. Los principales beneficios son la disminución de la extracción y el tiempo de procesamiento, la cantidad de energía y disolventes utilizados, las operaciones de la unidad, y CO₂ las emisiones.

Según Ma y Wang (2016) menciona acerca de estos materiales biopolímeros, polisacáridos son materiales y formadores de película fiables siendo un recurso natural abundante. Ensafi y Kazemzadeh (1999) menciona que las membrana tienen una buena durabilidad (12 meses) y un tiempo de respuesta corto (5, s). los métodos son fáciles de realizar y usa acetil celulosa como vehículo. Los reactivos utilizados son de bajo costo, no tóxico, y ampliamente disponibles. El sensor se puede usar para la determinación directa de pH en medios alcalinos.

Según Ensafi y Kazemzadeh (1999) menciona que en general, la técnica de inmovilización ideal debe producir un conjunto altamente estable de moléculas que permanecen estrictamente accesible para colorantes disueltos. La unión covalente a un soporte funcionalizado y atrapamiento físico, ya sea en una matriz polimérica porosa o detrás de una membrana selectivamente porosa, son dos técnicas comúnmente empleados.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución

El presente trabajo de investigación se ejecutó entre los meses de marzo a julio del presente año, en los laboratorios de HPLC, Análisis de Alimentos de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, ubicada a 09° 18' 00" de latitud sur; 76° 91' 00" de longitud oeste a una altitud de 660 msnm, temperatura que varía de 18° C a 30° C y una humedad relativa de 79 a 86 %, con precipitación pluvial de 3500 mm, en el distrito de Rupa Rupa, provincia de Leoncio Prado, departamento de Huánuco.

3.2. Material biológico

La muestra utilizada en la presente investigación fue la cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*) cuya clasificación taxonómica, descrita por Navarro (2006) de la siguiente manera:

Reino:	Vegetal
División:	Fanerógamas
Clase:	Monocotiledónea
Sub clase:	Liliopsida
Orden:	Arecales
Familia:	Arecaceae
Sub Familia:	Calamoidae
Género:	Mauritia
Especie:	flexuosa
Nombre científico:	<i>Mauritia flexuosa</i>
Nombre Común:	Aguaje, achual (Perú); caranday-guazu, ideuí Descripción (Bolivia); buriti, miriti (Brasil); canangucha, moriche, aguaje, mirití (Colombia).

El material biológico, fue recolectada en el distrito de Callería en la provincia Coronel Portillo, departamento de Ucayali y se sitúa en el llano amazónico a 159 m.s.n.m.

Ubicación geográfica:	Latitud Sur:	8° 23' 00" S"
	Latitud oeste:	74° 33' 00" O
	Altitud:	159 msnm
Ubicación política:	Región:	Ucayali
	Provincia:	Coronel Portillo
	Distrito:	Callería

3.3. Materiales, equipos y reactivos

Materiales: Microcubetas de poliestireno (1 x 1 x 4.5 cm). Micropipetas (10 - 200 μ L y 200 - 1000 μ L). Tips (100 y 1000 μ L). Placas Petri. Gradilla. Papel watman N° 4. Termómetro (0 °C – 100 °C). Lámpara Led-666 Desk Lamp. Pad microsensors. Tijera. Cámara fotográfica. Tubos de ensayo. Frascos de vidrio transparentes y color ámbar (1.5 cm de diámetro). Fiolas de 50 mL, 100 mL y 250 mL. Tubos de ensayo con tapa. Matraces de 100 mL. Vasos precipitados de 100 mL. Biker de 100 mL; Pipetas de 5 y 10 mL. Cinta de montaje alta resistencia 5 mm x 19 mm. Papel filtro para café.

Equipos de laboratorio: Espectrofotómetro UV/VIS (Termo Scientific®, mod. Genesys 10s, USA). Estufa (Precision Scientific). Microcentrífuga refrigerada (eppendorf, 5424 R, 15000 rpm máx., -10 °C a 40 °C, Alemania). Agitador magnético. Molino Marca Bosh. pH-metro (Metrohm, 826 pH Lab, Suiza). Cubetas de cuarzo del espectrofotómetro. Ultrapurificador de agua (Elga - Veolia, Pureab – Classic, agua Tipo I, 18,2 M Ω , UK). Balanza analítica de cuatro dígitos (OHAUS). Impresora Laser Marca Epson.

Reactivos: Ácido clorhídrico al 37 % (HCl-Sigma-Aldrich). Alcohol de grado 98°. Ácido cítrico (Riedel - Haën). Cloruro de potasio (KCl). Peroxisulfato de potasio. Cloruro férrico (FeCl₃ Riedel de Haen). Ferrocianuro de potasio (K₃Fe(CN)₆ Riedel de Haen). Hidróxido de sodio (Riedel - Haën). Hidróxido de potasio (KOH; Merck). Ácido fosfórico (H₂PO₄). Cloruro de aluminio AlCl₃. Nitrito de sodio NaNO₂. Fosfato de potasio

(KH₂PO₄). Buffers 4, 7, y 9. 2,2' - azinobis -3- etilbenzotiazolina -6- ácido sulfónico (ABTS; Sigma Chemical Co. USA). 1,1 diphenyl -2- picrylhidrazyl (DPPH; Sigma Chemical Co. USA). Folin ciocalteau (Sigma Chemical Co. USA). Carbonato de sodio (Sigma Chemical Co. USA). Ácido gálico (Sigma Chemical Co. USA). Trolox. Etanol (96 %). Metanol. Catequina. Eter. Agua destilada ultrapurosa.

3.4. Métodos de análisis

3.4.1. Método de determinación de actividad antioxidante

En la investigación se realizó los siguientes métodos de análisis:

a) Método de determinación de la actividad antioxidante en extractos de cáscara de aguaje mediante:

- Mediante el radical 1,1 diphenyl -2- picrylhidrazyl (DPPH°), se utilizó la metodología descrita por Boonprakob, *et. al.* (2006) utilizándose trolox, como estándar.

- Mediante el Radical 2,2' azinobis -3- ethylbenzotiazolina -6- ácido sulfónico (ABTS⁺), se utilizó la metodología descrito por Boonprakob, *et. al.* (2006), utilizándose trolox, como estándar.

b) Método de determinación de fenoles totales

Se utilizó la metodología descrita por Boonprakob *et. al.* (2006) y Sandoval *et. al.* (2001) para el Folin Ciocalteu, se usó ácido gálico como estándar.

c) Método de determinación de flavonoides totales

Se utilizó la metodología descrita por De La Rosa *et. al.* (2012) utilizándose catequina como estándar.

d) Método de determinación de carotenoides

Se utilizó la metodología descrita por Howard *et. al.* (1999) y Ordóñez *et. al.* (2014) utilizados para la extracción de los carotenoides.

e) Método de determinación de antocianinas totales

Se utilizó la metodología descrita por Rapisarda *et.al.* (2000).

f) Método de determinación de pH

Se utilizó la metodología descrita por la A.O.A.C. 981.12 para la medición del efecto del pH en los diferentes extractos en función al tiempo.

g) Método para la evaluación del color en la imagen del extracto de cáscara de aguaje

La variación del color de los extractos se realizaron según el software Imagen J aplicando la metodología descrita por Abderrahim *et. al.* (2016).

h) Método de validación

La validación se realizó según la metodología descrita por Abderrahim *et. al.* (2016), se utilizó el color de la Imagen que se obtuvo a través de Imagen J para los extractos y muestras de bebidas comerciales.

3.5. Metodología experimental

Durante el desarrollo de la investigación se consideró el esquema experimental que se muestra en la Figura 5.

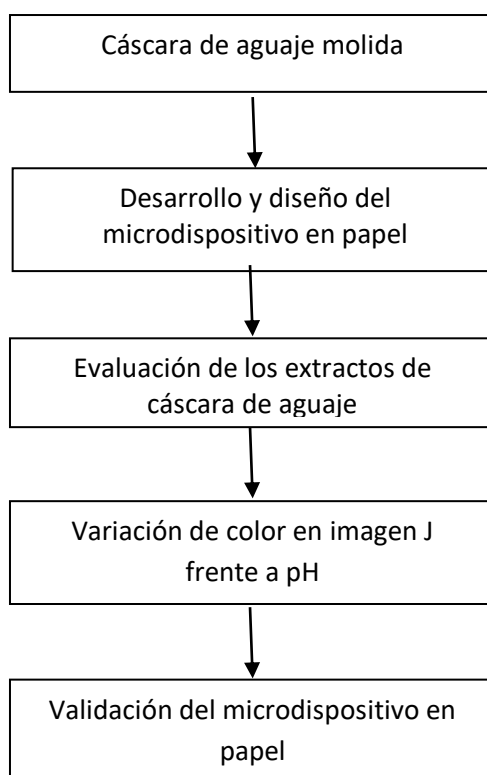


Figura 5. Esquema de la conducción experimental

3.5.1. Desarrollo y diseño del microdispositivo en papel para medir pH

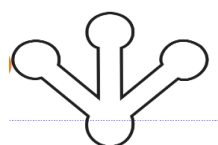
Para el desarrollo del microdispositivo en papel fue utilizando el papel filtro para café en dos figuras distintas.

a) Diseño del microdispositivo en papel filtro

Para el diseño del microdispositivo en papel para medir pH, se busco la versatilidad del manejo, que sea simple, barato, desechable y que cumpla una función hidrofílica y la cinta de montaje cumple una función hidrofóbica, para lo cual se ha diseñado en dos figuras que a continuación se describen (Morales, *et. al.* 2015).

b) Diseño trébol en papel filtro para medir pH

Se realizó el diseño del microdispositivo en el programa corell draw y luego impreso en papel de filtro para café, luego fueron colocadas en la cinta de montaje de doble cara de mayor resistencia para darle estabilidad. Se diseño el microdispositivo en Corell Draw, se utilizó papel filtro rápido para café, cuyas medidas fueron de 0.5 mm de diámetro y 0.6 mm largo de bracitos, ancho de bracitos 0.2 mm, luego fueron impresos, a continuación se muestra en la Figura 6.

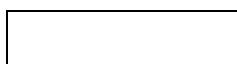


Diametro = 0.5 mm
Largo de bracito = 0.6
Ancho de bracitos = 0.2

Figura 6. Diseño del microdispositivo trébol de papel para medir pH en el extracto de la cáscara de aguaje

c) Diseño rectangular en papel filtro de café para medir pH

Se utilizo papel filtro para café y se diseño en forma rectangular cuyas medidas fueron 0.5 cm de ancho y 3 cm de largo, se como se muestra en la Figura 7.



Ancho = 0.5 cm
Largo = 3 cm

Figura 7. Diseño del microdispositivo rectangular de papel para medir pH en el extracto de la cáscara de aguaje.

d) Desarrollo del microdispositivo trébol en papel filtro

El diseño del microdispositivo trébol, se pegó sobre la cinta de montaje de alta resistencia, como se mostro en la Figura 05; en el centro del pocito, se agrego 2 uL de extracto de cáscara de aguaje y en los bracitos se agregó 1 μ L de buffer a pH 3, se hizo lo mismo con los otros microdispositivo a buffer de pH 4 a 9. Asimismo, se agregó 2 μ L de muestras de bebidas comerciales colocados en el centro del pocito y 1 μ L de extracto de cáscara de aguaje en los bracitos.

e) Desarrollo del microdispositivo rectangular en papel

El diseño del microdispositivo rectangular como se mostró en la Figura 06, se empapó con el extracto de cáscara de aguaje, después, se colocó en la estufa durante 10 min, a una temperatura de 60 °C, se retiraron de la estufa y se volvieron a empapar con el buffer a pH 3, se hizo lo mismo con los buffer a pH 4, 5, 6, 7, 8, y 9; se llevaron a la estufa durante 10 min a una temperatura de 60 °C, para determinar la variación del color en el microdispositivo en el extracto de cáscara de aguaje. Se empaparon los microdispositivos en papel con el extracto de cáscara de aguaje, se secaron en la estufa a 60 °C y luego se volvieron a empapar con las muestras de bebidas comerciales.

3.6. Preparación del solvente y la concentración en los extractos de cáscara de aguaje

Para la preparación del solvente y concentración del extracto de cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*) se ha realizado primero la pulverización de la cáscara como se detalla a continuación.

3.6.1. Procedimiento para la obtención de la cáscara pulverizada

La obtención de la cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*) pulverizada se muestra en el flujograma e la Figura 8.

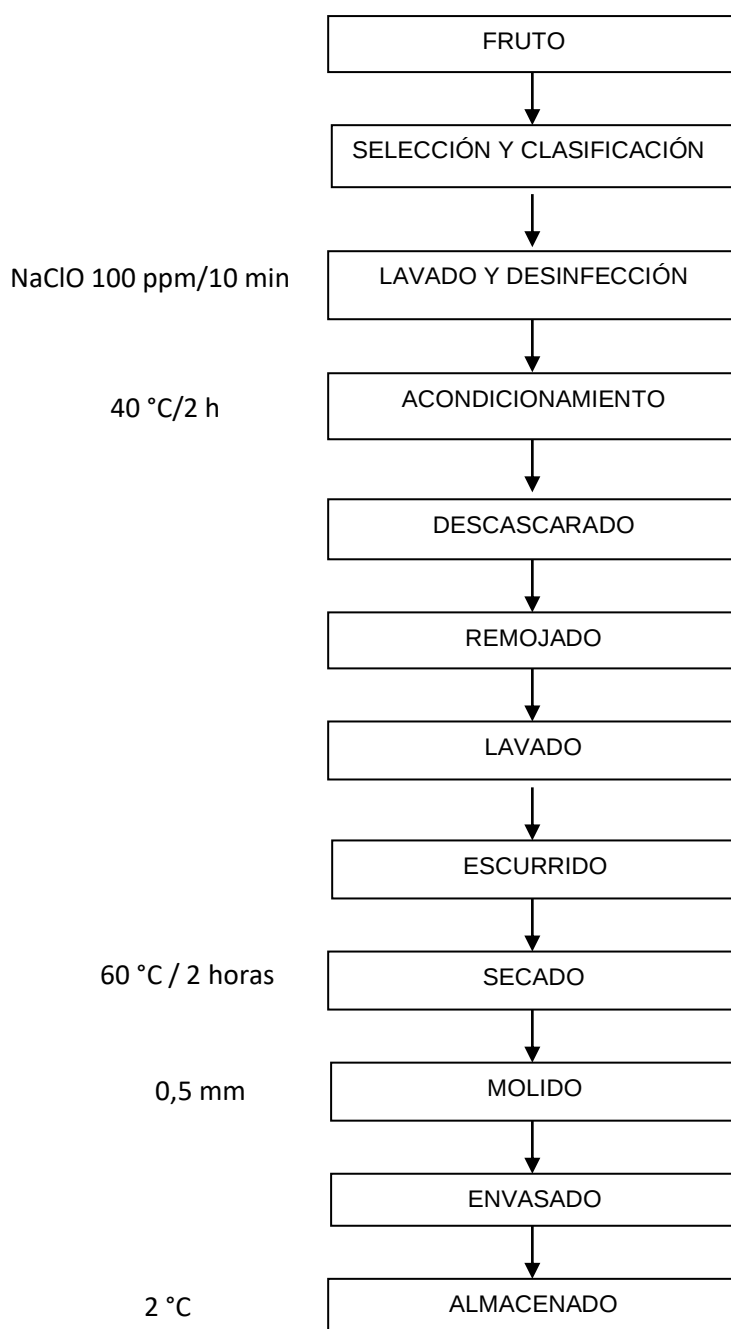


Figura 8. Flujograma para la obtención pulverizado de cáscara de aguaje

A continuación se describe el flujograma para la obtención pulverizada de cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*).

- Fruto: fueron recibidas en buen estado, luego se realizó la biometría de 20 frutos maduros de aguaje (*Mauritia flexuosa*); determinándose el peso promedio del fruto 40.6 ± 4.3 , largo del fruto promedio de 5.10 ± 0.4 cm, ancho promedio de 3.7 ± 0.1 cm, diámetro de la

fruta 11.8 ± 1.5 , la pulpa de la fruta fue de 12.4 ± 3.6 , cáscara promedio de 9.7 ± 0.5 , peso de la semilla promedio de 18.5 ± 3.4 , peso de la cáscara más pulpa de 22.1 ± 3.6 , espesor de la cáscara 1.3 ± 0.2 mm, espesor de la pulpa 0.7 ± 0.2 mm.

- Selección y clasificación: se eliminó los materiales extraños y/o restos de la fruta, para obtener muestras en las mejores condiciones para la investigación.

- Lavado y desinfección: los frutos fueron lavados con agua potable, luego ser desinfectadas por inmersión en hipoclorito de sodio a 100 ppm por un tiempo de 10 minutos.

- Acondicionamiento: el objetivo fue suavizar el desprendimiento de la cáscara, se realizó mediante el remojo en agua temperada a $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 2 horas.

- Descascarado: se logró desprender la cáscara del fruto con facilidad, sabiendo que el porcentaje de cáscaras en el fruto es de 25 % del peso total del fruto.

- Remojado: en esta operación, tienen que quedar bien limpias las cáscaras, algunas se quedan con resto de pulpa de fruta, para eliminarlas, se remojó durante 24 horas.

- Lavado: se realizó con agua fría retirando lo último de pulpa que se encuentre impregnada en la cáscara, quedando libre de pulpa para que se obtenga buenos resultados en la presente investigación.

- Escurrido: se realizó con la finalidad de eliminar el resto de agua que se encuentra en la cáscara de aguaje.

