

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SANTA
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE INGENIERO
AGROINDUSTRIAL

**“TORTA DESGRASADA DE SEMILLAS DE TRES VARIEDADES DE
UVA (*Vitis Vinifera*), COMO FUENTE DE ANTIOXIDANTES
FENÓLICOS”**

PRESENTADO POR:

Bach. BARCO JARA MELISA

Bach. MIRANDA DIESTRA DANIA

ASESORA:

DRA. ELZA AGUIRRE VARGAS

Nuevo Chimbote – Perú

2022



HOJA DE AVAL DE JURADO EVALUADOR

El presente trabajo de tesis titulado “TORTA DESGRASADA DE SEMILLAS DE TRES VARIEDADES DE UVA (*Vitis Vinífera*) COMO FUENTE DE ANTIOXIDANTES FENÓLICOS”, para obtener el título profesional de Ingeniero Agroindustrial, presentado por los bachilleres: **MELISA SOLEDAD BARCO JARA Y DANIA MIRANDA DIESTRA**, teniendo como asesora a la Dra. Elza Berta Aguirre Vargas, designada mediante la resolución decanal N° 0628-2019-UNS-FI, ha sido revisado y aprobado el día 17 de Diciembre del 2021 por el siguiente jurado evaluador, designados mediante resolución N° 502-2021-UNS-CFI

Dr. Jorge Marino Domínguez Castañeda
Presidente

Dra. Elza Berta Aguirre Vargas
Secretario

Dr. Daniel Sánchez Vaca
Integrante



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Siendo las 08:00 a.m. del 25 de Enero del Dos Mil Veintidós se instaló mediante la plataforma virtual ZOOM, con el enlace <https://uns-edu-pe.zoom.us/j/81069998541?pwd=czdZNVltOGNZNEJacWczSnZBRm53QT09>, el Jurado Evaluador, designado mediante Resolución N° 028-2022-UNS-FI, integrado por los docentes:

- Dr. Jorge Marino Domínguez Castañeda..... (Presidente)
- Dra. Elza Berta Aguirre Vargas..... (Secretario)
- Dr. Daniel Sánchez Vaca..... (Integrante); para inicio a la Sustentación y Evaluación de tesis, titulada:

“TORTA DESGRASADA DE SEMILLAS DE TRES VARIEDADES DE UVA (*Vitis Vinifera*) COMO FUENTE DE ANTIOXIDANTES FENÓLICOS”, elaborada por los bachilleres en ingeniería agroindustrial.

- BARCO JARA MELISA SOLEDAD
- MIRANDA DIESTRA DANIA

Así mismo tienen como asesora al docente Dra. Elza Berta Aguirre Vargas

Finalizada la Sustentación, el (os) tesisistas respondió (eron) las preguntas formuladas por los miembros del Jurado y el público presente.

El jurado después de deliberar sobre aspectos relacionados con el trabajo, contenido y sustentación del mismo, y con las sugerencias pertinentes y en concordancia con el Artículo 39° y 40° del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Nacional del Santa, declaran:

BACHILLER	PROMEDIO VIGESIMAL	PONDERACION
BARCO JARA MELISA SOLEDAD	19	SOBRESALIENTE

Siendo las 09:30 a.m del mismo día, se dio por terminada dicha sustentación, firmando en señal de conformidad el presente jurado.

Dr. Jorge Marino Domínguez Castañeda
 Presidente

Dra. Elza Berta Aguirre Vargas
 Secretario

Dr. Daniel Sánchez Vaca
 Integrante



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Siendo las 08:00 a.m. del 25 de Enero del Dos Mil Veintidós se instaló mediante la plataforma virtual ZOOM, con el enlace <https://uns-edu-pe.zoom.us/j/81069998541?pwd=czdZNVltOGNZNEJacWczSnZBRm53QT09>, el Jurado Evaluador, designado mediante Resolución N° 028-2022-UNS-FI, integrado por los docentes:

- Dr. Jorge Marino Domínguez Castañeda..... (Presidente)
- Dra. Elza Berta Aguirre Vargas..... (Secretario)
- Dr. Daniel Sánchez Vaca..... (Integrante); para inicio a la Sustentación y Evaluación de tesis, titulada:

“TORTA DESGRASADA DE SEMILLAS DE TRES VARIEDADES DE UVA (*Vitis Vinifera*) COMO FUENTE DE ANTIOXIDANTES FENÓLICOS”, elaborada por los bachilleres en ingeniería agroindustrial.

- BARCO JARA MELISA SOLEDAD
- MIRANDA DIESTRA DANIA

Así mismo tienen como asesora al docente Dra. Elza Berta Aguirre Vargas

Finalizada la Sustentación, el (os) tesisistas respondió (eron) las preguntas formuladas por los miembros del Jurado y el público presente.

El jurado después de deliberar sobre aspectos relacionados con el trabajo, contenido y sustentación del mismo, y con las sugerencias pertinentes y en concordancia con el Artículo 39° y 40° del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Nacional del Santa, declaran:

BACHILLER	PROMEDIO VIGESIMAL	PONDERACION
MIRANDA DIESTRA DANIA	19	SOBRESALIENTE

Siendo las 09:30 a.m del mismo día, se dio por terminada dicha sustentación, firmando en señal de conformidad el presente jurado.

Dr. Jorge Marino Domínguez Castañeda
Presidente

Dra. Elza Berta Aguirre Vargas
Secretario

Dr. Daniel Sánchez Vaca
Integrante

DEDICATORIA

A Dios por darme la salud, por ser siempre mi guía en cada paso y por darme la sabiduría para sobrellevar cada adversidad.

A mis padres, Zoila Jara Usquiano y Hipólito Barco Peña por inculcarme los valores y hacermme a Dios, también por ser mi apoyo incondicionalmente en todo mi camino profesional.

A mis hermanos, Henri, Jesús, Natali, quienes, han sido un ejemplo a seguir y por su apoyo incondicional en cada logro, y a mis familiares en general por cada consejo hacia mi persona.

A Dios, por darme la fortaleza de superar los obstáculos y guiarme en el camino de la vida.

A mis padres, Fernando Miranda y Adriana Diestra, por ser mi apoyo incondicional, por el sacrificio de hacerme mejor persona cada día.

A mi hermano Richer, por el ejemplo que me dio para poder seguir el camino correcto, y a mis familiares en general por la confianza depositada y el apoyo brindado.

A docentes y compañeros por las enseñanzas brindadas a lo largo de estos años.

Miranda Diestra Dania

AGRADECIMIENTO

Un grato Agradecimiento a Dios, por la vida, la salud y sobre todo por guiarnos para lograr nuestras metas, y por habernos cuidado durante toda la pandemia.

A la universidad y a nuestra facultad por brindarnos el apoyo para poder realizar nuestro proyecto dentro de sus instalaciones y brindarnos docentes idóneos para la realización y ejecución de nuestro proyecto de tesis.

A los docentes en general de la escuela de Ingeniería Agroindustrial por sus conocimientos brindados durante toda la formación profesional y su apoyo genuino durante la realización de nuestro proyecto de tesis.

A nuestra asesora Dra: Elsa Aguirre Vargas, por la orientación que nos brindado a lo largo de la tesis y brindándonos su apoyo para llevar a cabo la ejecución exitosa de ella.

A nuestros padres por su apoyo y por habernos provisto económicamente para la realización de nuestro proyecto de tesis.

Barco Jara Melisa y Miranda Diestra Dani

INDICE

I. INTRODUCCION.....	13
II. MARCO TEÓRICO.....	14
2.1. planta de la VID (<i>Vitis Vinífera</i>)	14
2.1.1 Taxonomía.....	15
2.1.2 Morfología.....	15
2.2. La uva.....	19
2.2.1. Composición química y valor nutricional.....	19
2.2.2. Variedades de uva	21
2.2.3. Producción nacional de uva	25
2.2.4. exportación de uva de mesa	27
2.2.5. USOS.	27
2.3. Semillas de uva	29
2.3.1 Composición química de las semillas.....	29
2.3.2 Uso de las semillas	30
2.3.3 Extracción de compuestos fenólicos.....	31
2.4. Compuestos fenólicos	31
2.4.1. Clasificación.....	33
2.4.2. Extracción de polifenoles:.....	35
2.4.3. determinación de polifenoles totales	36
2.5. ANTIOXIDANTES	37
2.5.1. Radicales libres.....	37
2.5.2. Estrés oxidativo	38
2.5.3. clasificación.....	38
2.5.4. aplicación	39
2.5.5. Métodos determinación de la capacidad antioxidante	39
III. MATERIALES Y METODOS.....	43
3.1. Lugar de ejecución	43
3.2. Materia prima.....	43
3.3. EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS.....	43
3.3.1 Equipos	43
3.3.2 Materiales de Laboratorio	44
3.3.3 Otros Materiales:	45
3.3.4 Reactivos.....	45
3.4. Métodos de análisis	47
3.4.1 Procedimiento de la preparación de muestra para las variedades Italia y Criolla Negra	47
3.4.2 Procedimiento de la preparación de muestra de la Variedad Red Globe	48
3.4.3 métodos de Análisis para la caracterización de las muestras (Análisis proximal).	49
3.4.4 Procedimiento para la extracción de P.T y antioxidantes:	50
3.4.5 Análisis de compuestos fenólicos.....	51
3.4.6 Análisis de capacidad antioxidante.....	52
3.5. Metodología experimental.....	55
3.5.1 DESCRIPCIÓN DEL PROCESO PARA LA OBTENCIÓN DE TORTA DESGRASADA.	55
3.6. Diseño experimental y análisis estadístico	57

