



**UNIVERSIDAD CENTRAL DE
VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOLOGÍA**

**EVALUACIÓN DEL EFECTO
ANTIOXIDANTE DE UNA MEZCLA A
BASE DE CÁSCARA DE PIÑA (*Ananas
comosus L.*) EN PACIENTES CON
OBESIDAD Y SOBREPESO.**

TRABAJO ESPECIAL DE GRADO

Presentado ante la Ilustre
Universidad Central de Venezuela,
por la bachiller Adriana Colmenares
como requisito parcial para optar al
título de Licenciado en Biología

Tutor(as): Dra. Elevina Pérez
 Dra. Mary Lares

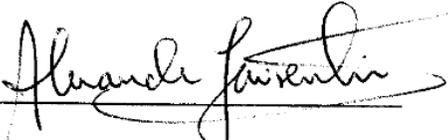
CARACAS, VENEZUELA
MAYO – 2016

DEL EXAMEN PÚBLICO Y SOLEMNE DEL TRABAJO ESPECIAL

DE GRADO DEL (A) Br. ADRIANA H. COLMENARES R.

Quienes suscribimos, miembros del jurado evaluador designado por el Consejo de la Escuela de biología de la Facultad de Ciencias de la Universidad Central de Venezuela para examinar el Trabajo Especial de Grado del (la) Br. Adriana H. Colmenares R., C.I. 20.154.496, titulado **“Evaluación del efecto antioxidante de una mezcla a base de cáscara de piña (*Ananas comosus L.*) en pacientes con sobrepeso y obesidad”**, para optar al título de Licenciado (a) en Biología, considerando que dicho trabajo cumple con los requisitos exigidos en los reglamentos respectivos lo consideramos **APROBADO**.

Para dar fe de ello se levanta la presente acta en Caracas, a los dos (02) días del mes de junio del año 2016, dejando constar que la Prof. Elevina Pérez actuó como coordinadora del jurado examinador.



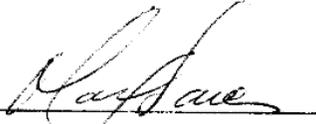
Prof. Alexander Laurentín



Prof. Unai Emaldi



Prof. Elevina Pérez
(Tutor - Coordinador)



Prof. Mary Lares
(Tutor)

RESUMEN

La obesidad es un problema de desequilibrio de nutrientes, de manera que se almacenan más alimentos en forma de grasa de los que se utilizan para satisfacer las necesidades energéticas y metabólicas, y más del 90% de la energía corporal se acumula en forma de triglicéridos en el tejido adiposo. Se conoce que las personas que presentan una condición de sobrepeso o de obesidad tienden a desarrollar otras patologías como enfermedades cardiovasculares y formación de radicales libres. También se ha demostrado que esta condición de sobrepeso y obesidad está directamente relacionada con la alimentación, y sobre todo con los niveles de los antioxidantes dietarios. Por ello se recomienda introducir en la dieta alimentos que contengan compuestos antioxidantes. La fruta tropical de la piña (*Ananas comosus*) contiene polifenoles y otros componentes antioxidantes en cantidades potenciales para ser recomendada en una dieta saludable. Es habitual en el consumidor de frutas, el consumo de solo la pulpa de piña; pero la cáscara es utilizada como desecho agroindustrial. Es del consenso que la cáscara de piña contiene potenciales cantidades de estos antioxidantes, por lo cual se trabajó midiendo la capacidad antioxidante de una mezcla a base de este desecho en pacientes con sobrepeso y obesidad. Se evaluaron 7 pacientes antes y después de 15 días de consumir 10 mg diarios de cáscara de piña, se le realizaron pruebas de: cuantificación de colesterol, triglicéridos, lipoproteínas de alta densidad (HDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL), glucemia, ácido úrico y 8-isoprostanos; utilizando análisis enzimáticos colorimétricos y ELISA específica para el 8-isoprostano. El consumo de la mezcla a base de cáscara de piña más allá de disminuir el LDL y colesterol logró disminuir variables que participan en la respuesta oxidativa e inflamatoria, mecanismo fisiopatológico constantes en las enfermedades cardiovasculares y metabólicas, como el Apo B y el 8-isoprostano.

Palabras claves: Obesidad, estrés oxidativo, efecto antioxidante, biomarcadores.

AGRADECIMIENTOS

- A la Universidad Central de Venezuela por brindarme una educación de excelencia nivel académico y especialmente a todos los profesores que aportaron su tiempo y conocimientos para mi educación durante todos mis años en la universidad.
- Agradezco especialmente a la Dra. Mary Lares y a la Dra. Elevina Pérez que fueron las encargadas de guiarme en este trabajo con sus enseñanzas y orientaciones.
- Al Hospital Militar Dr. "Carlos Arvelo"; especialmente al laboratorio de endocrinología y enfermedades metabólicas por permitirme realizar los análisis en sus instalaciones, así como la ayuda y orientación de todo del personal del departamento.
- Agradezco a la los licenciados Jesús Melero, Emma Solano y Jorge Castro, por todo su apoyo académico y dedicación durante la elaboración de éste trabajo.
- Al Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos (ICTA), por permitirme realizar los análisis en sus instalaciones, así como la utilización de sus equipos.
- A la empresa DEVENALSA, S.A. Deshidratadora Venezolana de Alimentos; por su aporte de la materia prima, infraestructura, equipos y asesoría. Especialmente a la Dra. Davdmary Cueto por su colaboración y orientación.
- A la Licenciada Luisa Mejias por su disposición a ayudar en la realización del trabajo y su desinteresada colaboración en los análisis microbiológicos realizados en el laboratorio de procesos fermentativos, así como la utilización de los equipos del laboratorio.
- Agradecimiento al proyecto de investigaciones del CDCH-PG09-8142-2011-1/2.

- Agradezco a cada uno de mis compañeros que me acompañaron y ayudaron durante mi formación académica, especialmente a Jesús Pino, Freddy Aguilar, Yurianni Arias, Rodrigo Tezara y Roosevelt Balza.
- Agradezco a mi compañero desde que empecé mis estudios en la Universidad Central de Venezuela mi novio Jeannel Campos, quien me ha apoyado y ayudado en todo este camino.
- Por último, mi especial gratitud a mis padres por apoyarme en toda mi educación y financiarme este trabajo, así como a todos mis familiares que siempre me han acompañado y ayudado.

DEDICATORIA

- A mis padres María Elena Rawlins y Jesús Colmenares y a mi tía Lola Colmenares, por enseñarme que lo único que no ocupa espacio en esta vida es el conocimiento y brindarme todo su apoyo en mis decisiones académicas. Gracias a ellos hoy soy Licenciada de la Universidad Central de Venezuela.
- A mi familia, a los que siguen conmigo y a los que me acompañan desde el cielo; porque gracias a ustedes soy quien soy y sin ustedes no podría haber alcanzado esta meta.
- A mi hermano de la infancia Laher Moisés Colmenares, quien antes de enterarse de este logro fue llamado al cielo, siempre en mi corazón primito.
- A todos mis amigos y compañeros que compartieron conmigo durante este largo camino.
- A mis abuelos Jaime Rawlins y Constanza Lugo, por ser ustedes mi fortaleza y guía en las decisiones más importantes.

ÍNDICE DE CONTENIDO.....	vi
ÍNDICE DE TABLAS.....	x
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Ácidos grasos.....	2
1.1.1. Funciones metabólicas de los ácidos grasos esenciales.....	2
1.1.2. Los ácidos grasos esenciales precursores de los eicosanoides e isoprostanos.....	3
1.1.3. Isoprostanos como biomarcadores.....	5
1.1.3.1. Inmunoensayo ligado a enzimas	6
1.2. Transporte de lípidos en plasma.....	7
1.2.1. Heterogeneidad de las lipoproteínas.....	8
1.2.1.1. Separar las distintas subfracciones de LDL	9
1.3. Estrés oxidativo.....	10
1.3.1. Radicales libres.....	11
1.3.2. Defensas antioxidantes.....	12
1.4. <i>Ananas comosus</i>	16
1.4.1. Composición bioquímica y nutricional.....	16
1.4.2. Capacidad antioxidante.....	18
1.4.3. La cáscara como residuo industrial.....	19
1.4.4. Microbiología.....	20
1.4.5. Uso comercial.....	20
1.4.6. Frutas deshidratadas.....	21

2. ANTECEDENTES.....	21
3. OBJETIVOS.....	24
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
4.1. Diseño de la mezcla a base de cascara de piña.....	25
4.1.1. Materia prima.....	25
4.1.2. Métodos.....	26
4.1.2.1. Caracterización proximal.....	26
4.1.2.1.1. Humedad.....	26
4.1.2.1.2. Cenizas.....	27
4.1.2.2. Métodos físicos.....	27
4.1.2.2.1. Color.....	27
4.1.2.2.2. Granulometría.....	28
4.1.2.2.3. Actividad de agua.....	28
4.1.2.3. Métodos fisicoquímicos.....	29
4.1.2.3.1. Separación de fase.....	29
4.1.2.3.2. Acidez titulable.....	29
4.1.2.3.3. pH.....	29
4.1.2.3.4. Dispersabilidad.....	30
4.1.2.4. Análisis microbiológico.....	30
4.1.2.4.1. Determinación de aerobios mesófilos.....	30
4.1.2.4.2. Determinación de mohos y levaduras.....	31
4.1.2.5. Evaluación sensorial.....	31

4.2. Evaluación del efecto antioxidante de la mezcla en pacientes con obesidad y sobrepeso.....	32
4.2.1. Muestra poblacional y diseño del estudio.....	32
4.2.2. Evaluación nutricional y antropométrica.....	33
4.2.3. Evaluación bioquímica.....	34
4.2.4. Determinación de las Apo A ₁ y Apo B por inmunodifusión radial.....	39
4.2.5. Separación de las subfracciones de LDL.....	40
4.2.6. Análisis estadístico.....	42
5. RESULTADOS.....	43
5.1. Diseño de la mezcla a base de cascara de piña.....	43
5.1.1. Caracterización proximal.....	43
5.1.2. Propiedades físicas.....	43
5.1.3. Propiedades fisicoquímicas.....	44
5.1.4. Análisis microbiológico.....	45
5.1.5. Evaluación sensorial.....	46
5.2. Evaluación del efecto antioxidante de la mezcla en pacientes con obesidad y sobrepeso.....	47
5.2.1. Evaluación nutricional y antropométrica.....	47
5.2.1.1. Valoración de la ingesta por recordatorio de 24 horas.....	48
5.2.2. Evaluación bioquímica.....	48
5.2.3. Cuantificación de indicadores de riesgo cardiovascular Apo A ₁ y Apo B.....	51
5.2.4. Separación de las subfracciones de LDL.....	52
6. DISCUSIÓN.....	54

6.1. Diseño de la mezcla a base de cascara de piña.....	54
6.1.1. Caracterización proximal.....	54
6.1.2. Propiedades físicas.....	55
6.1.3. Propiedades fisicoquímicas.....	56
6.1.4. Análisis microbiológico.....	56
6.1.5. Evaluación sensorial.....	57
6.2. Evaluación del efecto antioxidante de la mezcla en pacientes con obesidad y sobrepeso.....	58
6.2.1. Evaluación nutricional y antropométrica.....	58
6.2.2. Evaluación bioquímica.....	61
6.2.3. Cuantificación de indicadores de riesgo cardiovascular Apo A1 y Apo B.....	66
6.2.4. Separación de las subfracciones de LDL.....	67
7. CONCLUSIONES.....	69
8. BIBLIOGRAFÍA.....	71
9. ANEXOS.....	83
9.1. Anexo 1. Planilla evaluación sensorial.....	83
9.2. Anexo 2. Consentimiento informado a entregar a los pacientes que participarán en el estudio de intervención.	84
9.3. Anexo 3. Aprobación del comité de ética e investigación del Hospital Militar “Dr. Carlos Arvelo”	89
9.4. Anexo 4. Tablas de conversión para la cuantificación de ApoA1 y ApoB.....	90

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Valor nutritivo.....	17
Tabla2. Pasos a seguir para realizar el ensayo de ELISA del 8-isoprostano.....	39
Tabla 3. Valores medios obtenidos de la estimación del porcentaje de humedad y ceniza del producto deshidratado de cáscara de piña.....	43
Tabla 4. Valores medios obtenidos de los parámetros físicos evaluados en el producto deshidratado de cáscara de piña.....	44
Tabla 5. Valores medios obtenidos de los parámetros fisicoquímicos evaluados en el producto deshidratado de cáscara de piña.....	45
Tabla 6. Análisis microbiológico.....	46
Tabla 7. Efecto del consumo de cáscara de piña sobre las medidas antropométricas.....	47
Tabla 8. Efecto del consumo de cáscara de piña en los indicadores dietéticos..	48
Tabla 9. Efecto del consumo de cáscara de piña sobre los parámetros bioquímicos evaluados en los pacientes	49
Tabla 10. Efecto del consumo de cáscara de piña sobre los valores de Apo A ₁ y Apo B.....	51
Tabla 11. Valores promedios de las distintas bandas observadas en los pacientes antes y después del consumo de cáscara de piña, se indica el R _f de cada banda observada, donde valores de R _f mayores a 0,36 corresponde a LDL patrón B.....	52

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Síntesis de eicosanoides consecutiva al desdoblamiento de fosfolípidos en la membrana.....	4
Figura 2. Gráficos de la variación del (A) porcentaje de humedad y (B) la actividad de agua del producto en el tiempo, para determinar su estabilidad.....	44
Figura 3. Grafica de la aceptación del producto en sus características evaluadas.....	46
Figura 4. Gráficos donde se presentan los valores de cada uno de los voluntarios antes y después del consumo de cáscara de piña para: A) glucemia, B) colesterol total, C) LDL, D) VLDL, E) HDL y F) triglicéridos.....	50
Figura 5. Gráfico donde se demuestra la disminución de Apo A1 y Apo B por paciente, antes y después del consumo de cáscara de piña.....	51
Figura 6. Corrida electroforética para la separación de LDL.....	53

1. INTRODUCCIÓN

El aumento en la incidencia de enfermedades crónicas no transmisibles, entre las que se mencionan diabetes mellitus tipo 2, hipertensión arterial, enfermedades cardíacas, osteoartritis, osteoporosis y algunos tipos de cáncer; son resultado principalmente del sobrepeso, condición que de no ser tratada a tiempo trae como consecuencia la obesidad (Azcona y col., 2005).

El sobrepeso y la obesidad son un problema de salud pública a nivel mundial, con alta prevalencia en muchos países y actualmente descrita como una pandemia. La prevalencia del sobrepeso y obesidad se ha incrementado exponencialmente, de 857 millones en 1980 a 1333 millones en 2005 y a 2100 millones en 2013; se estima que para el año 2030 habrá 3280 millones de adultos con sobrepeso y obesidad. (González y col., 2015).

En Venezuela, el sistema de vigilancia alimentaria y nutricional del Instituto Nacional de Nutrición (SISVAN – INN) determinó la prevalencia de sobrepeso y obesidad en la población venezolana de 7 a 40 años, obteniendo que el 29,52% corresponde a sujetos con sobrepeso y el 23,45% con obesidad (SISVAN, 2007).

Está demostrado que la obesidad es un trastorno multifactorial en los que están implicados tanto factores biológicos como genéticos. Pero se ha evidenciado que no solo la predisposición genética es responsable de la enfermedad, sino también que el estilo de vida desempeña un importante papel en la manifestación y desarrollo de esta patología (Skelton y col., 2011). Sin embargo, la obesidad puede ser prevenible en la medida que se incorporan cambios adecuados en el estilo de vida (Azcona y col., 2005).

Existen evidencias que indican que el consumo de alimentos y bebidas que contengan compuestos antioxidantes (flavonoides y otros polifenoles) tiene efectos benéficos para la salud, pues ellos pueden proteger el organismo de los radicales libres y retardar el progreso de varias enfermedades crónicas (Rincón y col., 2011). Son muchas las enfermedades relacionadas con la producción de radicales libres como aterosclerosis, cáncer, infarto al miocardio, enfermedades inflamatorias, trastornos del sistema nervioso central, etc. (Stadler y col., 1995).

Las enfermedades cardiovasculares constituyen la principal causa de mortalidad en el mundo (WHO, 2011). En Venezuela se sitúan entre las 10 primeras causas de muerte y representan un incremento de gasto en recursos destinados al área de la salud para el tratamiento de dichas patologías (MPPS, 2007).

Estas enfermedades están directamente relacionadas con la alimentación y sobre todo con los niveles de los antioxidantes dietarios; entre los más conocidos figuran los tocoferoles, el ácido ascórbico, los flavonoides, antocianinas, carotenoides, ácido fenólicos. Se cree que los antioxidantes son esencialmente importantes para el organismo por la capacidad que tienen de proteger a las macromoléculas biológicas contra el daño oxidativo; como es el caso de los ácidos grasos con enlaces dobles que son vulnerables al daño oxidativo (Larson, 1997).

1.1. Ácidos grasos

1.1.1. Funciones metabólicas de los ácidos grasos esenciales

Los ácidos grasos raras veces están libres en la naturaleza y casi siempre se encuentran unidos a otras moléculas por su grupo funcional hidrofílico de ácido carboxílico. Existen principalmente como cadenas de hidrocarburo no ramificadas con

un número uniforme de carbonos saturados con hidrogeno. Los ácidos grasos se clasifican de acuerdo con el número de carbonos en la cadena, el número de enlaces dobles y la posición del primer enlace doble.

Cada carbono en la cadena de ácido graso tiene cuatro sitios de fijación. En un ácido graso saturado, todos los sitios de fijación no unidos a carbono están “saturados” con hidrógeno. El ácido graso monoinsaturado solo contiene un enlace doble y los ácidos grasos poliinsaturados contienen dos o más enlaces dobles. La biomembrana debe ser tanto estable como flexible para desempeñar su función óptima. Para lograr este requerimiento, los fosfolípidos de membrana contiene un ácido graso saturado y uno poliinsaturado, del cual el más abundante es el ácido araquidónico (20:4n-6).

Los ácidos grasos esenciales poliinsaturados y de cadena larga deben obtenerse de la alimentación, o ser formados a partir de precursores alimentarios (Escott-Stump, 2005). En consecuencia, la composición de la grasa alimentaria puede influir en varias funciones relacionadas con la membrana, como son la captación de hormonas y de enzimas asociadas, y en las actividades de transporte (Ziegler y Filer, 1997).

1.1.2. Los ácidos grasos esenciales como precursores de eicosanoides e isoprostanos

El metabolismo enzimático de los ácidos grasos: ácido dihomolinoléico (20:3n-6), ácido araquidónico (20:4n-6) y ácido eicosapentanoico (20:5n-3) a través de la ciclooxigenasa y de la lipoxigenasa produce una amplia variedad de productos oxidados a los que, en conjunto, se denomina eicosanoides (Ziegler y Filer, 1997).

En seres humanos el ácido araquidónico es el precursor más abundante y proviene del ácido linoleico de los alimentos (ácido 9, 12 octadecadienoico 20:2n) o se ingiere como parte de la dieta (Pérez y col., 1998).

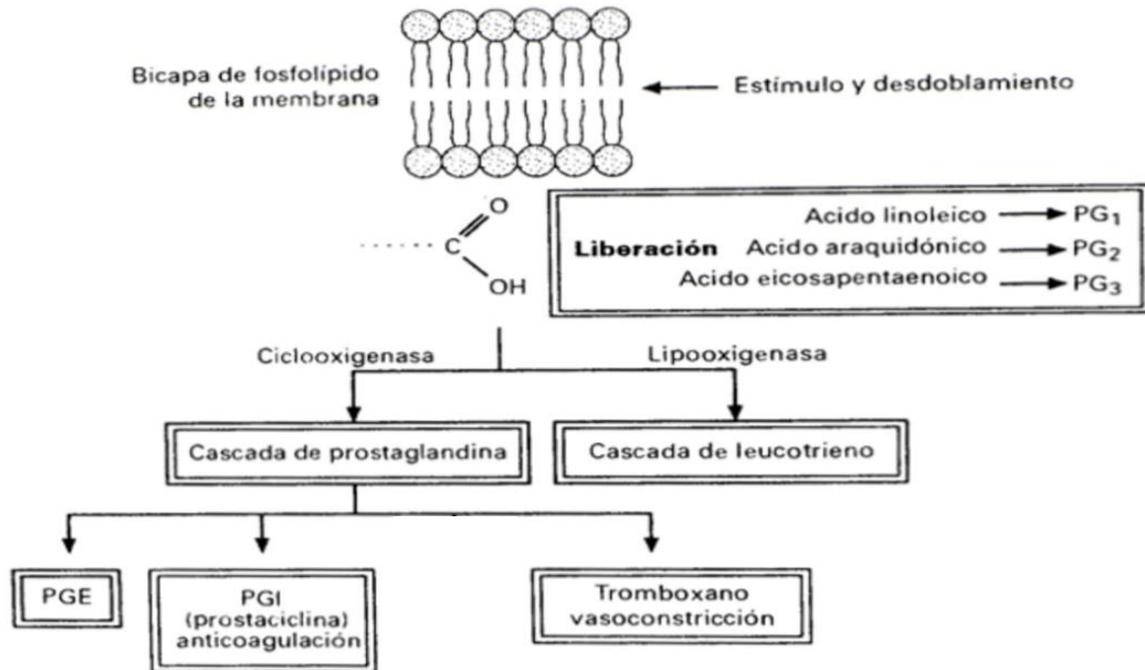


Figura 1. Síntesis de eicosanoides consecutiva al desdoblamiento de fosfolípidos en la membrana.