- Secado: se llevó a cabo a temperatura de $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 24 horas, y se logró determinar la humedad en base húmeda siendo de $60.63 \pm 0.30\%$.

- Molido: la finalidad fue obtenerlo de forma pulverizada para su uso en la presente investigación.

- Envasado: el material vegetal seco se envasó en bolsas de polietileno de color oscuro de alta densidad con cierre hermético, hasta su posterior uso, con la finalidad de proteger el material de estudio.

- Almacenado: se coloca en refrigeración a $2\text{ }^{\circ}\text{C}$ hasta su posterior uso este material vegetal seco y molido pulverizado se almacenó en bolsas de polietileno de color oscuro, de alta densidad hasta su posterior uso.

3.6.2. Procedimiento para la evaluación del solvente y concentración en el extracto de cáscara de aguaje

a) Preparación del solvente

Se aplicó las técnicas para separar de los pigmentos, que se encuentran en la cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*) y se aplicaron dos técnicas de extracción que se describen a continuación:

- Extracto acuoso de cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*) se utilizaron temperaturas de 40 °C y 50 °C durante 10, 20 y 30 min (Enciso, *et. al.* 2010).
- Extracto hidroalcohólico de cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*) se utilizó alcohol de grado 98 °C al 50 % y agua al 50 % (Arbaysa, *et. al.* 2014).

Luego de describir las técnicas, para determinar la concentración de los extractos de cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*) se utilizó a una concentración de 100 mg/mL (Arbaysa, *et. al.* 2014).

3.6.3. Procedimiento para la determinación de la concentración de los extractos de cáscara de aguaje

Se peso 10 g de la cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*) pulverizada en frasco de vidrio, color ámbar y se enrrasa a 100 mL según las técnicas (agua, alcohol, hidroalcohólico), en agitación constante de 10 min, 20 min y 30 min y temperatura de 40 °C y 50 °C.

A continuación se describe el flujograma para la obtención del extracto acuoso, hidroalcoholico de cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*):

- Cáscara molida: se secaron a una temperatura de 60 °C durante 24 horas y fue molida para ser utilizada en el estudio de investigación.
- Pesado: se utilizó una balanza analítica, se colocó la cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*) seco y molido en una luna de reloj pesando 10 g. para cada solvente.
- Diluido: se enrrasó a 100 mL de agua, se procedio a preparar los diferentes tipos de solventes, siendo el hidroalcohólico con el 50 % de alcohol y el 50 % de agua, luego se preparó el extracto acuoso con 100 ml

de agua, también se hizo lo mismo con el extracto alcohólico enrrasado a 100 mL de alcohol.

- Agitado: se tomaron los extractos acuoso, hidroalcohólico y alcoholico y se colocaron a un agitador magnético a una temperatura de 40 °C durante 10, 20 y 30 minutos, luego se hizo lo mismo a los diferentes extractos a una temperatura de 50 °C durante 10, 20 y 30 minutos.

- Envasado: se trasbaso a frasco color ambar, se almacenó hasta el uso para el desarrollo del trabajo de investigación.

A continuación se presenta el flujograma para la obtención de extracto acuoso, hidroalcohólico de cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*).

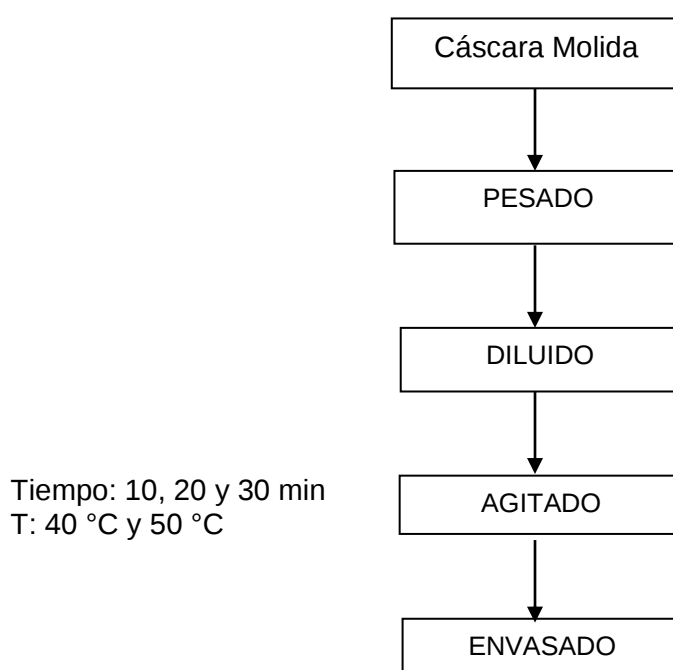


Figura 9. Flujograma para la obtención de extracto acuoso hidroalcohólico de cáscara de aguaje.

a). Determinación de la concentración del extracto

Se utilizaron concentraciones de 100 mg/mL permitiendo definir la mayor extracción de los pigmentos de la cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*) (Arbaysa, et. al. 2014).

3.7. Procedimiento para la evaluación de análisis antioxidantes en los extractos de cáscara de aguaje

- Determinación de antioxidantes por DPPH

Se determinó la curva estándar con Trolox a 1mM con las siguientes concentraciones: 0, 1, 5, 10, y 15 μ M. luego fue leído a 515 nm. Luego se procedió a leer la absorbancia del extracto de cáscara de aguaje a 515 nm y se calculó la actividad antioxidante de la siguiente manera:

$$\text{Actividad Antioxidante} = \frac{((\text{Absorbancia Inhibida} - \text{Intersección})) * \text{FDr} * \text{FDm}}{\text{Pendiente}}$$

Donde: Abs Inhibida = Absorbancia control – absorbancia leída
 FDr = Factor de la reacción
 FDm = Factor de la muestra

- Determinación de antioxidantes por ABTS^{°+}

Se determinó la curva estándar con Trolox a 1mM con las siguientes concentraciones: 0, 1, 5, 10, y 15 μ M. luego fue leído a 740 nm. Luego se procedió a leer la absorbancia del extracto de cáscara de aguaje a 740 nm y se calculó la actividad antioxidante de la siguiente manera:

$$\text{Actividad Antioxidante} = \frac{(\text{Absorbancia Inhibida} - \text{Intersección}) * \text{FDr} * \text{FDm}}{\text{Pendiente}}$$

Donde: Abs Inhibida = Absorbancia control – absorbancia leída
 FDr = Factor de dilución de la reacción
 FDm = Factor de dilución de la muestra.

- Determinación de fenoles totales

Se determinó la curva estándar con ácido gálico, con las siguientes concentración 1, 2.5, 5, 7.5, y 10 μ g/mL fue leído a 740 nm y se calcularon los fenoles totales de la siguiente manera:

$$\text{Fenoles Totales} = (\text{Absorbancia} - \text{intersección}) * \text{FDm} * \text{FDR}$$

Donde: Abs = absorbancia leída
 Intersecto = Intersección de la ecuación lineal
 FDM = Factor de dilución de la muestra
 FDr = Factor de reacción de la muestra.

- Determinación de flavonoides totales

Se determinó la curva estándar con Trolox a 1000 ug/mL con las concentraciones: 0, 1, 5, 10 y 15 μ M, fue leído a 740 nm. Luego se procedió a leer el extracto de cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*) a una absorbancia de 740 nm y se calculó los flavonoides totales de la siguiente manera:

$$\text{Flavonoides totales} = \frac{(\text{Absorbancia Inhibida} - \text{Intersección}) * \text{FDr} * \text{FDM}}{\text{Pendiente}}$$

Donde: Abs = Absorbancia leída
 Intersección = la intersección de la ecuación lineal
 Pendiente = Pendiente de la ecuación lineal
 FDr = Factor de dilución de la reacción
 FDM = Factor de dilución de la muestra

- Determinación de antocianinas totales

Se determinó por la diferencia de los buffers a pH = 1.0 y pH = 4.5 y leídas por una absorbancia de 510 nm y 700 nm, cuyas unidades es:

$$A = (A_{1510} - A_{1700})_{\text{pH } 1.0} - (A_{2510} - A_{2700})_{\text{pH } 4.5}$$

$$\text{Antocianinas totales (mg-cianidina-3-glucosido) / L} = \frac{(A_1 - A_2) * 4492 * \text{FD} * 100}{26900}$$

Donde: A₁ = Absorbancia pH 1.0
 A₂ = Absorbancia pH 4.5
 FD = Factor de dilución

- Cuantificación de carotenoides

El procedimiento que se siguió fue pesar 0.2 g de la muestra de cáscara de aguaje, luego se colocó la muestra en un tubo de ensayo y enrasar a 10 mL de éter de petróleo, agitar en el vortex durante 10 minutos,

se filtró y fue leído a una absorbancia de 445 nm, luego se procedió a calcular los pigmentos monoméricos de carotenoides.

$$C = \frac{A}{2500 \cdot I}$$

Donde: C = Carotenoides

A = Absorbancia

I = volumen

3.8. Evaluación del efecto de pHs frente al extracto de cáscara de aguaje

Para la evaluación se realizó la preparación del buffer a diferentes pH como se describe a continuación:

- Preparación de los buffers a diferentes valores de pH

Se realizó la preparación de los buffer a diferentes pH, los cuáles fueron regulados con un potenciómetro, utilizando la metodología de Reyes y Cisneros (2007) como se detalla en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Preparación de Buffers a diferentes valores de pH

Buffer de pH	Volumen de solución requerido	Volumen de ácido o base
3	50 mL de 0.1 M KHP	22.3 mL de 0.1 M HCl
4	50 mL de 0.1 M KHP	0.1 mL de 0.1 M HCl
5	50 mL de 0.1 M KHP	22.6 mL de 0.1 M NaOH
6	50 mL de 0.1 M KH ₂ PO ₄	56 ml de 0.1 M NaOH
7	50 mL de 0.1 M KH ₂ PO ₄	29.1 mL de 0.1 M NaOH
8	50 mL de 0.1 M KH ₂ PO ₄	46.1 mL de 0.1 M NaOH
9	50 mL de 25 mM Borax	4.6 mL de 0.1 M HCl

Fuente: Reyes y Cisneros (2007)

Las soluciones de ensayo se tamponaron en 0.1 Mol solución de L⁻¹ de ácido fosfórico y se ajustó el pH con adición gota a gota de 0.02 Mol soluciones L⁻¹ de HCl o NaOH.

3.9. Efecto del buffer a diferentes pHs frente al extracto de la cáscara de aguaje

Se efectuó la determinación de pH sobre el extracto hidroalcohólico de cáscara de aguaje, de las cuales fueron colocadas en un frasco de 20 mL, luego se utilizó los microdispositivos de papel y se tomaron las imágenes en cada muestra con buffers y en cada muestra de bebida comercial evaluando el efecto frente a los diferentes pH en función al tiempo y se utilizó el extracto de cáscara de aguaje a una concentración de 50 mg/mL y 100 mg/mL, de las cuáles se pudo observar que la concentración de 100 mg/mL presento mejor la intensidad de color (Hashemi, 2006).

Se cogió un microdispositivo, se llenó el pocito con 2 μ L de buffer en el centro del pocito en el diseño trebol y en los bracitos 1 μ L se colocó el extracto hidroalcohólico de cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*), lo mismo se hizo con los buffers de pH 3 a 9; se llevó a la estufa a una temperatura de 60 °C durante 10 minutos.

3.10. Evaluación la variación del color en las imágenes del extracto de cáscara de aguaje frente a diferentes pHs

La evaluación del color en las imágenes de los extractos de cascara de aguaje se realizaron según el análisis de color por los parametros Red, Green, Blue del programa Win 32 Imagen J, Finalmente se tomaron fotografías, se llevaron al programa Imagen J, para realizar el análisis de la imagen del color de la muestra mediante RGB.

Se tomaron las fotografías a cada muestra de extracto de cáscara con el buffers a diferentes pHs, se seleccionó una zona de la imagen en pixeles y se suben al programa Imagen J, las cuáles fueron guardadas en formato TIFF, luego se hizo uso de plugins y se analizó con los parámetros de Rojo (Red) de verde (Green) y de azul (Blue) mediante RGB Measure. La absorbancia del papel filtro para café fue inmovilizada a 310 nm como una función del pH como sensor. La concentración del extracto de cáscara de aguaje fue de 100 mg/mL.

Asimismo, se realizó el barrido espectrofotómetro desde una longitud de onda desde 195 nm a 700 nm en los extractos de cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*) con buffer diferentes pHs. Se evaluó con un

análisis de color con parámetros Red Green, Blue con una cámara fotográfica, este cambio de intensidad de colores se empleo como un indicador de la sensibilidad del extracto de cáscara de aguaje como sensor de pH y se cálculo mediante analisis de imágenes usando el software Imagen J.

3.11. Validación del microdispositivo en papel para medir pH en bebidas comerciales

La validación del microdispositivo en papel, se realizó con la metodología de Abderrahim y Condezo (2016) basado en análisis de imágenes; se utilizó los extractos a diferentes pH frente a muestras de bebidas líquidas traslúcidas comerciales, determinándose el pH a cada una. Luego se evaluó en los microdispositivos, tomando 1 uL de muestras de bebidas líquidas comerciales colocado en el pocito del centro y en los pocito los bracitos 1 uL solución de extracto de cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*) que se detallaron el Cuadro 02, se llevó a la estufa durante 10 min y se tomaron las imágenes con una cámara digital, luego las imágenes son procesadas en el programa Imagen J aplicando el plugins en análisis Measure quien describe la distancia euclidiana siendo entre los parámetros de RGB.

Cuadro 2. Bebidas comerciales utilizadas

N°	Producto	Característica
1	Bio Aloe sabor original	Bebida de aloe sabor de uva y jugo de aloe y de vitamina A, C, E Elaborado por AJEPER S.A Capacidad 300 mL
2	Volt coca Coca Energy Drink	Bebida gasificada con extractos naturales de hoja de coca, guarana y ginseng, y vitaminas del grupo B, sabor cola amarillo Elaborado por AJEPER S.A. capacidad 300 mL
3	Aquarius Pera	Jugo de pera Elaborado por coca cola Capacidad 500 mL
4	Aquarius manzana	Jugo de manzana Elaborado por coca cola Capacidad 500 mL
5	Leaf tea	Bebida refrescante de té negro sabor limon Elaborado por Gloria Capacidad 400 mL
6	Free tea	Bebida de té negro sabor limon vitaminas C y E Elaborado por AJEPER S.A. capacidad 300 mL
7	Frugos Valle	Jugo de durazno Elaborado por Coca Cola Capacidad 235 mL
8	Pulp Durazno	Jugo de durazno Elaborado por Coca Cola Capacidad 315 mL
9	Vinagre blanco	Vinagre blanco de vino blanco diluido al 5 % - Venturo Capacidad 125 mL
10	Vinagre tinto	Vinagre de puro vino diluido al 5 % - Venturo Capacidad 125 mL

3.12. Diseño experimental

En el siguiente esquema se muestra el diseño experimental de la cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*) frente a diferentes pHs y luego frente a bebidas comerciales.

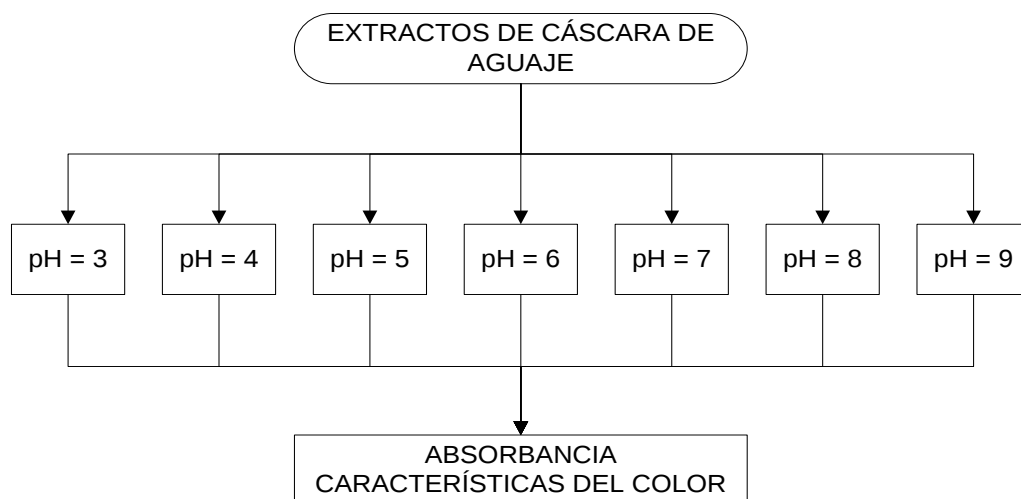
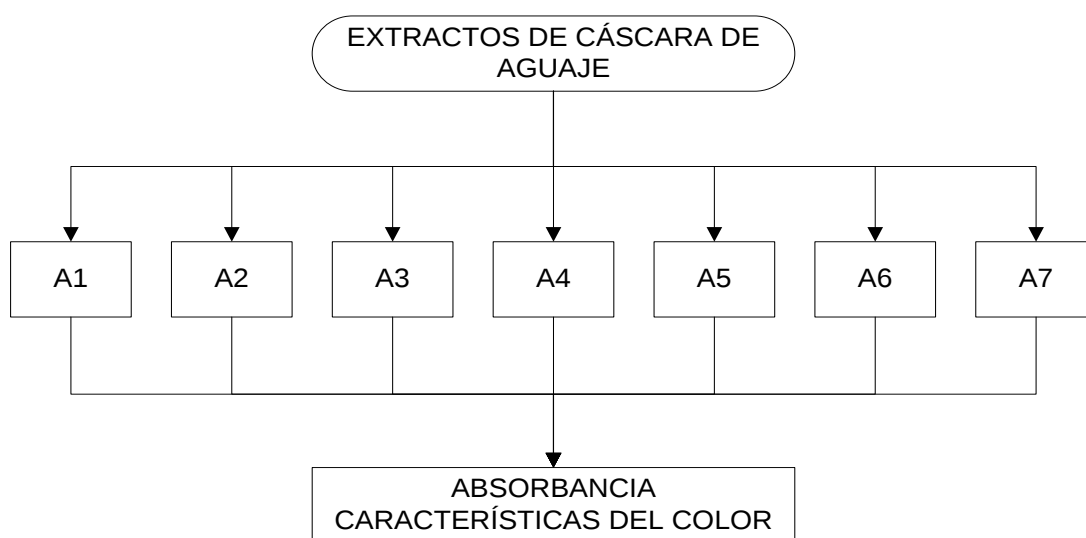


Figura 10. Diseño experimental para evaluar el efecto del pH sobre el extracto de la cáscara de aguaje



Donde: A₁ - A₇ = Bebidas comerciales

Figura 11. Diseño experimental para evaluar el efecto de las bebidas comerciales sobre los extractos de la cáscara de aguaje

3.13. Diseño estadístico experimental

Análisis estadístico

Los resultados del diseño experimental fueron evaluados empleando el modelo estadístico diseño completo al azar, en caso de la existencia de diferencias estadísticas en los tratamientos, se utilizó la prueba de Tukey (López, 2008 y Daza, 2006).

$$Y_i = \mu_i + t_i + E_i$$

Donde:

Y_i = Absorbancia, características del color.