3.7. Diagrama experimental	59
IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES	60
4.1. Obtención y caracterización de la harina de semilla de uva	60
4.1.1. Análisis físico	60
4.1.2. Análisis químico proximal de la harina de semilla de uva	61
4.2. Determinación de los compuestos fenólicos totales en la harina desgrasada de semilla de uva	63
4.3. Determinación de capacidad antioxidante.....	71
4.3.1. Método dpph (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)	71
4.3.2. Capacidad antioxidante - método frap	78
V. CONCLUSIONES.....	85
VI. RECOMENDACIONES	86
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	87
VIII. ANEXOS.....	99
Anexo 1. Metodología para el análisis proximal	99
Anexo 2. Obtención de semilla de uva de 3 variedades Italia, Red Globe, Criolla Negra.....	103
Anexo 3. Análisis Físico de la semilla de uva de 3 variedades: Italia, Red Globe, Criolla Negra.....	105
Anexo 4. Análisis fisicoquímico de la harina de semilla de uva de 3 variedades: italia, red globe, criolla negra.....	105
Anexo 4.1. Determinación de humedad	105
Anexo 4.2. Determinación del Contenido de Cenizas.....	105
Anexo 4.3. Determinación de grasa metodo soxhlet.....	106
Anexo 4.4. Determinación de fibra cruda.....	107
Anexo 4.5. Determinación de proteínas totales.....	109
Anexo 5. Descripción del proceso de extracción en base seca (Harina).....	110
Anexo 6. Cuantificación de polifenoles totales	111
Anexo 7. Cuantificación de capacidad antioxidante- método DPPH.....	114
Anexo 8. Determinacion de antioxidante - método FRAP	116

INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Clasificación taxonómica de la vid	15
Tabla 2: Composición y valor nutricional del fruto de <i>Vitis Vinifera</i> L.....	20
Tabla 3: Principales variedades de Uva.....	22
Tabla 4: Valor nutricional de la uva Var. Red Globe	23
Tabla 5: Producción de uva en los principales departamentos durante el año 2020 y 2019	26
Tabla 6: Variedades de uva destacadas en 2020 y 2019	26
Tabla 7: Exportación de uva de mesa durante los últimos años.....	27
Tabla 8. Lista de alimentos ricos en polifenoles.....	33
Tabla 9. Clasificación de los modelos de ensayo in vitro según su modo de reacción ET o HAT	40
Tabla 10: Matriz experimental para el estudio de la Torta desgrasada de semilla de uva (<i>Vitis Vinifera</i>).....	58
Tabla 11: Análisis dimensional de semilla de uva.....	60
Tabla 12. valores del análisis químico proximal de semillas de uva en base seca:	61
Tabla 13: Contenido de Polifenoles Totales en semillas de uva (<i>Vitis Vinifera</i>) desgrasadas de las variedades Criolla Negra, Red Globe e Italia; obtenidas por los solventes Metanol (0.1% HCl), Etanol/Agua (3:1) y Agua 75°C.	63
Tabla 14: Análisis de Varianza ANOVA para Polifenoles Totales	65
Tabla 15: Pruebas de múltiples rangos para el contenido de Polifenoles Totales por VARIEDADES de semillas de uva desgrasadas	66
Tabla 16: Pruebas de múltiple rangos para Polifenoles Totales por TIPOS DE SOLVENTE de semillas de uva desgrasadas	68
Tabla 17: Determinación de Capacidad antioxidante por el método DPPH en semilla de uva (<i>vitis vinifera</i>) desgrasada de las variedades Criolla Negra, Red Globe y Italia; obtenidas por los solventes Metanol(0.1%Hcl), Etanol-agua(3:1) y agua 75°C	72
Tabla 18: Análisis de Varianza ANOVA para capacidad antioxidante por el método DPPH – Metodología convencional	74
Tabla 19: Prueba de múltiple rango para capacidad antioxidante (Método DPPH) Variedades de semilla de uva.....	74
Tabla 20: Pruebas de múltiple rango para capacidad antioxidante (Método DPPH) Tipo de solvente:	76
Tabla 21: Capacidad de Antioxidante método FRAP en semilla de uva (<i>Vitis Vinifera</i>) desgrasada de las variedades Criolla Negra, Red Globe e Italia, obtenidas por los solventes metanol (0.1%HCL), Etanol: Agua (3:1) y Agua 75°C	79
Tabla 22: Análisis de Varianza para capacidad antioxidante por el método FRAP	81
Tabla 23: Prueba de múltiple rango para capacidad antioxidante (Método FRAP) Variedades de semilla de uva.....	81
Tabla 24: Pruebas de múltiple rango para capacidad antioxidante (Método FRAP) Tipo de solvente.....	83

INDICE DE GRÁFICOS

Figura 1. Planta de la Vid	14
Figura 2 Sistema radicular de la vid.....	16
Figura 3. Morfología de la hoja de la vid.....	17
Figura 4. Diagrama de baya	18
Figura 5. Uva (Vitis Vinifera).....	19
Figura 6. Variedad Red Globe	22
Figura 7. Variedad Italia	24
Figura 8. Variedad Criolla Negra	25
Figura 9. Ejemplos de estructuras de compuestos fenolicos.....	32
Figura 10. Clasificación fenoles Flavonoideos	34
Figura 11. Clasificación de fenoles No Flavonoideos.....	35
Figura 12. Mecanismo de acción del reactivo de Folin-Ciocalteu.....	37
Figura 13. Estructura del DPPH antes y después de la reacción con el antioxidante.	41
Figura 14. Formación del complejo (Fe^{2+} -TPTZ) desde el complejo (Fe^{3+} -TPTZ) por la acción del antioxidante	42
Figura 15. Diagrama de Flujo del proceso de preparación de la muestra Var. Criolla Negra e Italia para la extracción y análisis	47
Figura 16. Diagrama de Flujo del proceso de preparación de la muestra Var. Criolla Negra e Italia para la extracción y análisis	48
Figura 17. Diagrama de flujo para la preparación de muestra	50
Figura 18. Esquema experimental de la obtención y análisis de la torta desgrasada de tres variedades de uva	59
Figura 19. Medias y 95% de Tukey HSD para el factor variedad.....	67
Figura 20. Medias y 95 % de Tukey HSD para el factor Tipo de Solvente	69
Figura 21. La interacción que existe entre tipo de Secado y Tipos de Solvente con respecto a la cantidad de polifenoles totales.	69
Figura 22. Medias y 95% de Tukey HSD para el factor VARIEDAD –Método DPPH.....	76
Figura 23. Media y 95% de Tukey y HSD para el Factor de Tipo de Solvente – Método DPPH	77
Figura 24. Interacción existente entre la Variedad y Tipo de Solvente, con respecto a la capacidad antioxidante método DPPH.	78

Figura 25. Medias y 95% de Tukey HSD para el factor VARIEDAD – Método FRAP	82
Figura 26. Media y 95% de Tukey y HSD para el Factor de Tipo de Solvente – Método FRAP	84
Figura 27. Interacción existente entre la Variedad y Tipo de solvente de las muestras, con respecto a la capacidad antioxidante método FRAP	84
Figura 29. Recepción de materia prima 3 variedades de uva A). Italia B). Red Globe C). Criolla Negra	103
Figura 28. Recolección de materia prima Mercado “La Perla”	103
Figura 34. Pulpeado de la uva	103
Figura 31. Selección y separación de tallos	103
Figura 30. Lavado y desinfección por inmersión	103
Figura 32. Pesado de tallo	103
Figura 33. Cortado de uva	103
Figura 36. Semilla Criolla Negra, Italia y Red Globe	104
Figura 35. Selección de semilla.....	104
Figura 37. Secado por estufa de la semilla de uva A) Acondicionamiento de la semilla en la bandeja B) colocacion de la bandeja en el secador C) Estufa.....	104
Figura 39. Harina de semilla de uva de 3 variedades A) Harina var. Criolla Negra B) Harina var. Italia C) Harina var. Red Globe.....	104
Figura 38. Molienda de semilla.....	104
Figura 40. Peso y dimensiones de las semillas.....	105
Figura 41. Pesado de muestra.....	105
Figura 42. Muestra puesta en la termobalanza	105
Figura 43. A) Pesado de las muestras; B) pesado del crisol; C) Incineración de las muestras en una cocina eléctrica.	105
Figura 44. D) muestra en mufla a 600°C; E) pesado de muestras después de incineradas....	106
Figura 45. A) Pesado del matraz; B) pesado de las muestras junto al capacho.; C) Adición de 200 ml de éter Petroleo.....	106
Figura 46. D) armado de soporte, E) extracción del aceite	106
Figura 47. F) terminado la extracción se extrajó los capachos; G) Guardar las muestras desgrasadas para su posterior analisis. Harina desgrasada de semilla de uva de 3 variedades	107
Figura 48. Pesado del matraz con el aceite extraído, luego se remplaza en la formula.	107

Figura 49. A) Acido sulfurico al 0.255 N; B) KOH al 0.255 N; C) pesar 0.5 gr de muestra desgrasada	107
Figura 52.H) Colocar la muestra en un crisol. I) Pesar la muestra antes de colocar a la estufa. J) Muestras colocadas en la Mufla por 3 horas a 600 °C.	108
Figura 51. F) Colocar la misma muestra enjuagada en el balon con KOH al 0.255 N y hacer el mismo procedimeinto que el H2SO4. G) Quitar el balon y filtrar con papel filtro para fibra, enjuagar con abundante agua.	108
Figura 50. D) Adicionar 75 ml H2SO4 al balón y colocar calentar en una cocina por 30 min, apartir de su ebullición; E) Quitar el balón y filtrar con papel filtro para fibra, enjuagar con abundante agua.....	108
Figura 53. Pesar la muestra después de la estufa	109
Figura 54. a) Pesado de la muestra. b) Adición de las muestras en los tubos de mineralización. c) Adición de catalizador (mezcla sales de cobre y oxido de titanio) y H2SO4 concentrado	109
Figura 55. d) Digestión de las muestras. e) Ácido bórico para la destilación. f) Destilación de las muestras	109
Figura 56. Titulación de las muestras con solución de HCl 0.1 N, valoración hasta cambiar de color rosa.....	110
Figura 57. a) Harina desgrasada de semilla de uva de 3 variedades. b) Pesado 0.5 gr de las muestras, colocarlo en un tubo de ensayo.	110
Figura 58. C) Adición 10 ml del solvente en cada tubo que contiene Harina desgrasada: se trabajó con 3 solventes metanol acidificado al 0.1%, etanol- agua (3:1vv) y agua destilada a 75°C. d) Colocación de las muestras en el equipo de ultrasonido durante 120 min.	110
Figura 59. E) Centrifugación de las muestras, 3500 rpm durante 15 minutos. f) Transferencia del sobrenadante de las muestras (harina) en viales de vidrio.	111
Figura 60. Extractos de harina desgrasada de semilla de 3 variades de uva con 3 solventes	111