PGE: Prostaglandina E1. Fuente: Tomado de Escott-Stump, 2005.

El ácido araquidónico no existe en forma libre en el interior de las células, normalmente está esterificado en los fosfolípidos de membrana especialmente en la posición del C2 de la fosfatidilcolina y del fosfatidilinositol. El ácido araquidónico se libera de los fosfolípidos por la activación de las fosfolipasas celulares o el incremento de las concentraciones citosólicas de calcio que también activan las enzimas anteriormente enunciadas. Todo parece indicar que los estímulos físicos propenden a que penetre el ión calcio a la célula al alterar su membrana y así activar la fosfolipasa A2, la cual hidroliza los fosfolípidos de membrana (fosfatidilcolina y fosfatidiletanolamina) con

liberación de ácido araquidónico (Figura 1). Por otro lado, la fosfolipasa C desdobla el enlace fosfodiéster, con lo cual se forma 1,2 diglicérido. Después de lo anterior, intervenciones sucesivas de la lipasa de diglicérido liberan ácido araquidónico a partir del diglicérido (Pérez y col., 1998).

Una vez liberado, parte del ácido araquidónico es metabolizado en forma rápida hasta obtener productos oxigenados por acción de diferentes sistemas enzimáticos como la ciclooxigenasa o varias lipooxigenasas o familias de citocromo P-450 (Pérez y col., 1998).

Los productos de la peroxidación no enzimática son estructuras similares a la de las prostaglandinas y llamadas isoprostanos (Ziegler y Filer, 1997).

1.1.3. Isoprostanos como biomarcadores

Los isoprostanos constituyen un grupo de metabolitos del ácido araquidónico generados de manera no enzimática. Se forman directamente por oxidación del ácido araquidónico por radicales libres mientras aún está esterificado en la posición 2 de los fosfolípidos de la membrana. Los isoprostanos son estructuralmente similares a las prostaglandinas y pueden ejercer algunos de sus efectos a través de la activación de los receptores de Tromboxano (TXA) Dado que son generados por el estrés oxidativo, los isoprostanos pueden desempeñar un papel en el síndrome de dificultad respiratoria aguda (DSRA) y la sepsis (Shoemaker y col, 2002).

Estos compuestos son biomarcadores precisos de la peroxidación de lípidos en los modelos de estrés oxidativo, en el estudio desarrollado se evaluó el 8- isoprostano como marcador de estrés oxidativo en los pacientes; el método con mayor aceptación

para la cuantificación de 8-isoprostano en plasma, orina y otras muestras, es el ensayo de inmuno adsorción ligado a enzimas.

1.1.3.1. Inmunoensayo ligado a enzimas

El ensayo de inmuno adsorción ligado a enzimas (ELISA) es una técnica donde uno de los reactivos, el anticuerpo o el antígeno se fija a un soporte sólido previamente a su interacción con el reactivo complementario. La técnica es muy versátil por lo que hay varias variantes de la misma, dentro de las cuales las más comunes son el ELISA directo, el ELISA indirecto y el ELISA en sándwich o de captura (Rojas, 2006).

En los ELISA directo e indirecto, el antígeno se fija sobre la fase sólida y en el ELISA sándwich las placas se sensibilizan con anticuerpos dirigidos contra el antígeno problema. Luego de esta fase en todas las variantes de ELISA se realiza el lavado y el bloqueo de los pozos con soluciones de proteína ajenas al sistema de la reacción antígeno-anticuerpo (Ag-Ac) en estudio. El bloqueador satura los sitios de unión no ocupados por el reactante inmunológico usado para forrar la superficie de los pozos y evita la adsorción inespecífica de reactantes en los pasos subsecuentes.

Los anticuerpos de detección son dirigidos contra alguno de los reactantes (antígeno o anticuerpo problema), acoplados a enzimas. Para el revelado del sistema se utiliza el sustrato de la enzima y a veces se requiere del uso simultáneo de un cromógeno. El cromógeno es necesario para que el producto resultante tenga color para ser registrado en un colorímetro a la longitud de onda de máxima absorción del cromógeno.

1.2. Transporte de lípidos en plasma

Los lípidos y las proteínas se asocian de manera no covalente para formar lipoproteínas, constituidas por una cubierta formada por fosfolípidos y proteínas que rodea una zona interior que alberga lípidos apolares (Gil y Sánchez, 2010), las cuales funcionan en el plasma sanguíneo como vehículos de transporte para el colesterol y los triglicéridos. Los lípidos, como fosfolípidos, triglicéridos y colesterol, son apenas solubles en solución acuosa. Por ende, se transportan por la circulación como componentes de las lipoproteínas (Voet y Voet, 2004).

Los ácidos grasos se empaquetan en forma de triglicéridos, y como lípidos no polares ocupan el interior de las lipoproteínas en cantidades muy significativas; así una lipoproteína pequeña, como la lipoproteína de baja densidad, suele transportar 1.500 moléculas de colesterol (Gil y Sánchez, 2010).

Se han descrito diversas familias de lipoproteínas, cada una de las cuales desempeña funciones concretas en el transporte de lípidos. Estas familias se clasifican en función de su densidad, determinada mediante centrifugación. Las lipoproteínas de cada clase contienen apoproteínas características y poseen una composición lipídica distintiva. Dado que los lípidos tienen una densidad mucho menor que las proteínas, el contenido lipídico de una clase de lipoproteína está inversamente relacionado con su densidad. Así, cuanto mayor es la abundancia de lípidos, menor es la densidad (Mathews y col., 2008).

La clasificación estándar de las lipoproteínas incluye, por orden creciente de densidad: quilomicrones, lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL), lipoproteínas de densidad intermedia (IDL), lipoproteínas de baja densidad (LDL) y lipoproteínas de alta densidad

(HDL). A pesar de sus diferencias de composición lipídica y proteica, todas las lipoproteínas comparten características estructurales comunes, especialmente una forma esférica.

1.2.1. Heterogeneidad de las lipoproteínas

La heterogeneidad en tamaño y densidad de las partículas de las LDL es un evaluador de riesgo cardiovascular. Esta heterogeneidad ha originado la definición de dos fenotipos: el fenotipo A, con predominio de partículas de LDL grandes y ligeras, y el fenotipo B, con predominio de partículas de LDL pequeñas y densas, además de un fenotipo intermedio AB.

Las LDL son hidrolizadas en la superficie arterial, a partículas más pequeñas y densas, que son más aterogénicas, debido a que penetran más fácilmente la íntima, donde ocurre la modificación química de estas moléculas que son más susceptibles a la oxidación por radicales libres, por presentar una baja cantidad de antioxidante y un alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados. La modificación oxidativa de las LDL, conlleva a un incremento en la toma de estas partículas modificadas, por los macrófagos, y a la formación de células espumosas (Witztum y Steinberg, 1991; Esterbauer y col., 1992).

Es conocido que el colesterol acumulado en las diferentes lesiones ateroscleróticas proviene en su mayoría de las partículas de LDL circulantes. Es aceptado que los valores elevados de LDL en el plasma se asocian fuertemente con la formación de lesiones ateroscleróticas, lo mismo sucede con los bajos niveles de HDL, también con los valores mayores que 5 del índice colesterol total/HDL mientras que cuando estos valores son inferiores a 5 se asocian con una baja incidencia de enfermedad cardíaca

coronaria (ECC). Se ha demostrado que el desbalance entre las LDL y las HDL en el plasma prevalece en aquellos sitios de la íntima de las coronarias donde el colesterol se acumula, acompañado además de un desbalance similar de estas partículas en la pared arterial (Smith, 1990).

La investigación sobre el tamaño de las LDL se viene realizando desde hace años, no se dispone de un método estandarizado para su determinación. La mayor parte de los métodos usados para su estudio se basan en la separación por electroforesis mediante geles de poliacrilamida con concentraciones fijas y en gradiente. También existen más métodos, algunos clásicos, como la ultra centrifugación (UC) en gradiente de densidad, y otros, como la resonancia magnética o uno basado en una simple precipitación de lipoproteínas. Por otra parte, se ha sugerido que cálculos como el cociente LDL/Apo B, HDL/triglicéridos, colesterol total/triglicéridos u otros pueden ser estimadores sencillos de la existencia de partículas LDL pequeñas y densas (Jorba y Ordóñez, 2006).

1.2.1.1. Separación de las distintas subfracciones de LDL

La electroforesis es una técnica que se basa en la separación de partículas cargadas en un campo eléctrico respecto a su carga. La electroforesis en gel es probablemente el método más utilizado e importante en biología molecular.

La electroforesis en gel de poliacrilamida permite separar directamente distintas subfracciones de LDL, con una mejor resolución que las otras técnicas descritas. El gel de poliacrilamida puede ser de concentración fija o en gradiente. Las ventajas de separar las subfracciones de LDL utilizando métodos electroforéticos son claras: el equipo de trabajo es económico, las separaciones son relativamente rápidas, las

lipoproteínas no se degradan durante la electroforesis y la técnica es relativamente sencilla, a la vez que requiere un pequeño volumen de muestra (Jorba y Ordóñez, 2006).

1.3. Estrés oxidativo

El desbalance en la producción de especies reactivas del oxígeno (ERO) y la defensa antioxidante constituye un tipo de daño celular denominado estrés oxidativo, que lleva a una variedad de cambios fisiológicos y bioquímicos, los cuales provocan el deterioro y muerte celular (Pérez y col., 2000).

Es bien conocido que el estrés oxidativo se encuentra asociado a altos niveles de radicales libres, los cuales conllevan a una variedad de lesiones bioquímicas y fisiológicas. (Ames y col., 1993).

Los radicales libres de oxígeno causan daño oxidativo y este se ha visto implicado en la etiología o patología de más de cien enfermedades diferentes, entre las que se encuentran distintos tipos de cáncer, enfermedades cardíacas y vasculares, diabetes y desórdenes neurovegetativos (Martínez, 1995; Aldershvile y col, 1998).

La mayor parte del oxígeno celular es reducido a través de reacciones enzimáticas, pero del 2-5 % escapa a esta reducción bivalente y queda en forma monovalente, y de ello resulta la formación de radicales libres de oxígeno. Que no son más que átomos o moléculas que poseen un número impar de electrones en su órbita más externa, y que también se generan cuando ocurre una adición a un doble enlace. Son muy inestables y pueden reaccionar con otras moléculas, entregando o recibiendo un electrón (Pérez y col., 2000).

La exposición a concentraciones elevadas de O_2 determina un aumento de la producción de ERO. La toxicidad de estas especies depende tanto de la dosis como de la duración de la exposición al O_2 (Shoemaker y col., 1998).

Las ERO pueden lesionar macromoléculas como el ADN, los hidratos de carbono y las proteínas. Estas especies de oxígeno citotóxico pueden clasificarse en 2 tipos: a) los radicales libres, como el radical superóxido (O_2^-) y el radical hidroxilo (OH^-) y b) las especies de oxígeno no radicales, como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el oxígeno singlete (O_2), que resulta una especie muy tóxica, el peroxinitrito ($ONOO^-$) y el ácido hipocloroso ($HClO$) (Aldershvile y col, 1998).

Estas ERO son moléculas altamente reactivas que atacan constantemente al cuerpo humano mediante reacciones bioquímicas de tipo redox, que ocurren como parte normal del metabolismo celular o por la exposición a factores ambientales (Pérez y col., 2000).

Los productos del daño oxidativo resultan en macromoléculas que se han identificado previamente en materiales biológicos como plasma, células en sangre y orina, y sirven como biomarcadores de daño oxidativo. Cuando el daño oxidativo ocurre en el ADN, los productos resultantes son usualmente eliminados por enzimas reparadoras ya que pueden ser detectados como “derivados nucleósidos”.

1.3.1. Radicales libres

Un radical libre es toda sustancia capaz de existir independiente, que contiene uno o más electrones no emparejados, esto es, un electrón impar en una órbita (Ziegler y Filer, 1997). A veces, los procesos metabólicos producen la liberación de electrones individuales, que en ocasiones acepta el oxígeno. Cuando esto sucede, el nuevo

átomo de oxígeno inestable se convierte en un radical libre debido al electrón desapareado añadido. Este tipo de producción de radicales libres es común durante el metabolismo (Thompson y col., 2008).

Los radicales libres se producen continuamente en el organismo por medio de reacciones bioquímicas redox, que tienen lugar a través del metabolismo normal de las células, por los fagocitos, en una reacción inflamatoria controlada y también en ocasiones, como respuesta a la exposición de radiaciones ionizantes, rayos ultravioletas, contaminación ambiental, humo de cigarrillos, hiperoxia, exceso de ejercicio e isquemia (Randox Laboratories).

Como la mayor parte de las moléculas biológicas no son radicales, la generación de radicales reactivos como el hidroxilo (OH^{\cdot}) “*in vivo*” suele inducir reacciones en cadena (Ziegler y Filer, 1997). Con la pérdida de la integridad de la membrana celular, también se pierde la capacidad para regular el movimiento de los lípidos y nutrientes dentro y fuera de la célula (Thompson y col., 2008).

1.3.2. Defensas antioxidantes

Los radicales libres son protagonistas de numerosas enfermedades que provocan reacciones en cadena; estas reacciones solo son eliminadas por la acción de otras moléculas que se oponen a este proceso tóxico en el organismo, las cuales son conocidas como antioxidantes. Un primer grupo trabaja sobre la cadena del radical inhibiendo los mecanismos de activación, un segundo grupo neutraliza la acción de los radicales libres ya formados, por tanto detiene la cadena de propagación (Sahnoun y col., 1997).

El sistema antioxidante protege a los tejidos de los efectos de los radicales libres. Los antioxidantes se clasifican según su función en: primarios, secundarios y terciarios (Céspedes y col., 2000).

En el primer grupo, se encuentra la línea de defensa antioxidante constituida por enzimas, que protegen al organismo contra la formación de nuevos radicales libres, entre los que se encuentran:

- Superóxido dismutasa (SOD), que captura el radical anión superóxido y ocasiona la descomposición del mismo y lo transforma en peróxido de hidrógeno.
- Glutación peroxidasa (GP_x), que neutraliza el peróxido de hidrógeno y los peróxidos lipídicos convirtiéndolos en moléculas “inofensivas” antes de que puedan formar radicales libres.
- Glutación reductasa (GR), que frena la disponibilidad del Fe, necesario para la formación del radical OH[•].

En el segundo grupo de antioxidantes, se encuentran los no enzimáticos, algunos de ellos son:

- La vitamina E o α tocoferol, la función principal de la vitamina E es antioxidante, esto significa que dona un electrón a los radicales libres, de modo que los estabiliza y evita que éstos desestabilicen a otras moléculas. La vitamina E protege a las LDL de la oxidación, lo que reduce el riesgo cardiovascular (Thompson y col., 2008). También neutraliza al radical OH[•] por su ubicación en las membranas donde su protección es particularmente importante (Pérez y col., 2000).

- La vitamina C, actúa como un antioxidante importante del líquido extracelular, dona electrones a los radicales libres, de modo que previene los daños en células y tejidos. También cumple una función antioxidante en los pulmones, lo que ayuda a proteger de los daños provocados por el ozono y humo de cigarrillos. Por su carácter reductor, reacciona rápidamente con el O_2^{\cdot} y con el OH^{\cdot} , también es captor del oxígeno singlete y del ion hipoclorito. La vitamina C también regenera a la vitamina E después de su oxidación, esto se produce cuando el ácido ascórbico dona electrones a los radicales libres de la vitamina E, de modo que se convierte en ácido deshidroascórbico (Pérez y col., 2000; Thompson y col., 2008)
- El glutatión (GSH), además de captar el H_2O_2 como sustrato de la glutatión peroxidasa (GPx), también capta al oxígeno singlete (O_2) y al radical el hidroxilo (OH^{\cdot}).
- La transferrina y la ceruloplasmina son transportadoras de metales de transición, hierro y cobre respectivamente, que son generadores de ERO (Pérez y col., 2000).
- La vitamina A, igual que la vitamina E y C elimina los radicales y protege las LDL de la oxidación. Los niveles adecuados de vitamina A en la sangre se asocian con riesgos menores de algunas formas de cáncer y cardiopatías (Thompson y col., 2008).
- Los polifenoles, son sustancias que se encuentran de forma natural en las plantas y pueden reducir el riesgo de enfermedades como el cáncer y las cardiopatías. Se encuentran en abundancia en las frutas y hortalizas (Thompson

y col., 2008). Las plantas contienen muchos compuestos fenólicos que inhiben la peroxidación lipídica como los flavonoides, aunque a veces pueden actuar como prooxidantes si se mezclan con iones de cobre y hierro in vivo (Ziegler y Filer, 1997).

Dentro de los antioxidantes terciarios, encargados de reparar biomoléculas dañadas por los radicales libres se incluyen:

- Sistemas que reparan el daño producido, como las proteasas reparadoras de ADN y la metionina sulfóxido reductasa.
- Sistemas eliminadores de compuestos celulares oxidados como las macroxiproteinasas y las endonucleasas (Pérez y col., 2000).

La defensa antioxidante, enzimática y no enzimática protege, al organismo contra el daño oxidativo, pero no con el 100 % de eficiencia. Los antioxidantes no enzimáticos son frecuentemente añadidos a los alimentos para prevenir la peroxidación lipídica que se asocia a numerosas patologías y a estados de estrés oxidativo.

Estudios epidemiológicos han mostrado una disminución de la incidencia de enfermedades cardiovasculares en personas con suplementación antioxidante, donde las vitaminas E y el beta caroteno disminuyen el riesgo de accidentes fatales (Céspedes y col., 2000). Por ello se recomienda introducir en la dieta alimentos que contengan compuestos antioxidantes, alimentos ricos en polifenoles y otros compuestos fenólicos capaces de capturar radicales libres (Larson, 1997).

1.4. *Ananas comosus* L

Las bromeliáceas constituyen un grupo tropical, casi exclusivamente americano, de hierbas cuyas hojas forman una roseta basal, la inflorescencia terminal está a menudo provista de brácteas vistosas (León, 2000). Pertenece a la familia *Bromeliáceae* y al género *Ananás*, es una planta herbácea perenne, monocotiledónea que tiene una inflorescencia terminal formada lateralmente con brácteas apretadas de color rojo o verde; la planta adulta mide de 1 a 1,20 m de altura. El fruto está compuesto de 100 o más flores fusionadas y es variable en forma, tamaño y sabor; la unión de estas flores se denomina fruto múltiple (Guido y col., 1983).

El fruto, la piña propiamente dicha, es un sincarpio grueso, de brácteas espinosas, carnoso, grande, que llega a pesar hasta 3 kilos; generalmente amarillento, aunque los hay rojizos y morados; es muy oloroso y succulento, de sabor muy agradable, agridulce; el interior es amarillo, más o menos intenso según las variedades; termina en un penacho de hojas (Velez y Valery, 1990).

La piña es la planta más conocida de las 2.700 especies agrupadas en 56 géneros de la familia *Bromeliaceae*, es cultivada para alimento, su nombre científico es *Ananas comosus* L., no presenta semilla es una especie asexual y se propaga vegetativamente por brotes laterales y el enraizado de las hojas que se encuentran por arriba del fruto (García y Serrano., 2005).

1.4.1. Composición química y nutricional

La piña presenta una variación en su composición química, de acuerdo con la época en la que se produce. De manera que su producción ocurre en verano, en épocas de

temperaturas altas. Los ácidos más comunes y abundantes en el fruto son el ácido cítrico y el ácido málico.

El contenido de azúcares en la fruta es abundante, predominando la sacarosa (66%) y 34% de azúcares reductores glucosa y fructosa. El sabor del fruto depende principalmente de su contenido de azúcares totales, el cual puede ser alterado por el periodo de desarrollo del fruto. El contenido de lípidos es bajo, pero estos ejercen una función muy importante en la conservación de la textura y el aroma del fruto.

El valor nutricional del fruto depende principalmente de sus azúcares solubles, de las vitaminas y de los minerales que contiene, teniendo que los valores de proteínas y de lípidos son relativamente bajos (Montilla y col., 1997).

El valor nutricional del fruto de piña, según la tabla de composición de alimentos del INN, se reporta a continuación en la tabla 1 (INN, 2012):

Tabla 1. Valor nutricional

Calorías	55,00 kcal	Fósforo	11,00 mg
Agua	84,90 g	Hierro	0,50 mg
Proteínas	0,40 g	Sodio	2,00 mg
Grasas	0,20 g	Potasio	173,00 mg
Carbohidratos	14,1 g	Tiamina	0,08 mg
Fibra	5,70 g	Riboflavina	0,02 mg
Ceniza	0,40 g	Niacina	0,20 mg
Calcio	16,00 mg	Vitamina C	26,00 mg
Vitamina A 14,00 µg			

Macro y micro nutrientes presentes en 100g de pulpa (parte comestible) de piña.

1.4.2. Capacidad antioxidante

Los polifenoles, productos secundarios de los vegetales, constituyen un amplio y complejo grupo de fitoquímicos, con más de ocho mil estructuras conocidas (Melo y col., 2008). Los compuestos fenólicos de la fracción hidrofílica de las frutas como la piña, son responsables por más del 90% de la capacidad antioxidante total (Melo y col., 2008); la capacidad antioxidante de los polifenoles es debida principalmente a sus propiedades reductoras, cuya intensidad de acción antioxidante exhibida es diferente dependiendo fundamentalmente del número y posición de los grupos hidroxilos presentes en la molécula (Melo y col., 2008).