μ_i = Efecto de la media general

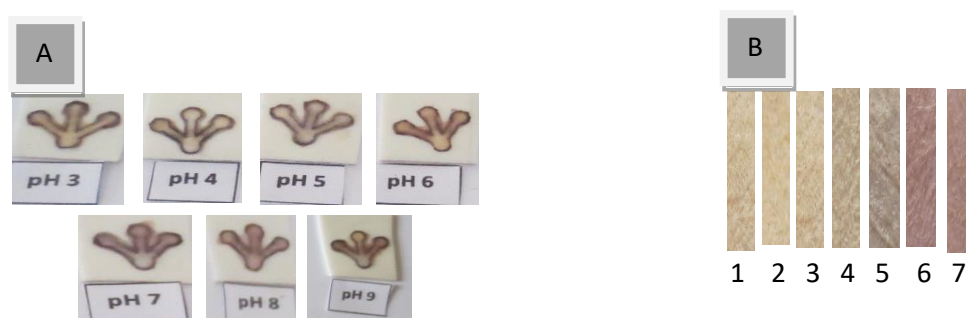
t_i = Efecto del i-ésimo tratamiento, es decir del pH y bebidas comerciales.

ε_{ij} = Efecto aleatorio del error experimental en el i-ésimo tratamiento.

IV. RESULTADOS

4.1. Desarrollar y diseñar el microdispositivo de papel para medir pH usando extractos de cáscara de aguaje

Se utilizó 1 μL que se colocó en el pocito del centro del diseño trébol siendo la zona de pruebas hidrofílicas, luego se colocó 1 μL de buffer a pH 3 en los bracitos, y se colocaron en la estufa por 10 minutos, y se repitió lo mismo con cada uno por separado con el buffers a pH 4 a 9, se muestra el diseño del microdispositivo de los dos modelos (trébol y rectangular) en la Figura 12.



Donde: A: 1,...,9 = Diseño trébol en papel con extracto de aguaje
B: 1= pH 3; 2= pH 4; 3= pH 5; 4= pH 6; 5= pH 7; 6= pH 8; 7= pH 9
Figura 12. Diseño del microdispositivo en papel para medir pH

4.2. Evaluación del solvente y la concentración en extractos de cáscara de aguaje

Se determinó la concentración del extracto de 100 mg/mL, asimismo se realizó la evaluación de la actividad antioxidante para cada solvente, como se muestra en el Cuadro 3, 4 y 5.

Cuadro 3. Actividad antioxidante para DPPH $^{\circ}$ y ABTS $^{\circ+}$ de cáscara de aguaje

Tipo de solvente	DPPH $^{\circ}$	ABTS $^{\circ+}$
Acuoso	5.29 $\pm$ 0.10 mM TEAC/100 mL	2458.40 $\pm$ 5.48 mM TEAC/100 mL
Hidroalcohólico	6.95 $\pm$ 0.58mM TEAC/100 mL	3016.11 $\pm$ 5.48 mM TEAC/100 mL

Cuadro 4. Fenoles totales y flavonoides totales de cáscara de aguaje

Tipo de solvente	Fenoles totales	Flavonoides totales
Acuoso	3.66 ± 0.017 mg AGE/100 g	2.70 ± 0.04 mg de catequina/100 g
Hidroalcohólico	3.89 ± 0.01 mg AGE /100 g	3.43 ± 0.04 mg de catequina/100 g

Cuadro 5. Antocianinas y carotenoides de cáscara de aguaje

Tipo de solvente	Antocianinas	Carotenoides
Acuoso	No Detectado	1.4X10 ⁻⁵ ± 0.0 mg de carotenoides/100 g
Hidroalcohólico	2.59 ± 0.64 mg de cianidina-3-glucosido /L	1.54x10 ⁻⁴ ± 0.00 mg de carotenoides/100 g

Estos resultados han permitido evaluar el barrido espectrofotométrico del solvente hidroalcohólico de la cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*) a una concentración de 100 mg/mL, con absorbancia de 195 nm hasta 700 nm, como se muestra en la figura siguiente, donde se aplican tiempos de 10, 20, y 30 minutos en agitación magnética y temperatura de 40 °C y 50 °C, luego los extractos se llevaron a un centrifugado de 4000 rpm por 5 min, presentando mayor altura, como se observa en el extracto hidroalcohólico 50 °C por 30 min en el espectrofotograma.

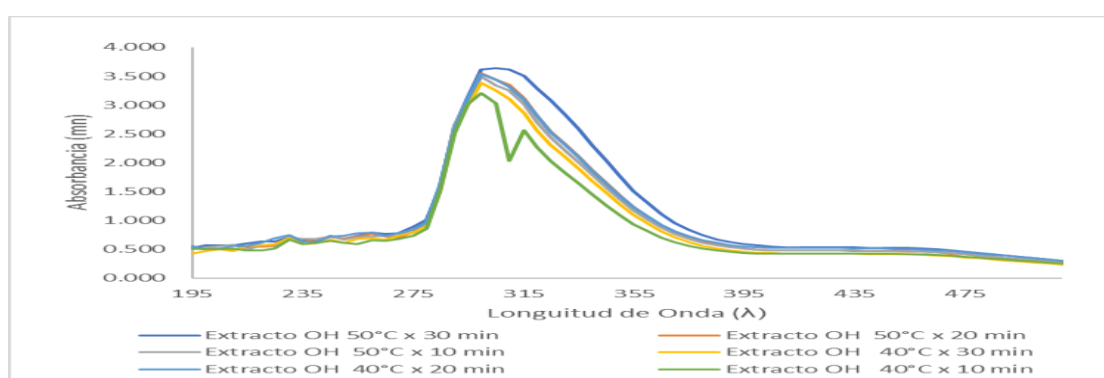


Figura 13. Espectros de absorción UV-VIS del extracto hidroalcohólico de cáscara de aguaje a diferentes tiempos y temperaturas.

Se evaluó el barrido del espectrofotométrico del extracto hidroalcohólico a una concentración de 100 mg/mL y a una absorbancia de 195 nm hasta 700 nm, como se muestra en la siguiente figura.

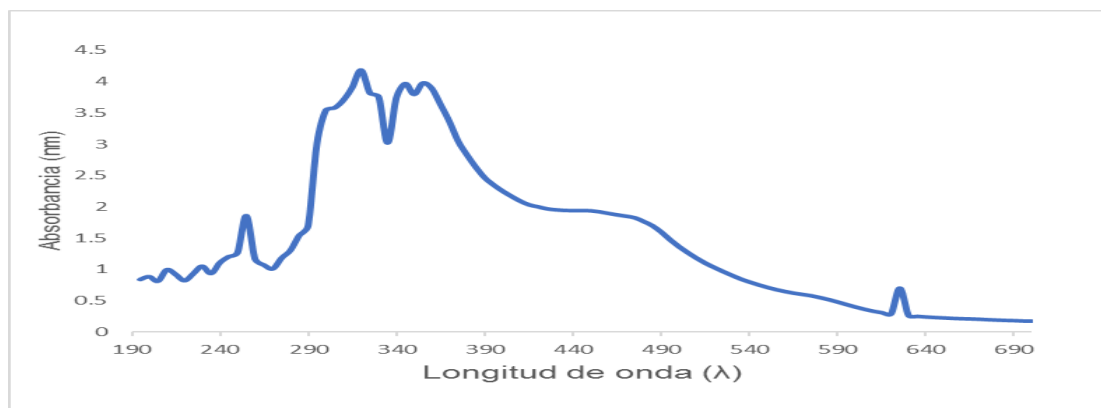


Figura 14. Espectros de absorción UV-VIS del extracto hidroalcohólico de cáscara de aguaje (100 mg/mL).

4.3. Evaluación del efecto del buffer a diferentes pHs frente a los extractos de cáscara de aguaje

De los resultados se midió el pH a los extractos, como se muestra en el cuadro 6 según pH y Temperatura.

Cuadro 6. Medición del pH a 40 °C y 50 °C a diferentes tiempos

Extracto hidroalcohólico de cáscara de aguaje	pH	
	40°C	50°C
10 Min	4.98	5.23
20 Min	5.18	5.18
30 Min	5.19	5.20

Se evaluó el pH del extracto acuoso e hidroalcohólico de la cáscara de aguaje a 28 °C, con una dilución de 100 mg/mL con 24 horas de reposo, realizándose la medición del pH y temperatura, se describen en el cuadro 7.

Cuadro 7. Medición del pH de diferentes solventes en cáscara de aguaje

Tipo de solvente	pH	°T
Extracto Acuoso	5.02	28.9°C
Extracto Hidroalcohólico	5.08	28.9°C

Se evaluó el efecto del pH frente al extracto hidroalcohólico de la cáscara de aguaje en el primer día y el efecto a los 30 días; a temperatura ambiente, como se detalla en el Cuadro 8.

Cuadro 8. Efecto del pH del extracto hidroalcohólico de cáscara de aguaje

Extracto hidroalcohólico de cáscara de aguaje	En el primer día Extracto + pH	A los 30 días Extracto + pH
Extracto + pH 3	4.32	4.94
Extracto + pH 4	4.89	4.77
Extracto + pH 5	6.00	5.52
Extracto + pH 6	5.43	5.34
Extracto + pH 7	7.24	6.93
Extracto + pH 8	7.56	6.87
Extracto + pH 9	7.46	6.84

Se evaluó el barrido espectrofotométrico a longitudes de 195 a 700 nm y a 300 a 700 nm del extracto hidroalcohólico frente al buffers a diferentes pH 3 a 9, como se muestra en la figura 15.

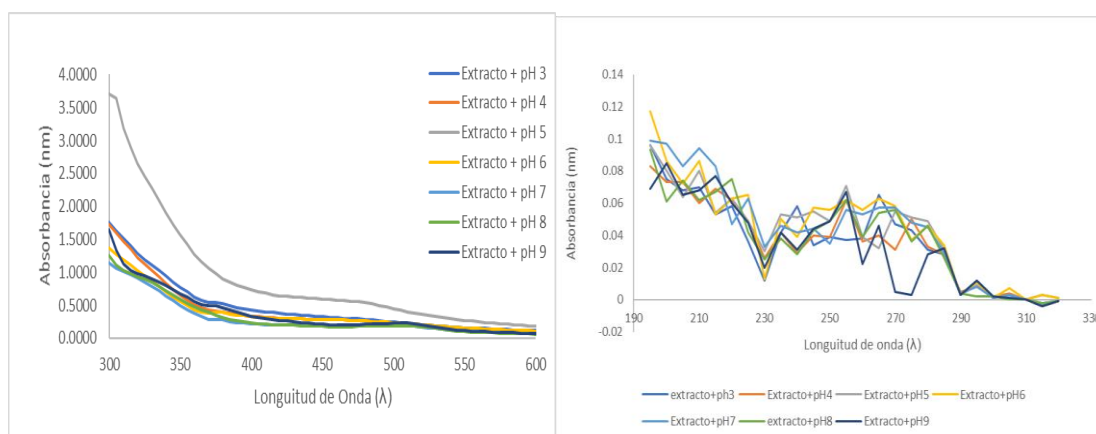


Figura 15. Espectros de absorción UV-VIS del extracto de cáscara de aguaje frente a pHs diferentes (100 mg/mL).

Se evaluó el efecto del pH frente a las bebidas comerciales como se detalla en el siguiente Cuadro 9.

Cuadro 9. pH de bebidas comerciales según dispositivo

Bebidas comerciales	pH promedio sin extracto	pH + extracto promedio instrumental	pH estimado rectangular	pH estimado trébol
Bio Aloe	3.51	3.63	4.24	5.08
Aquarius pera	3.52	3.49	4.04	4.81
Aquarius manzana	3.33	3.36	4.27	5.41
Coca energy drink	3.03	3.08	4.28	5.19
Leaf tea	3.14	3.18	4.19	5.33
Free tea	3.54	3.63	4.29	5.85
Pulpin durazno	3.63	3.66	2.95	3.66
Frugos durazno	3.94	3.93	4.19	5.22
Vinagre tinto	2.66	2.76	4.70	3.95
Vinagre blanco	2.76	2.83	2.67	3.85

Se evaluó el barrido espectrofotométrico a longitudes de 300 a 700 nm de las bebidas comerciales frente a los extractos de cáscara de aguaje según la Figura 16.

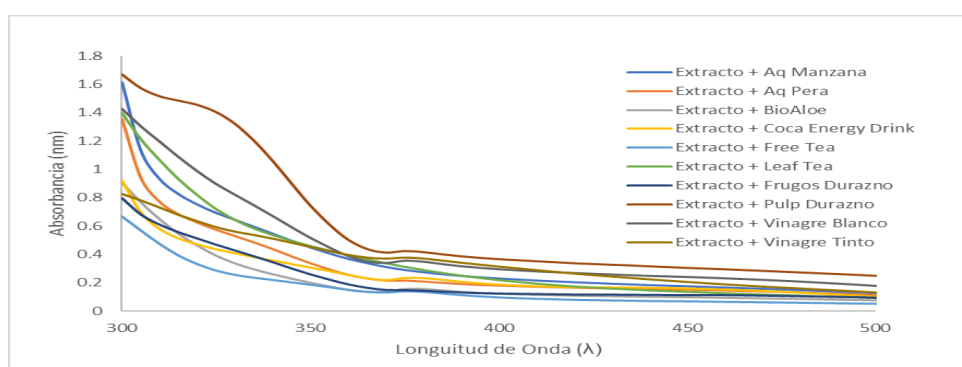


Figura 16. Espectros de absorción UV-VIS del extracto de cáscara de aguaje frente a diferentes bebidas comerciales (100 mg/mL)

Se evaluó el efecto de los buffers a diferentes pH sobre el color de del extracto hidroalcohólico de la cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*), se utilizó 4500 μ L de extracto hidroalcohólico de cáscara de aguaje y 500 μ L de buffer a pH 3, por triplicado y así sucesivamente se repite con los buffers a pH 4 a 9, se muestran en la Figura 17.

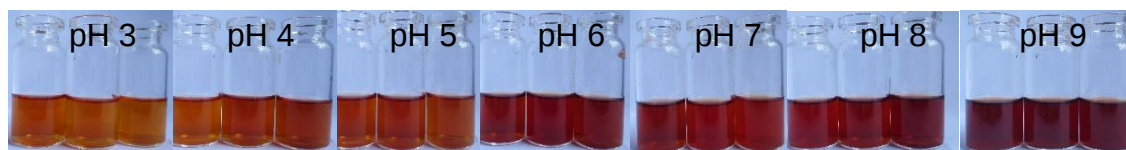


Figura 17. Extracto hidroalcohólico frente al buffers a diferentes pHs

Se evaluó el efecto del color, de las bebidas comerciales, utilizándose 4500 μL de bebida comercial y 500 μL del extracto hidroalcohólico de la cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*), se muestra en la Figura 18.

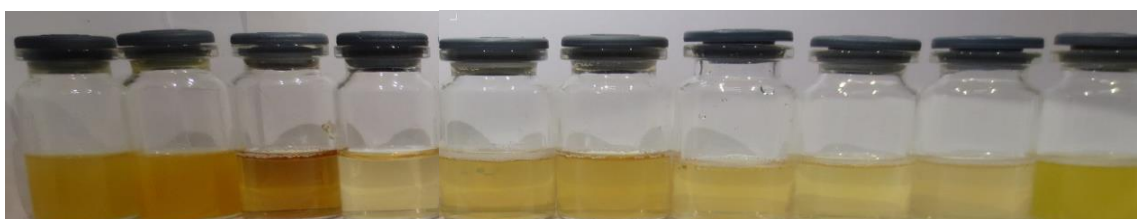


Figura 18. Extracto hidroalcohólico frente a diferentes bebidas comerciales

4.4. Evaluación de la variación del color en las imágenes del extracto de cáscara de aguaje frente a diferentes pHs

Para la determinación de la variación del color en las imágenes de los extractos de cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*) se procedió a tomar fotografías y luego fueron subidas al imagen J y guardadas en formato TIFF, para luego ser procesada en parámetros de RGB y en valores de measure RGB.