RESUMEN

Del orujo húmedo obtenido en el proceso de vinificación, el 10 a 12% son las semillas, estos residuos en la actualidad no son aprovechados. En la presente investigación se obtuvo harina de semillas de uva desgrasadas (*Vitis Vinifera*) de las Var. Criolla Negra, Red Globe e Italia, de dichas muestras se evaluaron sus características físicas, análisis proximal, su poder antioxidante, teniendo como objetivo principal usarlo como ingrediente para nuevos productos, como un valor agregado. Se obtuvo las semillas de Var. Criolla Negra e Italia de la empresa de destilados Viti Vinicola Moro S.A.C, del Distrito de Moro, Anchas-Perú y Var. Red Globe procedente del mercado “La Perla”, Distrito de Chimbote, Anchas-Perú. Se obtuvo los extractos de dichas semillas, en este estudio se usó un diseño completamente al azar (DCA) categórico con arreglo factorial 3x3, tenido como primer factor (3 niveles) correspondió a la variedad de materia prima y el segundo factor (3 niveles) correspondió al tipo de solvente (Metanol 0.1% HCl; Etanol/Agua (3:1); Agua 75°C). se determinó los polifenoles totales mediante el método Folin-ciocalteu, y se cuantificó la actividad antioxidante por el método DPPH y FRAP. Teniendo como resultado que el tipo de solvente y variedad tienen alta significancia, el solvente Metanol (0.1% HCl) y Var. Italia presentó un mayor valor de polifenoles totales y actividad antioxidante por el método FRAP, siendo de 43.69 ± 0.0396 mgAGE/gmuestra y $2233.28 \mu\text{molEqTrolox}/100\text{gmuestra}$, respectivamente; mientras que con el solvente Etanol/agua (3:1) y Var. Italia arrojó un mayor valor de actividad antioxidante por el método DPPH siendo de 171.23 y $1635.61 \mu\text{molEqTrolox}/100\text{gmuestra}$, respectivamente. La harina de semilla de uva desgrasada tiene un alto contenido de antioxidantes fenólicos, de este modo se puede sugerir para la formulación de futuros productos agroindustriales

Palabras claves: Uva (*Vitis Vinifera*), semillas, capacidad antioxidante, compuestos polifenólicos, DPPH, FRAP.

ABSTRACT

Of the wet pomace obtained in the vinification process, 10 to 12% are the seeds, these residues are currently not used. In the present investigation, defatted grape seed flour (*Vitis Vinifera*) was obtained from the Var. Criolla Negra, Red Globe and Italia, of these samples their physical characteristics, proximal analysis, their antioxidant power were evaluated, with the main objective of using them as an ingredient for new products, as an added value. The seeds of Var. Creole Black and Italy from the distillate company Viti Vinicola Moro S.A.C, from the District of Moro, Anchas-Peru and Var. Red Globe from the "La Perla" market, Chimbote District, Anchas-Peru. The extracts of these seeds were obtained, in this study a completely randomized design (DCA) was used categorically with a 3x3 factorial arrangement, having as the first factor (3 levels) corresponded to the variety of raw material and the second factor (3 levels) corresponded to the type of solvent (Methanol 0.1% HCl; Ethanol/Water (3:1); Water 75°C). Total polyphenols were determined by the Folin-ciocalteu method, and antioxidant activity was quantified by the DPPH and FRAP methods. Having as a result that the type of solvent and variety have high significance, the solvent Methanol (0.1% HCl) and Var. Italy presented a higher value of total polyphenols and antioxidant activity by the FRAP method, being 43.69 ± 0.0396 mgAGE/gsample and $2233.28 \mu\text{molEqTrolox}/100\text{gsample}$, respectively; while with the solvent Ethanol/water (3:1) and Var. Italy showed a higher value of antioxidant activity by the DPPH method, being 171.23 and $1635.61 \mu\text{molEqTrolox}/100\text{gsample}$, respectively. Defatted grape seed flour has a high content of phenolic antioxidants, thus it can be suggested for the formulation of future agro-industrial products.

Keywords: Grape (*Vitis Vinifera*), seeds, antioxidant capacity, polyphenolic compounds, DPPH, FRAP.

I. INTRODUCCION

“Las semillas de uva (*Vitis vinifera* L.) es el subproducto más conocido en el procesamiento de la uva, en la industrialización tanto en jugos o en vino. Por lo que este cuenta con una fuente rica en antioxidante natural y agentes antimicrobianos debido a su alto contenidos fenólicos”. (Felhi, Baccouch et al. 2016).

“En todo el mundo se desecha más de 3 ton de semilla de uva que es producto de la producción de vino ya que el peso de la semilla es el 20%” (Dávila, Robles et al. 2017).

El objetivo del presente proyecto es entablar una comparar de la capacidad antioxidante y fenoles totales en la harina desgrasada de 3 variedades de semilla, con diferentes solventes de extracción metanol (0.1%Hcl), etanol-Agua(3:1), agua 75°C, de esta manera aprovechar el residuo de la semilla debido a sus altos compuestos funcionales, analizar la actividad antioxidante por 2 métodos DPPH y FRAP, polifenoles totales de la harina desgrasada de 3 variedades de semilla de uva y extraídas por 3 tipos de solvente.

Dentro de los objetivos específicos es la caracterización fisicoquímicamente de la semilla de uva (*vitis vinifera*) de 3 variedades var. Criolla Negra, Red Globe y Italia; determinar la capacidad antioxidante en las harina desgrasada variando diferentes solvente metanol(0.1%HCL), Etanol-Agua (3:1) y Italia; identificar el solvente con mayor rendimiento de extracción para la harina desgrasada de semilla de uva en función a su capacidad antioxidante y polifenoles totales.

II. MARCO TEÓRICO

2.1. PLANTA DE LA VID (*Vitis Vinífera*)

La vid (*Vitis vinífera*) parra llamada también parrón es una planta vegetativa que se cosecha anualmente, se siembra por vía sexual (semillas) o a-sexual (acodos, injertos y estacas,). (Agrobanco, 2008).

Esta planta de la vid tiene unas 600 especies de arbustos, generalmente trepadores, sus frutos son en baya, generalmente en países cálidos y tropicales (AMPEX, 2008). Esta es una planta frondosa, de bastante follaje y madera, como frutos pequeños; con abundante alimento en el suelo esta puede vegetar en exceso y dar malos frutos, aunque fuera frondosa, por lo que es mejor que los suelos sean de fertilidad media o escasa, aunque, naturalmente no áridos.

La vid, se originó entre la zona ubicada del mar Caspio y el Asia Menor, en el Perú, los departamentos con mayor producción son Ica, Piura, Áncash, Arequipa, Lambayeque, La Libertad, Tumbes, y Moquegua. (Cuya, 2013).

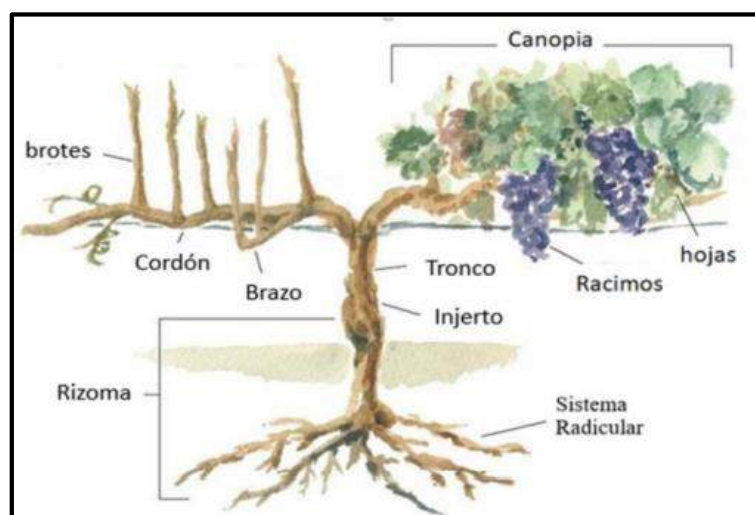


Figura 1. Planta de la Vid

Fuente: Picornell y Melero (2013)

2.1.1 TAXONOMÍA

La clasificación taxonómica de la vid según Cavallier-Smith (Marsal 2015), pertenece:

Tabla 1: Clasificación taxonómica de la vid

<i>Clasificación taxonómica de la Vid</i>	
Especie	Vitis Vinifera L.
Genero	Vitis
Subgénero	Euvitits
División	Anthophyta (Magnoliophyta)
Clase	Magnoliopsida (Eudicotyledons)
Subclase	Rosids
Orden	Vitales
Familia	Vitaceae
Subfamilia	Viticoideae
Reino	Plantae
Supereino	Eucaryota

Fuente: (Marsal, 2015)

2.1.2 MORFOLOGÍA

La planta de la vid es de porte rastrero, también sarmentosa con un sistema radicular ramificado y descendente (Picornell y Melero 2013).

2.1.2.1 La raíz

Procedente de semilla: son aquellas plantas que se utilizan principalmente para mejora genética y obtención de nuevas variedades, se caracterizan por presentar una raíz principal y pivotante. De origen adventicio: son aquellas plantas que proceden de la multiplicación por

estacas, las raíces provienen de la diferenciación celular del periciclo a nivel de los nudos del tallo. La expansión de sistema radicular de la vid va a depender del tipo de suelo, técnicas de cultivo, genotipo y sistema de plantación (Picornell y Melero, 2013).