En este orden de ideas podemos destacar que, la pulpa de piña posee un total de 8,91 mg de polifenoles totales por cada 100 g de fruta en base seca (Ramírez y Pacheco, 2011) y una capacidad antioxidante de 20 μ A a un potencial de 316,6 mV, capacidad que coloca a la piña por encima de frutas como la guayaba, el maracuyá, el lulo, el melón y el tomate de árbol (Botero y col., 2007).

Cabe destacar que la cáscara de piña también posee capacidad antioxidante debido a la cantidad de compuestos como flavonoides (0,90 μ g/100g de cáscara), carotenoides (150 μ g/100g) y vitamina C (40.63 mg μ g/100g) (Ramírez y col., 2011).

Los flavonoides son compuestos fenólicos constituyentes de la parte no energética de la dieta humana, contienen en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo fenólicos y excelentes propiedades de quelación del hierro y otros metales de transición, lo que les confiere una gran capacidad antioxidante (Havsteen, 1983). Por ello, desempeñan un papel esencial en la protección frente a los fenómenos de daño

oxidativo, y tienen efectos terapéuticos en un elevado número de patologías, incluyendo la cardiopatía isquémica, la aterosclerosis o el cáncer (Pace-Asciak, 1995).

Así mismo los carotenoides son tetraterpenos constituidos por unidades múltiples de isopreno con un anillo de ciclohexano sustituido e insaturado en cada uno de los extremos y su característica distintiva es el extenso sistema de dobles enlaces conjugados, denominado cadena (Carranco y col., 2011). Su acción antioxidante está determinada por las propiedades físicas y químicas de las moléculas. Primero, la geometría integral molecular (tamaño, tipo, presencia de grupos funcionales) es vital para asegurar que el carotenoide es afín con las estructuras celulares y subcelulares en la localización y orientación correcta que permite una eficiente función. Segundo, el sistema de dobles enlaces conjugados determina las propiedades fitoquímicas y de reactividad química que forma la base de su función antioxidante. Además, las interacciones específicas con otras moléculas en la vecindad inmediata son cruciales para el funcionamiento correcto (Young y col., 2001). Finalmente la vitamina C actúa como un antioxidante, al estar disponible para una oxidación energéticamente favorable ya que posee la capacidad de reaccionar directamente con el radical superóxido (O_2^-), al oxidarse se evita la oxidación de otras moléculas importantes para el funcionamiento celular (Gil, 2010).

1.4.3. La cáscara como residuo industrial

Los residuos de la industrialización de la piña constituyen hasta el 65% del fruto, por lo cual, su aprovechamiento de diversas formas constituye una fuente alternativa que le da un valor agregado, lo que resulta ventajoso desde el punto de vista económico y ambiental. Algunos subproductos del procesamiento industrial de la piña, han sido

clasificados como una buena fuente antioxidante de hasta 1924,33 µg equivalentes de trolox (análogo de la vitamina E) por gramo de materia seca encontrada en este subproducto (Cueto y col, 2014).

1.4.4. Microbiología

Las frutas tienen en general un pH bajo menor a 4,5, por lo tanto es un obstáculo para el crecimiento de bacterias, aunque pueden llegar a crecer mohos y levaduras. En el caso de la piña presenta defensas naturales contra las infecciones microbianas, como lo es una cáscara gruesa que la protege de daño superficial y el crecimiento subsecuente de microorganismos. Pero la sola alteración de la cáscara, puede permitir el crecimiento de microorganismo (Montilla y col., 1997).

1.4.5. Uso comercial

La piña puede ser consumida en su estado natural en las regiones de producción y en el mercado interno de los países productores; puede ser exportada fresca para el mercado externo, y puede ser procesada para la elaboración de rodajas para la fabricación de zumo o enlatados de piña en almíbar.

También es utilizada para la extracción de bromelina, la cual se obtiene del tallo de la planta de la piña. Entre los usos de la bromelina se pueden mencionar su empleo como ablandador de carnes, en la clarificación de la cerveza, en la fabricación de alimentos infantiles, entre otros. Los restos de la industrialización de la piña, son utilizados para la fabricación de vinos y vinagres de piña (Montilla y col., 1997).

El exceso de producción de piña es frecuente, por lo que el fruto se pierde ya que es perecedero, debido a su alto contenido de agua y no puede almacenarse durante largos periodos. Por lo que deben emplearse medidas alternativas para su

conservación y posterior comercialización, una de las medidas es la deshidratación del excedente de piña que no será inmediatamente consumida (Fernández y col., 2008).

1.4.6. Frutas deshidratadas

Las frutas deshidratadas son una excelente alternativa para evitar que la materia prima se dañe y pierda su valor. En el secado de frutas mediante el empleo de aire caliente a altas temperaturas se afectan las propiedades sensoriales del producto y su valor nutricional (Vega y Fito, 2005), por lo que la temperatura de secado es una variable a tener en cuenta al momento del desarrollo de estos productos.

Las frutas antes de ser deshidratadas deben someterse a un tratamiento de limpieza de materia prima, lo cual influye en la carga microbiana; estos procesos dependerán de las propiedades de la fruta y del método de secado a utilizar. El producto obtenido por este método contiene baja actividad de agua, un porcentaje bajo de humedad (5% al 35%) y logra mantenerse en condiciones normales sin que se altere demasiado por acción de mohos, acción enzimática o bacteriana (Clementz y Delmoro, 2011).

Pueden presentarse en forma de rodajas, snacks frutales, cubitos, dados, granuladas o en cualquier otro tipo de división o dejarse enteras antes de su deshidratación. Como desventaja se puede nombrar que debido a la alta porosidad (80%) el producto seco es muy frágil y no resiste tratamientos mecánicos posteriores y además se favorecen reacciones químicas de oxidación de lípidos (Clementz y Delmoro, 2011).

2. ANTECEDENTES

García (2014) realizó un estudio en el cual analizó el efecto de una bebida con zumo de limón y aronia (*Aronia melanocarpa*) (bebida antioxidante), sobre el estado antioxidante, biomarcadores de estrés oxidativo y marcadores de inflamación en

pacientes con síndrome metabólico. Uno de los biomarcadores analizado fueron los isoprostanos, los cuales fueron analizados mediante un ensayo competitivo ELISA en muestras de orina, para su análisis se utilizó el kit EA 85 suministrado por Oxfor Biomedical Research. Se determinaron los niveles de 15-isoprostano F2t (el isoprostano mejor caracterizado) en muestra de orina, las muestras se mezclaron con un tampón que elimina las interferencias debido a una unión no específica. El 15-isoprostano F2t de las muestras compite con del 15-isoprostano F2t conjugado con peroxidasa de rábano picante (HRP) por el anticuerpo policlonal específico para 15-isoprostanos F2t, que está inmovilizado en la microplaca. La actividad de la HRP da como resultado una coloración cuando se añade el sustrato y la intensidad de color será proporcional a la cantidad de 15-isoprostano F2t en la muestra.

Obtuvieron que tras el consumo de una bebida antioxidante durante cinco meses, los niveles de los isoprostanos disminuyeron en ambos grupos analizados (grupo control y pacientes con síndrome metabólico que consumieron la bebida antioxidante), observándose diferencias significativas ($p < 0,05$). De acuerdo a sus resultados concluyeron que el consumo de la bebida con zumo de limón y aronia disminuía la peroxidación lipídica y podría ser potencialmente utilizado para prevenir el estrés oxidativo asociado a enfermedades cardiovasculares.

La actividad antioxidante del fruto *Ananas comosus* ha sido determinada según Lima y col. (2009). Ellos realizaron la caracterización química, nutricional y la capacidad antioxidante de residuos de pulpa de piña. Para ello recolectaron residuos de piña en la etapa de despulpamiento en una industria de fruta y fueron triturados y homogenizados. Luego le realizaron análisis de humedad, cenizas, proteínas y lípidos

según las normas del Instituto de Adolf Lutz-IAL (2005) y también determinaron los valores de vitamina C, antocianinas, carotenoides y flavonoides. Los compuestos fenólicos fueron determinados por el método Folin-Ciocalteu y la actividad antioxidante por el método de captura de radical DPPH. Los resultados obtenidos demostraron que el residuo de piña posee 0,69% de lípidos, 1,05% de proteínas y 9,54% de carbohidratos, así como cada 100 g de residuo contiene 150,76 µg de carotenoides, 0,9 µg de flavonoides y 40,83 mg de vitamina C; pudiendo de ésta forma ser utilizado como un ingrediente en alimentos formulados con el fin de mejorar el valor nutricional de los productos.

Luego Ramírez y col. (2011) también determinaron los compuestos bioactivos presentes en la pulpa de piña (*Ananas comosus*), para determinar el ácido ascórbico, utilizaron como reactivo el 2,6 diclorofenol-indofenol según el método de la AOAC 967.21 (1997); para calcular polifenoles totales extraíbles utilizaron el método Folin-Ciocalteu, usando ácido gálico como estándar; de acuerdo a Jiménez-Escrig y col. (2001); también determinaron los carotenoides totales por el método espectrofotométrico de la AOAC (1990). Determinaron que la pulpa de piña tiene un contenido de polifenoles totales de 8,91 mg/100g, 0,13 mg/100mg de carotenoides y 89,13 mg/100g de vitamina C.

También Cueto y col. (2014) analizaron las propiedades físicas, fisicoquímicas y funcionales de un producto en polvo a base de cáscara de piña y linaza utilizando una metodología similar a la utilizar en este trabajo. Determinaron que el producto era una buena fuente de fibra con un 29,87%, comparado con la bibliografía para pulpa de piña que era de 13,65% de fibra total.

3. OBJETIVOS

Objetivo General

Evaluar el efecto antioxidante de una mezcla a base de cáscara de piña (*Ananas comosus*) en pacientes con obesidad y sobrepeso.

Objetivos Específicos

1. Caracterizar el producto deshidratado, molido y tamizado a base de cáscara de piña (*Ananas comosus*).
2. Realizar una evaluación sensorial de la mezcla del producto en agua para bebida a base de la cáscara de piña (*Ananas comosus*).
3. Evaluar medidas antropométricas y nutricionales en pacientes con tendencia a obesidad y sobrepeso, antes y después del consumo de la bebida a base de la cáscara de piña (*Ananas comosus*).
4. Caracterizar el perfil lipídico y de las distintas subfracciones de LDL en pacientes con sobrepeso y obesidad, antes y después del consumo de la bebida a base de la cáscara de piña (*Ananas comosus*).
5. Evaluar marcador de estrés oxidativo en pacientes con sobrepeso y obesidad, antes y después del consumo de la bebida a base de la cáscara de piña (*Ananas comosus*).

4. MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio de intervención con pacientes, se realizó en el Laboratorio de Endocrinología y Enfermedades Metabólicas en el Hospital Militar “Dr. Calos Arvelo” de la ciudad de Caracas, Venezuela. La caracterización y los correspondientes ensayos para producir el polvo a base de cáscara de piña se realizaron en los laboratorios del Instituto de Ciencias y Tecnología de Alimentos (ICTA, UCV).

4.1. Diseño de la mezcla a base de cáscara de piña

4.1.1. Materia prima

La cáscara de piña deshidratada fue suministrada por la empresa DEVENALSA, S.A. Las piñas fueron previamente descoronadas y luego lavadas con agua y cepillo; después del lavado las mismas fueron peladas utilizando una peladora semi-manual separando la cáscara de la pulpa. Posteriormente la cáscara fue sanitizada con hipoclorito de sodio al 0,15% v/v, al ser retirado con un lavado con cepillo la cáscara fue cortada en trozos con un grosor aproximado de 1 cm.

Los trozos se distribuyeron en bandejas y se deshidrataron en un deshidratador de bandeja HAVERST SABER, a una temperatura de $65\pm 5^{\circ}\text{C}$ durante 5 horas, Se obtuvo un lote de 10 kg de cáscara de piña deshidratada, los cuales se empaquetaron en bolsas y se almacenaron a temperatura ambiente en contenedores de plástico. Posteriormente los trozos se molieron utilizando un molino Fitz Mill modelo D y se tamizó el polvo hasta obtener 5 kg de cáscara molida a una granulometría menor a $125\ \mu\text{m}$.

EL polvo obtenido se empaquetó en bolsas plásticas selladas al vacío y se almacenó a temperatura ambiente en contenedores de plástico, y fue trasladado a los laboratorios del ICTA para la realización de los análisis pertinentes.

El lote de polvo a una granulometría de 125 μm se separó en tres partes, 2 kg se almacenaron para la caracterización proximal del producto, 500 g se utilizaron para los análisis microbiológicos y 2,5 kg se empaquetaron en envases plásticos debidamente sanitizados y etiquetados para el consumo de los voluntarios, así como para realización de la curva de humedad del producto.

Cada envase suministrado a los voluntarios contenía 150 g del producto con una medida estandarizada para consumir 10 g diarios por 15 días.

4.1.2. Métodos

4.1.2.1. Caracterización proximal

4.1.2.1.1. Humedad

El porcentaje de humedad se cuantificó siguiendo la metodología de la AACC, 2003 método 44-32. Para ello se utilizó una cápsula cubierta y previamente secada a 100 °C, después se dejó enfriar en un desecador hasta alcanzar temperatura ambiente y se volvió a pesar. En la cápsula se pesaron ± 2 gramos del producto y se llevó a calentar en la estufa a una temperatura de 70°C, hasta que se obtuvo un peso constante (aproximadamente 5 horas), en un vacío parcial con una presión equivalente 25 mmHg o menos (admitiendo aire seco dentro del horno hasta alcanzar la presión atmosférica). Inmediatamente después de sacar de la estufa se colocó en el desecador hasta que alcanzó la temperatura ambiente y se volvió a pesar, la diferencia de peso antes y

después del secado en la estufa referido al peso inicial de la muestra proporcionó la humedad de la misma.

4.1.2.1.2. Cenizas

El porcentaje de ceniza se determinó siguiendo la metodología de la AOAC, 2010 método 940.26. Se utilizó un crisol previamente pesado y secado a 100 °C, después se dejó enfriar en un desecador hasta alcanzar temperatura ambiente y se volvió a pesar. En el crisol se pesaron ± 2 gramos del producto y se pre-incineraron con la ayuda de un mechero Fisher. Luego se colocaron los crisoles con las muestras carbonizadas en una mufla durante 5 horas a una temperatura de 550 °C. Pasado el tiempo de incineración se colocaron los crisoles con las muestras en un desecador de vidrio Pyrex hasta que alcanzó temperatura ambiente. Por último se pesaron los crisoles y se determinó el porcentaje de cenizas.

4.1.2.2. Métodos físicos

4.1.2.2.1. Color

El color en el producto se determinó por el método descrito por Hunter (2001) y Giese (1995), utilizando un colorímetro Color Flex Hunter Lab modelo CX 1819, con escala CIE LAB y estandarizado con una placa blanca de valores $L^* = 94,68$; $a^* = -1,24$ y $b^* = 2,27$. Los parámetros a determinados fueron:

L^* = Índice de luminosidad o claridad.

a^* = Matiz o longitud de onda predominante.

b^* = Intensidad del color.

ΔE^* = Cambio total del color.

El valor de L representa una mayor o menor reflectancia de luz y sus valores pueden variar entre 0 (negro) y 100 (blanco).

Los valores de a^* y b^* representan coordenadas de cromaticidad, donde hay valores en una coordenada pasando por cero; en el caso de a^* los valores positivos indican rojo, el cero representa al color gris y los valores negativos indican verde. En el caso de la coordenada b^* , los valores positivos indican al color amarillo, cero al color gris y los valores negativos son representados por el color azul.

El ΔE indica el tamaño de la diferencia del color, pero no en qué sentido difieren y se calculó siguiendo la siguiente ecuación:

$$\Delta E^* = \sqrt{(\Delta L^*)^2 + (\Delta a^*)^2 + (\Delta b^*)^2}$$

4.1.2.2.2. Granulometría

La granulometría se determinó siguiendo la metodología de la AACC, 2003 método 55-30. El equipo utilizado cuenta con seis tamices (N° 20, 40, 60, 80, 120), con tamaño de partícula de 525 μm , 425 μm , 250 μm , 180 μm y 125 μm respectivamente. La cantidad de muestra retenida en cada tamiz se expresó en porcentaje.

4.1.2.2.3. Actividad de agua (A_w)

La actividad de agua (A_w) se determinó siguiendo la metodología de la AOAC, 2010 método 320.05. La muestra se agregó en los recipientes adecuados para el equipo y se esperó hasta que este realizara la lectura. El equipo utilizado fue Aqualab modelo CX-2.

4.1.2.3. Métodos fisicoquímicos

4.1.2.3.1. Separación de fase

Este análisis se realizó siguiendo la metodología citada por Pérez y col., (2007). Se pesaron 10 g del producto en un cilindro graduado de 100 mL, posteriormente se añadieron 50 mL de solución de bromofenol (4 mg/L), el cilindro se tapó y se mezcló con movimientos horizontales y verticales (12 veces en cada dirección por 5 segundos). Se dejó reposar durante 60 minutos y al final de este tiempo el volumen de sedimento se midió en mL.

4.1.2.3.2. Acidez total titulable

La acidez del producto se midió siguiendo el método 02-31 de la AACC, 2003. Se disolvieron 10 g de la muestra en un beacker con 100 mL de agua destilada hervida y se dejó enfriar a temperatura ambiente. Se dejó sedimentar por una hora. Luego se pipetearon 20 mL del sobrenadante y se colocaron en una fiola y se añadieron 3 gotas del indicador fenolftaleína al 1% y se procedió a titular con una solución estándar de hidróxido de sodio (NaOH) al 0,1 N, hasta que se produzco un leve color rosado que persista por 30 segundos. El resultado se expresó en porcentaje de ácido cítrico (g de ácido cítrico anhidro/ 10g de muestra).

4.1.2.3.3. pH

El pH del producto se midió siguiendo el método 02-52 de la AACC, 2003. Se disolvieron 10 g de la muestra en un beacker con 100 mL de agua destilada recién hervida y se dejó enfriar a temperatura ambiente. Al alcanzar la temperatura ambiente se midió el pH utilizando un pHmetro digital Digimed modelo DM-23.

4.1.2.3.4. Dispersabilidad

Para determinar la dispersabilidad del producto en agua se siguió la norma venezolana COVENIN 3232:1996. Se colocaron 100 mL de agua a 100 ± 2 °C en un vaso de precipitado y se agregaron 10 g del producto, luego se procedió a agitar enérgicamente. Se agitó con 25 movimientos completos de agitación circular hacia adelante y hacia atrás, durante 15 segundos y se vació el producto reconstituido sobre un tamiz de 180 μm .

Se procedió a pipetear 10 mL del filtrado y se colocaron en la cápsula con arena previamente seca, fría y pesada. Se evaporó a baño de María y se dejó secar por 4 horas a 105 °C, luego se enfrió hasta temperatura ambiente en un desecador y se pesó. La diferencia de peso indicó la cantidad de materia seca del producto en el producto reconstituido.

4.1.2.4. Análisis microbiológico

Para establecer los criterios microbiológicos del producto se realizó la determinación de aerobios mesófilos y de mohos, según la norma COVENIN 409:1998. Se utilizó como guía el contaje microbiológico, para el apto consumo humano, la norma COVENIN 2125:2011 para mezclas de frutas deshidratadas.

4.1.2.4.1. Determinación de aerobios mesófilos

Para la determinación de aerobios mesófilos presentes en el producto se empleó la técnica de extensión por superficie de siembra en placas de agar PCA (Plate Count Agar). Para ello se pesaron 10 g del producto y se colocaron en un recipiente que contenía 90 mL de agua peptonada, para obtener la dilución inicial de 10^{-1} ; a partir de esta dilución se realizaron diluciones seriadas hasta 10^{-3} . Al tener las diluciones se

procedió a sembrar 0,1 mL de cada dilución por extensión en superficie con rastrillo en placas de agar PCA, cada dilución se sembró por duplicado. Las placas se incubaron a 32 ± 1 °C por 48 ± 3 h, según lo establecido en la norma COVENIN 902-1987. Al terminar el periodo de incubación se contaron las colonias en un rango entre 30 UFC/g a 300 UFC/g, el recuento final se denotó como unidades formadoras de colonias (UFC) por los gramos de producto (UFC/g).

4.1.2.4.2. Determinación de mohos y levaduras

Para la determinación de mohos y levaduras presentes en el producto se empleó la técnica de extensión por superficie de siembra en plagas de agar PDA (Potato Dextrose Agar). Para ello se pesaron 10 g del producto y se colocaron en un recipiente que contenía 90 mL de agua peptonada, para obtener la dilución inicial de 10^{-1} ; a partir de esta dilución se realizaron diluciones seriadas hasta 10^{-3} . Al tener la diluciones se procedió a sembrar 0,1 mL de cada dilución por extensión en superficie con rastrillo en placas de agar PDA, cada dilución se sembró por duplicado. Las placas se incubaron a 20-25°C por 3 a 5 días, según lo establecido en la norma COVENIN 1337-1990. Al terminar el periodo de incubación se contaron las colonias en un rango entre 20 UFC/g a 200 UFC/g, el recuento final se denotó como unidades formadoras de colonias (UFC) por los gramos de producto (UFC/g).