De los resultados obtenidos se tiene la luminancia de los parámetros de medida Red Green Blue con la ecuación: $0.299 \cdot R + 0.587 \cdot G + 0.114 \cdot B$, siendo la comparación de colores primarios por intensidad de colores a la luz.

4.5. Validación del microdispositivo en papel para medir pH en muestra de bebidas comerciales

Se validó según lo descrito por Abdermahan y Condezo (2016) utilizándose un instrumento potenciómetro, frente al microdispositivo en

papel (trébol y rectangular) con el extracto hidroalcohólico frente a bebidas comerciales. Se adjuntan los resultados de los histogramas y valores de parámetros de Red Green Blue en el anexo 3 y 4 se encuentran los resultados de pH estimado y así obtenerlos para la validación.

El microdispositivo en papel para medir pH, se probó los resultados con el instrumento potenciómetro; frente al pH estimado con las bebidas comerciales, interactúa con el extracto hidroalcohólico de cáscara de aguaje que vendría a ser el buffers, asimismo analizadas en la imagen del software Win 32 Imagen J, siendo un área rectangular de (113;225 pixeles).

V. DISCUSIONES

5.1. Desarrollo y diseño del microdispositivo en papel para medir pH usando extractos de cáscara de aguaje

Se desarrolló un microdispositivo en papel de filtro rápido para medir pH usando los extractos de la cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*) en muestras de alimentos líquidos comerciales, aplicado al diseño del microdispositivo de papel para medir el pH, utilizándose papel filtro para café, porque presenta menor rugosidad que el papel filtro whatman N° 1, se considero las medidas homogénea de los diámetros y los bracitos para la distribución homogénea de la muestra de bebidas comerciales y muestra del extracto hidroalcohólico de cáscara de aguaje. En el diseño se ha considerado dos modelos de microdispositivo (trébol y rectangular). El microdispositivo trebol está adherida a una cinta de doble cara cumple con la función hidrofóbica y el papel de filtro como hidrofílica inmovilizando las bebidas comerciales. Cheng y Gu (2013) dice que el proceso de inmovilización se puede realizar utilizando diferentes apoyo materiales, incluidas membranas de agarosa, polímeros iónicos, polímeros hidrofílicos y películas sol-gel. Sin embargo el modelo rectangular no uso ninguna cinta adherida y presenta mejor pH estimado que el diseño trébol.

Abolghasemi *et. al.* (2016) dice que el desarrollo de un nuevo sensor de pH óptico verde se inmovilizaron en una película transparente de agarosa, éste sensor responde rápidamente a los cambios de pH en un rango de 1 – 10 en base a la inmovilización del extracto de uva, en un biopolímero de agarosa ópticamente transparente y a una concentración de colorante de 100 mg L⁻¹. El sensor responde rápidamente a los cambios de pH en un rango de 1 – 10, sin embargo en el extracto de cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*) una concentración de 50 % en solvente orgánico esta adherida a una cinta de montaje de doble cara inmovilizando el extracto hidroalcohólico de cáscara de aguaje (*mauritia flexuosa*), respondiendo a

cambios de pH de 3 – 9, mostrando estabilidad a pH ácido, todo ello, es por la inestabilidad de las antocianinas presentes en el caso del modelo rectangular responde a cambios de pH de 3 – 9, observándose que hay estabilidad a pH ácidos y la inestabilidad a pH alcalinos.

Capel-Cuevas *et. al.* (2010) se describe una nueva matriz de sensores desechables utilizando un conjunto de indicadores de base ácido colorimétrico inmovilizado para un rango de pH completo (0 – 14). Los elementos son un conjunto de diferentes indicadores de pH inmovilizados en membranas poliméricas plastificadas que funcionan por intercambio iónico o coextracción y basado en medición de color a partir de técnicas de imagen que ofrecen una medición fácil.

5.2. Evaluación del solvente y la concentración en extractos de cáscara de aguaje

Todos los resultados nos permitieron definir el trabajo de investigación con el extracto hidroalcohólico, a una concentración de 100 mg/mL según Cabrera *et. al.* (2014) ha reportado que los extractos de hojas de la especie *P. Ligularis* presentaron mayor concentración con el uso de solvente hidroalcohólico. Según Alvis *et. al.* (2011) dice que los compuestos fenólicos extraídos aumentan, cuando aumenta la concentración alcohólica siendo al 50 % de concentración a la cual se obtiene la máxima extracción de dichos compuestos comparando con la cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*) se utilizó una concentración de 50 % v/v del extracto hidroalcohólico extrayéndose los componentes bioactivos al máximo. Según Rodríguez *et. al.* (2006) el extracto etanólico de *P. niruri* fue más efectivo contra el desarrollo micelial de *P. infestans* que el extracto acuoso, este efecto parece estar asociado a los alcaloides básicos y débilmente básicos presentes en la planta. De los resultados obtenidos en la evaluación de los extractos de la cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*) presenta actividad antioxidante del radical DPPH⁺ (en extracto acuoso 5.92 ± 0.10 mM de trolox y en extracto hidroalcohólico 6.95 ± 0.58 mM de trolox), asimismo la evaluación por el radical ABTS⁺ (en extracto acuoso 2458.4 ± 5.48 mM de trolox y en extracto hidroalcohólico 3016.11 ± 5.48 Mm de trolox), estadísticamente existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de DPPH entre un

nivel de tipo de solvente, con el 95.0 % de confianza y un p-valor 0.0388; y con el radical ABTS, existe diferencia estadísticamente significativa entre la media de ABTS entre un nivel de tipo de solvente, siendo el 95 % de confianza con p valor 0.00. Según Figueroa *et. al.* (2011) en los estudios de la cascara de pitahaya he evaluado antocianinas con actividad antioxidante por ABTS⁺ y DPPH⁺ el cual existe una relacion de compuestos fenolicos y antioxidante como se puede ver en los resultados de la cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*).

Finalmente el ABTS⁺ y el DPPH⁺ se encuentra correlacionada con el contenido de compuestos fenólicos y antocianos, según los estudios realizados en la aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos, concluyen que el radical ABTS⁺ es uno de los más rápidos, originando resultados reproducibles y coherentes. Las muestra estudiadas con ABTS⁺, muestran varios valores máximos de absorción y una buena solubilidad, permitiendo el ensayo de compuestos tanto de naturaleza lipofílica como hidrofílica (Kuskoski *et. al.* 2005). Los resultados estadísticos de mayor concentracion de actividad antioxidante (DPPH⁺, ABTS⁺), fenoles, flavonoides, antocianinas y carotenoides, es el extracto hidroalcohólico a una concentración de 100 mg/mL y no sucede lo mismo en el extracto acuoso.

Los fenoles totales en el extracto acuoso de cáscara de aguaje 3.66 ± 0.01 mg AGE/100 g y en extracto hidroalcohólico 3.89 ± 0.012 mg fue de de AGE/100 g existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de fenoles entre un nivel de tipo de solvente, siendo el 95 % de confianza, siendo significativamente diferentes con un p-valor de 0.00. Sin embargo Garrido *et. al.* (2013) en la investigación realizada en la cuantificación de fenoles encontró, que existe mayor concentración de fenoles totales en el extracto por maceración en metanol (5807.94 ± 340.04 mg/100 g muestra seca) comparado con otros tipos de extracción, como el extracto hidroalcohólico de la cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*).

Según Vargas & Vargas *et. al.* (2018) Los flavonoides son los compuestos polifenólicos, que se caracterizan por tener una estructura de tres anillos formada por dos centros aromáticos y un heterociclo central oxigenado, dentro de los flavonoides se incluyen a las flavonas, flavanonas,

catequinas y antocianinas, asimismo Martínez *et. al.* (2002) menciona que los flavonoides no constituyen un grupo homogéneo de compuestos y las mismas propiedades que caracterizan su actividad antioxidante, los mecanismos moleculares que determinan la actividad de los flavonoides, algunos flavonoides poseen acciones prooxidantes, éstas se producen sólo a dosis altas.

Los resultados obtenidos en la presente investigación con respecto a la determinación de la actividad antioxidante en flavonoides en extractos acuoso fue 2.71 ± 0.08 mg de catequina/100 mL y 3.43 ± 0.04 mg de catequina/100 mL en extracto hidroalcohólico, existiendo diferencia estadísticamente significativa entre la media de flavonoides hidroalcoholico entre un nivel de flavonoides acuoso y otro, con un nivel del 95 % de confianza y el p-valor 0.0002.

Según Valenzuela *et. al.* (2014) de los resultados obtenidos observa una relación entre el contenido de fenoles totales, flavonoides y la capacidad atrapadora de radicales libres en *c. mixta pangalo* mostró mayor actividad antioxidante, existiendo relación en la presente investigación.

También se evaluó antocianinas en la cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*) en el extracto acuoso cuyo resultado fue: no se detecto y en el extracto hidroalcohólico fue de 2.59 ± 0.64 mg/L de cianidina 3 - glucosido, según los resultados estadísticos el análisis de varianza existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de antocianinas entre un nivel de tipo de solvente, con un nivel del 95 % de confianza con un p valor 0.0020.

Los carotenoides pueden ser utilizados como pigmentos naturales, ya que son los responsables de los colores naranja, amarillo y rojo en los alimentos; como en el caso de la cáscara de aguaje, que tiene un color rojizo (Zeni *et al.* 2011). Estudios similares han demostrado mayor contenido de carotenoides en residuos de papaya al compararlos con los de piña, naranja y guayaba (Ordóñez *et al.* 2014) La cuantificación de los carotenoides en extracto acuoso fue $1.5 \times 10^{-4} \pm 0.0$ mg de carotenoides/100 g y en extracto hidroalcohólico fue de $1.4 \times 10^{-4} \pm 1.15$ mg de carotenoides/100 g y estadísticamente en el análisis de varianza no existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de carotenoides entre un nivel

de tipo de solvente, con un nivel del 95 % de confianza. con un p-valor 0.0907.

Se ha evaluado el barrido espectrofotométría que absorben a longitudes de onda del espectro ultra visible. Los barridos espectrales a los extractos de cáscara de aguaje, nos han permitido visualizar la variación de la absorbancia con la longitud de onda óptima de trabajo realizando dos barridos de 195 a 700 nm y de 300 a 700 nm, presentando el pico mas alto entre 295 a 300 nm, posiblemente haya compuesto orgánicos que no se conocen y se asocian a espectral no visible, como se muestra en la Figura 19.

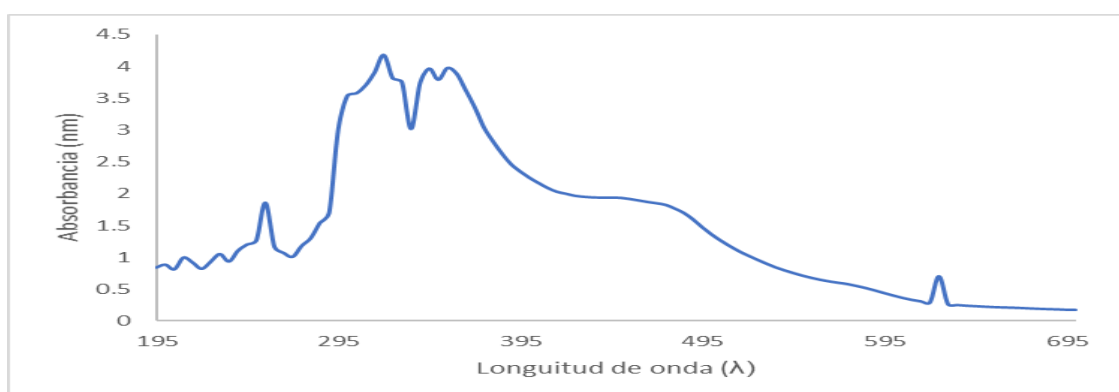


Figura 19. Espectros de absorción UV-VIS del extracto hidroalcohólico de cáscara de aguaje.

La razón de evaluar un barrido espectral de absorción es adaptar una técnica analítica en espectrofotométrica uv-visible que permitan determinar la longitud de onda óptima a la cual se debe trabajar en el espectrofotómetro, con las cantidades adecuadas de concentración que desarrollen el cromóforo apropiado y sean cuantificables.

5.3. Evaluación del efecto del buffer a diferentes pHs frente al extracto de cáscara de aguaje

Se evaluó el efecto del pH en diferentes buffers, según los resultados existe mayor actividad antioxidante y antocianinas en extracto hidroalcohólico, que en el extracto acuoso y la presencia de antocianinas frente a pH encima de 3 formando otros compuesto y son más inestables (Jackman *et. al.* 1987).

El pH tiene un efecto en la estabilidad de las antocianinas a valores bajos de pH 3 y en el color de los medios que contienen estos pigmentos. También Mazza y Brouillard (1987) dice que el pH se muestra como el factor más importante que afecta el color de las antocianinas.

Segun Jackman *et. al.* (1987) menciona que el pH y temperatura, los factores que influyen en la estabilidad del pigmento de antocianina, incluidos así como la presencia de ácido ascórbico, azúcares, iones metálicos y copigmentos (Figuroa *et. al.* 2011). Este descubrimiento puede resultar de importancia para la tecnología de alimentos, estos compuestos pueden encontrar aplicación en la coloración de alimentos.

A continuación se muestra el efecto del buffer a diferentes pHs sobre el extracto hidroalcohólico de cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*) según la Figura 20.



Figura 20. Evaluación del efecto del buffers en diferentes pHs sobre el extracto hidroalcohólico de cáscara de aguaje.

Se evaluó el efecto del buffers con extracto hidroalcohólico frente a bebidas comerciales como aquarius manzana, aquarius pera, coca energy drink, bio aloe, free tea, leaf tea, frugos durazno, pulp durazno, vinagre blanco, vinagre tinto, pudiendo observar que hay un efecto del pH, siendo el factor más importante además de la luz espectral, la temperatura, la iluminación. (Jackman *et. al.* 1987) que afecta el color de las antocianinas y la estabilidad. Mazza y Brouillard (1987). El pH es el factor más importante que afecta el color de antocianina, pero se dan varios medios de estabilización (Jackman *et. al.* 1987).

También se realizó un barrido espectral buscando adaptar una técnica analítica en espectrofotométrica uv - visible que permitan determinar la longitud de onda óptima a la cual se debe trabajar en el espectrofotómetro, con las cantidades adecuadas del extracto hidroalcohólico de la cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*), desarrollando un cromóforo como se puede

apreciar para realizar la lectura frente a las diferentes bebidas comerciales y evaluar el efecto del pH siendo los sensores ópticos para determinar el pH son obtenidos por inmovilización de los indicadores de pH en una base sólida como es la cinta de doble cara según Moreno *et. al.* (1990); Safavi y Bagheri (2003) y Sotomayor *et. al.* (2001) que en la presente investigación haría la cinta de doble cara cumpliendo la fase hidrofóbica y el papel la fase hidrofílica; como sensor óptico de pH es a la fecha estudiado en frutos como la uva estudiado por Abolghasemi *et. al.* (2016) quienes desarrollaron un sensor óptico de pH ecológico, utilizando antocianinas de uva *siahe sardasht*, en un acoplamiento optimizado, dicho sensor responde a los cambios de pH en un rango de 1 a 10 con un tiempo de respuesta de 3 min y cuyas replicas mejoraron. Concluyendo que los valores estimados del pH son muy similares a los pH estimados.

También se ha realizado un barrido espectral del extracto de la cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*) frente a las bebidas comerciales y se puede observar los valores altos de 300 nm, luego experimenta una caída 370 nm, lo que me indica que las bebidas comerciales se encuentran en un rango uv-vis. El cambio espectral es el resultado de una base ácida en equilibrio. Estos cambios son completamente reversibles con variación en el pH según lo descrito por Safavi y Bagheri (2003) la absorbancia o luminiscencia de ciertas moléculas indicadoras.

5.4. Evaluación de la variación del color en las imágenes del extracto de cáscara de aguaje frente a diferentes pHs

De los colores percibidos se observa que los buffers de pH 7 a 9 presentan mayor coloración y los buffers a pH 3 a 4 no presentan variación de color, según Jackman *et. al.* (1987) menciona que la pérdida de pigmentación de antocianinas también ocurre en presencia de oxígeno, enzimas, y en alta temperatura, siendo uno de los factores que influyen en la variación del color en los extractos hidroalcohólicos de la cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*). Según Mathias-Rettig & Ah-Hen (2014) dice: “que el color está influenciado por factores como la iluminación, el observador de referencia, los espectros de luz, la presencia de pigmentos, características de la superficie, tamaño, textura y brillo de la muestra”.

Asimismo Mazza y Brouillard (1987) menciona que las antocianinas aciladas, retienen un color estable en soluciones ligeramente ácidas o neutras como se puede observar en el extracto hidroalcohólico de la cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*) a pH 3 no cambia de color y son más estables. Las antocianinas presentes son altamente reactiva, se degradan fácilmente o reaccionan con otros constituyentes, para formar compuestos incoloros o de color marrón.

Estos factores han influenciado en la variación del pH 7 a pH 9 en el extracto hidroalcohólico de cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*) que desarrollaron tonalidades que van desde un ligero amarillo hasta un café intenso, mediante las reacciones de maillard y de caramelización, la adición intencionada de sustancias químicas colorantes para dar el color a las bebidas comerciales y el efecto físico de los sistemas fisicoquímicos presentes en el alimento y relacionado con la dispersión de la luz. (Mathias-Rettig y Ah-Hen 2014) comparados con los estudios de Reyes y Cisneros Zevallos (2007) en la investigación de cinética de degradación del color de extractos acuosos de papa de carne roja y morado encontrando que los colores brillantes y atractivos mostraron variación inicialmente, solo los extractos a pH bajo de 1 a 3, mostraron retención de color durante el período de almacenamiento mientras los observados en la región alcalina se decoloraron como sucedió en los extractos de la cáscara de aguaje. A pH bajo el color y la estabilidad es más estables, debido a que están presentes en su forma como el catión flavilio presente en las antocianinas según Jackman *et al.* (1987) como se observa en la Figura 21.