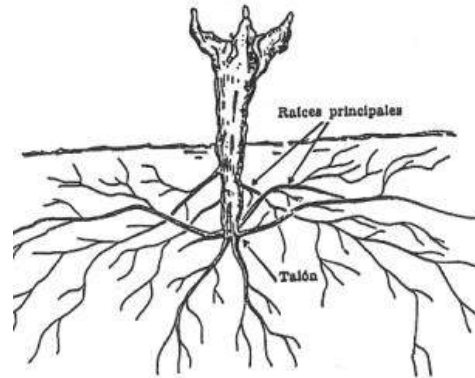


Figura 2 Sistema radicular de la vid

Fuente: Chauvet y Reynier (1984)

2.1.2.2 Tronco y brazos

El tronco es generalmente estortuoso cubierto por una corteza, que debajo de ella cada año añade una nueva capa de madera, variando según la especie, es permanente y constituye el apoyo de la estructura vegetativa y reproductiva de la vid. (Hidalgo, 2002).

Los brazos o ramas son los pámpanos cuando son herbáceos y sarmientos cuando están lignificados. Los pámpanos constituyen la unidad de crecimiento de la planta y están formados por brotes, hojas, zarcillos y racimos. Estos se formaron en la floración de la temporada anterior a partir de yemas compuestas y cada una de estas es capaz de producir más de un brote. A partir de yemas primarias nacen los pámpanos primarios y son los que producirán fruta. (Hidalgo, 2002).

2.1.2.3 Las hojas

Las hojas se forman a partir del meristemo apical, antes que se forme la primera hoja surgen dos o más estipulas estrechamente espaciadas en la base de los pámpanos que caen prematuramente. Las hojas están insertas en el nudo a través del peciolo, que conecta a la hoja con el pámpano (Figura 6) (Pratt 1974 citado por Picornell y Melero 2013). Las hojas presentan borde dentado; de color verde más intenso en el haz que en el envés, con vellosidad que puede variar desde intensa a glabras.

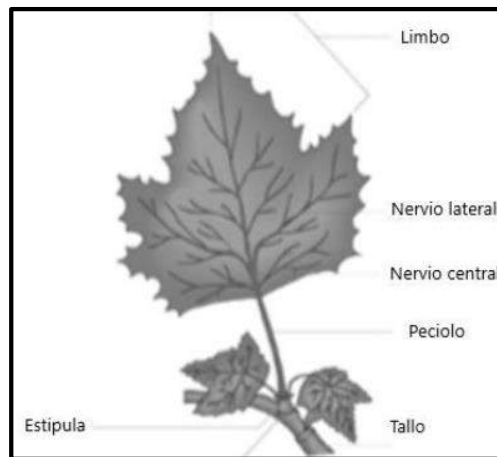


Figura 3. Morfología de la hoja de la vid

Fuente: Mullins et al. (1992)

2.1.2.4 Yemas

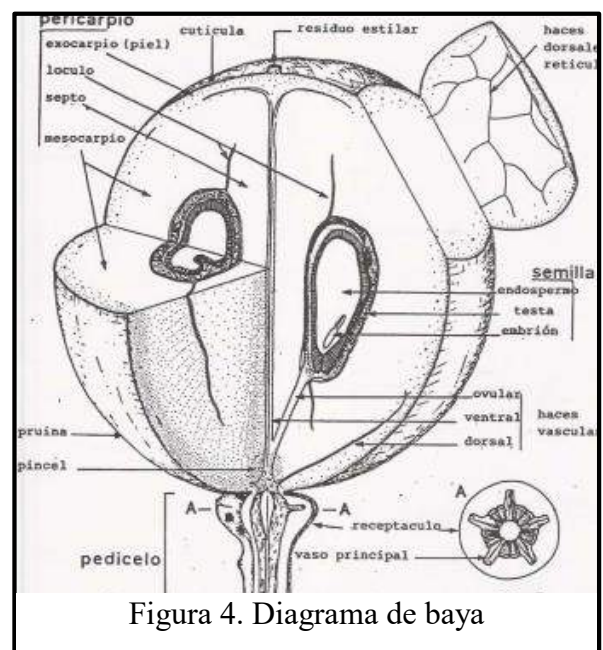
Las yemas axilares se encuentran a cada lado de la axila de la hoja por encima del punto de conexión entre el pámpano y peciolo, incluyendo también las estipulas basales. Estas yemas están clasificadas en yemas fruteras aquellas que producen tanto hojas como racimos, yemas vegetativas que son aquellas que producen hojas. (Hidalgo, 2006).

2.1.2.5 Flores

Está comprendido por un eje principal raquis donde salen sus ramas que se dividen para formar pedicelos, estas llevan las flores individuales. El eje principal raquis se extiende desde el pámpano hasta su primera rama llamada pedúnculo. Mayormente las variedades comerciales presentan flores hermafroditas, aunque también existe flores femeninas o masculinas sin embargo las especies utilizadas como portainjertos presentan flores estériles (Hidalgo 2006).

2.1.2.6 Fruto

El fruto es llamada baya, que consta del hollejo, la pulpa y las semillas. El hollejo representa 5 a 10 % del peso y por lo que contiene la mayor parte del aroma constituyente, color y sabor. La pulpa representa el 80 a 90 % de la baya, mayormente los cultivos son translúcidos y la semilla representa el 0 – 5 % del peso total de la baya, por baya contiene 0 a 4 semillas (Negrillos, 1997).



Fuente: Coombe (1987).

Figura 4. Diagrama de baya

2.2. LA UVA

La uva (*Vitis vinifera*), es una baya globosa, tiene semillas de color marrón claro y la pulpa es muy jugosa, con semillas de color marrón claro (Lars et al., 2018), en su estructura contiene gran cantidad de compuestos polifenólicos con un efecto antimicrobiano y antioxidante (Daglia, 2012).

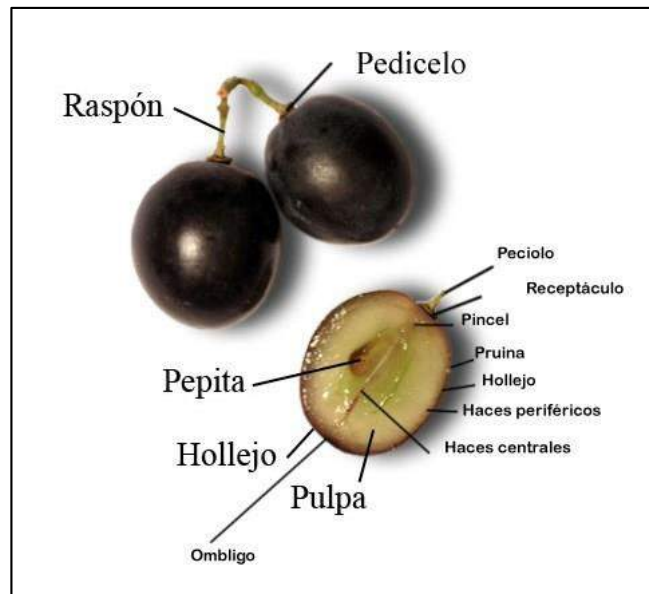


Figura 5. Uva (*Vitis Vinifera*)

Fuente: <https://hogardevinos.com/la-vid/morfologia-de-la-vid/>

2.2.1. COMPOSICIÓN QUÍMICA Y VALOR NUTRICIONAL

La composición y valor nutricional de las uvas tiende a variar ligeramente según la variedad uvas de mesa o para vino y blancas o negras, lo que contiene cantidades perceptibles de fibra (fundamentalmente de tipo soluble), vitaminas y minerales. (Almanza, 2011).

La uva de mesa, al igual que otras frutas, posee un alto contenido en agua e hidratos de carbono fundamentalmente en forma de azúcares, se destaca el alto contenido de potasio. (Valverde, 2005).

Tabla 2: Composición y valor nutricional del fruto de *Vitis Vinifera* L.

Compuestos	Cantidad por 100 g de porción comestible
Agua	81,1 (g)
Energía	67 (kcal)
Lípidos	0,28 (g)
Proteínas	0,68 (g)
Hidratos de carbono	15,2 (g)
Fibra	
Fibra total	1,5 (g)
Vitaminas	
Vitamina A (Retinol)	5,5 (µg)
Carotenos totales	33 (µg)
Beta-caroteno	33 (µg)
Vitamina B2	0,03 (mg)
Niacina	0,23 (mg)
Vitamina B6	0,07 (mg)
Vitamina E	0,63 (mg)
Vitamina B1	0,05 (mg)
Folatos	43 (µg)
Vitamina C	4,2 (µg)
Minerales	
Calcio	12 (mg)
Hierro	0.41 (mg)
Fosforo	19 (mg)
Magnesio	7,6 (mg)
Zinc	0,05 (mg)
Esteroles	
Esteroles totales	4 (mg)
Beta-sitosterol	3 (mg)
Selenio	1,7 (µg)
Sodio	2 (mg)
Potasio	197 (mg)
Compuestos bioactivos especiales	
Kaempferol	Trazas (mg)
Miricetina	0.45 (mg)
Quercetina	1.4 (mg)
Ácidos orgánicos	
Ácido cítrico	23 (mg)
Ácido tartárico	530 (mg)
Ácido málico	327 (mg)
Ácido clorogénico	13 (mg)

Fuentes: Souci et al. (2000); Moreiras et al. (2001); Olmedilla et al. (2001); USDA (2002).

El contenido de hidratos de carbono varía según la etapa de desarrollo del fruto, durante el crecimiento de las bayas o granos predomina la glucosa, en la maduración las proporciones de glucosa y fructosa son aproximadamente iguales y en uvas sobremaduras la fructosa es el principal azúcar. (Hidalgo, 2011).

En la uva madura, también se encuentra la sacarosa, disacárido no fermentescible y no reductor, además, se observa en menor medida la presencia de arabinosa, xilosa, galactosa, melibiosa (contiene una molécula de galactosa y una de glucosa), maltosa y rafinosa (con una molécula de galactosa, una de glucosa y una de fructosa). Las sustancias proteicas están presentes en toda la baya, sin embargo las partes sólidas como el hollejo y las semillas son las más ricas. (Blouin, 2004). Los aminoácidos más importantes son arginina, prolina, treonina y ácido glutámico. (Gil, 2012).