4.1.2.5. Evaluación sensorial

Se realizó una evaluación sensorial de una mezcla en agua para la bebida a base de cáscara de piña, con un panel no entrenado de 20 personas. Se utilizó para ello, una escala hedónica de nueve puntos (Anexo 1) que van desde 1 indicando “me disgusta

extremadamente”, hasta 9 “me gusta extremadamente”. Los parámetros evaluados fueron color, olor, sabor, textura y apariencia general.

4.2. Evaluación del efecto antioxidante de la mezcla en pacientes con obesidad y sobrepeso

4.2.1. Muestra poblacional y diseño del estudio

La muestra poblacional inicial estuvo constituida por 10 individuos de los cuales solo 7 individuos completaron el estudio, el grupo estuvo comprendido por individuos de ambos sexos (2 hombres y 5 mujeres) con edades comprendidas entre los 45 y 77 años. Esta muestra fue seleccionada en el Hospital Militar “Dr. Carlos Arvelo”, a los voluntarios se le realizó una evaluación clínica y metabólica para garantizar que eran individuos sanos; los voluntarios seleccionados para el estudio fueron informados de manera individual y todos ellos firmaron el documento de consentimiento informado y de conformidad (Anexo 2).

Los criterios de exclusión fueron mujeres embarazadas, en lactancia materna, condición clínica significativa (enfermedad renal, hipertensión, cardiovascular, diabetes, enfermedad del hígado o riñón), alergia o sensibilidad a la prueba de ingredientes del producto, laboratorios clínicos anormales previos y cualquier otra condición que el investigador pudiese considerar que podría afectar negativamente al participante. El uso de medicamentos para el tratamiento de cualquiera de las siguientes condiciones: hipertensión, vasodilatación, disfunción eréctil, pérdida de peso, uso de anticoagulantes y de suplementos dietéticos que se sabe tienen actividad antioxidante, fueron contraindicados para el estudio.

En el estudio los sujetos consumieron adicional a su dieta habitual una ración medida de 10 g/día de una mezcla para bebida a base de cáscara de piña (*A. comosus*) una vez al día durante 15 días. Se evaluaron los voluntarios antes de comenzar el estudio y después del consumo por quince días del producto.

Los participantes fueron instruidos para comenzar a tomar la bebida en polvo, en qué forma y en qué momento debían hacerlo (Anexo 2).

4.2.2. Evaluación nutricional y antropométrica

Esta evaluación incluyó mediciones de peso corporal, estatura máxima y circunferencias de cintura y cadera, siguiendo la metodología del Programa Internacional de Biología (Weiner y Lourie, 1981). Para la medida del peso se utilizó una balanza digital modelo TANITA® UM-080, con precisión de ± 100 g (rango 0,1 - 150 kg). La balanza se situó sobre una superficie plana y horizontal, en una habitación habilitada para ello, y comprobando el cero antes de cada pesada.

Para la medida de la talla se tomó la distancia entre el vértice craneal y la planta de los pies del sujeto medida en cm, utilizando una cinta de fibra de vidrio fijada a la pared y una escuadra. Se posicionó al individuo de pie, descalzo, con los pies juntos, rodillas estiradas, talones, nalgas y espalda en contacto con la pared y los brazos extendidos paralelamente al tronco durante la medición.

Las circunferencias de cintura y cadera se midieron, con una cinta métrica antropométrica de fibra de vidrio, estrecha, flexible y no elástica. La circunferencia de cintura en un punto medio entre la arcada costal inferior y la cresta iliaca superior a nivel de la línea axilar anterior y la circunferencia de cadera a la altura de la extensión máxima de los glúteos. Con las medidas obtenidas se determinó el indicador: índice

de masa corporal (IMC), para ello se dividió el peso en kilogramos (kg) por la talla al cuadrado (m²) de los voluntarios.

Se le realizó a cada paciente una evaluación nutricional la cual consistió en entrevistar a cada uno por medio de un recordatorio de 24 horas (Lares y col., 2011) antes de comenzar el estudio y después. El recordatorio de veinticuatro (24) horas es un método cuantitativo de valoración del consumo alimentario, este método valora la ingesta real del individuo en las 24 horas anteriores a la encuesta, para ello se le solicitó al individuo recordar todos los alimentos e ingredientes consumidos el día anterior a la entrevista.

4.2.3. Evaluación bioquímica

A cada paciente se le realizaron tomas de muestras de sangre en ayuno de 14 horas, antes y después del consumo del producto; y se extrajeron 30 mL de sangre periférica en dos tubos Vacutainer sin anticoagulante para la obtención de suero y un tubo vacutainer con anticoagulante (EDTA) para obtener plasma, luego de centrifugarlos a 1.000 g por 20 minutos. El suero se empleó para la determinación de: colesterol, triglicéridos, HDL, LDL, VLDL, glucemia y ácido úrico empleando el método enzimático colorimétrico de Roche Diagnóstico C.A. y medidas en un analizador químico Hitachi 902; y para la determinación de las apoproteínas Apo A₁ y Apo B mediante la metodología de inmunodifusión radial. Con el plasma se determinaron los valores de 8-isoprostano, éste se analizó mediante un ensayo competitivo ELISA; para su análisis se utilizó el kit EIA 8-isoprostano ítem No. 516351 de química Cayman y se empleó un lector para placas de ELISA BioTek modelo Elx800. Con el plasma sanguíneo también

se determinaron las distintas subfracciones de LDL mediante una electroforesis en condiciones no desnaturizantes en geles de poliacrilamida.

A continuación se detalla la metodología seguida en cada test:

Colesterol total:

La medida de los niveles de colesterol se calcularon empleando un ensayo colorimétrico, donde el colesterol de la muestra se determina enzimáticamente por las enzimas colesterol esterasa y colesterol oxidasa. Los ésteres de colesterol se desdoblan por acción del colesterol esterasa, a colesterol libre y ácidos grasos. La colesterol oxidasa cataliza luego la oxidación del colesterol a colesteno-3-ona y peróxido de hidrógeno.

Bajo la acción catalítica de la peroxidasa, el peróxido de hidrógeno formado reacciona con la 4-aminoantipiridina y el fenol formándose quinoneimina que presenta un color rojo cuya intensidad es directamente proporcional a la concentración de colesterol, que se puede medir fotométricamente a 512 nm. El analizador calcula automáticamente la concentración del analito en cada muestra (mg/dL).

Triglicéridos:

El método se basa en un test colorimétrico, donde los triglicéridos de la muestra se determinan enzimáticamente por las enzimas lipasa pancreática, glicerol quinasa y glicerol fosfato oxidasa.

Los triglicéridos se desdoblan, por la acción de la lipasa pancreática, a glicerol y ácidos grasos. En presencia de magnesio, el glicerol libre se fosforila por la glicerol quinasa (GK) a glicerol-3-fosfato y luego en presencia de oxígeno el glicerol-3-fosfato se oxida por la glicerol fosfato oxidasa (GPO) a dihidroxiacetona y peróxido de hidrógeno.

Bajo la acción catalítica de la peroxidasa, el peróxido de hidrógeno formado reacciona con la 4-aminofenazona y el 4-clorofenol formándose quinoneimina, un colorante rojo cuya intensidad es directamente proporcional a la concentración de triglicéridos, que se puede medir fotométricamente. El analizador calcula automáticamente la concentración del analito en cada muestra (mg/dL).

HDL:

El método se basa en un test colorimétrico, donde el HDL de la muestra se determina enzimáticamente, por las enzimas colesterol esterasa y colesterol oxidasa acopladas a polietilenglicol (PEG).

En presencia del sulfato de magnesio, el sulfato de dextrano forma complejos solubles en agua con las partículas HDL, VLDL y quilomicrones, selectivamente otorgándoles una mayor reactividad frente a las enzimas modificadas por PEG.

A continuación la PEG-colesterol esterasa (PEG-CE) provoca el desdoblamiento de los ésteres de colesterol-HDL a colesterol libre-HDL y ácidos grasos. En presencia de oxígeno, el HDL se oxida por la PEG-colesterol oxidasa (PEG-CO) a 4-colestenona y peróxido de hidrógeno.

Bajo la acción catalítica de la peroxidasa (PO), el peróxido de hidrógeno formado reacciona con la 4-amino-antipirina y el N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)- 3,5-dimetoxianilina formándose quinonamina colorante azul-supura. La intensidad del colorante es directamente proporcional a la concentración de HDL, que se midió fotométricamente a 600 nm. El analizador calcula automáticamente la concentración del analito en cada muestra (mg/dL).

LDL:

La concentración de LDL se calculó aplicando la fórmula de Friedewald, como describe Valverde y col. en 1994:

$$\text{LDL} = \text{CT} - \text{HDL} - \frac{\text{TG}}{5}$$

CT: colesterol total

HDL: lipoproteínas de alta densidad

TG: triglicéridos

VLDL:

Para el cálculo de este parámetro se utilizó la estimación de su valor con la siguiente fórmula:

$$\text{VLDL} = \frac{\text{TG}}{5}$$

TG: triglicéridos

VLDL: Lipoproteínas de muy baja densidad

Ácido úrico

El método colorimétrico para la determinación del ácido úrico, se determina enzimáticamente, por la enzima uricasa.

El ácido úrico es oxidado por la acción de la uricasa, en alantoina y peróxido de hidrógeno. Por la acción catalítica de la peroxidasa, el peróxido de hidrógeno formado reacciona con la 4-amino-antipirina y el N-etil-N-(2-hidroxi-3-sulfopropil)-3-metilanilina, formando una quinonaimina coloreada. La intensidad del colorante es directamente

proporcional a la concentración de ácido úrico en la muestra, el analizador calcula automáticamente la concentración del analito en cada muestra (mg/dL).

Glucemia:

El método colorimétrico para la determinación de glucosa en sangre, se determina enzimáticamente, por la glucosa oxidasa.

La glucosa es oxidada por la acción de la glucosa oxidasa, en ácido glucónico y peróxido de hidrógeno. Por la acción catalítica de la peroxidasa, el peróxido de hidrógeno formado reacciona con la 4-aminofenazona, formando una quinonaimina indicadora roja-violeta. La intensidad del indicador es directamente proporcional a la concentración de glucosa en la muestra medido a 505 nm, el analizador calcula automáticamente la concentración de glucosa en cada muestra (mg/dL).

8-isoprostano:

Este ensayo para la determinación del estrés oxidativo, está basado en la competición entre el 8-isoprostano y un conjugado del 8-isoprostano acetilcolinesterasa (trazador de 8-isoprostano) para un número limitado de sitios de unión de antisuero de conejo 8-isoprostano específico. Debido a que la concentración del trazador 8-isoprostano se mantiene constante mientras que la concentración del 8-isoprostano varía, la cantidad del trazador 8-isoprostano que se puede unir al antisuero de conejo será inversamente proporcional a la concentración de 8-isoprostano en el pocillo (Morrow y col., 1990).

Se siguió la metodología indicada en el kit EIA 8-isoprostano ítem No. 516351 de química Cayman, descrita en la siguiente tabla (tabla 2):

Tabla 2. Pasos a seguir para realizar el ensayo de ELISA del 8-isoprostano

PASOS	REACTIVOS	BLANCO	TA	NSB	B ₀	MUESTRA
1.AÑADIR REACTIVOS	Buffer EIA	--	--	100µL	50 µL	--
	Estándar	--	--	--	--	50 µL
	Trazador	--	5µL	50 µL	50 µL	50 µL
	Antisuero	--	--	--	50 µL	50 µL
2.INCUBACIÓN	Cubrir la placa e incubar 18 horas a 4 °C					
3. LAVADO	Lavar los pocillos 5 veces					
4. AÑADIR REACTIVOS	Trazador	--	5 µL	--	--	--
	Ellman's	200 µL	200 µL	200 µL	200 µL	200 µL
5. INCUBAR	Cubrir la placa e incubar 90-120 minutos en la oscuridad					
6.LECTURA	Leer la placa a una longitud de onda entre 405-420 nm					

TA: Actividad total, NSB: Uniones no específica, Bo: Máxima unión

4.2.4. Determinación de las Apo A₁ y Apo B por inmunodifusión radial

Para la determinación de Apo A₁ y Apo B se empleó un inmunoensayo denominado inmunodifusión radial (Mancini y col., 1965). Es una técnica que puede determinar semicuantitativamente la concentración de un antígeno, en esta técnica se utilizaron placas de agarosa en gel con el antisuero de apolipoproteína A₁ y apolipoproteína B respectivamente con pequeños pozos dentro de la agarosa donde se vierte la muestra de suero de cada paciente.

Se agregaron 5 µL del suero de los voluntarios en su correspondiente pozo hasta completar los 14 pozos, luego se taparon las placas y se dejaron incubar por 72 horas a 8 °C en una cámara húmeda. A las 72 horas se revisaron las placas y se midieron

los diámetros de los anillos formados alrededor de cada pozo, ya que el tamaño del diámetro de la circunferencia es proporcional a la concentración de Apo A₁ y Apo B correspondientemente en el suero de los voluntarios.

Se utilizó la tabla de conversión del anexo 4 para calcular la concentración de proteína a partir del diámetro.

4.2.5. Separación de las subfracciones de LDL

Para la separación de las lipoproteínas presentes en el plasma de los voluntarios, se empleó una cámara de electroforesis vertical BIORAD Mini Protean Tatra Cell. Para ello se emplearon geles de poliacrilamida al 4% (1,3 mL acrilamida 30%; bisacrilamida 0,8%; 2,5 mL Tris 1,5 M pH 8,8; 6,2 mL agua bidestilada; 50 µL persulfato de amonio 10%; 5 µL tetrametiletiléndiamina), y buffer de corrida (Tris 25 mM pH 8,3; glicina 192 mM). Al realizar la electroforesis en condiciones no desnaturizantes se tomaron 5 µL de la muestra de los voluntarios y se mezclaron con 1 µL de azul de bromofenol (520 µL bromofenol 0,5%; 125µL Tris-HCl 0,5 M pH 6,8; 0,55 mL agua bidestilada; 0,3mL glicerol).

Las muestras con el colorante, se aplicaron directamente en los bolsillos del gel. Las condiciones de la corrida fueron de 200 V (voltios), hasta que el frente de colorante avanzó hasta el borde inferior del gel (aproximadamente 40 min de corrida). Posterior a la corrida los geles fueron teñidos con negro de Sudán (1 gr de negro de Sudán en 40 mL de solución decolorante) en agitación y por aproximadamente 20 min. El exceso de colorante sobre el gel fue lavado con solución decolorante (4 gr de NaCl en 20 mL agua destilada y 20 mL de etanol). Finalmente el gel fue visualizado en un documentador de geles BIORAD Gel Doc XR System, determinándose el R_f o la

movilidad electroforética relativa (distancia recorrida por la banda entre la distancia del frente de corrida) para cada una de las bandas de lipoproteínas observada (Lomonte, 2007)

En la electroforesis en gel, se aplica una corriente eléctrica a un gel en contacto con la solución amortiguadora, y las moléculas a separar se mueven a través del gel. Los materiales más usados son la poliacrilamida un polímero entrecruzado soluble en agua, y la agarosa un polisacárido. Durante la electroforesis hay una interacción compleja de las muestras, el buffer matriz del gel y la corriente eléctrica obteniendo bandas separadas de las moléculas individuales. Por lo tanto las variables que deben ser considerados en la electroforesis en gel son el tamaño del poro, el buffer del gel y las propiedades de la molécula de interés.

Los geles de poliacrilamida constituyen un excelente medio de soporte para separaciones electroforéticas, dado que reúnen una serie de propiedades idóneas: transparencia, elasticidad, porosidad controlable y compatibilidad con una gran variedad de compuestos químicos. La poliacrilamida se forma por copolimerización de dos compuestos, la acrilamida y la bis-acrilamida en una reacción iniciada por la tetrametiletiléndiamina (TEMED) y el persulfato de amonio. El radical persulfato activa al TEMED, el cual a su vez activa al monómero de acrilamida para que polimerice. Las cadenas de poliacrilamida son entrecruzadas al azar por la bisacrilamida, formándose así una red de porosidad bastante uniforme, que puede ser regulada variando las condiciones de la reacción y las concentraciones de los monómeros (Lomonte, B. 2007).

Las láminas con el gel de poliacrilamida se colocan entre los compartimientos de los electrodos con el buffer y con una pipeta, se colocan cuidadosamente una pequeña cantidad de una solución de cada muestra con el colorante en cada una de las muescas practicadas en la parte superior del gel (Mathews y col., 2008). Al aplicar la corriente las moléculas de las muestras se desplazarán a lo largo del gel con una velocidad que dependerá de la densidad de carga de la molécula, del voltaje aplicado y de la porosidad del gel de electroforesis. La corriente se mantiene conectada hasta que la banda de colorante de localización este cerca de la parte inferior de la lámina del gel.

4.2.6. Análisis estadístico

Las variables cuantitativas se describieron mediante la media y la desviación estándar. La normalidad se contrastó mediante el test de Kolmogorov-Smirnoff y la homocedasticidad mediante la prueba de Levene. En caso de incumplimiento de alguna de las condiciones se procedió al análisis mediante pruebas no paramétricas. Para las variables cuantitativas se desarrollaron comparaciones de t-Student en caso de normalidad y pruebas no paramétricas de Wilcoxon en caso contrario.

En el conjunto de pruebas estadísticas el nivel de significación utilizado fue $\alpha = 0,05$ y el análisis estadístico se realizó con el software informático SPSS, versión 22.0.

5. RESULTADOS

5.1. Diseño de la mezcla a base de cáscara de piña

5.1.1. Caracterización proximal

Los resultados del porcentaje de humedad y ceniza en el producto (cáscara de piña deshidratada, molida y tamizada) se muestran en la tabla 3.

Tabla 3. Valores medios obtenidos de la estimación del porcentaje de humedad y ceniza del producto deshidratado de cáscara de piña

Parámetro	Cáscara de piña
Humedad (%)	5,06 ± 0,92
Ceniza (%)	3,62 ± 0,22

Valores expresados como media ± desviación estándar (n=3), datos expresados en base seca.

5.1.2. Propiedades físicas

En la tabla 4 se observan los valores obtenidos de los análisis de las propiedades físicas evaluadas (color, granulometría y actividad de agua) en la cáscara de piña deshidratada.

Tabla 4. Valores medios obtenidos de los parámetros físicos evaluados en el producto deshidratado de cáscara de piña

Parámetro	Cáscara de piña	
Color	L*	57,55 ± 0,15
	a*	7,97 ± 0,03
	b*	27,89 ± 0,24
	ΔE	34,81 ± 0,18
Granulometría (%)	525 μm	0 ± 0
	425 μm	5,53 ± 2,72
	250 μm	13,43 ± 3,47
	180 μm	18,45 ± 0,57
	≥125 μm	62,59 ± 1,40
A _w	0,33 ± 0,01	

Valores expresados como media ± desviación estándar (n=3).

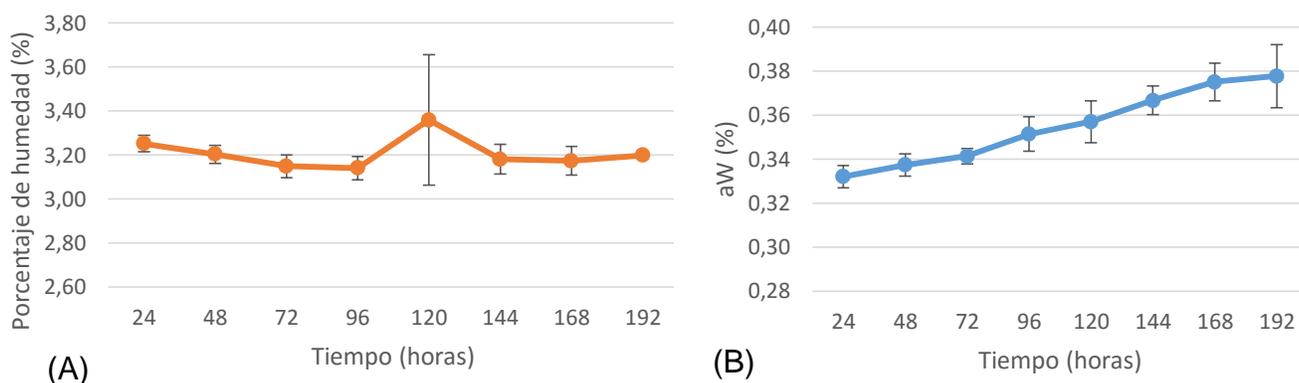


Figura 2. Gráficos de la variación del (A) porcentaje de humedad y (B) la actividad de agua del producto en el tiempo, para determinar su estabilidad.

En la figura 2 se muestra la variación del porcentaje de humedad y la actividad de agua del producto en el tiempo.

5.1.3. Propiedades fisicoquímicas

Las propiedades fisicoquímicas evaluadas fueron el pH, el porcentaje del ácido predominante en este caso el ácido cítrico, el porcentaje de dispersabilidad del

producto y la separación de fases en el producto. Estos parámetros evaluados se muestran en la tabla 5, se puede observar que el pH obtenido es ácido.

Tabla 5. Valores medios obtenidos de los parámetros fisicoquímicos evaluados en el producto deshidratado de cáscara de piña.