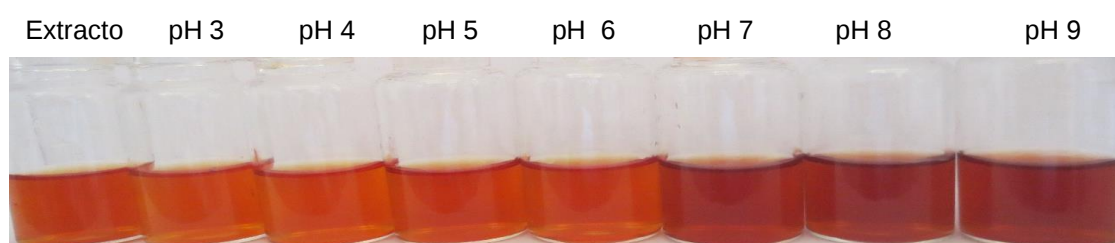


Figura 21. Variación del color sobre efecto del buffers a diferentes pHs

Bridgers (2010) y Mazza & Brouillard (1987) menciona que los pigmentos de antocianina son responsables del rojo, púrpura y colores

azules de muchas frutas, verduras, cereales y flores, estos pigmentos pueden existir en diferentes las formas estructurales y los fenómenos fisicoquímicos relacionados y el efecto en su color real y estabilidad. Las antocianinas son altamente reactiva y son susceptibles al ion oxonio, dióxido de azufre, ácido ascórbico, peróxido de hidrógeno, agua, éstas se degradan fácilmente o reaccionan con otros constituyentes en los medios, para formar compuestos incoloros como las chalconas o de color marrón, como se observa en los buffers a pH 7 a pH 9 en el extracto hidroalcohólico de la cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*).

Sin embargo Jackman *et. al.* (1987) dice: “que la pérdida de pigmentación de antocianinas también ocurre en presencia de oxígeno y como resultado del procesamiento a alta temperatura”. El grado de estabilización del pigmento puede ser por acilación con varios ácidos orgánicos, copigmentación, autoasociación y/o quelación de metales. Además, el pH tiene un efecto marcado en la estabilidad de las antocianinas y en el color de los medios que contienen estos pigmentos.

Esta forma de color rojo brillante, se transforma en bases quinoidales azules o pseudobases de carbinol incoloras y en amarillo a partir de la especie de chalcone (Brouillard, 1982). Asimismo Mazza y Brouillard (1987) menciona que las antocianinas aciladas, retienen un color estable en soluciones ligeramente ácidas o neutras como se puede observar en el extracto hidroalcohólico de la cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*), sin embargo a pH 3 a pH 6 no cambia de color siendo más estables. Mathias-Rettig y Ah-Hen (2014) dice que el color es afectado por muchos factores, tales como la iluminación, el observador, el espectro, la presencia de pigmentos o las propias características de superficie, tamaño, textura y brillo de la muestra analizada.

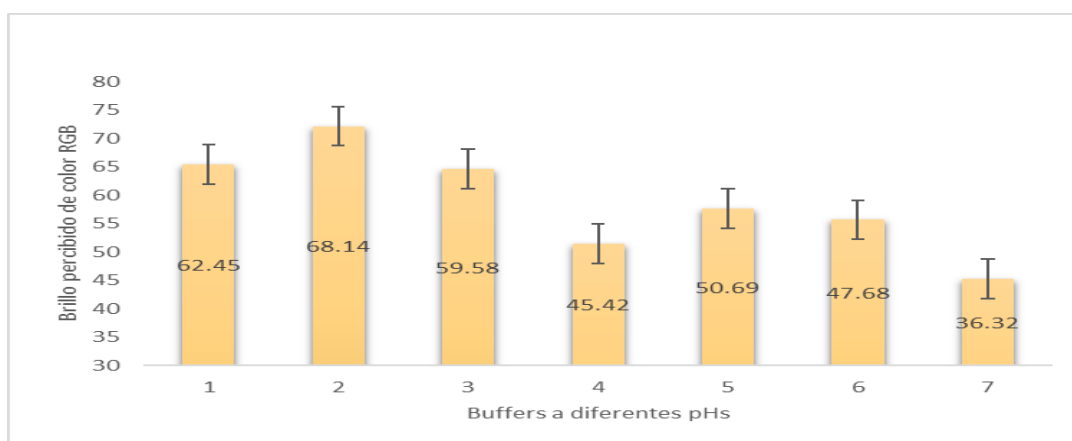
Según Figueroa *et. al.* (2011) la presencia de ácido ascórbico, azúcares, iones metálicos y copigmentos que se ocupan de la estabilidad y el color de las antocianinas.

También el efecto del pH, la temperatura y la luz influyen en la variación del color y la estabilidad del alimento (Francis 1989; Wrolstad 2000) el cambio de las coloraciones cuando son sometidas a diferentes buffers, que posiblemente existe algunos componentes incoloros en la

antocianinas como a pH 3 a pH 5, y la temperatura es otro factor que influye en la coloración marrón del rango alcalino según Reyes y Cisneros (2007).

El extracto hidroalcohólico de cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*), fue sometida a buffers con diferentes pH es decir pH 3 a pH 6, que se encuentran en la escala de ácido a pH 7 neutro y buffers alcalino de pH 8 a pH 9, se puede observar la poca estabilidad del cromóforo ya que el color desarrollado vira fuertemente de un color claro caramelo a un color café oscuro estar cerca la alcalinidad. Teniendo como referencia esto, el protocolo escogido fue el color desarrollado con los diferentes buffer en soluciones acuosas mediante espectrofotometría dentro del rango UV-Vis, determinandose la variación del color del extracto hidroalcoholico de los pigmentos frente a diversos alimentos líquidos comerciales.

Para la evaluación del brillo percibido se realizó el calculo con el Imagen J y se evaluó el brillo percibido de color mediante los valores de RGB, según la comparación de colores primarios por intensidad a la luz se puede observar del grafico que hay menor brillo a pH 9 en un 36.32 % de luminosidad y el mayor brillo es a pH 4 con un 68.14 % de luminosidad, según Abderrahim *et. al.* (2016) como se muestra en la Figura 22.



Donde:

pH 3 = 62.45 %; pH 4 = 68.14 %; pH 5 = 59.58 %; pH 6 = 45.42 %;
pH 7 = 50.69 %; pH 8 = 47.68 %; pH 9 = 36.32 %.

Figura 22. Evaluación brillo percibido del color RGB en % de luminosidad del extracto hidroalcohólico frente a buffers de pH 3 a 9.

Finalmente, Mathias-Rettig & Ah-Hen (2014) el día de hoy las expectativas impuestas a los alimentos con respecto a las normas de calidad y seguridad, existe una necesidad imperiosa para determinar la calidad de forma precisa, rápida y objetiva siendo el microdispositivo de papel para medir pH, una alternativa versátil, sencilla, rapido y segura. Jackman *et. al.* (1987) revizó los factores que influyen en el color y la degradación de antocianinas, para estabilizar los pigmentos de antocianinas a la luz de su posible uso, como colorantes en una variedad de sistemas alimentarios se puede aumentar proporcionalmente a la concentración de pigmento, por lo que será una alternativa de prevenir la pérdida de antocianinas a través de la dilución o degradación durante el procesamiento, ya que esto puede resultar en pérdida proporcionalmente mayor del color del producto.

5.5. Validación del microdispositivo en papel para medir pH en muestras de bebidas comerciales

Para la validación del microdispositivo en papel para medir pH basado en extracto hidroalcohólico de cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*), se utilizaron diferentes bebidas comerciales, que se muestran en la Figura 23.



Donde:

- | | | |
|-------------------------------|----------------------------------|------------------------------|
| 1 = Extracto + Vinagre tinto | 2 = Extracto + Vinagre blanco | 3 = Extracto + Pulp Durazno |
| 4 = Extracto + Frugos Durazno | 5 = Extracto + Coca energy drink | 6 = Extracto + Leaf tea |
| 7 = Extracto + Free tea | 8 = Extracto + Aquarius manzana | 9 = Extracto + Aquarius pera |
| 10 = Extracto + BioAloe | | |

Figura 23. Microdispositivo en papel para medir pH de bebidas comerciales.

Asimismo el resumen de los valores que se obtuvieron en los parámetros de color RGB de las bebidas comerciales y tambien se hicieron las medidas del potenciómetro.

Cuadro 10. Valores del análisis de parámetros de color RGB de microdispositivo de papel rectangular para medir pH en bebidas comerciales.

Bebidas comerciales	R		G		B	
	MEDIA	DS	MEDIA	DS	MEDIA	DS
Bio Aloe	107.43	8.24	101.01	9.00	98.61	9.86
Aquarius pera	100.34	6.66	100.71	7.37	95.56	8.62
Aquarius manzana	101.47	9.34	100.38	10.47	97.93	11.01
Coca energy drink	102.86	5.98	99.16	7.53	97.94	9.53
Leaf tea	100.61	8.09	99.95	9.53	98.15	9.39
Free tea	100.74	5.31	99.94	5.48	99.35	5.39
Pulpin durazno	119.06	7.44	89.50	9.76	49.83	11.15
Frugos durazno	129.29	6.51	100.35	7.91	69.03	8.58
Vinagre tinto	115.78	9.54	99.32	11.50	90.51	12.85
Vinagre blanco	115.70	8.51	98.54	11.19	68.59	11.01

Este microdispositivo es un método propuesto, es rápido, económico, selectivo y sensible y produce resultados similares a otros enfoques ópticos más complejos para una amplia detección de pH Safavi y Bagheri (2013) y se puede realizar un análisis en tiempo real. En el Cuadro 11 se muestran el resumen de los valores del análisis de parámetros de color RGB del microdispositivo trébol de bebidas comerciales.

Cuadro 11. Valores del análisis de color RGB de microdispositivo de papel trébol para medir pH en bebidas comerciales.

Bebidas comerciales trébol	R		G		B	
	MEDIA	DS	MEDIA	DS	MEDIA	DS
Bio Aloe	107.43	8.24	101.01	9.00	98.61	9.86
Aquarius pera	100.34	6.66	100.71	7.37	95.56	8.62
Aquarius manzana	101.47	9.34	100.38	10.47	97.93	11.01
Coca energy drink	102.86	5.98	99.16	7.53	97.94	9.53
Leaf tea	100.61	8.09	99.95	9.53	98.15	9.39
Free tea	100.74	5.31	99.94	5.48	99.35	5.39
Pulp durazno	119.06	7.44	89.50	9.76	49.83	11.15
Frugos durazno	129.29	6.51	100.35	7.91	69.03	8.58
Vinagre tinto	115.78	9.54	99.32	11.50	90.51	12.85
Vinagre blanco	115.70	8.51	93.54	11.19	68.59	11.01

Zapata, (2014) menciona que el incremento del pH, se debió a una degradación del catión flavilio, ya que éste es deficiente en electrones, y por

lo tanto, muy reactivo, dando lugar a formación de hemiacetal y chalcona, ambas inestables. También podría deberse a que a partir de ese mínimo tiempo, el ritmo de extracción de las antocianinas se vio contrarrestado con una mayor degradación de las mismas, producido por el ataque nucleofílico del agua al catión flavilio y la formación de compuestos incoloros.

En el Cuadro 12, se observa la estimación de pH Instrumental y el pH estimado.

Cuadro 12. Valores del pH-metro instrumental y el pH estimado en bebidas comerciales.

Microdispositivo de papel	pH Instrumental	pH estimado papel rectangular	pH estimado trébol
Bioaloe	3.63	4.24	5.08
Aquarius pera	3.49	4.04	4.81
Aquarius manzana	3.36	4.27	5.41
Coca energy drink	3.08	4.28	5.19
Leaf tea	3.18	4.19	5.33
Free tea	3.63	4.29	5.85
Pulpin durazno	3.73	2.95	3.66
Frugos durazno	3.93	4.19	5.22
Vinagre tinto	2.76	4.70	3.95
Vinagre blanco	2.83	2.67	3.85

Capel-Cuevas *et. al.* (2010) investigó que el rendimiento del sensor óptico desechable se probó para medir pH validándose los resultado frente a un procedimiento de potenciometría, este método es rapido, económico selectivo, sensible, produce resultados similares a otros enfoques ópticos más complejos para una amplia detección del pH. Este microdispositivo es un método propuesto, es rápido, económico, selectivo y sensible y produce resultados similares a otros enfoques ópticos más complejos para una amplia detección de pH y el uso no solo puede verse en la parte alimentaria sino como análisis clínico, análisis ambiental, y en control de procesos.

Safavi y Bagheri (2013) los sensores han atraído la atención de muchos investigadores con respeto al costo, libertad de interferencia eléctrica, seguridad y la posibilidad de teledetección, se puede realizar un análisis en tiempo real.

Se validó el pH estimado con el color percibido RGB, teniendo en ambos diseños de papel para medir pH un valor de coeficiente de correlación de 0.9977 para el diseño rectangular y para el diseño trébol es de 0.9982, existiendo una relación lineal alta entre la concentración del extracto hidroalcohólico y los parametros de RGB; en conclusión ambos diseños tienen similares comportamientos según el análisis de regresión lineal, siendo los valores detectados por la imagen son cuantificados según el brillo percibido de los parámetros RGB. Según Abderrahim *et al.* (2016) en el estudio de la reducción del ácido galico encontró valores similares que fueron detectados por Imagen F-C. A continuación se muestra la figura del color percibido RGB.

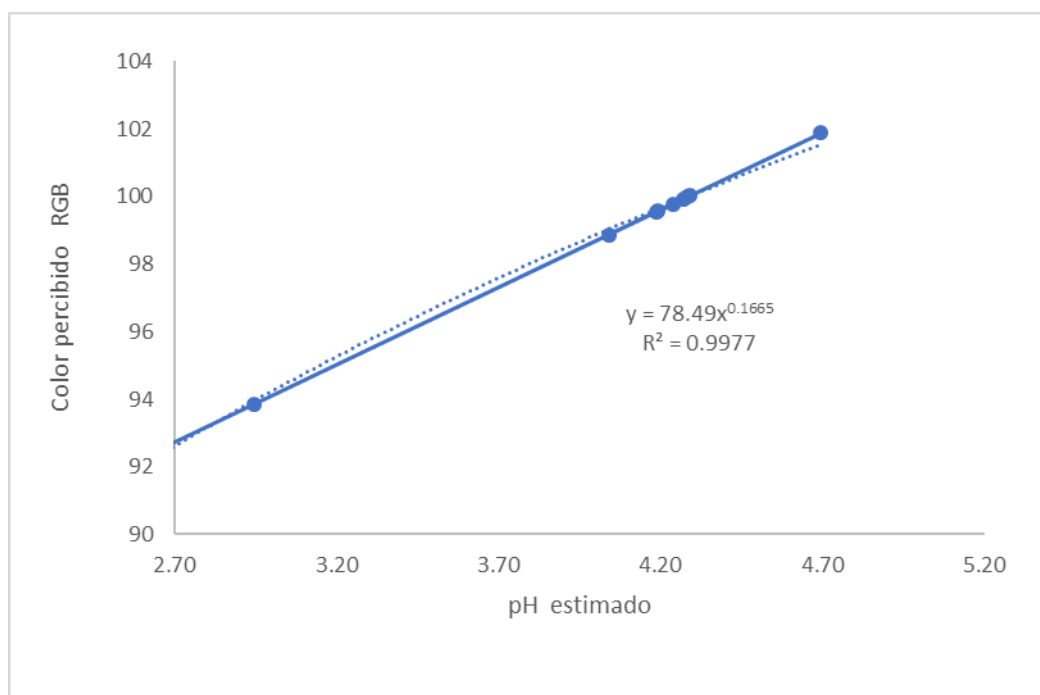


Figura 24. Bebidas comerciales con extracto de cáscara de aguaje en microdispositivo rectangular.