Los lípidos, en su mayor parte se encuentran en las pepitas (75%), el hollejo solo contiene un 15% y la pulpa 9%. (Blouin, 2004). Además, presentan un alto porcentaje de ácidos grasos poliinsaturados. Los más abundantes son el ácido oleico y el ácido linoleico, con 22% y 67% respectivamente. (Moya, 2017).

Los minerales se localizan fundamentalmente en las partes sólidas de las bayas, en el hollejo, en las paredes celulares de la pulpa y en las pepitas. Se destaca el contenido de potasio, calcio y magnesio. (Blouin, 2004).

2.2.2. VARIEDADES DE UVA

Existen diferentes variedades, identificándose la idoneidad de sus características para su posterior destino. Son cuatro los usos de la uva: para mesa, destinado al consumo directo y por lo que se debe cumplir con requerimientos específicos del

consumidor extranjero; pisco, vinos; y pasas, cuyo fruto no requiere unos estrictos estándares de calidad.

Tabla 3: Principales variedades de Uva

Destino	Variedad
Para mesa	Cardinal, Alfonso Lavalle, Cereza, Red Globe, Rosa del Perú, Seedles, Italia, Moscato de Hamburgo, Quebranta, Thompson Tokay, Emperador, Sauvignon Blanco, Pinot, Blanco
Para vinos	Riesling, Albilla, Sauvignon, Torontel, Malbec, Barbera, Borgoña, Quebranta, Grenache, Cabernet.
Para Piscos	Albilla, Moscatel, Quebranta, Torontel, Mollar, Negra corriente, Italia y Uvina
Para pasas	Italia de Pirolano, Percette, Thompson Seedless, Moscato de Alejandría, Sullana

Fuente: Maximixe, 2015.

2.2.2.1. Variedad Red Globe:

La variedad de Red Globe fue obtenida por A. Koyama y H. Olmo en Davis, California, EE.UU., debido al cruzamiento de Emperador x Hunisa x Nocera, estas posee bayas redondas, achatadas y son de tamaño muy grande (diámetro: 25 a 27 mm). Es de color rosado brillante a rojo. (Muñoz y Lobato 2000, Vaysse et al., 2001).



Figura 6. Variedad Red Globe

Fuente: <https://www.vitivinicultura.net/red-globe-uva-de-mesa.html>

Esta variedad no presenta problemas fitosanitarios, pero si son sensible a la sobrecarga de frutos, ya que se resiente el vigor, estas poseen muy buena conservación frigorífica y son resistente al transporte (Acucache y Luque, 2001). Existe problemas que tiene este cultivo las principales son: la sensibilidad a los golpes de calor y tiene la dificultad en la toma de color. Las bayas frecuentemente sufren daños por las altas temperaturas y a vientos cálidos. Esto ocurre frecuentemente durante los meses de noviembre, diciembre y enero, coincidiendo con la etapa de máximo crecimiento de los granos (Pugliese, 2007).

Tabla 4: Valor nutricional de la uva Var. Red Globe

Valor nutricional de la uva Var. Red Globe			
En una porción de 138 g.			
Calorías	90	Proteínas	1 (1)
Grasas	1 (g)	Vitamina A	2 (%)
Carbohidratos	24 (g)	Vitamina C	25 (%)
Fibra	1 (g)	Calcio	2 (%)
Azúcar	23 (g)	Hierro	2 (%)

Fuente: Navarro Fruits SAC (2021).

<http://navarrofruits.com.pe/producto/uva-red-globe>

2.2.2.2. Variedad Italia

Su origen se ubica al norte de África, fueron los egipcios los primeros en cultivarla y vinificarla, otorgándole así el nombre de Moscatel de Alejandría. (Huertas, 2004). En el Perú es conocida originalmente como Muscat d'Italie y su llegada se estima que fue ya en el siglo XVIII. Se encuentra plantada en todas las zonas pisqueras desde Lima hasta Tacna. (De Piérola, 2011).

Esta variedad de uvas blancas se utiliza tanto para uva de mesa como para elaborar pisco aromático, dando un excelente producto, es una variedad no resistente al oídium. (Hatta, 2004). Las bayas es de forma ovoide inversa y es color verde amarilla. (Cáceres et al. 2017).



Figura 7. Variedad Italia

Fuente: Cáceres, et al., (2017).

2.2.2.3. Variedad negra criolla

Esta variedad, morfológicamente tiene las características de la variedad Mission (Jin et al., 2014, citado por Cáceres et al., 2017), además también recibe otro sinónimo Criolla Chica o Listán Prieto (Milla et al. 2007). Esta variedad es una de las variedades autóctonas de las Islas Canarias de donde se dice que procede la vid de América, denominada en ese lugar Listán Prieto y de sus semillas descenderían los múltiples ecotipos encontrados en América, entre los que se puede señalar a Mission (California), Negra Corriente o Negra Criolla (Perú), Missionera (Bolivia), Uva del País o País (Chile) y Criolla Chica (Argentina). (Pszczólkowski y Lacoste, 2016).

Tiene las bayas de forma esférica achatada y de color roja azulada. (Cáceres et al. 2017). La uva Negra Criolla, es una variedad de uva no

aromática que se presenta como excelente variedad alternativa para la producción de pisco, por su alto potencial productivo, tolerancia a plagas, plagas y maduración temprana. (Ibacache, A. et al, 2015). Es la tercera variedad de mayor producción, son cultivada normalmente en las regiones de Moquegua, Arequipa, y Tacna. (Vingerhoets, 2015).



Figura 8. Variedad Criolla Negra

Fuente: Cáceres, et al., 2017

2.2.3. PRODUCCIÓN NACIONAL DE UVA

En diciembre del año 2020, la producción nacional de uva totalizó 198 mil 232 toneladas, volumen superior en 40,0% en comparación con lo registrado en diciembre de 2019, explicado por las condiciones climáticas favorables para el desarrollo de este cultivo. (INEI, 2020).

Los departamentos que destacaron por la mayor producción de uva fueron: Piura (58,1%) e Ica (35,1%); con una participaron del 87,2% de la producción nacional; asimismo, creció la producción en Arequipa (78,8%), Cajamarca (41,4%), Lambayeque (19,3%), Lima (8,4%) y San Martín (5,3%). Por el contrario, se registró disminución de la producción de uva en Áncash (-37,4%) y La Libertad (-4,8%). (INEI, 2020). Las áreas de uva de mesa certificadas por SENASA (para exportación) en 2020 ascendieron a 20.756 hectáreas cuando el

2019 fueron 19.400 Has; siendo estas las regiones con mayor superficie.
(Agencia Agraria de noticias, 2021).

Tabla 5: Producción de uva en los principales departamentos durante el año 2020 y 2019

Departamento	Hectáreas	
	2020	2019
Ica	9618	8788
Piura	7548	7136
Lambayeque	1565	1586
La Libertad	1173	1152
Arequipa	486	586
Áncash	345	120
Lima	18	24

Fuente: Agencia Agraria de noticias, 2021.

En cuanto a las variedades de uva de mesa instaladas en nuestro país en 2020, destacaron:

Tabla 6: Variedades de uva destacadas en 2020 y 2019

Variedad	Hectáreas	
	2020	2019
Red Globe	5.249	5.574
Sweet Globe	2.850	1.806
Crimson Seedless	1.974	2.453
Sugraone	1.492	2.076
Sweet Celebration	1.130	790
Allison	1.065	543
Jacks Salute	718	765
Autumn Crisp	657	160
Timpson	626	517
Otras	4.991	4.712

Fuente: Agencia Agraria de noticias, 2021.

2.2.4. EXPORTACIÓN DE UVA DE MESA

Las agroexportaciones son, sin duda, la prueba fehaciente del poder de las exportaciones peruanas no tradicionales. Dentro de la amplia gama de productos de este subsector, las uvas han demostrado un desempeño.

Tabla 7:Exportación de uva de mesa durante los últimos años

MES	2021		2020		2019	
	FOB	KILOS	FOB	KILOS	FOB	KILOS
ENERO	344,889,621	141,413,303	263,786,193	114,255,634	256,872,555	115,772,875
FEBRERO	113,547,787	50,425,937	77,744,984	44,981,992	83,849,472	42,887,022
MARZO			7,480,320	5,086,445	13,464,785	7,961,625
ABRIL			951,202	567,233	1,888,565	1,252,012
MAYO			437,033	241,309	141,219	82,901
JUNIO			815,567	581,651	177,384	93,480
JULIO			4,050,070	2,614,494	1,075,285	518,290
AGOSTO			3,481,544	2,170,009	3,053,903	1,490,465
SETIEMBRE			8,909,774	4,355,970	10,121,194	4,578,661
OCTUBRE			101,231,790	41,940,726	72,994,203	31,338,340
NOVIEMBRE			217,541,999	87,900,806	155,952,642	61,925,780
DICIEMBRE			350,544,908	142,844,980	275,829,018	107,376,712
TOTALES	458,437,408	191,839,240	1,036,975,384	447,541,249	875,420,225	375,278,163
PROMEDIO MES	38,203,117	15,986,603	86,414,615	37,295,104	72,951,685	31,273,180
%CREC.PRO M.ANUAL	165%	157%	18%	19%	7%	12%

Fuente: AGRODATAPERU, 2021

2.2.5. USOS

Existe cuatro principales usos de la uva son: para mesa, destinado al consumo directo y en parte del consumidor extranjero se debe cumplir con requerimientos

específicos, vinos, piscos y pasas, cuyo fruto no requiere estrictos estándares de calidad. (Caycho, et al., 2017).

2.2.5.1. Uvas de mesa para el consumo en fresco.

Estas uvas se comercializan habitualmente para su consumo directo en estado fresco. Las variedades destinadas a dicho fin, son apreciadas por las condiciones estructurales de sus frutos.

Debe ser de excelente calidad sensorial, así mismo debe tener aptitud para el transporte. Deben reunir algunas características, entre las más importantes a considerar destacan: el tamaño del racimo, el tamaño de los granos, la uniformidad de color de los racimos y la época de maduración. Se tendrá en cuenta también la presencia de semillas (Caycho, et al., 2017).