Parámetro	Cáscara de piña
Acidez (%)	0,88 ± 0,92
pH	4,10 ± 0,02
Separación de fases (mL)	22 ± 0,1
Dispersabilidad (%)	4,75 ± 0,92

Valores expresados como media ± desviación estándar (n=3).

5.1.4. Análisis microbiológico

Los resultados obtenidos del análisis microbiológico del producto se pueden apreciar en la tabla 6, los valores obtenidos están dentro del rango de lo establecido por la norma COVENIN 2125:2011 para mezclas de frutas deshidratadas.

Tabla 6. Análisis microbiológico

Microorganismos	UFC/g
Aerobios	6×10^2
Mohos	1×10^2
Levaduras	2×10^2

Valores expresados como la media de dos determinaciones.

5.1.5. Evaluación sensorial

Una vez realizada la evaluación sensorial se analizaron los datos con el objetivo de conocer las preferencias y gustos de los encuestados, para determinar la aceptación del producto.

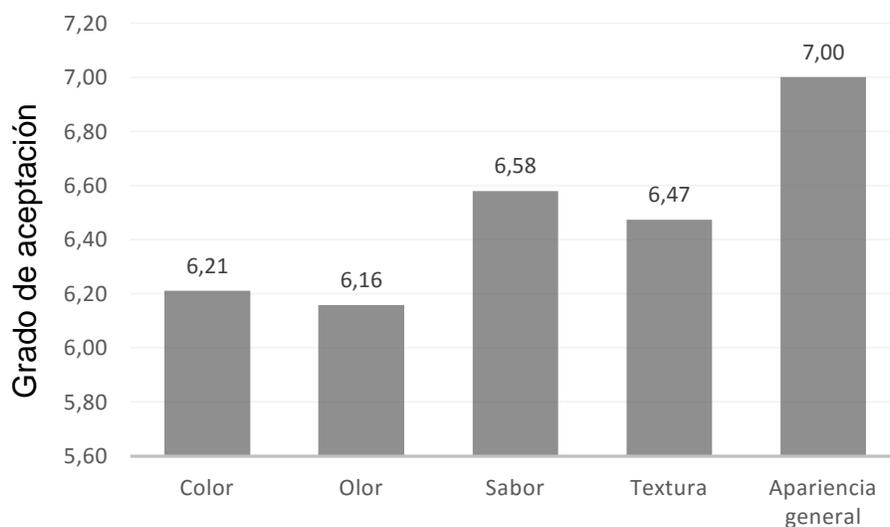


Figura 3. Grafica de la aceptación del producto en sus características evaluadas.

En la figura 3 se muestra graficada la aceptación del producto por los encuestados.

5.2. Evaluación del efecto antioxidante de la mezcla en pacientes con obesidad y sobrepeso

5.2.1. Evaluación nutricional y antropométrica

Se estudió un total de siete voluntarios, de los cuales 5 (71,4%) eran del sexo femenino y dos (28,6%) del sexo masculino, con edades comprendidas entre 45 y 77 años, con una masa inicial promedio de $80,7 \pm 14,3$ kg e índice de masa corporal inicial de $30,2 \pm 3,2$ kg/m². Cabe destacar que ninguno de los voluntarios estaba recibiendo tratamiento nutricional en el momento del estudio.

El 3/7 (42,9%) de los voluntarios presentó sobrepeso, seguido de 3/7 (42,9%) con obesidad tipo I y 1/7 (14,3%) obesidad tipo II.

En la Tabla 7 se aprecian las características antropométricas de los sujetos del estudio, antes y después del consumo del producto por 15 días. En los resultados obtenidos se observó que tanto los valores del peso como los del IMC y circunferencia de cintura, disminuyeron luego de los 15 días del consumo del producto, encontrando diferencias significativas ($p < 0,05$) para estos valores en el estudio.

Tabla 7. Efecto del consumo de cáscara de piña sobre las medidas antropométricas

	Antes	Después
Peso (kg)	$80,7 \pm 14,3$	$79,7 \pm 14,1^*$
Talla	$1,63 \pm 0,10$	$1,63 \pm 0,10$
IMC (kg/m ²)	$30,2 \pm 3,2$	$29,8 \pm 3,2^*$
Circunferencia de cintura (cm)	$91,4 \pm 8,0$	$89,3 \pm 8,8^*$
Circunferencia de cadera (cm)	$104,6 \pm 10,1$	$104,6 \pm 10,1$

Valores expresados como media \pm desviación estándar (n=7).

(*)Diferencias significativas ($p < 0.05$, Wilcoxon)

5.2.1.1. Valoración de la ingesta por recordatorio de 24 horas

En la tabla 8, no se observan diferencias significativas por efecto del consumo del producto a base de cáscara de piña en el aporte de kcal totales por día, en la ingesta de proteínas totales de fuente de origen animal y vegetal, de grasas totales y de origen animal como vegetal, la misma tendencia se observó para la ingesta de carbohidratos y fibra, con lo cual podríamos inferir que la ingesta o consumo de alimentos durante la realización de este trabajo se mantuvo constante sin observarse cambios.

Tabla 8. Efecto del consumo de cáscara de piña en los indicadores dietéticos

Indicador	Antes	Después
Ingesta de energía (kcal/día)	2146,23 ± 325,48	2082,02 ± 308,01
Ingesta de proteínas (g/día)	97,00 ± 15,94	93,21 ± 11,63
Ingesta de proteína animal (g/día)	62,44 ± 10,80	66,07 ± 12,36
Ingesta de proteína vegetal (g/día)	34,56 ± 18,04	27,13 ± 13,99
Ingesta de grasas (g/día)	81,10 ± 30,63	84,21 ± 21,18
Ingesta de grasa animal (g/día)	46,52 ± 17,66	37,22 ± 12,71
Ingesta de grasa vegetal (g/día)	34,56 ± 18,04	47,01 ± 23,73
Ingesta de carbohidratos (g/día)	287,16 ± 73,58	285,29 ± 78,22
Ingesta de fibra (g/día)	19,12 ± 8,49	20,45 ± 9,16

Valores expresados como media ± desviación estándar (n=7).

5.2.2. Evaluación bioquímica

En la Tabla 9 se puede observar cómo las variables estudiadas: glucemia, colesterol total, colesterol LDL, triglicéridos, colesterol VLDL y 8-Isoprostano, disminuyen en el

periodo de 15 días a excepción del colesterol HDL y el ácido úrico que aumentaron. Después del consumo de la bebida, se ha observado una disminución significativa ($p < 0.05$) de los niveles plasmáticos del colesterol LDL y colesterol total en los voluntarios con respecto a los valores basales. Así como después del consumo de la mezcla antioxidante por los voluntarios durante 15 días no se observan diferencias significativas ($p < 0.05$) en los valores medios del 8-isoprostano.

Tabla 9. Efecto del consumo de cáscara de piña sobre los parámetros bioquímicos evaluados en los pacientes

Parámetros	Valores referencia	Antes	Después
Glucemia (mg/dL)	74-99	94,39 ± 10,12	90,83 ± 10,97
Colesterol Total (mg/dL)	40-200	209,58 ± 26,64	193,31 ± 8,95*
Colesterol HDL (mg/dL)	≥66	43,31 ± 9,80	43,53 ± 8,96
Colesterol LDL (mg/dL)	<120	139,05 ± 21,12	127,58 ± 10,72*
Triglicéridos (mg/dL)	20-150	128,91 ± 37,07	110,97 ± 25,43
Colesterol VLDL (mg/dL)	2-30	25,78 ± 7,41	22,34 ± 5,13
Ácido úrico (mg/dL)	H: 3,4- 7,0 M: 2,4-5,7	H: 5,90 ± 1,84 M: 4,94 ± 0,85	H: 6,00 ± 2,55 M: 6,04 ± 0,84
8-isoprostano (pg/mL)	40-100	110,66 ± 65,04	98,15 ± 108,23

(*)Diferencias significativas entre Antes vs. Después, ($p < 0.05$, Wilcoxon).

Valores expresados como media ± desviación estándar. H: hombres; M: mujeres.

Valores de referencia según Randox Laboratories.



Figura 4. Gráficos donde se presentan los valores de cada uno de los voluntarios antes y después del consumo de cáscara de piña para: A) glucemia, B) colesterol total, C) LDL, D) VLDL, E) HDL y F) triglicéridos.

5.2.3. Cuantificación de indicadores de riesgo cardiovascular Apo A₁ y Apo B

En la Tabla 10 se aprecian los valores de Apo A₁, Apo B y el índice Apo B/Apo A₁, antes y después del consumo del producto por 15 días. En los resultados obtenidos se observó que tanto los valores de Apo A₁ y Apo B disminuyeron; encontrando diferencias significativas ($p < 0,05$) para los valores de Apo B. También se evidenció que el índice de riesgo cardiovascular Apo B/Apo A₁ disminuyó su valor luego del consumo de la cáscara de piña.

Tabla 10. Efecto del consumo de cáscara de piña sobre los valores de Apo A₁ y Apo B

Parámetros	Valores referencia	Antes	Después
Apo A ₁ (mg/dL)	115 - 220 mg/dL	337,44 ± 99,03	330,63 ± 89,39
Apo B (mg/dL)	60 -138 mg/dL	102,67 ± 25,88	84,34 ± 14,30*
Apo B/Apo A ₁	<1,2	0,33 ± 0,15	0,27 ± 0,10

Valores expresados como media ± desviación estándar.

(*)Diferencias significativas entre Antes vs. Después, ($p < 0.05$, Wilcoxon)

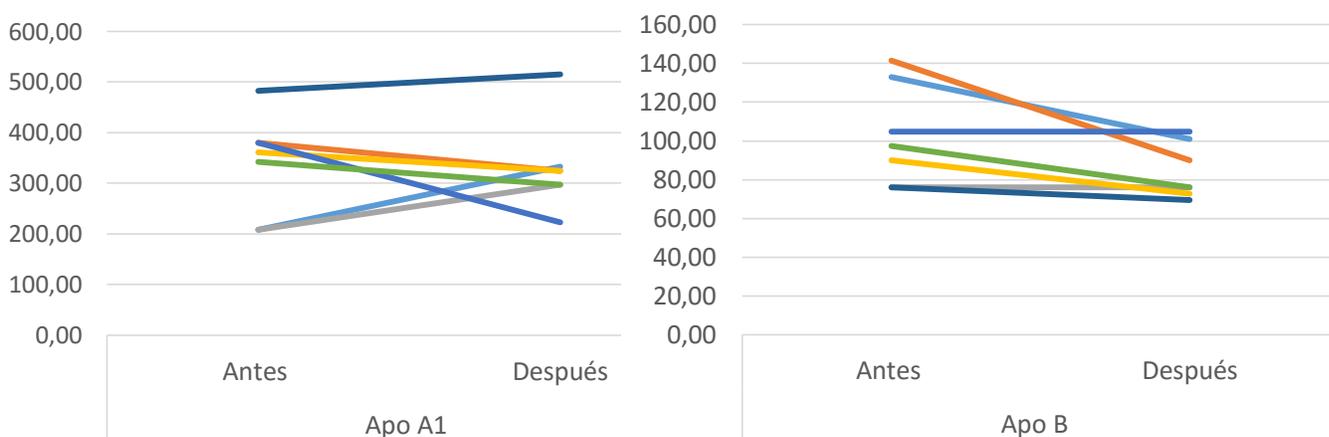


Figura 5. Gráfico donde se demuestra la disminución de Apo A₁ y Apo B por paciente, antes y después del consumo de cáscara de piña.

En la figura 5 se observa la disminución de Apo A₁, Apo B y el índice Apo B/ Apo A₁.

5.2.4. Separación de las subfracciones de LDL

Para la caracterización de bandas de LDL, se basaron los resultados en el índice Rf, donde se toman las bandas de lipoproteínas ubicadas por encima de un Rf de 0,36 como correspondientes a LDL patrón B que son altamente aterogénicas (Jorba y Ordoñez, 2006) . Los patrones para cada individuo fueron únicos, en donde se pudo observar la presencia de una o dos bandas, en cualquiera de las regiones definidas para patrón A y patrón B

En la Tabla 11 que se muestra a continuación, se presentan los valores promedios de Rf de los voluntarios antes y después del consumo de cáscara de piña. En los resultados de los voluntarios antes del consumo del producto se puede observar que el predominio de banda es aquella correspondiente al patrón denominado A. La banda correspondiente al patrón B, corresponde a un 10% de la banda del patrón A. Con respecto a las bandas después del consumo del producto, se observó una pequeña disminución que no fue estadísticamente significativa ($p < 0,05$) en la fracción patrón B, y un aumento en el patrón A. La tendencia observada fue una mayor proporción del perfil A o ausencia del perfil B.

Tabla 11. Valores promedios de las distintas bandas observadas en los voluntarios antes y después del consumo de cáscara de piña, se indica el Rf de cada banda observada, donde valores de Rf mayores a 0,36 corresponde a LDL patrón B

Parámetros	Antes	Después
Rf banda	0,22 ± 0,11	0,18 ± 0,06

Valores expresados como media ± desviación estándar.

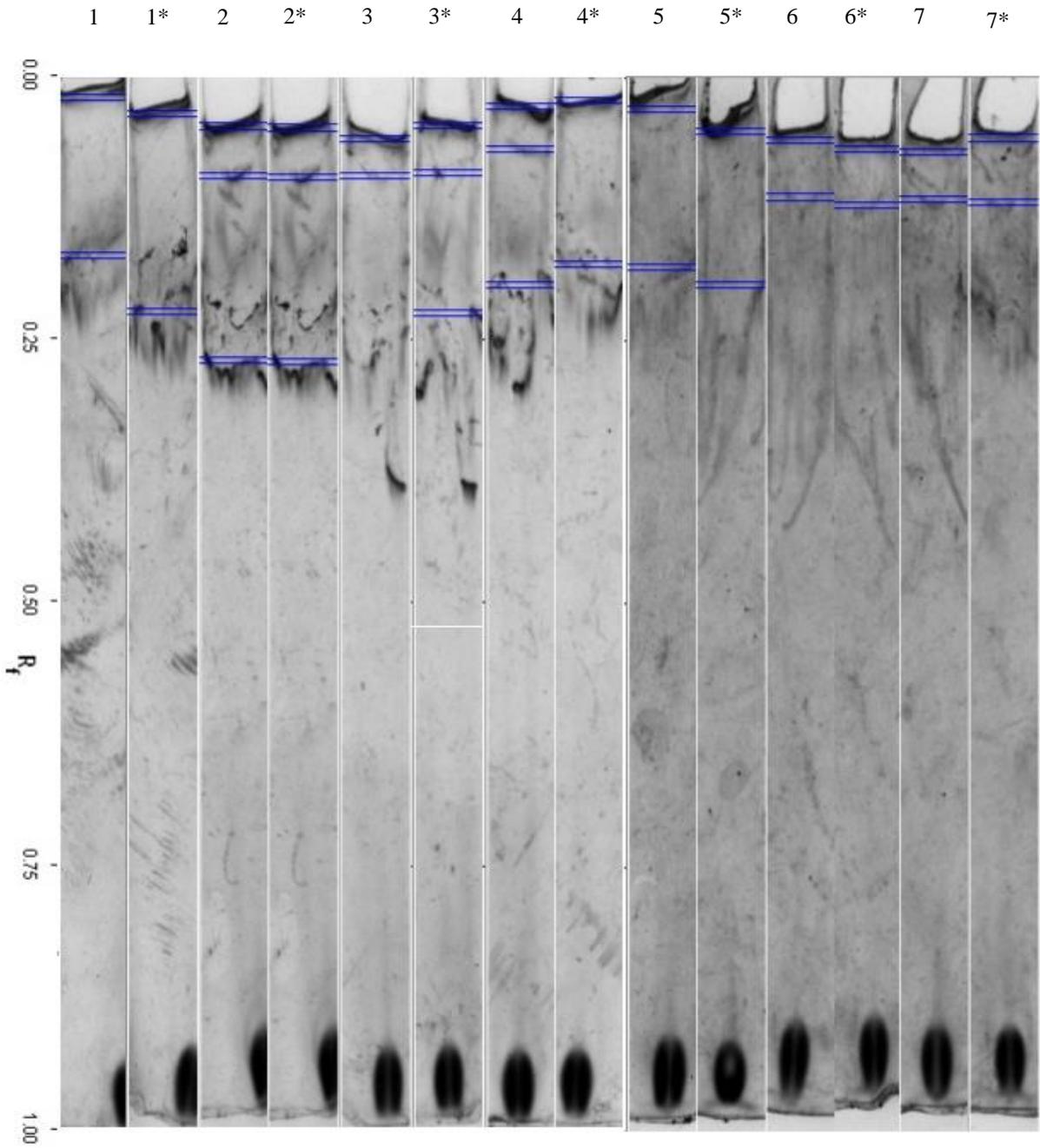


Figura 6. Corrida electroforética para la separación de las subfracciones de LDL, 1: Voluntario antes del consumo del producto, 1*: Voluntario luego del consumo.

6. DISCUSIÓN

5.3. Diseño de la mezcla a base de cascara de piña

5.3.1. Caracterización proximal

La caracterización del producto permite estimar como este se comportará a lo largo del tiempo, estimando el tiempo de anaquel. Los productos alimenticios contienen los nutrientes necesarios para el desarrollo de microorganismos, pero, la composición del alimento tiene un efecto selectivo sobre la flora microbiana. Debido a esto los microorganismos se desarrollan en función de los parámetros fisicoquímicos del alimento y de las características de cada microorganismo (Moreno y col., 1983).

Como se puede observar en la tabla 3, la caracterización del producto refleja un bajo porcentaje de humedad lo cual es esperado debido al proceso de deshidratación. Mediante la conservación por deshidratación se obtiene un producto de buena calidad y aceptación (Giraldo y col., 2005). El valor obtenido de humedad es aceptable para este tipo de producto, según la literatura la cual reporta un 5,85% de humedad en la cáscara de piña deshidratada (Umaña y col., 2013).

Por otra parte, el contenido de ceniza es relativamente alto, lo cual pudiera significar un alto contenido de minerales importantes en la nutrición humano, especialmente el aporte de potasio; en cáscara de piña se han reportado valores de 3,90% de cenizas (Umaña y col. 2013), lo cual se correlaciona con los resultados obtenidos en el producto.

5.3.2. Propiedades físicas

En la determinación de color se evidenció un alto índice de luminosidad por lo cual hay una mayor tendencia al blanco; así mismo la intensidad de color es mayoritaria para el color amarillo y la longitud de onda para el color rojo.

Por otro lado en la determinación de la granulometría, se puede decir que las diferencias encontradas en el tamaño de las partículas, se evidencia por un predominio de partículas finas en la mezcla, debido a que se obtuvo un mayor porcentaje en el tamiz de $\geq 125\mu\text{m}$.

Es importante destacar que la estabilidad microbiológica de los alimentos con un contenido de agua reducido, depende de la cantidad de agua disponible para las actividades metabólicas de los microorganismos, por lo que la mejor manera para determinar esta variable es la actividad de agua (a_w); la actividad de agua mínima requerida para el crecimiento microbiológico se encuentra entre 0,5 y 0,6 (Moreno y col., 1983). Por lo que entre menor sea el valor de a_w , existe una menor probabilidad de crecimiento microbiano, lo que permite extender la vida útil del producto. En el caso del producto evaluado se obtuvo una actividad de agua de 0,33, por lo que se encuentra por debajo de los valores mínimos requeridos para que se evidencie actividad microbiana.

La actividad de agua reducida está vinculada con un porcentaje bajo de humedad, como se puede evidenciar en las tablas 3 y 4; estas condiciones deben mantenerse en el tiempo para asegurar estabilidad microbiológica del producto, en la figura 2 se evidencia que tanto la actividad de agua y la humedad mantienen sus valores constantes al manipular el producto durante 8 días.

5.3.3. Propiedades fisicoquímicas

El producto deshidratado de cáscara de piña presentó un pH y una acidez titulable acorde a la encontrada a la bibliografía para deshidratados de pulpa de piña. Según los estudios en pulpa de piña se obtuvo un porcentaje de acidez de 0,5% siendo de 0,88% la encontrada en la cáscara de piña (Camacho, 2004).

Según la bibliografía es de 4,2 el pH encontrado para cascara de piña (Magallanes y Salcedo, 2013), por lo que el pH 4,1 obtenido en el producto a base cáscara de piña es muy cercano a los valores de referencia; este pH bajo favorece a la inhibición del crecimiento de microorganismos, ya que el pH óptimo para el crecimiento de la mayoría de los microorganismos se encuentra entre 6,5-7,5 (ICMSF, 1980), por lo que mantener un pH bajo garantiza la estabilidad microbiológica del producto.

Finalmente, el producto presenta las condiciones adecuadas para mantenerse estable frente al deterioro microbiano y ser factible para su consumo, ya que posee una actividad de agua reducida, un porcentaje de humedad bajo y un pH ácido.

5.3.4. Análisis microbiológico

Las reacciones que provocan pérdida de calidad de un alimento se clasifican en cuatro grupos, siendo de tipo microbiológico, enzimático, químico y físico, y las consecuencias de la pérdida de calidad se ven reflejadas con la presencia de toxinas, microorganismos, reacciones de oxidación y rancidez y cambios de color y sabor, entre otros (Gould, 1989). Para evitar estos cambios indeseables, la preservación de alimentos se basa en la aplicación de factores de estrés conducentes a la inhibición y/o muerte de la comunidad microbiológica, así como también la prevención del establecimiento de ciertas comunidades (Alzamora, 1997).