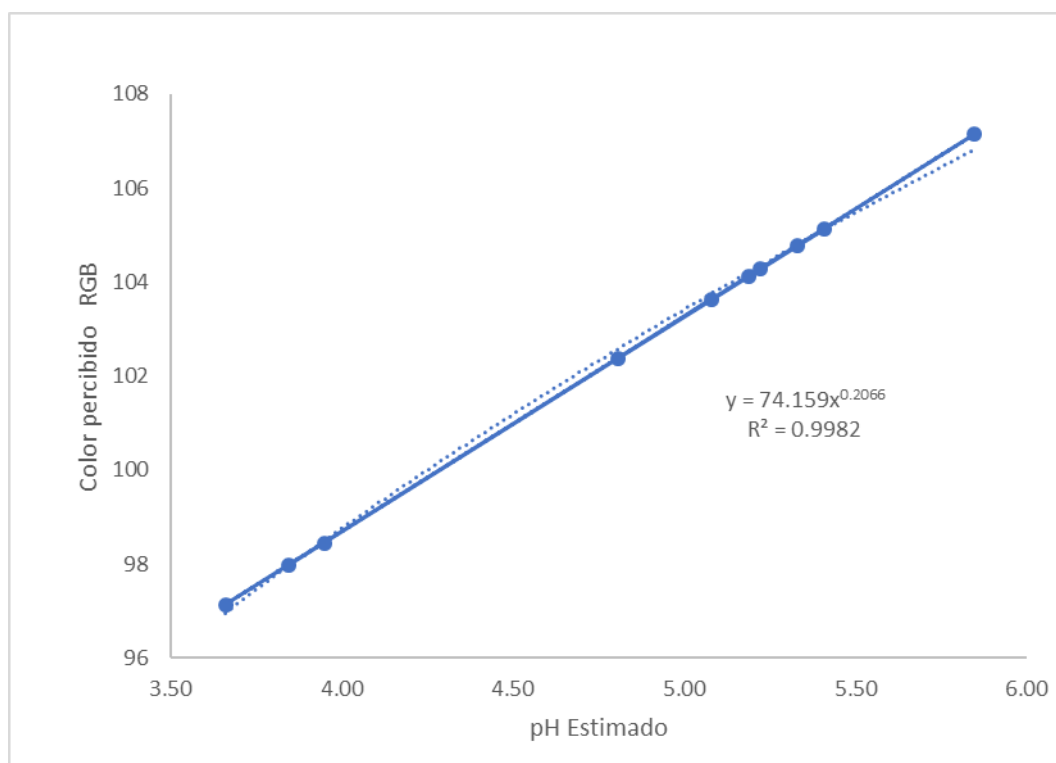


Figura 25. Bebidas comerciales con extracto de cáscara de aguaje en microdispositivo trébol.

VI. CONCLUSIONES

Luego de haber realizado el análisis e interpretación, diseño y validación de los resultados obtenidos se puede llegar a las siguientes conclusiones:

- Se desarrolló el microdispositivo de papel para medir pH usando los extractos de cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*) siendo esta una alternativa de menor costo, versátil, sencillo y fácil de usar.
- Se determinó la concentración del extracto hidroalcohólico de cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*) a una concentración de 100 mg/mL, siendo la más adecuada, asimismo se mostró que mejor se extraen los compuesto bioactivos con un solvente hidroalcohólico.
- Se evaluó el efecto de los diferentes pHs sobre el extracto de cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*), existe un efecto del pH a valores altos debido a factores como la luz y variación de color alta en valores de brillo de colores percibidos según el RGB, en buffers a pHs de 7 a 9.
- Se determinó la variación del color de los pigmentos del extracto de cáscara de aguaje (*Mauritia flexuosa*), frente a diferentes pHs y a bebidas comerciales existiendo una variación de colores en bebidas translucidas según la ecuación de luminancia desde un 32 lumines hasta 68 lumines.
- Se validó el microdispositivo en papel de filtro rápido para medir pH usando un instrumento potenciométrico frente a las imágenes del resultado RGB de bebidas comerciales proporcionando valores de estimado a un acercamiento al pH instrumental.

RECOMENDACIONES

La investigación realizada admite establecer las siguientes recomendaciones:

- Realizar el desarrollo del microdispositivo en alimentos empacados siendo de uso sencillo, rápido, versátil y barato.
- Usar la presente investigación aplicado a otros alimentos para realizar estudios de estabilidad y durabilidad.
- Usar la investigación presente para investigaciones en otras materias primas alimentarias aprovechando el subproductos.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Arbayza, FJ; Ruiz RS; Venegas, CE; Ruidias, RD; Cosavalente, BK. 2014. Capacidad antioxidante del zumo y de los extractos hidroalcohólico y acuoso obtenidos de *punica granatum* y su relación con el contenido de polifenoles. *Revista Pharmaciencia*. Universidad Nacional de Trujillo - Perú. Vol. 2(2).
- Abolghasemi, M; Sobhi, M. 2016. Preparation of a novel green optical pH sensor based on immobilization of red grape extract on bioorganic agarose membrane. *Sensors and Actuators B: Journal Chemical* Volumen 224 (1). Pages: 391-395. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2015.10.038>.
- Abderrahim, M; Arribas, MS; Condezo-Hoyos, L. 2016. A novel high-throughput image based rapid Folin-Ciocalteu assay for assessment of reducing capacity in foods. *Revista Elsevier. Talanta* 152:82–89. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.01.051>.
- Ahmed, S; Ngoc, M-P; Bui y Abbas, A. 2016. Paper-based chemical and biological sensors: Engineering aspects. *Revista biosensors and bioelectronics*.77(2016).pages:249-263. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2015.09.038>
- Alcalde, EC; Saavedra, G; De Pascual, ST; Julian C; Rivas-Gonzalo. (2004). Liquid chromatography–mass spectrometry identification of anthocyanins of isla oca (*Oxalis tuberosa*, Mol.) tubers. *Journal of Chromatography* 1054(2004) pages: 211–215. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.08.074>.
- Aguilera, OM; Reza, VM; Chew, RG; Meza, JA. 2011. Propiedades funcionales de las antocianinas. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud*, XIII. 16-22 p.
- Alvis, A; Martínez, W; Arrazola, G. 2011. Obtención de Extractos Hidro-Alcohólicos de Limoncillo (*Cymbopogon citratus*) como antioxidante natural. Córdoba. CL. Universidad de Córdoba. 23(2): p 3-10.

- Akyazi, T; Basabe-Desmonts, L; Benito-Lopez, F. 2018. Review on microfluidic paper-based analytical devices towards commercialisation. *Analytical Chemical Acta*, 1001:1–17. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2017.11.010>.
- Badui, S. 2006. *Química de los Alimentos*. 4ed. Pearson Educación. México.
- Bingjie, S; Yilin, G; Chunxia, L; Wei, F; Zhanxian, L; Liuhe, W; Mingming, Y. 2016. A ratiometric fluorescent sensor for pH fluctuation and its application in living cells with low dark toxicity. College of Chemistry and Molecular Engineering, Zhengzhou University, Zhengzhou, 450001, China.
- Bridgers, EN; Chinn, MS; Truong, VD. 2010. Extraction of anthocyanins from Industrial purple-fleshed sweetpotatoes and enzymatic hydrolysis of residues for fermentable sugars. *Industrial, en: Crops and Products*, 32 (3): 613–620.
- Boonprakob, U; Cisneros, L; Crosby, K; Hawkins, D; Thaipong, K. 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *Journal of food composition and analysis* volumen 19:pages 669-675.
- Cabrera, NS; Sandoval, AA; Forero, LF. 2014. Potencial lantioxidante y antimicrobiano de extractos acuosos e hidroalcohólicos de granadilla (*Passiflora ligularis*). Red Tecnoparque Nodo La Granja-Sena Regional Tolima. Universidad del Tolima, Facultad de ingeniería agronómica.
- Capel-Cuevas, MP; Cuéllar, I; De Orbe-Payá, MC; Pegalajar, LF; Capitán-Vallvey. 2010. Full-range optical pH sensor based on imaging techniques. *Analytical Chemical*. www.elsevier.com/locate/aca.
- Córdoba, C; Mera, J; Paredes, O; Benavides, J. 2004. Sensor óptico para mediciones de PH obtenido por el método sol-gel con moléculas orgánicas dopadas en matriz vítrea Grupo de Investigación en Materiales Cerámicos y Vítreos, *Revista Sociedad Química, México*. 2004, 48, 203-207.
- Chen, X; Gu, Z. 2013. Absorption type optical pH sensitive film based on immobilized purple cabbage pigment. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 178, 207–211. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2012.12.094>.

- Chemat, F; Sicaire, AR; Nne-Gaëlle, N; Meullemiestre, A; Fabiano-Tixier, A. 2017. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. Mechanisms, techniques, combinations, protocols and applications. *Revista Sciencie Direct.* 34:540-560. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2016.06.035>
- Daza, PJ. 2006. Estadística aplicada con Microsoft Excel. Ed. Megabayte S.A.C. Lima, Perú. p. 485 – 516.
- De La Rosa, C; Torres, C; Camacho, O; Calderón, Z; Herrera, E; Osorio, M. 2012. Quantification of total flavonoids in the methanolic extract of glycine max (soybean) and larvicidal effect on aedes aegypti; *revista colombiana de ciencias de la salud* Vol 1 N°1.
- De Pascual-Teresa, SC; Santos-Buelga, JC; Rivas G. 2002. LC-MS analysis of anthocyanins from purple corn cob. *Journal Science. Food Agric.* 82:1003-1006.
- Enciso, GJ; Amiel, PJ; Guija, PE; Fukusaki, YA; Reátegui, AO; Amiel, PD; Enciso, BN; Valdivia, E; Rodríguez, BR; Neyra, LK. 2010. Actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de cuatro plantas medicinales y estimulación de la proliferación de fibroblastos. *Revista Sociedad Química.* Universidad Científica del Sur – Perú. Vol. 76(1).
- Ensafi, A; Kazemzadeh, A. 1999. Optical pH Sensor Based On Chemical Modification of Polymer Film. *Journal Microchemical* 63, 381–388.
- Fao. 2005. Proyecto TCP/RLA/3013 (A). Taller Subregional Sobre Aseguramiento De Calidad Y Validación De Metodología Para Análisis Químicos. Bogotá, Colombia. 18-19.
- Figuerola, R; Tamayo, J; González, S; Moreno, G; Vargas, L. 2011. Actividad antioxidante de antocianinas presentes en cáscara de pitahaya (*Hylocereus undatus*). *Revista iberoamericana de tecnología poscosecha.* Mérida - Mexico. Volumen 12(1) pp. 44-50.
- Garrido, G; Ortiz, M; Pozo, P. 2013. Fenoles y flavonoides totales y actividad antioxidante de extractos de hojas de *Lampaya medicinalis* F. Phil.
- Garzón, GA. 2008. Anthocyanins as Natural Colorants and Bioactive Compounds. A. Review. Departamento de Química. Universidad Nacional de Colombia.

- González, AM; Vicente, I. 2007. El color de los alimentos en la industria. Editorial Universitaria. La Habana.
- Guimet, R. 2012. Evaluación de la actividad Antioxidante y Determinación de Polifenoles totales in vitro, de las hojas de ocho morfotipos de *Bixa Orellana* L. (Tesis Qco F). Universidad Nacional de la Amazonía Peruana. Iquitos. Peru. 91p.
- Gutsche, A; Smith, N; Wust, W. 2008. Frutas amazónicas. Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana. Lima Peru. ISBN: 9972-667-34-0.
- Hashemi, M; Abolghasemi, A. 2006. Preparation of a novel optical sensor for low pH values using agarose membranes as support, *Sens. Actuator B*. 115 (2006) 49-53.
- Howard, LA; Wong, AD; Perry, AK; Klein, BP. 1999. β -Carotene and ascorbic acid retention in fresh and processed vegetables. *Food Science* 64(5):929-936.
- Jackman, RL; Yada, RY; Tung, MA; Speers, RA. 1987. Anthocyanins as food colorants a review. *Journal of Food Biochemistry*. 11(3), 201–247. doi:10.1111/j.1745-4514.1987.tb00123.
- Kuskoski, ME; Asuero, AG; Troncoso, AM; Mancini-Filho, J; Fett, R. 2005. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciencia Tecnológica de alimentos*. Campinas. 25(4): 726-732.
- Manjakkal, L; Cvejic, K; Kulawik, J; Zaraska, K; Szwagierczak, D. 2013. A low-cost pH sensor based on RuO₂ resistor material. Institute of Electron Technology, Cracow Division, 30-701, Krakow, Zablocie 39, Poland.
- López, BE. 2008. Diseño y análisis de experimentos, fundamentos y aplicaciones en agronomía. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala. 176 p.
- Ma, Q; Wang, L. 2016. Preparation of a visual pH-sensing film based on tara gum incorporating cellulose and extracts from grape skins. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 235, pages 401–407. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2016.05.107/>.

- Martinez, AW; Phillips, ST; Butte, MJ; Whitesides, GM. 2007. Patterned paper as a platform for inexpensive, low-volume, portable bioassays. *Angewandte Chemie - International Edition*, 46(8), 1318–1320. <https://doi.org/10.1002/anie.200603817>.
- Martinez-Valverde, I; Periago, M; Ros, G. 2007. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *Arch. Latin. Nutric.* 50:5-18.
- Maryline, AV; 2016. Ultrasound assisted extraction of food and natural products. journal homepage: www.elsevier.com/locate/ultson. *Ultrasonics Sonochemistry* 34 (2017) 540–560.
- Mathias-Rettig, KY; Ah-Hen, K. 2014. El color en los alimentos un criterio de calidad medible. *Revista Food and Technology Science. Agro Sur* Vol. 42(2):X-X, 2014. doi:10.4206/agrosur.2014.v42n2-07.
- Mazza, G; Brouillard, R. 1987. Recent Developments in the Stabilization of Anthocyanins in Food Products. *Journal Food Chemistry* Vol 25(1987) p. 207-225.
- Mir, M; Abolghasemia, SM; Piryaieib, CA. 2016. Preparation of a novel green optical pH sensor based on immobilization of red grape extract on bioorganic agarose membrane. Faculty of Chemistry, University of Maragheh, Maragheh, Iranb.
- Mostacero, J; Mejia, F; Gamarra, O. 2002. Taxonomía de las Fanerógamas útiles del Perú. Volumen I p 22.
- Morales, NE; Golmohammadi, H; Naghdi, T; Yousefi, H; Kostiv, U; Horák, D; Pourreza, N; Arben, MA. 2015. Nanopaper As An Optical Sensing Platform. – Nanobioelectronics & Biosensors Group, *Instituto Catalan de Nanociencia Nanotecnologia*. Campus UAB, Bellaterra (Barcelona) 08193, España.
- Moreno, J. 2013. Extracción de compuestos antioxidantes del gel de Aloe vera. Optimización del proceso mediante la aplicación de la metodología de superficie de respuesta. Universitat Politècnica Valencia España. 32p.
- Ordoñez-Santos, L; Hurtado, AP; Ríos, SO; Arias, JM. 2014. Concentración de carotenoides totales en residuos de frutas tropicales* *Revista Producción Limpia*. Vol. 9:1. <http://hdl.handle.net/10567/1266>.

- Quiñones, S. 2017. Caracterización y determinación del contenido de Compuestos Fenólicos y capacidad antioxidante del Fruto de Sanke (*Corryocactus brevistylus*). (Tesis Ing. Agroindustrial). Universidad Nacional de Huancavelica Perú. 21-26 p.
- Rapisarda, P; Fanella, F; Maccarone, E. 2000. Reliability of Analytical Methods for Determining Anthocyanins in Blood Orange Juices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 48(6), 2249 - 2252. doi:10.1021/jf991157h.
- Region Loreto. 2007. Cultivo de Frutales Nativos Amazónicos. [En línea]: Región Loreto (<http://www.regionloreto.gob.pe/amazonia/libros/51/510000.ht>). 22 Oct. 2007).
- Reyes, LF; Cisneros, ZL. 2007. Degradation kinetics and colour of anthocyanins in aqueous extracts of purple and red fresh potatoes (*solanum tuberosum* L.). *Food Chemical*. 100(2007), 885-894. doi:10.1016/j.foodchem.2005.11.002.
- Rodríguez, D; Sanabria, ME; Rodríguez, JL. 2006. Comparación del efecto de los extractos acuoso y etanólico de *phyllanthus niruri* ante phytophthora infestans. Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado. Postgrado de Fitopatología. Barquisimeto, Venezuela. VII Congreso SEAE. Zaragoza España. Nº 83.
- Romero, X; Navarro, P. 2005. pH y Acidez. Universidad de Los Andes, Facultad de Ciencias, Departamento de Química, Laboratorio de Organometálicos La Hechicera, Mérida 5101, Venezuela.
- Safavi, A; Bagheri, M. 2003. Novel optical pH sensor for high and low pH values. *Department of Chemistry, College of Sciences*, Shiraz University, Shiraz 71454, Iran
- Sandoval, M; Okuhama, N; Ángeles, F. 2001. Técnicas de investigación para determinar la actividad antioxidativa y anti-inflamatoria de plantas medicinales de la amazonía. Iquitos, Perú.
- Shi, B; Gao, Y; Liu, C; Feng, W; Li, Z; Wei, L; Yu, M. 2016. A ratiometric fluorescent sensor for pH fluctuation and its application in living cells with low dark toxicity, Dyes and Pigments. doi: 10.1016/j.dyepig.2016.08.058.

- Valenzuela, P. 2015. Evaluación de la Actividad Antioxidante y Determinación del Contenido de Fenoles Totales y Flavonoides de Hojas de Diferentes Genotipos De *Ugni molinae* Turcz. Tesis Qco F. Santiago. CL. Universidad De Chile. 65p.
- Valls, V. 2002. El Papel Antioxidante De Los Alimentos De Origen Vegetal, Vitaminas y Polifenoles. Valencia. ES. 9p
- Vargas y Vargas, M; Figueroa, BH; Tamayo, CJ; Toledo, LV; Moo, HV. 2018. Aprovechamiento de cáscaras de frutas: análisis nutricional y compuestos bioactivos.
- Venero, JR. 2002. Daño Oxidativo, Radicales Libres y Antioxidantes. Rev. Cubana Medicina Militar. 31(2):126-33.
- Shao, Y; Ming-Jie, Y; Hwa-Yaw, T; Jacques, A. 2013. Fiber Optic pH Sensor with Self-Assembled Polymer Multilayer Nanocoatings Li- in revised form: 16 January 2013 / Accepted: 21 January 2013 / Published: 24 January 2013 PAG 1425-1434.
- Yagoda, H. 1937. Applications of Confined Spot Tests in Analytical Chemistry: Preliminary Paper. Industrial & Engineering Chemistry Analytical Edition, 9(2), 79–82. doi:10.1021/ac50106a012
- Zapata, L. 2014. Obtención de extracto de antocianinas a partir de arándanos para ser utilizado como antioxidante y colorante en la industria alimentaria. Universitat Politècnica Valencia. Departamento de Tecnología de Alimentos (Tesis doctoral). Valencia – España.
- Zhang, X; Li, Z; Zhou, T; Zhou, Q; Zeng, Z; Xu, X; Hu, Y. 2015. A quantum dot-spore nanocomposite pH sensor a State Key Laboratory of Agricultural Microbiology Talanta 150 (2016) 184–189. Contents lists available at Science Direct journal. www.elsevier.com/locate/talanta.
- Zeni, JR; Colet, KC; Tiggemann, LG; Toniazzo, RL; Cansian, M; Di Luccio, D; Oliveira y Valduga, E. 2011. Screening of microorganisms for production of carotenoids Selección de microorganismos para la producción de carotenoids. CyTA Journal of Food, 9:2, 160-166, <https://doi.org/10.1080/19476337.2010.499570>.