2.2.5.2. Uva pasa.

Se entiende como uva pasa a toda uva desecada. Entre las características más importantes a exigir a las uvas pasas destaca la textura carnosa, el tamaño y la presencia o ausencia de semilla. La uva pasa es un alimento de gran valor energético y muy rico en azúcares (Caycho, et al., 2017).

2.2.5.3. Uva para la elaboración de vino.

Se emplean la mayoría de las uvas producidas en el mundo. Teniendo en consideración la concentración inicial de azúcares ya que esta dará lugar al etanol, después del proceso de fermentación, como una serie de características que cada productor tendrá en cuenta para dar lugar a un vino con las características deseadas (Caycho, et al., 2017).

2.2.5.4. Uva para la elaboración de zumos.

En este tipo de proceso la uva pasa por distintos procesos tanto en la elaboración, clarificación y finalmente su conservación, por ello se debe de usar que mantengan su sabor, olor y color adecuado, (Caycho, et al., 2017).

2.3. SEMILLAS DE UVA

El subproducto más conocido del procesamiento de la uva, tanto en la industria de néctar, pisco y vino, son las semillas de uva (*Vitis vinifera* L.) siendo una fuente de antioxidante natural de bajo costo y por su contenido fenólico sirve como un agente antimicrobiano. (Felhi, Baccouch et al. 2016).

Se puede encontrar aproximadamente dos semillas en una baya del fruto, el cual representa un 5-6% del peso de esta. Se estima que anualmente el residuo de las semillas alcanzan hasta 3 Mton. Esto es equivalente al 20% en peso de la producción de uva generalmente se convierte en residuo durante la producción de vino. (Dávila, Robles et al. 2017).

2.3.1 COMPOSICIÓN QUÍMICA DE LAS SEMILLAS

Entre el 10 a 12% del orujo húmedo, son semillas, por ser de una naturaleza leñosa, se hace más complicada su aprovechamiento, puesto que es difícil de laminar. (Moya, 2017).

La semilla contiene alrededor de un 40% de fibra, 11% de proteína, 16% de grasa, 29.2% de carbohidratos complejos, así como azúcares, sales minerales y teniendo un 7% de fenoles complejos y taninos.. (Felhi, et al. 2016).

Las semillas contienen entre 13 y 18,4 % de lípidos, teniendo un alto contenido en ácidos grasos poliinsaturados. Con un 22% en ácido oleico y con 67 % el ácido linoleico. La concentración de fenoles totales en las variedades tintas están en las semillas con 63%, un 34% en la piel y 3% en el jugo.(Moya, 2017).

Los compuestos polifenólicos en las semillas de uva pueden variar entre 5% y 8% (como los taninos), influenciando mucho la variedad y otros factores, como grado de maduración, suelo y clima. (Dávila, et al. 2017). Estas semillas contienen ácido gálico, epicatequina, galocatequina y catequina, y así mismo presenta oligómeros (procianidinas y antocianidinas). (Berradre, et al. 2013).

El extracto de semilla de uva proporciona comparado con la vitamina E, puede tener un efecto antioxidante superior en dosis iguales en peso (Bagchi et al. 1997 y Ariga 2004).

2.3.2 USO DE LAS SEMILLAS

En el Perú no se les da un uso industrial a las semillas, es utilizado como abono y alimento balanceado para animales. En países como Italia, Alemania y Francia se extrae el aceite comestible. (Moya, 2017).

Los subproductos de uva son de mucha importancia económica en la actualidad, tienen una rica fuente de fitoquímicos, por ello su recuperación y reutilización, de otro lado reducir los cargos por eliminación y multas por descargas no autorizadas. (Chouchouli, et al. (2013).

Se ha usado los extractos de semilla de uva en productos para consumo humano, farmacéuticos y cosmético, ya que tiene un efecto contra degeneración de las enfermedades, su poder antiinflamatoria y expresiones antidiabéticas. (Felhi, et al. 2016).

2.3.3 EXTRACCIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS.

Los métodos eficientes para extraer compuestos fenólicos, especialmente proantocianidinas de semillas de uva, han sido de gran interés para muchos investigadores, debido a los efectos beneficiosos para la salud (Shi, et al., 2003).

Generalmente, se extrae los compuestos fenólicos con solventes organicos, el etanol y agua hirviendo tienen una alta retención de polifenoles, debido a su característica polar. Sin embargo, teniendo como solvente solo agua, puede disolver proteínas no deseadas y polisacáridos, en presiones y temperaturas. Además, estas técnicas tienen bajos rendimientos y los procesos de extracción son largos. (Nowshehri, et al. 2015).

Uno de los métodos de extracción de polifenoles de semillas de uva, es usando 50% de etanol y 50% de agua como solvente. El sistema de ultrafiltración con un tamaño de poro de 0.22 μm se utilizó para concentrar extractos, ya que no involucra ningún solvente tóxico. La cromatografía en contracorriente y la extracción en fase sólida también pueden usarse con los disolventes mencionados anteriormente para mejorar el rendimiento y la eficacia. (Nawaz, Shi, Mittal, & Kakuda 2006).

2.4. COMPUESTOS FENÓLICOS

Los polifenoles son sustancias químicas que posea un anillo aromático, un anillo benceno con una o más grupos hidroxilos, se conocen más de 8000 compuestos diferentes, que abarcan desde moléculas simples con bajo peso molecular como los ácidos fenólicos hasta compuestos altamente polimerizados, generalmente conjugados con azúcares

(glucósidos) u otros compuestos orgánicos como los taninos. (Pérez Jiménez J. et al. 2012).

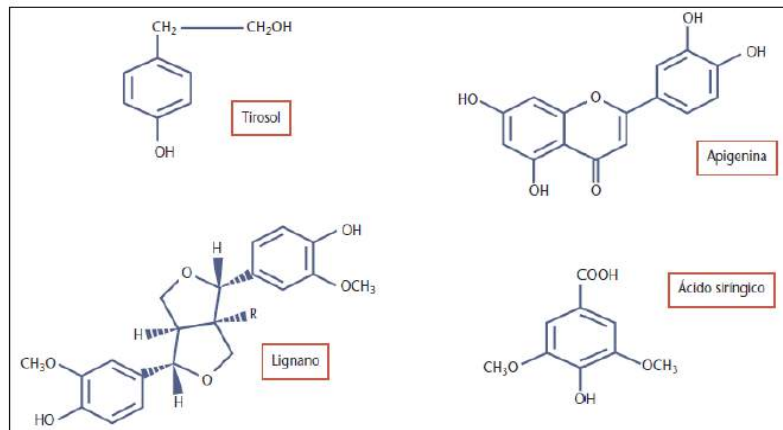


Figura 9. Ejemplos de estructuras de compuestos fenolicos

Fuente: Tomado de Gimeno, C.E. 2004

En la actualidad no existen ingestas diarias recomendadas de polifenoles, aunque las recomendaciones podrían estar basadas en la cantidad de polifenoles ingeridos dentro del programa "5 al día" (Williamson y Holst, 2008). Por ello, utilizando datos de la USDA de ingestas de polifenoles esperadas en individuos que consumen 5 piezas de frutas o verduras al día, se podrían alcanzar valores de ingesta »500 mg/día; incrementándose dicho valor entre 500-1000 mg/día si se considera la ingesta de otros alimentos ricos en polifenoles como infusiones, café, té o cacao (Pokorny, 2007; Williamson y Holst, 2008).

Tabla 8. Lista de alimentos ricos en polifenoles

	COMPONENTE	ALIMENTO
FLAVONOIDEOS	Flavonoles	Oliva, cebolla, col rizada, lechuga, arándanos, tomate, brécol, manzana, judías verdes. Endivias, té negro, cacao, espinaca, mora y pomelo
	Flavonoles	Vino tinto, pera, vino blanco, manzana.
	Flavononas	Limón, naranja, pomelo.
	Proantocianidinas	Arándano, manzana, melocotón, ciruela, sorgo, frijol avellana, nuez, pistacho, almendra.
	Antocianinas	Saúco, aronia, arándano, mora, guinda, frambuesa, fresa, ciruela, nectarina, melocotón, lechuga morada, manzana,
	Isoflavonas	Grano de soja maduros secos y frescos, harina de soja, tofú, leche de soja, salsa de soja.
NO FLAVONOIDEOS	Taninos	Lentejas, frijoles, uva, vino tinto y blanco, jugo de manzana

Fuente: Soriano, 2006

2.4.1. CLASIFICACIÓN

La naturaleza de los compuestos fenólicos varía desde moléculas simples como los ácidos fenólicos hasta los compuestos altamente polimerizados (Martínez-Valderde et al. citado por Sánchez 2010).

De forma genérica y más sencilla se engloban a los grupos flavonoles y flavonas planares, pigmentos antocianídicos y flavan-3 oles ópticamente activos en un único grupo denominado FLAVONOIDEOS, y el resto de grupos, derivados de ácido hidroxicinámico, derivados del ácido benzóico y otros minoritarios, dentro del grupo de NO FLAVONOIDEOS.

2.4.1.1. Flavonoides

Los flavonoides, nombre que deriva del latín “flavus”, cuyo significado es “amarillo”, constituyen la subclase de polifenoles más abundante dentro del reino vegetal. Se han descrito más de 5000 de estos compuestos. Su estructura se basa en un pirano 2-fenilbenzo(α). Se divide en las subclases flavonas, flavonoles, flavononas, flavanoles, antocianidinas e isoflavonas. A veces se encuentran unidos a azúcares formando glucósidos (Quiñones et al., 2012; Ross et al. 2014).