Así mismo, dentro de los factores que se utilizan comúnmente para la conservación de alimentos se encuentran la combinación de actividad de agua (A_w) y pH. Es claro que las nuevas tecnologías buscan deliberada e intencionalmente que la combinación de obstáculos sea tal que se asegure la estabilidad y seguridad microbiológica de un alimento, además de las propiedades sensoriales, nutricionales y económicas sean las óptimas (Alzamora, 1997).

En el caso de frutas, el pH es lo suficientemente bajo para inhibir el crecimiento de bacterias, lo que coadyuva al control del desarrollo de microorganismos y de la actividad de sistemas enzimáticos, sin embargo, levaduras y hongos pueden crecer (Alzamora, 1997). Por esta razón se le realizaron análisis microbiológicos para la determinación de las unidades formadoras de colonias de mohos y levaduras en el producto a base de cáscara de piña; como se aprecia en la tabla 6 los resultados obtenidos fueron de 1×10^2 y 2×10^2 unidades formadoras de colonias (UFC) en 100g de producto para mohos y levaduras respectivamente. Los valores obtenidos están dentro de los límites establecidos por la norma COVENIN 2125:2011, entre los criterios microbiológicos para mezclas de frutas deshidratadas por lo que se garantiza la seguridad microbiológica del producto.

5.3.5. Evaluación sensorial

El análisis sensorial es una herramienta imprescindible para obtener información sobre algunos aspectos de la calidad de los alimentos, a los que no se puede tener acceso con otras técnicas analíticas. Los inconvenientes y riesgos que conlleva la incorporación de las técnicas sensoriales a los programas de control y aseguramiento de la calidad de los alimentos, son de menor entidad que las indudables ventajas que

pueden aportar. Aunque no todos los métodos propuestos y utilizados para evaluar la calidad sensorial de los alimentos se pueden considerar adecuados, actualmente se dispone de conocimientos suficientes para diseñar sistemas efectivos del control de la calidad sensorial para cada caso concreto en función de las características particulares de cada alimento y de su posición en el mercado (Costell, 2003). Los resultados obtenidos en la evaluación sensorial se muestran en la figura 3, y en ella se puede observar que la tendencia de aceptación por parte de los consumidores fue favorable. Obteniendo como resultado de apariencia general del producto un valor de 7 que corresponde a un gusto moderado de los consumidores hacia el producto, así como se obtuvieron observaciones importantes para el mejoramiento del producto como lo fue la modificación de la granulometría por una menor.

5.4. Evaluación del efecto antioxidante de la mezcla en pacientes con obesidad y sobrepeso

5.4.1. Evaluación nutricional y antropométrica

La población estudiada con sobrepeso y obesidad fueron medidos antropométricamente antes y después del consumo del producto a base de cáscara de piña, tomando como referencia los valores de peso y talla para el cálculo del IMC, y la circunferencia de la cintura para valorar el riesgo de enfermedad cardiovascular. Los valores obtenidos se reflejan en la Tabla 7, en ella se puede observar que tanto los valores del peso como los del IMC, son superiores en los voluntarios antes del consumo del producto respecto a los obtenidos después de los 15 días, encontrando diferencias significativas ($p < 0.05$) para ambos valores.

Investigaciones recientes indican que la obesidad se acompaña de un estado de estrés oxidativo crónico, el cual se ha propuesto como el nexo entre la obesidad y algunas morbilidades asociadas con patologías cardiovasculares (Higdon y Frei, 2003). Los valores medidos de IMC de los voluntarios se categorizan como sobrepeso y obesidad tipo I, según la Organización Mundial para la Salud (OMS, 1983). Otros estudios, establecen que valores elevados de IMC son asociados con un mayor riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, sin embargo, esta medida IMC no toma en cuenta la variación en la distribución de grasa corporal y la masa grasa abdominal, que puede variar dentro de un estrecho rango de IMC. El exceso de grasa intraabdominal se asocia con un mayor riesgo de morbilidad relacionado con la obesidad, así, la medida de la circunferencia de la cintura se utiliza como un mejor indicador para determinación de enfermedades cardiovasculares en alternativa al IMC (García, 2014).

En la circunferencia de cintura media de los voluntarios antes y después del consumo del producto por 15 días se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$) (Tabla 7), siendo esta superior en hombres que en mujeres en ambos casos. La medición de la circunferencia de cintura representa una primera prueba de detección de enfermedades cardiovasculares en sujetos que presentan sobrepeso y obesidad, considerando valores superiores a 88 cm en las mujeres y 102 cm en los hombres, un factor de riesgo (Klein y col., 2007). La circunferencia de la cintura se ha demostrado que es la mejor medida simple del tejido adiposo, tanto del subcutáneo abdominal como del intraabdominal (Klein y col., 2007).

Otros autores como Kyaw y col., (2014) también relacionan en su estudio la utilidad de la circunferencia de cintura y la relación cintura-cadera como predictores de riesgo de morbi-mortalidad cardiovascular, encontrando que tanto el IMC como la circunferencia de cintura y el índice cintura-cadera, se asocian positiva y significativamente con la aparición de eventos cardiovasculares.

Dentro de los voluntarios estudiados se obtuvieron valores de circunferencia de cintura considerados como valores de riesgo cardiovascular, pero luego del consumo del producto de cáscara de piña por 15 días algunos de esos valores disminuyeron significativamente hasta encontrarse dentro de los valores considerados normales.

Con estos resultados se podría inferir que el consumo de un residuo agroindustrial como la cáscara de piña, puede presentar un beneficio para la salud disminuyendo medidas de indicadores de riesgo cardiovascular como lo son la circunferencia de cintura y el IMC y la disminución de peso, ya que el aumento progresivo de este favorece el desarrollo de enfermedades cardiovasculares y el estado de estrés oxidativo, además de otras patologías.

Tras el análisis de ingesta por recordatorio de los voluntarios, no se encontraron diferencias significativas en cuanto al aporte de energía total por efecto del consumo de la cáscara de piña. Estos resultados se aprecian en la tabla 8, obteniendo una media de consumo de kcal de 2146,23 de ingesta diaria; valores similares de ingesta se encontraron en una población incluida en el estudio PREDIMED, realizado sobre una muestra de pacientes con síndrome metabólico (Babio y col. 2012).

Así pues, se observó que el consumo de carbohidratos corresponde a un 31-32% de la energía total de la dieta en los voluntarios antes y después del consumo del

producto. La ingesta de hidratos de carbono es inferior a las recomendaciones establecidas por la OMS, que estiman que la ingesta de este grupo en macronutrientes debería ser del 45-60%. De la misma forma que con el consumo de hidratos de carbono totales, no encontramos diferencias significativas en el consumo de proteínas antes y después, con una ingesta proteica media del 9-10%, por lo tanto está dentro de lo establecido por la OMS (10-15%). También el consumo medio de lípidos en la población antes y después es inferior a las recomendaciones siendo del 8-9%, no observándose diferencias significativas entre ambos grupos.

Por otro lado, la ingesta de fibra dietética es de $19,12 \pm 8,49$ g/día en los voluntarios antes del consumo del producto y de $20,45 \pm 9,16$ g/día después del consumo del producto, no se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos. Este consumo de fibra se encuentra por debajo de las recomendaciones que se establecen en más de 25 g/día para la población adulta. Este resultado es inquietante, teniendo en cuenta que dietas con un alto contenido en fibra tienen un efecto positivo sobre la reducción de los niveles en sangre de colesterol y triglicéridos de colesterol plasmáticos y los valores de triglicéridos plasmáticos (Sirtori y col., 2009).

5.4.2. Evaluación bioquímica

La obesidad, que emerge como una epidemia en los últimos años es considerada como un determinante patogénico de interés para el desarrollo de enfermedades cardiovasculares. Por su parte, el colesterol total y los triglicéridos se asocian con la adiposidad y la distribución centralizada de la grasa, y permiten demostrar las alteraciones metabólicas vinculadas a esta, tal como el estrés oxidativo (Manzano y col., 2007).

Tras el consumo del producto a base de cáscara de piña durante 15 días consecutivos se observó una disminución aunque no significativa ($p < 0,05$) en los niveles de glucemia, triglicéridos y colesterol VLDL. Sin embargo, después del consumo, sí se observó una disminución significativa ($p < 0,05$) de los niveles plasmáticos medios de colesterol total y colesterol LDL en los voluntarios con respecto a los valores basales. El consumo de la bebida antioxidante tiene, por tanto, un efecto beneficioso sobre los valores basales de colesterol plasmático (209,58 mg/dL) en los voluntarios con obesidad y sobrepeso, los cuales estaban por encima de los valores de referencia que se recomiendan por la Organización Mundial de la Salud (Tabla 9) (OMS, 1983).

Múltiples estudios epidemiológicos y de meta-análisis, han mostrado la tendencia observada en este estudio por el efecto de los antioxidantes sobre el perfil lipídico, encontrando una posible asociación, entre la ingesta de suplementos con vitaminas antioxidantes y una disminución en el colesterol total, LDL y triglicéridos con aumento en las HDL, mejorando de esta forma el perfil dislipidémico. En un estudio en el cual administraron en promedio 500 mg/día de vitamina C, por un período de 4 semanas, encontraron que los niveles de LDL y triglicéridos registraron una reducción posterior a la intervención, y un leve aumento de las HDL; sin embargo, en este último, las diferencias no fueron estadísticamente significativas (McRae, 2008).

Se han sugerido varios mecanismos de acción por lo cual el consumo de vitaminas antioxidantes pudiera tener un efecto en el metabolismo de las lipoproteínas, colesterol y triglicéridos. Polidori y col. (2004), propusieron que la vitamina C que se encuentra en la piña puede neutralizar a los radicales libres en la fase acuosa, disminuyendo la posibilidad de un posible daño oxidativo a los lípidos de las moléculas de LDL que

modifique su estructura. Por su parte, Jialal y col. (1990), habían descrito que este efecto, retarda la peroxidación de las LDL, evitando su modificación estructural. De esta manera, al conservar las moléculas de LDL su estructura nativa, son capaces de ser reconocidas por los receptores en hígado para su posterior eliminación, disminuyendo los niveles séricos de estas lipoproteínas.

Respecto al efecto que pueden tener los antioxidantes de la dieta en la atenuación del estrés oxidativo, un estado asociado con elevado riesgo de aterosclerosis, diabetes y obesidad, algunos autores destacan el papel beneficioso de la ingesta de polifenoles, tales compuestos mejoran la disfunción endotelial y disminuyen la susceptibilidad de las LDL a ser oxidadas (Sies y col., 2005).

Los estudios centrados en los efectos de los polifenoles y carotenoides sobre los marcadores de estrés oxidativo son, sobre todo, referentes a la administración de alimentos y/o bebidas, fuentes de estos compuestos antioxidantes. De la misma forma que sucede con los estudios de suplementación de vitaminas y minerales, estas investigaciones también presentan resultados variables, en parte porque, suelen presentar grandes diferencias respecto al contenido de polifenoles y carotenoides en los alimentos y/o bebidas y a su período de administración. Otras condiciones que pueden afectar a la interpretación de los efectos sobre el estrés oxidativo son el número de sujetos, edad, IMC, hábito tabáquico y condiciones de salud de los participantes (Vincent y col., 2007).

Otra forma de abordar la evaluación de estrés oxidativo es la que emplea métodos indirectos, basados en la capacidad antioxidante (Miyazaki y col., 1999). En cuanto a la oxidación del ácido araquidónico presente en las LDL que origina eicosanoides del

tipo isoprostanoideos, se puede hablar sobre el más estudiado y que actualmente es usado de indicador del grado de estrés oxidativo el 8-isoprostano (8-iso PGF_{2a}), este indicador es muy útil en la determinación del estrés oxidativo, especialmente en el proceso de peroxidación lipídica, por ser específico para este último, ser estable y estar en cantidades detectables en todos los tejidos y fluidos corporales.

Así mismo, se ha podido demostrar que los isoprostanos poseen actividad biológica; son potentes vasoconstrictores y activadores de la proliferación de células musculares lisas vasculares y endoteliales; así como también, pueden actuar como potenciales mediadores del daño oxidativo (Moore, 2004). Se ha demostrado también experimentalmente que el 8-isoprostano contribuye a la progresión de la aterosclerosis al inducir parcialmente la activación plaquetaria y ser un potente vasoconstrictor (Minuz y col., 1998).

Es importante destacar que la obesidad en la población general, ha sido asociada con un incremento de la peroxidación lipídica (Davi y col., 2002); el incremento en la peroxidación lipídica puede preceder el desarrollo de aterosclerosis y de hecho, se ha encontrado que la excreción urinaria o la concentración plasmática de 8-isoprostano es más elevada en sujetos con factores de riesgo cardiovascular que en sujetos sanos (Davi y col., 2004).

El interés biomédico por los eicosanoides y particularmente por los isoprostanos, los cuales constituyen isómeros de los prostanoideos, se ha centrado en su calidad biomarcadora de la peroxidación lipídica y de allí su uso potencial como un indicador bioquímico del grado de daño celular inducido por los radicales libres (Reilly y col., 1998).

Según este orden de idea, los resultados de este estudio ponen en evidencia que una pequeña dosis del producto a base de cáscara de piña al día (10 g/día) como complemento antioxidante a la dieta, es eficaz no solo en disminuir el colesterol total y el colesterol LDL, sino que también se evidenció como en un periodo corto de 15 días es capaz de disminuir las variables que representan una respuesta oxidativa como el 8-isoprostano (tabla 9); por lo que se podría esperar que en un periodo mayor pudiera llegar a disminuir el impacto del estrés oxidativo en los voluntarios y así la reducción del IMC y eventos cardiovasculares en los pacientes, ya que el 8-isoprostano puede ser evaluado para estimar el daño oxidativo y como un posible marcador temprano de riesgo cardiovascular.

Urakawa y col., en el 2003 estudiaron los niveles plasmáticos de 8-epi-PGF2 α en hombres obesos y no obesos para investigar la relación del estrés oxidativo con la adiposidad y la resistencia a la insulina. Ellos reportaron que los niveles séricos de 8-epi-PGF2 α fueron significativamente más elevados en los sujetos obesos. Adicionalmente, las concentraciones de 8-epi-PGF2 α correlacionaron en todos los sujetos con el IMC, con la grasa visceral y el área grasa total, así como también con los niveles séricos de insulina en ayunas, lo cual los llevó a concluir que las concentraciones séricas de 8-epi-PGF2 α se encontraban asociados a la adiposidad y a la resistencia a la insulina. Estos resultados apoyan la teoría de que a mayor cantidad de grasa predominantemente central, mayor es el estrés oxidativo (Kanaya y col., 2011).

Un estudio realizado por Kanaya y col., en el 2011, donde evaluaron a 726 pacientes, encontraron que los niveles de 8-isoprostano estaban aumentados en los individuos

con obesidad, especialmente en las mujeres donde el aumento en la grasa corporal total y circunferencia de cintura por encima de los valores normales, estuvieron fuertemente relacionados con este marcador de estrés oxidativo. Partiendo de estas consideraciones y resultados, pudiera ser que al realizar una intervención con antioxidantes, aquellos individuos con mayor porcentaje de masa grasa o con una distribución de grasa a predominio del nivel central, respondan con una disminución en los niveles de estrés oxidativo al ingerir el producto a base de cascara de piña.

5.4.3. Cuantificación de indicadores de riesgo cardiovascular Apo A₁ y Apo B

La Apo A₁ es el principal componente proteínico de las lipoproteínas de alta densidad, que eliminan el colesterol de las células y, por tanto, tienen un efecto de protección frente a la aterosclerosis. Los estudios epidemiológicos demuestran una estrecha correlación entre las concentraciones bajas de HDL o Apo A₁ y la prevalencia de las enfermedades coronarias (Bhatnagar y Durrington, 1997).

Mientras que la Apo B es el principal componente proteínico de las lipoproteínas de baja densidad, que transportan el colesterol a las células y, consecuentemente, contribuyen a la formación de las placas ateroscleróticas en las arterias. Las concentraciones elevadas de Apo B se asocian a las enfermedades cardiovasculares, debido a la estrecha relación entre la Apo B y el grado de la aterosclerosis (Rifai y col., 1999).

Según estudios realizados en una población de los EE.UU., las apolipoproteínas fueron significativamente superiores para predecir mortalidad por enfermedad cardiovascular, que los lípidos convencionales y otros factores de riesgo

cardiovascular (tabaquismo, dislipidemia, hipertensión, obesidad, diabetes y proteína C-reactiva) (Sierra-Johnson y col., 2009).

En este orden de idea se puede destacar que luego del consumo de la cáscara el índice de ApoB/ApoA₁ disminuyó en los voluntarios, lo cual es favorable ya que éste es un estimador fiable del riesgo cardiovascular demostrado en diversos estudios (Moller y col., 2006; Rifai y col., 1999); según la bibliografía se demostró que el riesgo atribuible poblacional fue de 54 % cuando se empleaba la razón ApoB/ApoA₁ comparado con un 37 % para la mejor medida lipídica convencional (colesterol-LDL/colesterol-HDL), estas conclusiones pusieron en evidencia la superioridad de la relación ApoB/ApoA₁ en todos los grupos étnicos, sexos y edades para predecir el riesgo cardiovascular de las lipoproteínas (Moller y col., 2006).

Los niveles de Apo B después del consumo del producto a base de cáscara de piña disminuyeron significativamente ($p < 0,05$) en los voluntarios como se evidencia en la tabla 10 y figura 5, por lo que se puede estimar que el consumo de ésta ayuda a disminuir el riesgo cardiovascular en los voluntarios; ya que los niveles elevados de Apo B se relacionan de modo positivo con los niveles de colesterol total y con los de colesterol LDL, lo que indicaría un mayor riesgo cardiovascular (Marrugat y col., 2005).

5.4.4. Separación de las subfracciones de LDL

Diversos estudios han demostrado que existen subespecies de estas lipoproteínas con distintas propiedades bioquímicas y metabólicas; se ha descrito una subespecie de LDL de menor tamaño y más denso, denominado fenotipo aterogénico, que está asociada con niveles elevados de triglicéridos, VLDL y de Apo B, y niveles bajos de HDL y de Apo A₁. Es evidente que todas estas moléculas por separado están

relacionadas con la aparición precoz de la enfermedad arterial coronaria (Giampaoli y col., 2001).

En este estudio se evaluó la determinación de estas subfracciones de lipoproteínas pequeñas y densas utilizando la técnica de electroforesis en geles de poliacrilamida. La electroforesis, es una de las metodologías más sencillas y rápidas para la separación de subfracciones de lipoproteínas; el uso de poro del gel al 4% permitió una buena resolución de la fracción de LDL, sin embargo, no permitió una separación de las fracciones de VLDL, la cual se encontraba en muchos casos cerca o en el origen del gel. La tinción específica de las lipoproteínas con negro de Sudán, evidenció un patrón único para cada paciente, pudiendo presentar una o dos bandas ubicadas, en las regiones definidas para los patrones A o B.

Para la caracterización de bandas de LDL, se basaron los resultados en el índice Rf, donde se toman las bandas de lipoproteínas ubicadas por encima de un Rf de 0,36 como correspondientes a LDL patrón B que son altamente aterogénicas.

Los voluntarios cuyos valores basales de colesterol y LDL se encontraron por encima de 200 mg/dL y 120 mg/dL respectivamente, presentaron una distribución de lipoproteínas con Rf por encima de 0,36, lo cual pudiera indicar que estas lipoproteínas son de menor tamaño y corresponderían al denominado patrón B. Luego del consumo del producto a base de cáscara de piña disminuyeron tanto los niveles de colesterol total y colesterol-LDL, así como los valores de Rf en estos voluntarios; las lipoproteínas correspondientes al patrón A se encontraron siempre en mayor proporción en los voluntarios y luego del consumo del producto la tendencia fue un incremento perfil A o ausencia del perfil B.

6. CONCLUSIONES

Del siguiente trabajo se puede concluir y recomendar los siguientes puntos:

- Se demostró la factibilidad de elaborar un producto a base de cáscara de piña, sin aditivos químicos, estable en el tiempo de acuerdo a los resultados obtenidos en valores de humedad, actividad de agua, pH, acidez y calidad microbiológica, por lo que puede ser incorporado en la dieta diaria, como un producto con calidad e inocuidad apto para el consumo.
- El producto a base de cáscara de piña tuvo una aceptación favorable entre los consumidores encuestados, logrando obtener un producto agradable al consumo. Se recomienda para próximas reformulaciones mejorar la dispersabilidad del producto mediante una mejor granulometría.
- El desarrollo de este producto genera un mayor aprovechamiento de la fruta, ya que el 60% de la piña procesada es cáscara, que termina siendo desechada.
- El patrón de ingesta alimentaría es similar antes y después del consumo del producto a base de cáscara de piña; por tanto, las diferencias en los parámetros bioquímicos observadas no se pueden atribuir a la alimentación.
- El consumo del producto a base de cáscara de piña tiene un efecto reductor del índice de masa corporal y la circunferencia de cintura, disminuyendo así el riesgo de morbilidad relacionado con la obesidad.
- El valor promedio inicial de colesterol total y LDL en los voluntarios con obesidad y sobrepeso eran superiores al rango de normalidad para la población adulta. El consumo del producto a base de cáscara de piña tiene un efecto de mejora sobre estos valores, que descendieron hasta el límite superior del rango de normalidad.