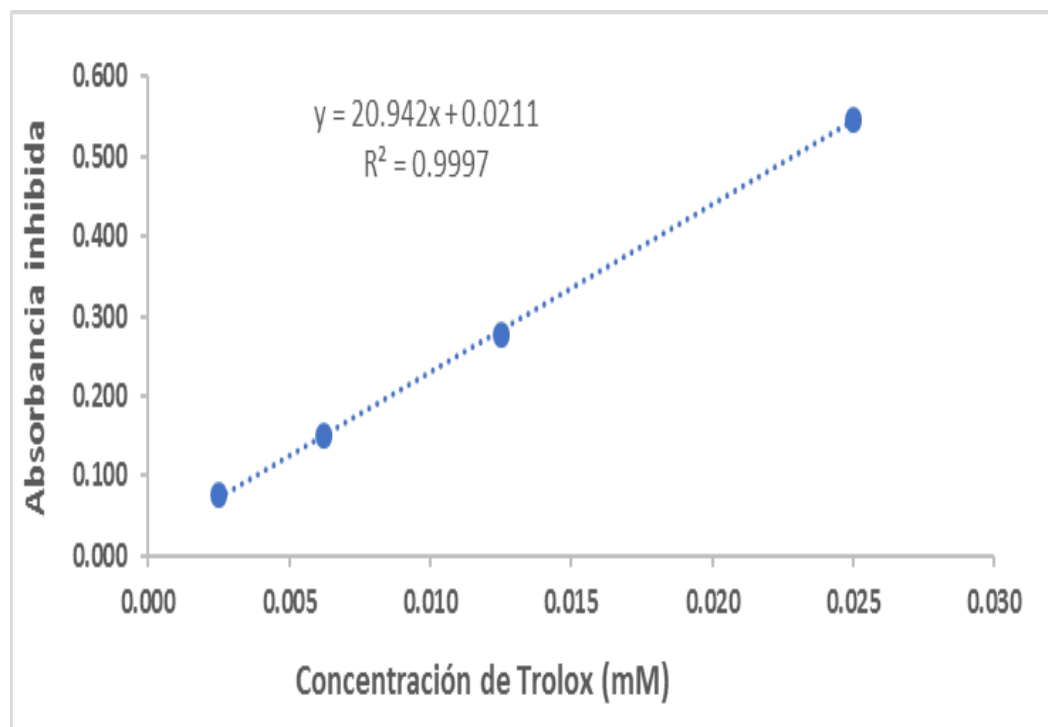
ANEXOS

Anexo 1. Características biométricas del fruto de aguaje**Características biométricas del aguaje**

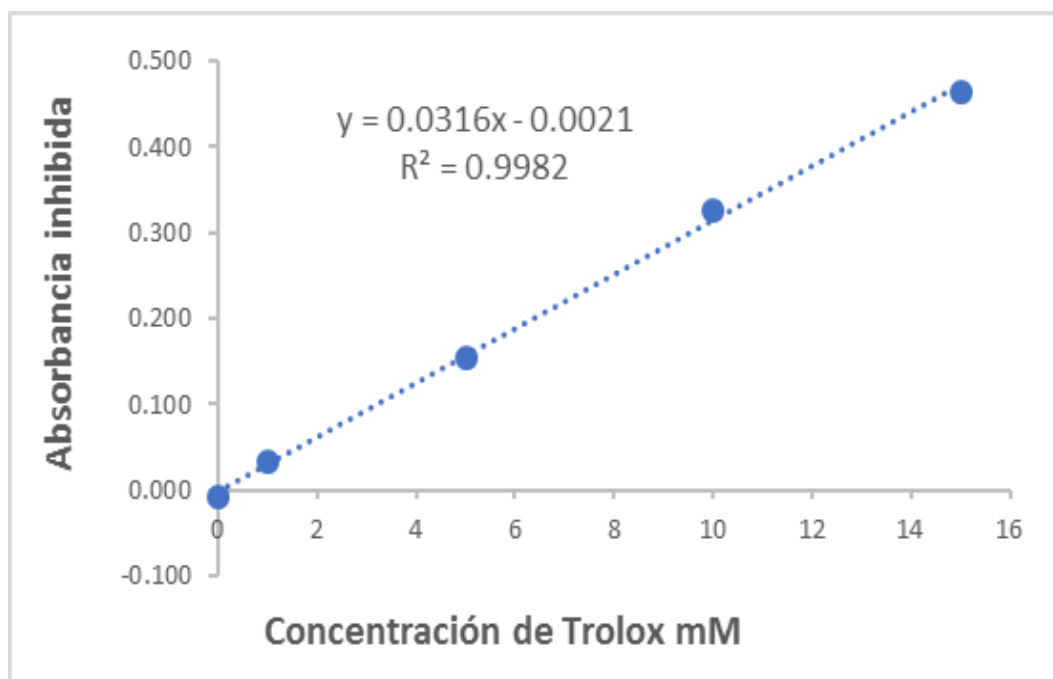
MUESTRA DE AGUAJE	PESO DEL FRUTO (g)	LARGO DEL FRUTO (cm)	ANCHO DEL FRUTO (cm)	DIAMETRO FRUTO (cm)	PESO DE LA CASCARA (g)	PESO DE LA SEMILLA (g)	PESO DE PULPA (g)	PESO DE LA CASCARA + PULPA (cm)	ESPESOR DE LA PULPA (mm)	ESPESOR DE LA CASCARA (mm)
1	45.6	5.79	3.73	12.20	8.59	22.1	14.91	23.5	0.8	1.2
2	47.7	5.39	3.87	10.07	10.25	25.3	12.15	22.4	0.9	1.1
3	49.9	5.21	4.07	7.79	9.08	24.3	16.52	25.6	0.9	1.0
4	43.3	5.39	3.58	11.05	10.05	19.8	13.45	23.5	0.8	1.4
5	44.8	5.46	3.75	12.03	10.34	21.5	12.96	23.3	0.7	1.2
6	35.9	5.09	3.48	11.40	9.78	17.6	8.52	18.3	0.5	1.4
7	41.8	5.31	3.71	10.60	10.06	16.3	15.44	25.5	1.4	1.4
8	38.6	4.08	3.69	10.96	9.83	20.6	8.17	18.0	0.8	1.5
9	39.0	5.20	3.54	12.10	10.08	19.0	9.92	20.0	0.5	1.2
10	39.8	4.60	3.77	12.43	9.68	18.2	11.92	21.6	0.5	1.2
11	37.9	5.20	3.50	12.45	9.46	18.8	9.64	19.1	0.7	1.3
12	38.5	5.06	3.62	13.45	9.89	16.2	12.41	22.3	0.7	1.2
13	33.3	4.74	3.55	10.57	9.05	15.3	8.95	18.0	0.5	1.5
14	41.8	5.19	3.67	10.45	10.02	12.1	19.68	29.7	0.7	1.6
15	39.1	5.28	3.57	14.56	10.28	19.4	9.42	19.7	0.5	1.5
16	43.2	5.20	3.75	13.45	10.03	18.8	14.37	24.4	0.5	1.2
17	35.1	4.82	3.52	13.20	9.70	17.6	7.80	17.5	0.6	1.6
18	39.0	5.20	3.54	12.09	9.80	19.0	10.20	20.0	0.5	1.2
19	41.8	5.19	3.67	12.50	9.59	12.1	20.11	29.7	0.7	1.6
20	35.4	4.67	3.80	12.34	8.54	15.4	11.46	20.0	0.5	1.4
PROMEDIO	40.6	5.10	3.70	11.8	9.70	18.5	12.4	22.1	0.7	1.3
SD	4.3	0.4	0.1	1.5	0.5	3.4	3.6	3.6	0.2	0.2

Anexo 2. Curvas de calibración para la actividad antioxidante

Curva de calibración para DPPH°

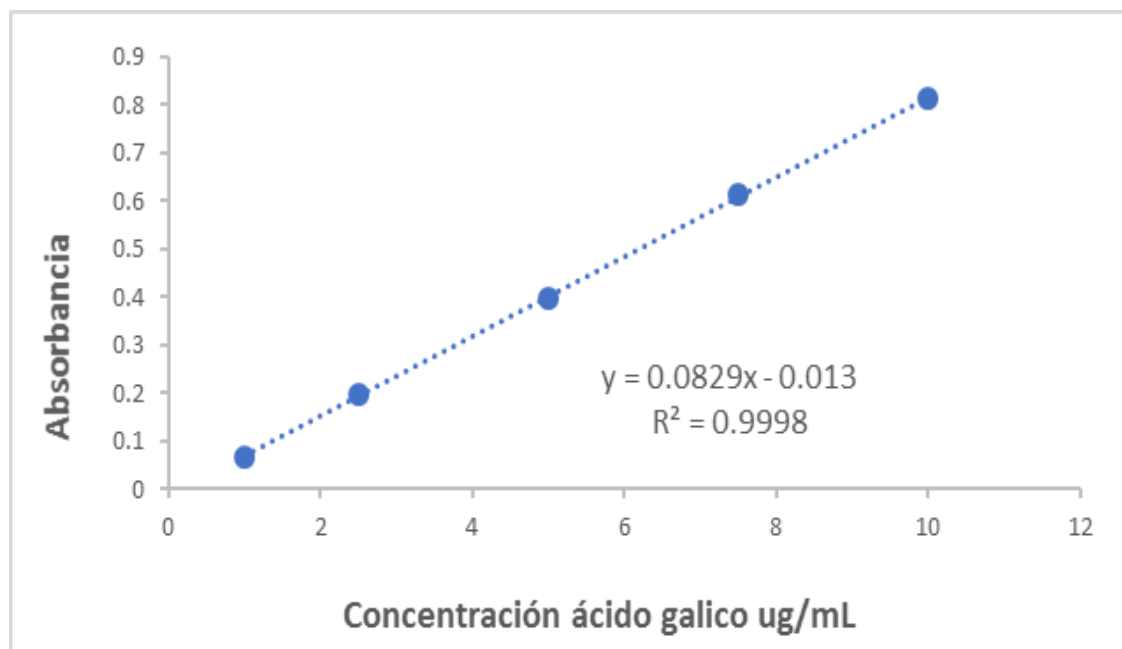


Curva de calibración para ABTS^{°+}

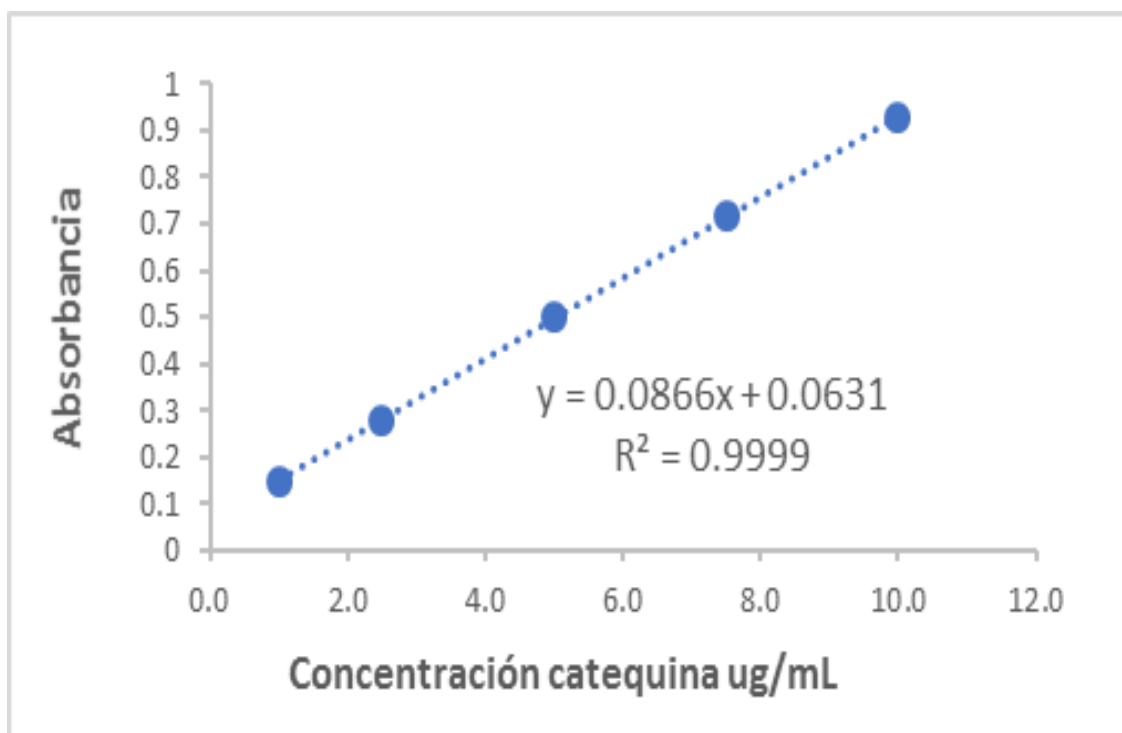


Anexo 3. Curva de calibración para polifenoles

Curva de calibración para Polifenoles



Curva de calibración para Flavonoides



Anexo 4. Tabla Anova para antioxidantes, fenoles, flavonoides, antocianinas y carotenoides

Cuadro Anova para DPPH° por tipo de solvente

Fuente	Suma Cuadrados	de Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1.60063	1	1.60063	9.18	0.0388
Intra grupos	0.697741	4	0.174435		
Total (Corr.)	2.29837	5			

Cuadro Anova para ABTS^{o+} por tipo de solvente

Fuente	Suma Cuadrados	de Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	466544	1	466544	15475.79	0.0000
Intra grupos	120.587	4	30.1467		
Total (Corr.)	466665	5			

Cuadro Anova para fenoles por tipo de solvente

Fuente	Suma Cuadrados	de Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.0800415	1	0.0800415	360.55	0.0000
Intra grupos	0.000888	4	0.000222		
Total (Corr.)	0.0809295	5			

Cuadro Anova para flavonoides por tipo de solvente

Fuente	Suma Cuadrados	de Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.77832	1	0.77832	169.27	0.0002
Intra grupos	0.0183927	4	0.00459817		
Total (Corr.)	0.796713	5			

Cuadro Anova para antocianinas por tipo de solvente

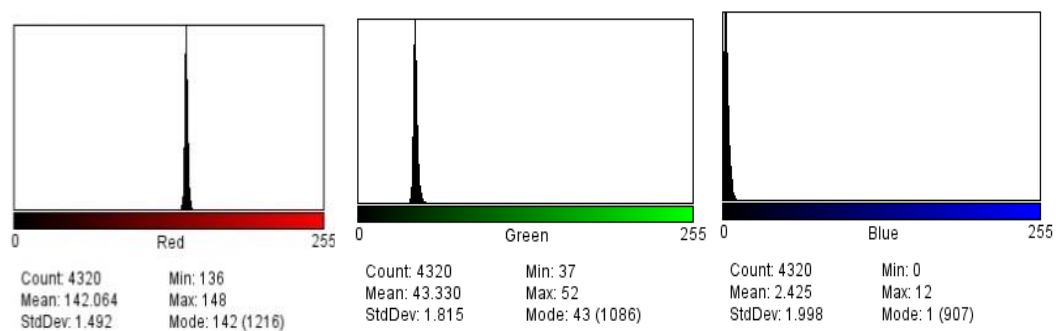
Fuente	Suma Cuadrados	de Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	10.5152	1	10.5152	50.89	0.0020
Intra grupos	0.826483	4	0.206621		
Total (Corr.)	11.3417	5			

Cuadro Anova para carotenoides por tipo de solvente

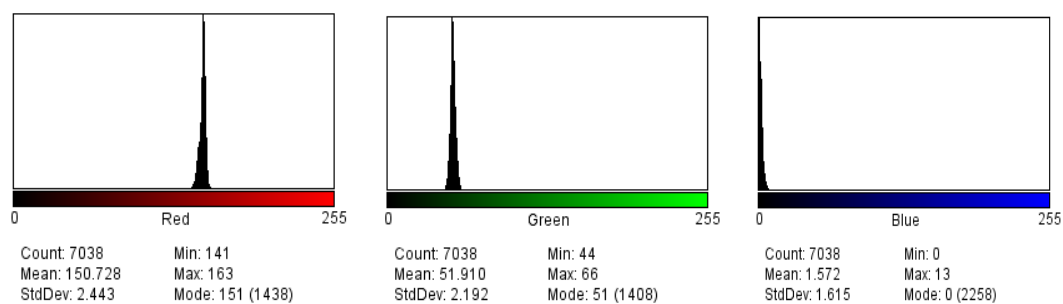
Fuente	Suma Cuadrados	de Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	4.26667E-11	1	4.26667E-11	4.92	0.0907
Intra grupos	3.46667E-11	4	8.66667E-12		
Total (Corr.)	7.73333E-11	5			