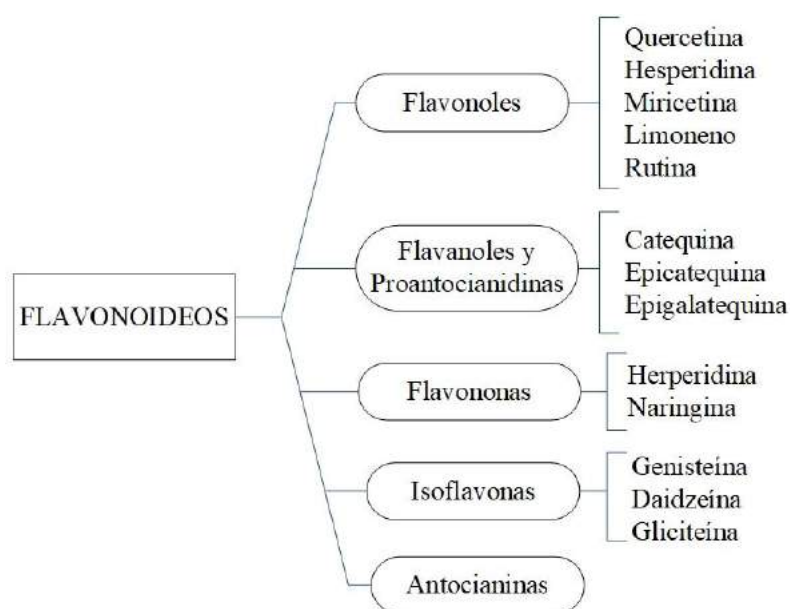


Figura 10. Clasificación fenoles Flavonoideos

2.4.1.2. No flavonoides

Son compuestos cinámicos y benzoicos. Están formados por un anillo aromático con al menos un grupo hidroxilo y con grupos aldehído, alcohol o ácido, solos o esterificados con ácidos orgánicos o unidos a azúcares (Soriano, 2006).

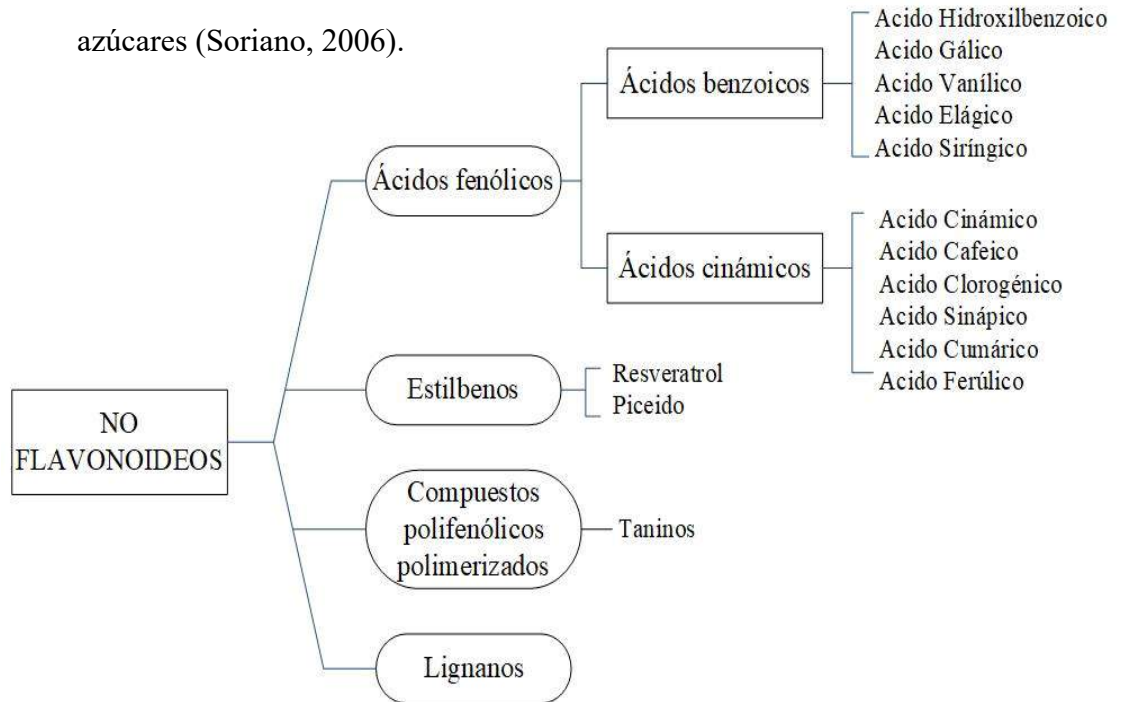


Figura 11. Clasificación de fenoles No Flavonoideos

2.4.2. EXTRACCIÓN DE POLI FENOLES:

La extracción, es una etapa previa a la cuantificación para la liberación de los compuestos activos presentes en las paredes celulares de los frutos. (Izquierdo A. 2011).

2.4.2.1. Extracción por solvente

La capacidad para retener polifenoles depende de la naturaleza del solvente y el modo de la preparación del extracto, tiempo y temperatura de extracción, su relación sólido-líquido. (Bucić Kojić C. 2012).

Se tiene que tener en cuenta la afinidad del solvente con la muestra a extraer, ya que se puede perder compuestos activos del fruto, en caso de

semilla de uva se puede utilizar solventes; metanol/HCl, agua etanol, etanol, metanol, agua caliente, etc. (Thorsten M. et al. 2009).

2.4.2.2. Extracción Ultrasónica:

La extracción asistida por ultrasonido es llevada a cabo bajo diferentes condiciones como solventes, tiempo, temperatura, etc. El ultrasonido induce una serie de efectos físicos, químicos y mecánicos resultando en un aumento en la tasa de recuperación de compuestos bioactivos, especialmente los compuestos fenólicos. (Wang J. et al. 2008).

Este tipo de extracción es una alternativa económica, simple y eficiente en comparación con las técnicas de extracción convencionales. Las principales ventajas del ultrasonido en la extracción de sólido y líquido incluyen el aumento del rendimiento de extracción y una cinética más rápida. (Dong J. et al. 2014).

2.4.3. DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES

Hay un gran número de estudios sobre la determinación de compuestos bioactivos en frutas tropicales (Pierson et al., 2012; Fernandez et al., 2012). El método más utilizado para determinar polifenoles totales es el método de Folin – Ciocalteu.

El ensayo Folin Ciocalteu, es usado para medir el contenido de fenoles totales en productos vegetales por el carácter reductor del reactivo. Los compuestos fenólicos reaccionan con una mezcla de ácidos fosfowolfrámico y fosfomolibdico en medio básico, dando lugar a una coloración azul susceptible a ser medida espectrofotométricamente a 725 nm. (Olaya y Restrepo, 2011).

Es un método preciso y sensible, que puede sufrir diversas variaciones, relacionadas principalmente a los volúmenes utilizados de la muestra, la concentración de los reactivos y el tiempo de reacción. Los resultados se expresan en mg GAE por 100 g de pulpa de frutos. (García et al., 2015).

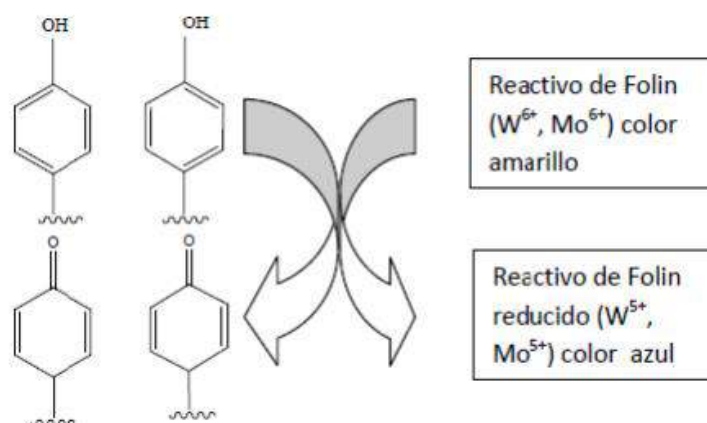


Figura 12. Mecanismo de acción del reactivo de Folin-Ciocalteu

(Fuente: ETSIAMN. Universidad Politécnica de Valencia- Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu).

2.5. ANTIOXIDANTES

Es una molécula, que retarda la oxidación, cediendo uno o más de sus de este modo evitar el ataque de algún radical libre. (Kobus et al. 2014).

Estos antioxidantes tienen propiedades únicas que extienden la vida útil de los productos alimenticios sin ningún efecto adverso sobre sus cualidades sensoriales o nutricionales.

(Shahidi y Ambigaipalan, 2018).

2.5.1. RADICALES LIBRES

Estos átomos, poseen un electrón desapareado o libre, pudiendo captar un electrón de las moléculas estables para tener una estabilidad electroquímica y una vez que ha conseguido captar el electrón, la molécula desapareada ahora se vuelve en radical libre, la vida media biológica de un radical libre es de microsegundos, pero

posee la capacidad de reaccionar con todo lo que se encuentre a su alrededor, provocando así daño a nivel molecular. (Vintimilla, 2013).

2.5.2. ESTRÉS OXIDATIVO

Los radicales libres establecen un potencial peligro para los seres vivos, debido a que afectan lípidos, proteínas y ácidos nucleicos e inclusive llegan a provocar muerte celular, como respuesta al daño causado, el organismo se defiende debilitando dicha oxidación mediante la acción de moléculas antioxidantes, pero si la oxidación no es detenida el proceso se llama estrés oxidativo. (Aldana y Guayasamín 2014).

El estrés oxidativo/nitrosativo es un proceso en el cual se producen especies reactivas de oxígeno y especies reactivas de nitrógeno. Es un proceso degenerativo que puede ser importante mediador del daño a estructuras celulares, incluyendo lípidos y membranas, proteínas y ADN. (Giurfa y Oblitas, 2017).

La dieta juega un papel importante en la prevención de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo, fundamentalmente a través del aporte de compuestos bioactivos de origen vegetal, los cuales presentan efectos sinérgicos o aditivos (Liu, 2004; Devalaraja et al., 2011), que pueden mejorar la defensa antioxidante directamente, o indirectamente activando y potenciando los sistemas de detoxificación y antioxidantes endógenos (Masella et al., 2005; Devalaraja et al., 2011).

2.5.3. CLASIFICACIÓN

Existen diferentes atributos para clasificar los antioxidantes, uno de ellos es por su solubilidad, estos pueden ser antioxidantes solubles (en agua y en lípidos) y compuestos antioxidantes insolubles. Su solubilidad depende de su ubicación en

los alimentos y las macromoléculas con las que están vinculados en la matriz alimentaria. Los antioxidantes en los alimentos se pueden encontrar generalmente en 2 formas: libre (I) y formas ligadas (II, III y IV). Además, el mismo antioxidante puede estar presente en forma libre o ligada en distintos alimentos (Cömert & Gökmen, 2017).