- Se evidenció que después del consumo del producto a base de cáscara de piña hubo una modificación en el patrón de bandas de la electroforesis; aumentando la aparición del patrón A (no aterogénico) por lo que la presencia del patrón B en los voluntarios disminuyó.
- Los niveles de Apo B luego del consumo del producto disminuyeron significativamente ($p < 0,05$), por lo que se puede predecir que el consumo de éste ayuda a disminuir el riesgo cardiovascular en los voluntarios evaluados.
- El consumo del producto a base de cáscara de piña disminuyó los valores del 8-isoprostano en los voluntarios, luego de su consumo consecutivo por 15 días, pero no se encontrando diferencias significativas respecto a los valores iniciales; por lo que se puede predecir que un periodo mayor puede producir una disminución significativa de los valores medios de isoprostanos y así disminuir el daño oxidativo en los voluntarios.
- Los resultados del trabajo permiten concluir que en los voluntarios con sobrepeso y obesidad existe un incremento en los valores de los indicadores de daño oxidativo y una disminución del estado de las defensas antioxidantes, lo que evidencia una situación de estrés oxidativo; condición que se pudo mejorar durante el estudio consumiendo el producto a base de cáscara de piña.
- La piña es un subproducto que se desecha, pero que se puede reutilizar por sus propiedades beneficiosas para la salud como lo demuestran todos los resultados.

8. BIBLIOGRAFÍA

- AACC. 2003. American Association of Cereal Chemists. Laboratory Approved Methods. Décima edición. Pub. por AACC, St. Paul, Minnesota, Estados Unidos.
- Aldershvile, J., Ambrosio, G., Bayés de Luna, A., Badimon, L., Bertrand, M.E., Cleand, J., y col. 1998. Estrés oxidativo (especies de oxígeno reactivo), patología cardiovascular (Parte I). *Eur. Cardiol. J.* **3(72)**: 3.
- Alzamora, S. M. 1997. Preservación I, alimentos conservados por factores combinados, en: temas en tecnología de alimentos. Ediciones J.M. Aguilera. Vol.1. México, D.F., México.
- Ames, B., Shigena, M., Hagen, T. 1993. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. *P. Natl. Acad. Sci. USA* **90 (17)**:7915-7922.
- AOAC. 2010. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis. Edición 18. Pub. por AOAC International, Gaithersburg, Maryland, USA.
- Azcona, C., Romero, A., Bastero, P., Santamaría, E. 2005. Obesidad Infantil. *Rev. Españ. de Obesi.* **3(1)**: 26-39.
- Babio, N., Sorlí, M., Bulló, M., Basora, J., Ibarrola-Jurado, N., Fernández-Ballrat, J. y col. 2012. Association between red meat consumption and metabolic syndrome in a Mediterranean population at high cardiovascular risk: Cross-sectional and 1-year follow-up assessment. *Nutr. Metab. y Cardio. Dises.* **22**: 200-207.
- Bhatnagar, D., Durrington, P.N. 1997. Measurement and clinical significance of apolipoproteins A₁ and B. Ediciones Handbook of lipoprotein testing. Washington: AACC Press.

- Botero, M., Ricaurte, S., Monsalve, C., Rojano, B. 2007. Capacidad reductora de 15 frutas tropicales. *Sci. Et. Tech.* **XIII (33)**: 296.
- Camacho, G. 2004. Obtención y conservación de pulpas de frutas: Tecnología de obtención de conservas de frutas. Conferencia Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos I.C.T.A.; Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.
- Carranco, M., Ma. Calvo, M. y Pérez-Gil, F. 2011. Carotenoides y su función antioxidante: Revisión Departamento de Nutrición Animal. Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. México, D.F. *ALAN.* **61 (3)**
- Castañeda, C. Ramos, LL. E., Ibáñez, V. L. 2008. Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. *Rev. Hori. Med.* **8(1)**: 56-72.
- Céspedes Cabrera, T., Sánchez Serrano, D. 2000. Algunos aspectos sobre el estrés oxidativo, el estado antioxidante y la terapia de suplementación. *Rev. Cub. Cardiol.* **14(1)**:55-60.
- Clementz, A., Delmoro, J. 2011. Snacks frutales. *Invenio.* **14(27)**: 153-163.
- Costell, E. 2003. El análisis sensorial en el control y aseguramiento de la calidad de los alimentos: una posibilidad real. *Agro. Csic.* 1-10
- COVENIN.1987.La Comisión Venezolana de Normas Industriales. Norma Venezolana. Venezuela.
- COVENIN.1990.La Comisión Venezolana de Normas Industriales. Norma Venezolana. Venezuela.
- COVENIN.1996.La Comisión Venezolana de Normas Industriales. Norma Venezolana. Venezuela.

- COVENIN.1998.La Comisión Venezolana de Normas Industriales. Norma Venezolana. Venezuela.
- COVENIN.2001.La Comisión Venezolana de Normas Industriales. Norma Venezolana. Venezuela.
- Cueto, D., Pérez, E., Pérez, L., Ojeda, C., Bastidas, M. 2014. Propiedades físicas, fisicoquímicas y funcionales de un producto en polvo a base de cáscara de piña y linaza. Congreso Iberoamericano de Ingeniería de Alimentos CIBIA9, Libro de Actas. Valencia, España **3**: 387-392.
- Davi, G., Falco, A., Patrono, C. 2004. Determinants of F2-isoprostane biosynthesis and inhibition in man. *Chem. Phys. Lipids*. **128**: 149–163.
- Davi, G., Guagnano, M.T., Ciabattini, G., Basili, S., Falco, A., Marinopicolli, M., y col. 2002. Platelet activation in obese women: role of inflammation and oxidant stress. *Jama*. **288**: 2008–2014.
- Escott-Stump, S. 2005. Nutrición y Dietoterapia de Krause. McGraw-Hill Interamericana, Décima Edición, Madrid, España.
- Esterbauer, H., Gebicki, J., Puhl, H., Jurgens, G.1992. The role of lipid peroxidation and antioxidants in the oxidative modification of LDL. *Free Radical Bio. Med.* **13 (4)**: 341-90.
- Fernández, F., Linares, F., Rodríguez. 2008. Ultrasound as pre-treatment for drying of pineapple. *Elsevier*. **15**: 1049-1054
- Free Radical Brochure. Randox Laboratories Ltd.

- García, J. 2014. Efecto de una bebida antioxidante sobre biomarcadores de estrés oxidativo y riesgo cardiovascular en pacientes con síndrome metabólico. Tesis doctoral, Universidad Católica San Antonio. Murcia. España.
- García, M., Serrano, H. 2005. La piña, *Ananas comosus* (L.) Merr. (*Bromeliaceae*), algo más que un fruto dulce y jugoso. *Contactos*. **56**: 55-61.
- Giampaoli, S., Panico, S., Palmieri, L., Magrini, N., Ferrario, M., Pede, S., y col. 2001. Gruppo di ricerca dell'Osservatorio epidemiologico cardiovascolare. Identification of individuals with high coronary risk in the Italian population: indications of the epidemiologic cardiovascular observatory. *Ital. Heart. J.* **2(10)**:1098-1106.
- Giese, J. 1995. Measuring physical properties of foods. *Food Technol.* **49(2)**:54-63.
- Giraldo, G., Duque, García, C. 2005. Métodos combinados de secado para el escarchado de mango (*Mangifera indica*) var. Kent. *Vitae* **12(2)**: 5-12.
- González, J., Jiménez, A., Quevedo, E., Guzmán, R. 2015. Correlación de sobrepeso y obesidad con la presión arterial en adultos mayores en una unidad de primer nivel en Tabasco. *Horiz. Sant.* **14(1)**: 7-13.
- Gould, G. 1989. Introduction. En mechanisms of action of food preservation procedures. Ed. GW Gould. Essex, UK. Elsevier Applied Science.
- Guido, M y col. 1983. Guía para el cultivo de la piña *Ananas comosus*. *IICA*. **443**: 1-20.
- Guzik, T.J. 2002. Mechanisms of increased vascular superoxide production in human diabetes mellitus. *Circulation*. **105**: 1656-1662.

- Havsteen B: Flavonoids. A class of natural products of high pharmacological potency. *Biochem Pharmacol*, 1983, **32**:1141-1148.
- Higdon, J., Frei, B. 2003. Obesity and oxidative stress: a direct link to CVD. *Arteri. Thromb. Vasc. Biol.* **23**: 365-7.
- Hunter Lab. Manual. 2001. Hunter associates laboratory universal software version 3.8. ISO 9001 certified. 55p.
- International Commission on Microbiological: Specification for Foods (ICMSF).1980. Ecología microbiana de los alimentos: factores que afectan a la supervivencia de los microorganismos en los alimentos. Volumen I, Editorial Acribia, Zaragoza, España.
- Jialal, I., Vega, G.L., Grundy, S.M. 1990. Physiologic levels of ascorbate inhibit the oxidative modification of low density lipoprotein. *Atherosclerosis.* **82(3)**:185-91
- Jorba, O., Ordóñez, J. 2006. Heterogeneidad de las subfracciones de las lipoproteínas de baja densidad. *Clin. Invest. Arterioscl.* **18(1)**:27-34.
- Kanaya, A., Wassel, C., Stoddard, P., Harris, T., Cummings, S., y col. 2011. F2-isoprostanos and adiposity in older adults. *Obesity.* **19(4)**: 861–867.
- Klein, S., Allison, D., Steven, B., Kelley, D., Rudolph, L., Nonas, C. 2007. Circumference and cardio metabolic risk: a consensus statement from shaping America's health: association for weight management and obesity prevention; NAASO, the obesity society; the American society for nutrition; and the American diabetes association. *Am. J. Clin. Nutr.* **85**:1197-1202.

- Kyaw, P., Shing, C., Luben, R., Wareham, N., Khaw, K. 2014. Body fat percentage, body mass index and waist-to-hip ratio as predictors of mortality and cardiovascular disease. *Heart*. **100(20)**: 1613-1619.
- Lares, M., Velazco, Y., Brito, S., Hernández, P., Mata, C. 2011. Evaluación del estado nutricional en la detección de factores de riesgo cardiovascular en una población adulta. *Rev. Lati. Hipert.* **6(1)**:1-7.
- Larson, R. 1997. Naturally occurring antioxidants. CRC Press LLC 2000, Primera edición, Florida, E.U.A.
- León, J. 2000. Botánica de los cultivos tropicales. Tercera edición, IICA, Costa Rica.
- Lima, A., Bezerra M., Moraes L., Marques M., Aguiar T. 2009. Caracterização química e nutricional, e capacidade antioxidante in vitro de resíduo de polpa de abacaxi (*Ananas comosus L.*). *Nutrire: Rev. Soc. Bras. Alim. Nutr.* **34**: 131.
- Lomonte, B. 2007. Manual de Métodos Inmunológicos: Electroforesis en gel de poliacrilamida. Universidad de Costa Rica.
- Magallanes, J., Salcedo, N. 2013. Extracción, caracterización y secado por aspersion de bromelina cruda obtenida a partir de residuos de Piña “Perolera” (*Ananas comosus*). Tesis de Licenciatura. Escuela superior politécnica del litoral. Guayaquil, Ecuador.
- Mancini, G., Carbonara, A., Heremans J. 1965. Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. *Immunochemistry*. **2(3)**: 1-235.

- Manzano, E., Espinoza, D., Barhr, P., Sanfiel, L. 2007. Marcadores bioquímicos del estrés oxidativo en pacientes hipertensos esenciales no tratados. *Rev. Cubana Invest. Biomed.* **26(2)**: 1-9.
- Marrugat, J., Solanas, P., D'Agostino, R. 2005. Estimación del riesgo coronario en España mediante la ecuación de Framingham calibrada. *Rev. Esp. Cardiol.* **56(03)**: 253-261.
- Martínez, M. 1995. Oxygen free radicals and human diseases. *Biochemic.* **77**: 147-61.
- Mathews, C., van Holde, K., Ahern, K. 2008. Bioquímica. Tercera Edición. Editorial Pearson Educación. España.
- McRae, M. 2008. Vitamin C supplementation lowers serum low-density lipoprotein cholesterol and triglycerides: a meta-analysis of 13 randomized controlled trials. *J. Chiropr. Med.* **7(2)**: 48–58.
- Melo, E., Sucupira, M., Arroxelas, V., Nascimento, R. 2008. Capacidad antioxidante de frutas. *Rev. Bras. de Cien. farma.* **44(2)**:193-195
- Ministerio del Poder Popular para la Salud (MPPS). 2007. Anuario de Mortalidad. Dirección General de Epidemiología Dirección de Información Social y Estadísticas. Venezuela
- Minuz, P., Andrioli, G., Degan, M., Gaino, S., Ortolani, R., Tommasoli, R., y col. 1998. The F2- isoprostane 8-epiprostaglandin F2 α increases platelet adhesion and reduces the antiadhesive and antiaggregatory effects of NO. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* **18**: 1248–1256.

- Moller, C.S., Zethelius, B., Sundstrom, J., Lind, L. 2006. Impact of follow-up time and remeasurement of the electrocardiogram and conventional cardiovascular risk factors on their predictive value for myocardial infarction. *J. Intern. Med.* **260(1)**: 22-30.
- Montilla, I., Fernandez, S., Alcalá, D., Gallardo, M. 1997. El cultivo de piña en Venezuela. Editorial Fondo Nacional de Investigaciones agropecuarias. Centro de Investigaciones agropecuarias del estado Lara. Venezuela.
- Moore, K. 2004. Isoprostanes and the liver. *Chem. Phys. Lipids.* **128**: 125-33.
- Moreno, B., García, L., Díez, V. 1983. Microorganismos de los alimentos. Volumen 1, Editorial Acribia. Zaragoza, España.
- Morrow, J.D., Harris, T.M., Roberts, L.J. 1990. Noncyclooxygenase oxidative formation of a series of novel prostaglandins: Analytical ramifications for measurement of eicosanoids. *Anal. Biochem.* **184**: 1-10.
- Murillo, E. 2002. Actividad antioxidante de bebidas de frutas y de Té comercializadas en Costa Rica. Tesis doctoral, Universidad de Panamá/Instituto de alimentación y nutrición (IANUT).
- OMS. 1968. Organización Mundial de la Salud. Monografías 53. Ginebra. Suiza.
- Pace-Asciak CR, Hahn S, Diamandis EP, Soleas G y Goldberg DM.: The red wine phenolics trans-resveratrol and quercetin block human platelet aggregation in eicosanoid synthesis: implication for protection against coronary heart disease. *Clin Chim Acta*, 1995, **235**:207-219.
- Pérez, A., Cartaya, L., Valencia, V., Sanjurjo, V., Ilisástigui, T. 1998. Biosíntesis de los productos del ácido araquidónico y su repercusión sobre la inflamación. *Rev. Cub. Estomatol.* **35 (2)**: 56-61.

- Pérez, E., Gutiérrez, M., Pacheco, E., Tovar, J., Lares, M. 2007. Production and Characterization of *Xanthosoma sagittifolium* and *Colocasia esculenta* flours. *J. Food Sci.* **72 (6)**: 367- 372.
- Pérez, P.L., Pérez, J.L. 2000. Métodos para medir el daño oxidativo. *Rev. Cub. Med. Milit.* **29(3)**: 192-198.
- Polidori, M.C., Mecocci, P., Levine, M., Frei, B. 2004. Short-term and long-term vitamin C supplementation in humans dose-dependently increases the resistance of plasma to ex vivo lipid peroxidation. *Arch. Biochem. Biophys.* **423(1)**:109-15.
- Ramírez, A., Pacheco, E. 2011. Composición química y compuestos bioactivos presentes en pulpas de piña, guayaba y guanábana. *Interciencia.* **36(1)**: 71-75.
- Reilly, M.P., Lawson, J.A., FitzGerald, G.A. 1998. Eicosanoids and isoeicosanoids: indices of cellular functions and oxidants stress. *J. Nutr.* **128(2)**: 434-438.
- Rifai, N., Bachorik, P.S., Albers, J.J. 1999. Lipids, lipoproteins and apolipoproteins. Textbook of clinical chemistry. Tercera edición. Editorial Filadelfia: W.B Saunders Company.
- Rincón, A., Rached, I., Padilla, F. 2011. Compuestos fenólicos y actividad antioxidante en cervezas venezolanas. *Rev. Facd. de Farm.* **74(2)**: 10-16.
- Rojas, O. (2006). Inmunología. 3ª Edición, Editorial Médica Panamericana. México.
- Sahnoun, Z., Jamoussie, K., Zegal, K.M. 1997. Free radicals and antioxidants: human physiology and therapeutic aspects. *Therapics.* **52(4)**:251-270.

- Shoemaker, W., Grenvik, A., Ayres, S., Holbrook, P. 1998. Compendio del tratado de Medicina Crítica y Terapia Intensiva. Editorial Médica Panamericana, Cuarta Edición, Argentina.
- Shoemaker, W., Grenvik, A., Ayres, S., Holbrook, P. 2002. Tratado de medicina crítica y terapia intensiva. Editorial Médica Panamericana, Cuarta Edición, España.
- Sierra-Johnson, J., Fisher, R.M., Romero, V.K., López, F. 2009. Concentration of apolipoprotein B is compatible with the apolipoprotein B/apolipoprotein A-I ratio and better than routine clinical lipid measurements in predicting coronary heart disease mortality: findings from a multi-ethnic US population. *Eur. Heart. J.* **30(6)**: 710-7.
- Sies, H., Stahl, W., Sevanian, A. 2005. Nutritional, dietary and postprandial oxidative stress. *J. Nutr.* **135**: 969-972.
- Sirtori, C., Galli, C., Anderson, J., Sirtori, E., Arnoldi, A. 2009. Functional foods for dyslipidemia and cardiovascular risk prevention. *Nutr. Res. Rev.* **22**: 244-261.
- SISVAN. 2007. Sistema de Vigilancia Alimentaria Nutricional. Estado Nutricional de la población menor de 15 años. Instituto Nacional de Nutrición, Caracas, Venezuela.
- Skelton, J., Irby, M., Grzywacz, J., Miller, G. 2011. Etiologies of obesity in children: nature and nurture. *Pediatr. Clin. N Am.* **58(6)**:1333-54.
- Smith, E. 1990. Transport, interactions and retention of plasma proteins in the intima: The barrier functions of internal elastic lamina. *Eur Heart J.* **Supl. E**: 72-81.
- Stadler, R., Markovic, J., Turesky, R. 1995. In vitro anti- and pro-oxidative effects of natural polyphenols. *Biol. Trace. Elem. Res.* **47**:299-305.
- Thompson, J., Manore, M., Vaughan, L. 2008. Nutrición. Primera Edición. Pearson Education, España.

- Umaña, J., Álvarez, C., Lopera, S., Gallardo, C. 2013. Caracterización de harinas alternativas de origen vegetal con potencial aplicación en la formulación de alimentos libres de gluten. *Rev. Alimentos hoy.* **22(29)**: 33-46.
- Urakawa, H., Katsuki, A., Sumida, Y., Gabazza, E.C., Murashima, S., Morioka, K., y col. 2003. Oxidative stress is associated with adiposity and insulin resistance in men. *J.Clin. Endocrinol. Metab.* **88**: 4673–4676.}
- Valverde, G., Hidalgo, C. y Echandi, L. Aplicabilidad de la fórmula de Friedewald y de un método de precipitación en la determinación del LDL colesterol. *Rev. costarric. cienc. méd.***15(3/4)**:43-50.
- Vega, A., Fito, P. Modelado de la cinética de secado del pimiento rojo (*Capsicum annum L.*) cv Lamuyo. *Rev. Info. Tec.* **16(6)**: 62-69.
- Velez, F., Valery, G. 1990. Plantas alimenticias de Venezuela: autóctonas e introducidas. Fundación Bigott, Sociedad de Ciencias Naturales La Salle. Monografías Nro 37.
- Vicent, H., Innes, H., Vicent, K. 2007. Oxidative stress and potential interventions to reduce oxidative stress in overweight and obesity. *Diabetes Obes. Metab.* **9**: 813-839.
- Voet, D., Voet, J. 2004. Biochemistry. The Expression and Transmission of Genetic Information. Volumen Dos, Ediciones John Wiley y Sons. Tercera Edición. New York, Estados Unidos.
- Weiner, J., Lourie, J. 1981. Practical human biology. Academia Press Inc. London.

- WHO. 1998. World Health Organization. Obesity, Preventing and Managing the Global Epidemic: Report of a WHO Consultation on Obesity. Geneva.
- WHO. World Health Organization. Report 2008. Causes of Death. Summary tables. Geneva.
- Young AJ, Lowe GM. Antioxidant and Prooxidant properties of carotenoids. Archives of Biochem and Biophy. 2001; **385**(1):20-7.
- Witztum, J., Steinberg, D. 1991. Role of oxidized low-density lipoprotein in atherogenesis. *J. Clin. Invest.* **88**(6): 1785-92.
- Ziegler, E., Filer, L.1997. Conocimientos actuales sobre nutrición. Séptima Edición. International Life Sciences Institute, E.U.A.

ANEXOS

Anexo 1. Planilla evaluación sensorial

Planilla de evaluación sensorial de la bebida a base cáscara de piña

Procedimiento a seguir

Previo consentimiento del sujeto de estudio se realizará la evaluación sensorial de la bebida a base de cáscara de piña, con ésta evaluación se determinará la aceptación de la bebida.