Anexo 5. Histogramas de measure RGB del extracto hidroalcohólico de cáscara de aguaje frente al buffer en diferentes pHs

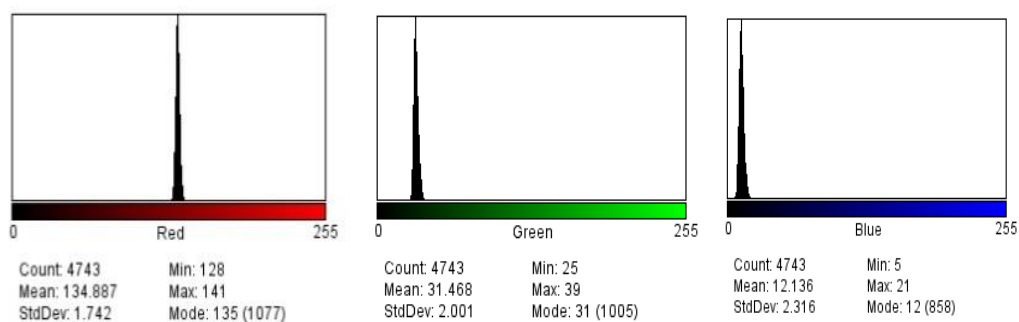
Extracto hidroalcohólico de cáscara de aguaje + pH3



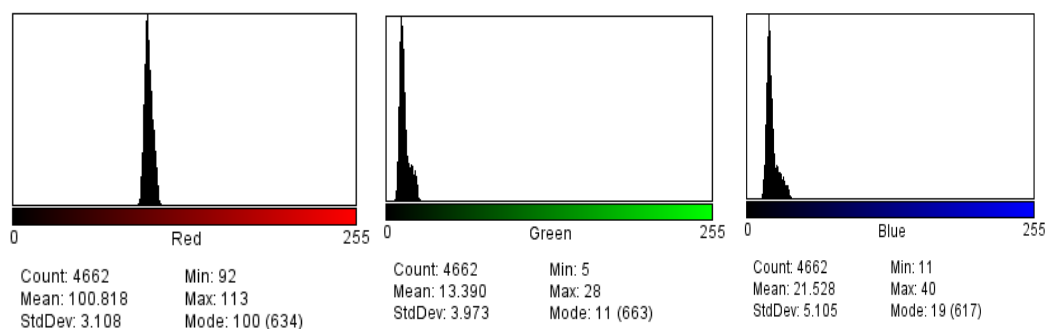
Extracto hidroalcohólico de cáscara de aguaje + pH 4



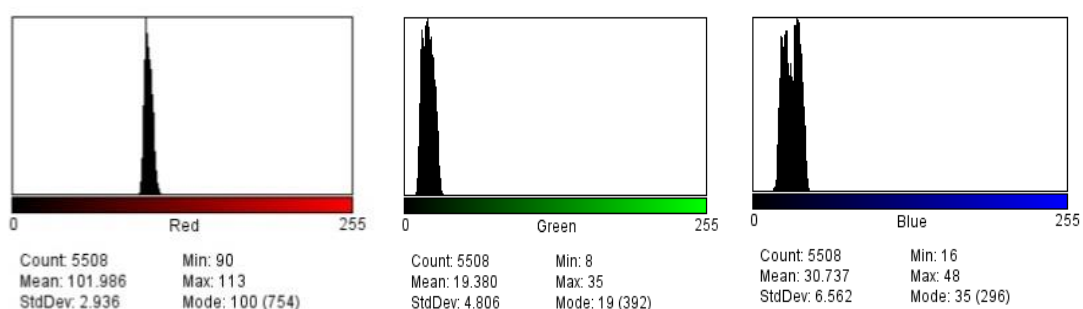
Extracto hidroalcohólico de cáscara de aguaje + pH 5



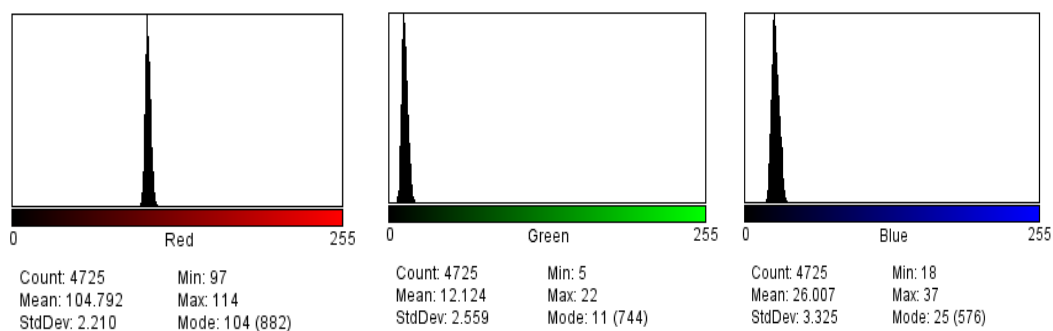
Extracto hidroalcohólico de cáscara de aguaje + pH 6



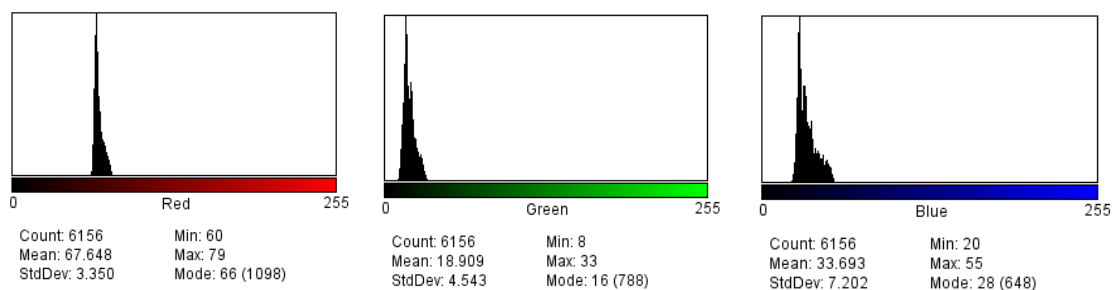
Extracto hidroalcohólico de cáscara de aguaje + pH 7



Extracto hidroalcohólico de cáscara de aguaje + pH 8

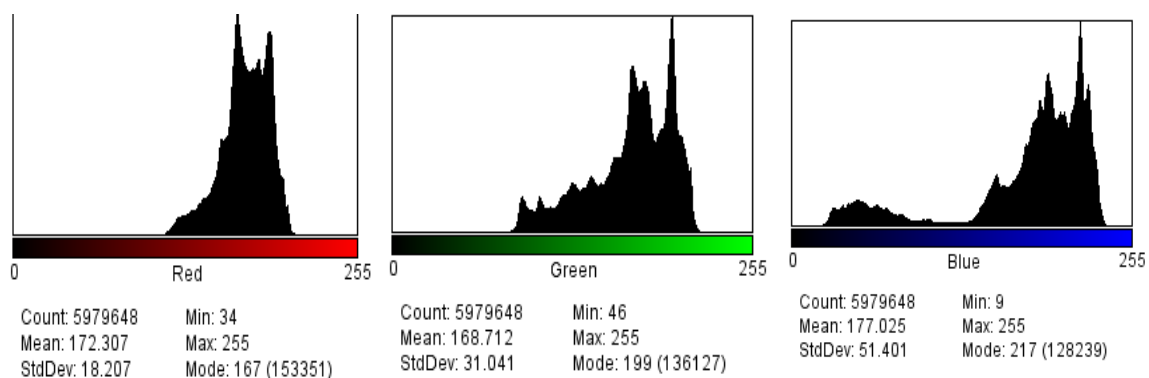


Extracto hidroalcohólico de cáscara de aguaje + pH 9

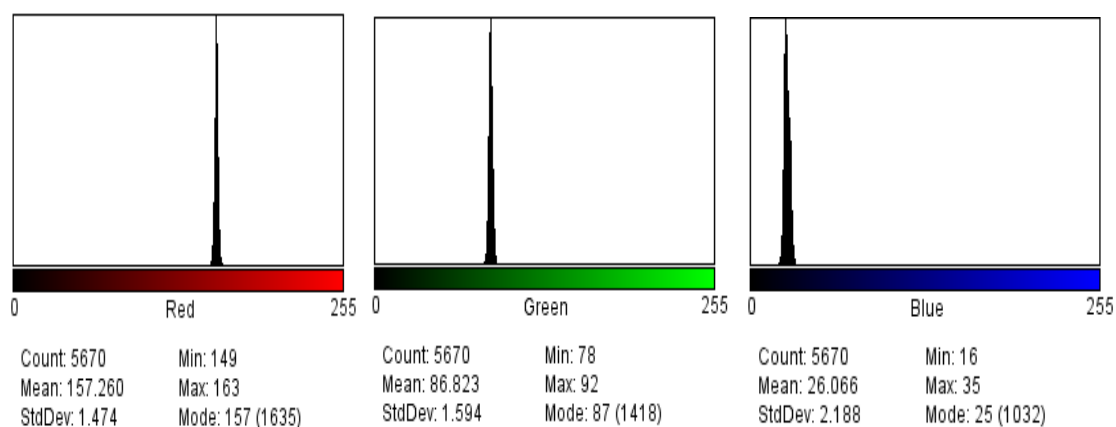


Anexo 6. Histogramas de measure RGB del extracto hidroalcohólico de cáscara de aguaje frente a las bebidas comerciales

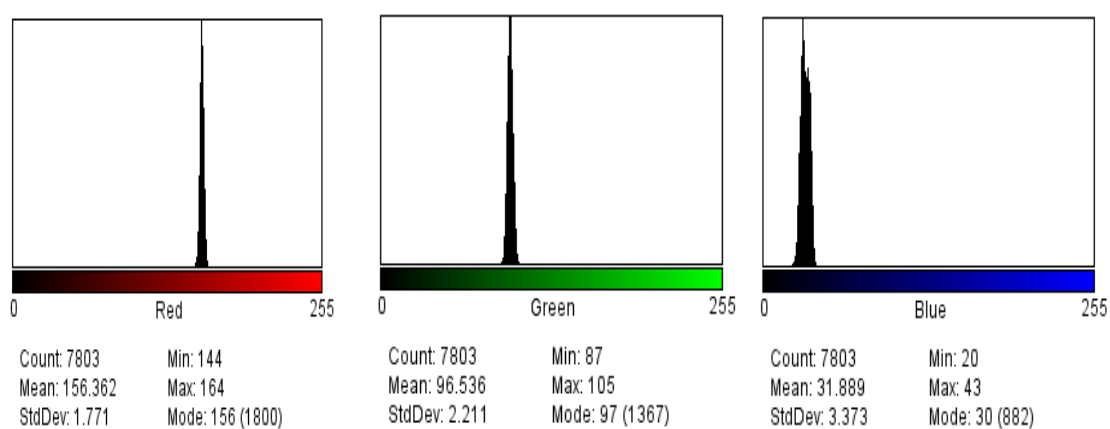
Extracto hidroalcohólico de Cáscara de Aguaje + Bio Aloe



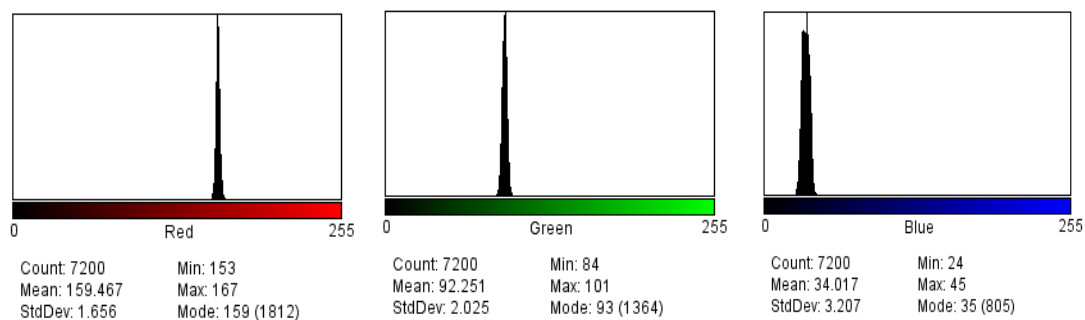
Extracto hidroalcohólico de Cáscara de Aguaje + Aquarius Pera



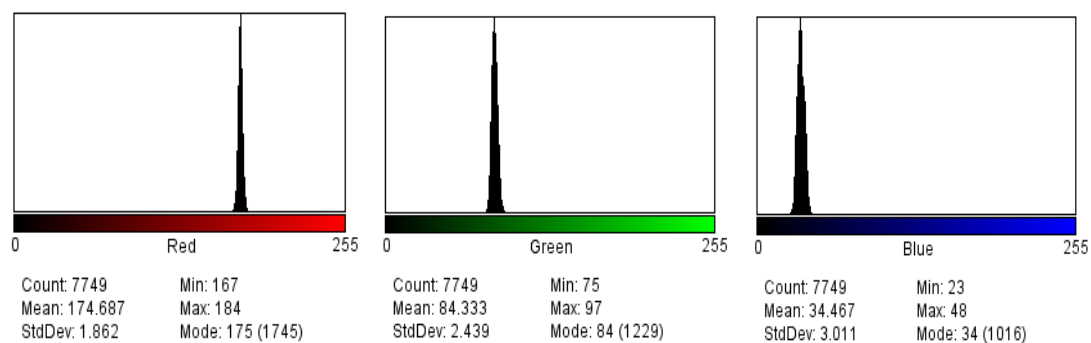
Extracto hidroalcohólico de Cáscara de Aguaje + Volt Coca



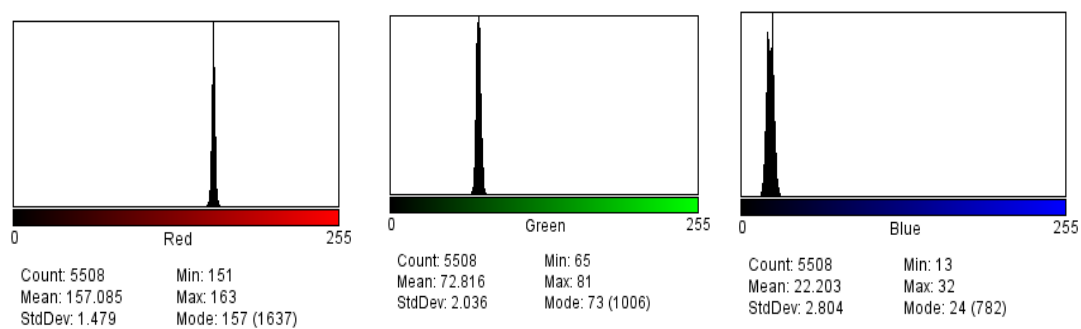
Extracto hidroalcohólico de Cáscara de Aguaje + Aquarius Manzana



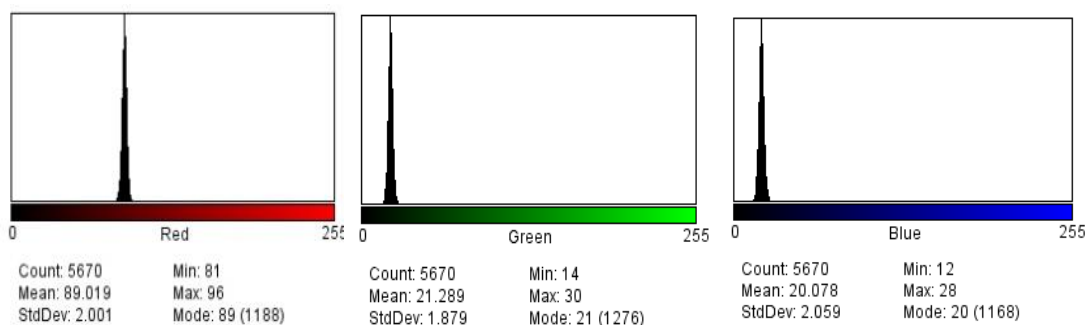
Extracto hidroalcohólico de Cáscara de Aguaje + Leaf Tea



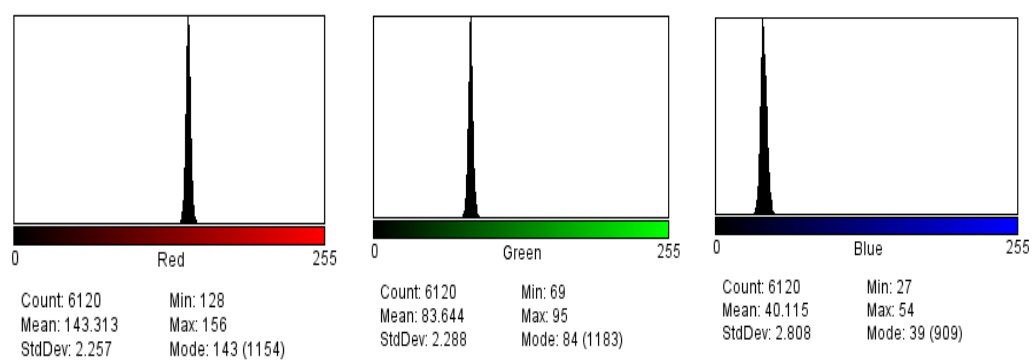
Extracto hidroalcohólico de Cáscara de Aguaje + Free Tea



Extracto hidroalcohólico de Cáscara de Aguaje + Vinagre Tinto



Extracto hidroalcohólico de Cáscara de Aguaje + Vinagre Blanco



Extracto hidroalcohólico de Cáscara de Aguaje + Frugos