Primero usted como panelista deberá tomar un poco de agua y luego probar la muestra entregada e indicar su nivel de agrado o desagrado con respecto a las características en el cuadro inferior. Para calificar cada característica usted deberá otorgarle una calificación del 1 al 9, sabiendo lo siguiente:

1. Me disgusta extremadamente
2. Me disgusta mucho
3. Me disgusta moderadamente
4. Me disgusta ligeramente
5. Ni me gusta ni me disgusta
6. Me gusta ligeramente
7. Me gusta moderadamente
8. Me gusta mucho
9. Me gusta extremadamente

Adicionalmente, si así lo desea puede indicar sus observaciones en el recuadro destinado para tal fin.

Características a evaluar	Puntaje otorgado	Observaciones
Color		
Olor		
Sabor		
Textura		
Apariencia general		

Al finalizar la evaluación deberá entregar esta hoja y colocar los datos solicitados en el espacio destinado para tal fin.

Sexo: _____ Edad: _____

Anexo 2. Consentimiento informado a entregar a los pacientes que participarán en el estudio de intervención.

REPUBLICA BOLIVARIANA DE VENEZUELA
MINISTERIO PARA EL PODER POPULAR DE LA DEFENSA
HOSPITAL MILITAR DR. CARLOS ARVELO
DEPARTAMENTO DE ENDOCRINOLOGIA Y ENFERMEDADES METABOLICAS

Consentimiento Escrito de Aceptación de Protocolo de Estudio

TITULO: EVALUAR EL EFECTO ANTIOXIDANTE DE UNA MEZCLA A BASE DE CÁSCARA DE PIÑA (*Ananas comosus*) EN PACIENTES CON OBESIDAD Y SOBREPESO.

Investigadores responsables:

Br. Adriana Colmenares, Dra. Mary Lares, Dra. Sara Brito, Dra. Elevina Pérez

INTRODUCCIÓN

La obesidad es un problema de desequilibrio de nutrientes, de manera que se almacenan más alimentos en forma de grasa de los que se utilizan para satisfacer las necesidades energéticas y metabólicas, y más del 90% de la energía corporal se almacena en forma de triglicéridos en el tejido adiposo (13). Se conoce que las personas que presentan una condición de sobrepeso y obesidad tienden a desarrollar otras patologías como enfermedades cardiovasculares y formación de radicales libres. Debido a esto es necesario un control en la alimentación para prevenir el desarrollo de estas enfermedades.

Un radical libre es toda sustancia capaz de existir independiente, que contiene uno o más electrones no emparejados, esto es, un electrón impar en una órbita. Cuando un radical libre reacciona con un no radical, se produce un radical nuevo y se pone en marcha una reacción en cadena. Como la mayor parte de las moléculas biológicas no son radicales, la generación de radicales reactivos como el hidroxilo (OH^{\cdot}) in vivo suele iniciar reacciones en cadena (13).

Es bien conocido que el estrés oxidativo se encuentra asociado a altos niveles de radicales libres o especies reactivas de oxígeno, los cuales conllevan a una variedad de lesiones bioquímicas y fisiológicas que pueden resultar en disfunción metabólica y muerte celular (2).

El estrés oxidativo está asociado con diferentes patologías crónicas, que incluyen cáncer, diabetes y enfermedades cardiovasculares. Los radicales libres, como las especies reactivas de oxígeno (ROS) son producidas por procesos metabólicos en el cuerpo humano o por exposición al ozono, rayos X, polución, medio ambiente contaminado y humo de cigarrillo (6). Bajo condiciones normales, las enzimas como superóxido dismutasa, catalasas, lactoperoxidasas y glutatión peroxidasa actúan como antioxidantes, protegiendo a las células del daño oxidativo por ROS. Un

desbalance entre la producción de ROS y el sistema antioxidante natural da lugar al estrés oxidativo(1).

La piña uno de esos alimentos considerados milagrosos en las dietas de adelgazamiento. Es cierto que la piña, como fruta que es, tiene muchos beneficios a nivel de aporte vitamínico, mineral, fibra y agua, pero de ahí a tener efecto quemagrasa deja mucho que desear. El fruto es rico principalmente en Vitamina C y fibra. La Dra. Rodríguez de Arend encontró de ácido fólico libre (sin filtrar), 14 mcg y de ácido fólico total (sin filtrar), 17 mcg. Indica Lovenberg que contiene serotonina, de 20 a 25 mcg. Este fruto también contiene una sustancia llamada bromelina, que tiene la propiedad de digerir las proteínas (12).

Los polifenoles, productos secundarios de los vegetales, constituyen un amplio y complejo grupo de fitoquímicos, con más de ocho mil estructuras conocidas (9). Los compuestos fenólicos de la fracción hidrofílica de las frutas como la piña, son responsables por más del 90% de la capacidad antioxidante total (9); la capacidad antioxidante de los polifenoles es debida principalmente a sus propiedades reductoras, cuya intensidad de acción antioxidante exhibida es diferente dependiendo fundamentalmente del número y posición de los grupos hidroxilos presentes en la molécula (9).

En este orden de ideas se puede destacar que, la pulpa de piña posee un total de 8.91 mg de polifenoles totales por cada 100 g de fruta en base seca (11) y una capacidad antioxidante de 20 μ A, capacidad que coloca a la piña por encima de frutas como la guayaba, el maracuyá, el lulo, el melón y el tomate de árbol (4).

La cáscara de la piña es un subproducto del proceso de industrialización de la piña, estos residuos constituyen hasta el 65% del fruto, por lo cual, su aprovechamiento de diversas formas constituye una fuente alternativa que le da un valor agregado, lo que resulta ventajoso desde el punto de vista económico y ambiental. Algunos subproductos del procesamiento industrial de las frutas han sido clasificados como fuentes de fibra dietética de hasta 70,6%, miricetina, responsable de la actividad antioxidante encontrada en este subproducto (5).

Los productos del daño oxidativo resultan en macromoléculas que se han identificado previamente en materiales biológicos como plasma, células en sangre y orina, y servir como Biomarcadores de daño oxidativo. Cuando el daño oxidativo ocurre en el ADN, los productos resultantes son usualmente eliminados por enzimas reparadoras y que pueden ser detectadas como derivados nucleósidos. El 8-isoprostano es una prostaglandina, perteneciente a la clase isoprostano F2 que se produce in vivo por la peroxidación catalizada por radicales libres de ácido araquidónico (7). Las cantidades de 8-isoprostano en el plasma y orina son consideradas como uno de los mejores índices de peroxidación lipídica y estrés oxidativo corrientemente evaluable. Las fuentes de radicales libres que pueden contribuir a la formación de isoprostano incluyen la cadena de transporte de electrones en la mitocondria, oxidasas, óxido nítrico sintetasa y reacciones de transición de metales catalizados por iones(8). Los isoprostanos son bioactivos y están presentes en lesiones ateroscleróticas y se forman cada vez más en personas con enfermedad coronaria independiente de otros factores de riesgo. Además una disminución en la producción de isoprostano puede atenuar el riesgo de desarrollo de enfermedad cardiovascular(10, 3).

OBJETIVO DEL ESTUDIO

Evaluar el efecto antioxidante de una mezcla a base de cáscara de Piña (*Ananas comosus*) en pacientes con obesidad y sobrepeso en el Hospital Militar "Carlos Arvelo".

PROCEDIMIENTO A SEGUIR

Previo consentimiento del sujeto de estudio se realizará la historia clínica. Luego se le realizará una evaluación nutricional que constará de:

- Mediciones Antropométricas (peso corporal, estatura y circunferencias de cintura y cadera, siguiendo la metodología del Programa Internacional de Biología para la determinación del indicador: Índice de Masa Corporal (IMC).
- Valoración Dietética, a través de la realización de una encuesta por recordatorio de 24 horas, que es un método directo de consumo de alimentos de la población a estudiar.

Posteriormente se tomará una muestra de sangre periférica de vena cubital, 30mL de sangre luego de 14 horas de ayuno. Con la finalidad de realizar la evaluación bioquímica del paciente, donde se medirán los parámetros:

- Colesterol, Triglicéridos, Colesterol HDL, Colesterol LDL, Glicemia, Glucosa, Creatinina y Ácido Úrico empleando kits por método enzimático colorimétrico de Roche Diagnostico C.A.
- Se determinarán biomarcadores de estrés oxidativo mediante el Ensayo de Inmuno Adsorción Ligado a Enzimas (ELISA) empleando kits comerciales.

Esto con el objetivo de obtener los valores iniciales del paciente antes de realizar el estudio.

Posterior a esto se le suministrará a cada sujeto de estudio el recipiente con el producto a base de piña (*Anana comosus*), indicándole que deben consumir 10 mg/día (medido con la medida suministrada), mezclados en un vaso de agua en ayunas durante un periodo de tiempo de un mes.

Al culminar el mes del consumo del producto se le repetirán la evaluación nutricional y la evaluación bioquímica a cada sujeto de estudio, para evaluar el efecto antioxidante del producto a base piña (*Ananas comosus*) en pacientes.

GARANTIA DE CONFIDENCIALIDAD

Solo el investigador y sus asociados, tendrán acceso a los datos confidenciales que identifican al sujeto en estudio por su nombre. Su identificación no aparecerá en ningún informe ni publicación, resultante del presente estudio y sus resultados solo serán usados para fines científicos.

REFERENCIAS

1. Aldini G, Yeum K-J, Niki E, Russell R. 2010. Biomarkers for Antioxidant Defense and Oxidative Damage. Iowa, USA: Blackwell Publishing; 333 p. p.
2. Ames, B., Shigena, M., Hagen, T. 1993. Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. P NATL ACAD SCI USA 90 (17):7915-7922.
3. Barocas DA, Motley S, Cookson MS, Chang SS, Penson DF, Dai Q, et al. 2011. Oxidative Stress Measured by Urine F2-Isoprostane Level is Associated with Prostate Cancer. THE JOURNAL OF UROLOGY. 185 (6):2102-7.
4. Botero, M., Ricaurte, S., Monsalve, C., Rojano, B. 2007. Capacidad reductora de 15 frutas tropicales. SCI ET TECH. XIII (33): 296.
5. Cueto, D., Pérez, E., Pérez, L., Ojeda, C., Bastidas, M. 2014. Propiedades físicas, fisicoquímicas y funcionales de un producto en polvo a base de cáscara de

piña y linaza. Congreso Iberoamericano de Ingeniería de Alimentos CIBIA9, Libro de Actas. Valencia, España 3: 387-392.

6. Feijóo M, Túnez I, Ruiz A, Tasset I, Muñoz E, Collantes E. 2010. Oxidative stress biomarkers as indicator of chronic inflammatory joint diseases stage. *Reumatología Clínica (Edición en inglés)*. 6(2):91-4.

7. Gil, A., Sánchez, F. 2010. Tratado de Nutrición. Bases Fisiológicas y Bioquímicas de la Nutrición. Segunda Edición. Volumen uno. Editorial Médica Panamericana, S.A. Madrid, España.

7. Kromer BM, Kaski JC, Murday A, Madden B, Tippins JR. 1998. Isoprostano, 8-Epl prostaglandin Fillegible, in the pathogenesis of ischaemic heart disease. *Journal of the American College of Cardiology*. 31, Supplement 2(0):468.

8. Liu X, Whitefield PD, Ma Y. 2010. Quantification of F2-isoprostane isomers in cultured human lung epithelial cells after silica oxide and metal oxide nanoparticle treatment by liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Talanta*. 81(4–5):1599-606.

9. Melo, E., Sucupira, M., Arroxelas, V., Nascimento, R. 2008. Capacidade antioxidante de frutas. *Revista brasileira de ciencias farmacêuticas*. 44(2):193-195

10. Obregón O, Gestne A, Lares M, Castro J, Stulin I, Martínez J, et al. 2011. Efectos tempranos de las estatinas: inflamación y oxidación. *Clínica e Investigación en Arteriosclerosis*. 23(6):269-74.

11. Ramírez, A., Pacheco, E. 2011. Composición química y compuestos bioactivos presentes en pulpas de piña, guayaba y guanábana. *INTERCIENCIA* 36(1): 71-75.

12. Velez, F., Valery, G. 1990. Plantas alimenticias de Venezuela: autóctonas e introducidas. Fundación Bigott, Sociedad de Ciencias Naturales La Salle. Monografías Nro 37.

13. Ziegler, E. y Filer, L. 1997. Conocimientos actuales sobre nutrición. Séptima Edición. International Life Sciences Institute, E.U.A.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo _____, CI _____

mayor de edad y de este domicilio, hago constar que deseo participar de forma libre y voluntaria en la realización del Trabajo de Investigación titulado: **EVALUAR EL EFECTO ANTIOXIDANTE DE UNA MEZCLA A BASE DE CÁSCARA DE PIÑA (*Ananas comosus L.*) EN PACIENTES CON OBESIDAD Y SOBREPESO.**

Comprendo la naturaleza de este estudio, igualmente aseguro que se me ha informado de los basamentos de la investigación.

Nosotros Sara Brito C.I.4.557.468, Mary Lares CI. 8.842.814, Adriana Colmenares CI. 20.154.496 Mayores de edad y de este domicilio, declaramos que explicamos los procedimientos, objetivos del presente estudio; otorgando al paciente tiempo suficiente para decidir su participación y aclaré las dudas que surgieron.

Yo _____, CI _____

Certifico como testigo lo anteriormente expuesto.

Fecha:

Firma Paciente

Firma Investigador

Firma Investigador

Firma Investigador

Firma Testigo

Anexo 3. Aprobación del comité de ética e investigación del Hospital Militar “Dr. Carlos Arvelo”

REPUBLICA BOLIVARIANA DE VENEZUELA
 MINISTERIO DEL PODER POPULAR PARA LA DEFENSA
 VICEMINISTERIO DE SERVICIOS, PERSONAL Y LOGISTICA
 DIRECCION GENERAL DE SALUD
 HOSPITAL MILITAR “DR. CARLOS ARVELO”
 COMITÉ DE ÉTICA



APROBACION DEL COMITÉ DE ÉTICA E INVESTIGACION

TITULO DEL ESTUDIO:

“EVALUAR EL EFECTO ANTIOXIDANTE DE UNA MEZCLA A BASE DE CÁSCARA DE PIÑA (Ananas Comosus L.) EN PACIENTES CON OBESIDAD Y SOBREPESO”

El Comité de Ética del Hospital Militar “Dr. Carlos Arvelo”, luego de analizar el proyecto de Investigación y de acuerdo a los Principios Internacionales y de Buena Practica Clínica y las regulaciones locales, aprueba el Trabajo de Investigación solicitado por las ciudadanas **Br. Adriana Colmenares, Dra. Mary Lares y Dra. Sara Brito**, Jefe del Departamento de Endocrinología y Enfermedades Metabólicas de este Hospital Militar.

Firma  Fecha 30 07 2015

Nombre: Cnel. Dr. Alfonso Rodulfo Mata
 Cargo: Presidente del Comité de Ética.
 Institución: Hospital Militar “Dr. Carlos Arvelo”
 Dirección de la Institución: Av. José Ángel Lamas, San Martín, Caracas, Venezuela.

Lista de los Miembros del Comité de Ética:

Nombre	Profesión	Cargo dentro del C.E
Cnel. Dr. Alfonso Rodulfo Mata	Pediatra-Inmunólogo-Toxicólogo	Presidente
Dr. Pedro Luis Márquez	Internista-Lic. Filosofía	Miembro
C.C. Dr. José Lisandro Pabón	Psiquiatra-Farmacólogo	Miembro
Tcnel. Dr. Ramón Manzano	Traumatólogo	Miembro
May. Arelis Suárez	Farmacéutico Hospitalario	Miembro
Pbro. Gustavo Espinosa	Capellán Militar	Miembro
Lic. Carline García	Nutricionista Clínica-Bioeticista	Secretaria
Dr. Joao Mauricio De Sousa	Cirujano General	Miembro
Lic. Nelva Orozco	Lic. Enfermería	Miembro
Dr. José Torres	Médico Residente	Miembro
Ier. Tte. Lic. Marcos Moreno	Lic. Enfermería-Bioeticista	Miembro
Sra. Vilma Orellana	Auxiliar Enfermería	Miembro
Lic. Argenis Aldana	Abogado	Miembro

Anexo 4. Tablas de conversión para la cuantificación de ApoA1 y ApoB.

APOLIPOPROTEINA A ₁			APOLIPOPROTEIN A ₁		
LOT A160.12		VALORI NORMALI / NORMAL VALUE			
2014/06		WHO 102-215 mg/dl		IFCC 63-134 mg/dl	
TABELLA DI CONVERSIONE / CONVERSION TABLE					
DIAMETRO DIAMETER	mg/dl WHO	mg/dl IFCC	DIAMETRO DIAMETER	mg/dl WHO	mg/dl IFCC
4	30,2	18,8	7,6	255,1	158,7
4,1	34,6	21,5	7,7	263,3	163,8
4,2	39,0	24,3	7,8	271,7	169,1
4,3	43,6	27,1	7,9	280,1	174,3
4,4	48,3	30,1	8	288,7	179,7
4,5	53,1	33,0	8,1	297,4	185,1
4,6	58,0	36,1	8,2	306,1	190,5
4,7	63,0	39,2	8,3	315,0	196,0
4,8	68,1	42,4	8,4	324,0	201,6
4,9	73,3	45,6	8,5	333,1	207,3
5	78,7	49,0	8,6	342,3	213,0
5,1	84,1	52,3	8,7	351,6	218,8
5,2	89,7	55,8	8,8	361,1	224,7
5,3	95,3	59,3	8,9	370,6	230,6
5,4	101,1	62,9	9	380,2	236,6
5,5	107,0	66,6	9,1	390,0	242,7
5,6	112,9	70,3	9,2	399,8	248,8
5,7	119,0	74,1	9,3	409,8	255,0
5,8	125,2	77,9	9,4	419,9	261,3
5,9	131,5	81,8	9,5	430,0	267,6
6	137,9	85,8	9,6	440,3	274,0
6,1	144,4	89,9	9,7	450,7	280,5
6,2	151,1	94,0	9,8	461,2	287,0
6,3	157,8	98,2	9,9	471,8	293,6
6,4	164,6	102,4	10	482,5	300,2
6,5	171,6	106,8	10,1	493,4	307,0
6,6	178,6	111,1	10,2	504,3	313,8
6,7	185,8	115,6	10,3	515,3	320,7
6,8	193,1	120,2	10,4	526,5	327,6
6,9	200,4	124,7	10,5	537,7	334,6
7	207,9	129,4	10,6	549,1	341,7
7,1	215,5	134,1	10,7	560,6	348,8
7,2	223,2	138,9	10,8	572,2	356,1
7,3	231,0	143,7	10,9	583,8	363,3
7,4	238,9	148,7	11	595,6	370,6
7,5	247,0	153,7	11,1	607,5	378,0

APOLIPOPROTEINA B APOLIPOPROTEIN B

LOT A095.13
2015/04

VALORI NORMALI / NORMAL VALUE	
WHO 60-145 mg/dl	IFCC 43-104 mg/dl

TABELLA DI CONVERSIONE / CONVERSION TABLE

DIAMETRO DIAMETER	mg/dl WHO	mg/dl IFCC
4	15,0	10,7
4,1	17,2	12,3
4,2	19,4	13,9
4,3	21,8	15,6
4,4	24,1	17,2
4,5	26,6	19,0
4,6	29,0	20,7
4,7	31,6	22,6
4,8	34,2	24,5
4,9	36,8	26,3
5	39,5	28,3
5,1	42,2	30,2
5,2	45,0	32,2
5,3	47,9	34,3
5,4	50,8	36,3
5,5	53,8	38,5
5,6	56,8	40,6
5,7	59,9	42,8
5,8	63,0	45,1
5,9	66,2	47,4
6	69,5	49,7
6,1	72,7	52,0
6,2	76,1	54,4
6,3	79,5	56,9
6,4	83,0	59,4
6,5	86,5	61,9
6,6	90,0	64,4
6,7	93,7	67,0
6,8	97,3	69,6
6,9	101,1	72,3
7	104,9	75,0
7,1	108,7	77,8
7,2	112,6	80,5
7,3	116,6	83,4
7,4	120,6	86,3
7,5	124,6	89,1

DIAMETRO DIAMETER	mg/dl WHO	mg/dl IFCC
7,6	128,7	92,1
7,7	132,9	95,1
7,8	137,1	98,1
7,9	141,4	101,1
8	145,7	104,2
8,1	150,1	107,4
8,2	154,6	110,6
8,3	159,0	113,7
8,4	163,6	117,0
8,5	168,2	120,3
8,6	172,9	123,7
8,7	177,6	127,0
8,8	182,3	130,4
8,9	187,2	133,9
9	192,0	137,3
9,1	197,0	140,9
9,2	201,9	144,4
9,3	207,0	148,1
9,4	212,1	151,7
9,5	217,2	155,4
9,6	222,4	159,1
9,7	227,7	162,9
9,8	233,0	166,7
9,9	238,4	170,5
10	243,8	174,4
10,1	249,3	178,3
10,2	254,8	182,3
10,3	260,4	186,3
10,4	266,0	190,3
10,5	271,7	194,3
10,6	277,5	198,5
10,7	283,3	202,6
10,8	289,1	206,8
10,9	295,0	211,0
11	301,0	215,3
11,1	307,0	219,6