Otras de las formas de clasificar los antioxidantes por su origen y presencia en el organismo, es posible diferenciar entre aquellos antioxidantes que son normalmente bio-sintetizados por el organismo, y aquellos que ingresan a éste a través de la dieta. Como son los antioxidantes enzimáticos y los no enzimáticos. (Zaro María José. 2014).

Los antioxidantes dietéticos se pueden clasificar en varias clases de los cuales los polifenoles presentan la clase más grande. Los polifenoles consisten en ácidos fenólicos y flavonoides. Las otras clases de antioxidantes dietéticos incluyen vitaminas, carotenoides, organosulfurales y minerales. (Moharram & Youssef, 2014).

2.5.4. APLICACIÓN

Los antioxidantes alimentarios desempeñan un papel fundamental en la industria alimentaria y se han convertido en uno de los métodos de conservación de alimentos más difundidos. Su bajo costo y facilidad de uso los han convertido en parte de prácticamente todos los productos alimenticios. (Carochoa, Morales, & Ferreira, 2018).

2.5.5. MÉTODOS DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

Los métodos para medir la actividad antioxidante se clasifican en dos grupos:

Tabla 9. Clasificación de los modelos de ensayo in vitro según su modo de reacción ET o HAT

ENSAYO	CATEGORIA
Acido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico (ABTS) 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH) Poder de reducción antioxidante del hierro (FRAP) N,N- dimetil-p-fenilendiamina (DMPD) Capacidad de reducción antioxidante del cobre (CUPRAC)	Ensayos basados en la transferencia de electrones (ET)
Capacidad de absorción del radical oxígeno (ORAC) Parámetro antioxidante de captura de radicales (TRAP) Inhibición de la oxidación del ácido linoleico Inhibición de la oxidación de los lípidos de baja densidad (LDL)	Ensayos basados en la transferencia de átomos de hidrógeno (HAT)

Fuente: Tovar, J. (2013)

2.5.5.1. Método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil)

El método determina la actividad antioxidante de los alimentos y bebidas por reacción con el radical estable DPPH (Plank *et al.*, 2012). El método fue desarrollado por Brand-Williams *et al.* (1995), y se fundamenta en la reducción de la absorbancia del radical DPPH por antioxidantes, medido a 515nm.

Cuando la solución de DPPH reacciona con el sustrato antioxidante que puede donar un átomo de hidrógeno, el color violeta se desvanece. El cambio de color es monitoreado espectrofotométricamente y es utilizado para la determinación de los parámetros para las propiedades

antioxidantes. El procedimiento original para el ensayo DPPH• ha sido adoptado por muchos laboratorios, basándose en la modificación del tiempo de reacción de 120 minutos por de 20-30 min, redox (Ojha et al., 2012).

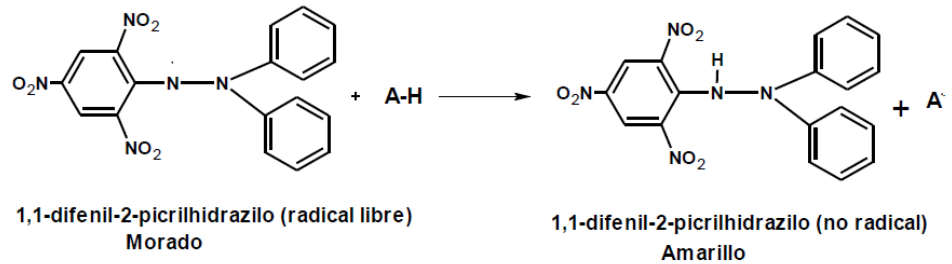


Figura 13. Estructura del DPPH antes y después de la reacción con el antioxidante.

Fuente: Tomado de Tobar 2013.

2.5.5.2. Ensayo de FRAP

El análisis de FRAP fue desarrollado por Benzie y Strain (1996) para medir la actividad antioxidante total y se basa en la reducción del hierro férrico (Fe^{3+}) presente en el complejo 2, 4,6-tripiridil-s-triazina (TPTZ) hasta la forma ferrosa (Fe^{2+}) por acción de compuestos antioxidantes presentes en la muestra (Benzie y Strain, 1996; Pulido et al. 2000).

El ensayo FRAP ha demostrado ser aplicable a una amplia gama de antioxidantes, sin embargo, su velocidad de reacción y el rendimiento final pueden variar para cada compuesto antioxidante. (Pulido. R. et al. 2000)

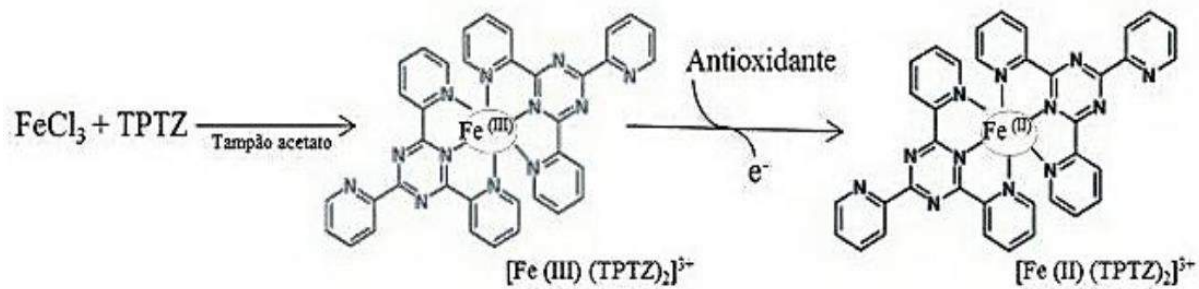


Figura 14. Formación del complejo (Fe²⁺ -TPTZ) desde el complejo (Fe³⁺-TPTZ) por la acción del antioxidante

Fuente: Urrea-Victoria et al., 2016.

III. MATERIALES Y METODOS

3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN

El presente trabajo de investigación se realizó en los siguientes ambientes de la Universidad Nacional del Santa:

- Laboratorio de investigación y desarrollo de productos Agroindustrial de E.A.P.I.A. de la Universidad Nacional de Santa.
- Laboratorio de Análisis y Composición de Productos Agroindustriales de la EAPIA de la Universidad Nacional de Santa.
- Instituto de Investigación Tecnológica Agroindustrial de la Escuela de Ingeniería Agroindustrial.

3.2. MATERIA PRIMA

Uva (*Vitis Vinifera*), de las variedades Negra Criolla y Italia, son obtenidos de la elaboración de vino y destilados de la empresa Viti Vinicola Moro S.A.C. Ubicado en distrito de Moro, Ancash –Perú. Y la variedad Red Globe, del mercado “La Perla”, ubicado en el distrito de Chimbte.

3.3. EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS

3.3.1 Equipos

- Secador de bandejas, marca TORRH, modelo BT-10XL
- Molino, marca IKA WERKE, modelo M20
- Ultrasonido, marca COL-PALMER, serie 008892-26
- Soxhlet, marca FOOS, modelo 207- MCSX, serie 20460047
- Prensa Hidráulica
- Estufa, marca POL-EKO APARATURA, modelo SLW115 TOPTV-670
- Espectrofotómetro UV- Visible, marca Jasco V-670, serie (LSE-701)

- Balanza Analítica, marca PRECISA, modelo LX220A
- Mufla, marca THERMOLYNE, modelo 347034984
- Refrigerador, marca GENERAL ELECTRIC, modelo GSMF3REX
- Digestor Kjendhal, marca VELP, modelo SCIENTIFICA
- Centrifuga Digital, marca CENTURIÓN, modelo SIGMA 2-1 GPK
- Termo balanza, marca PRECISA, modelo XM50
- Campana desecadora
- Agitador vórtex
- Cocina eléctrica

3.3.2 Materiales de Laboratorio

- Fiolas de 5, 10, 25, 50 , 100, 250, 500 ml Kyntel
- Gradillas.
- Micropipeta: 10, 50, 100 y 1000 uL.
- Piteteadores de plástico.
- Pipetas de 1, 5, y 10 mL.
- Piceta
- Fiolas de 10, 25, 50, 100, 250, 500 y 1000 ml.
- Probetas de 10, 50, 100 mL
- Pomos de vidrio ámbar de 5 y 20 mL.
- Termómetro.
- Tubos de virio y falcon de 15 mL.
- Tubos de ensayo
- Crisoles
- Espátula
- Placas Petri

- Mortero
- Viales
- Campana desecadora.
- Soporte universal

3.3.3 Otros Materiales:

- Papel toalla
- Vernier
- Cuchillos
- Papel aluminio
- Bolsas de polietileno
- Marcadores

3.3.4 Reactivos

3.3.4.1. Reactivos para la determinación de compuestos fenólicos totales

- Folin Ciocalteau 2N, marca Merck
- Trolox (6-Hydroxy-2, 5, 7, 8- tetramethylchroman-2-carboxylic acid), marca *Sigma*.
- Ácido gálico estándar, marca JT Barker
- Carbonato de Sodio (Na_2CO_3) anhídrido, marca JT Baker
- Agua Destilada.

3.3.4.2. Reactivos para la determinación de capacidad antioxidante por DPPH

- Trolox (6-Hydroxy-2, 5, 7, 8- tetramethylchroman-2-carboxylic acid), marca *Sigma*.
- Metanol, marca *Merck*.

- DPPH 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. marca Sigma.

3.3.4.3. Reactivos para la determinación de capacidad antioxidante por

FRAP

- TPTZ 2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine, 98 por ciento
- Ácido clorhídrico (HCl)
- Clorhidrato de cloruro férrico ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$)
- Acetato de sodio Trihidratado ($\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$)
- Agua Destilada.

3.3.4.4. Otros reactivos:

- Etanol grado HPLC de 100%
- Rojo de metilo
- Catalizador Kjeldahl 6.25% Cu

3.4. MÉTODOS DE ANÁLISIS

3.4.1 Procedimiento de la preparación de muestra para las variedades Italia y Criolla Negra

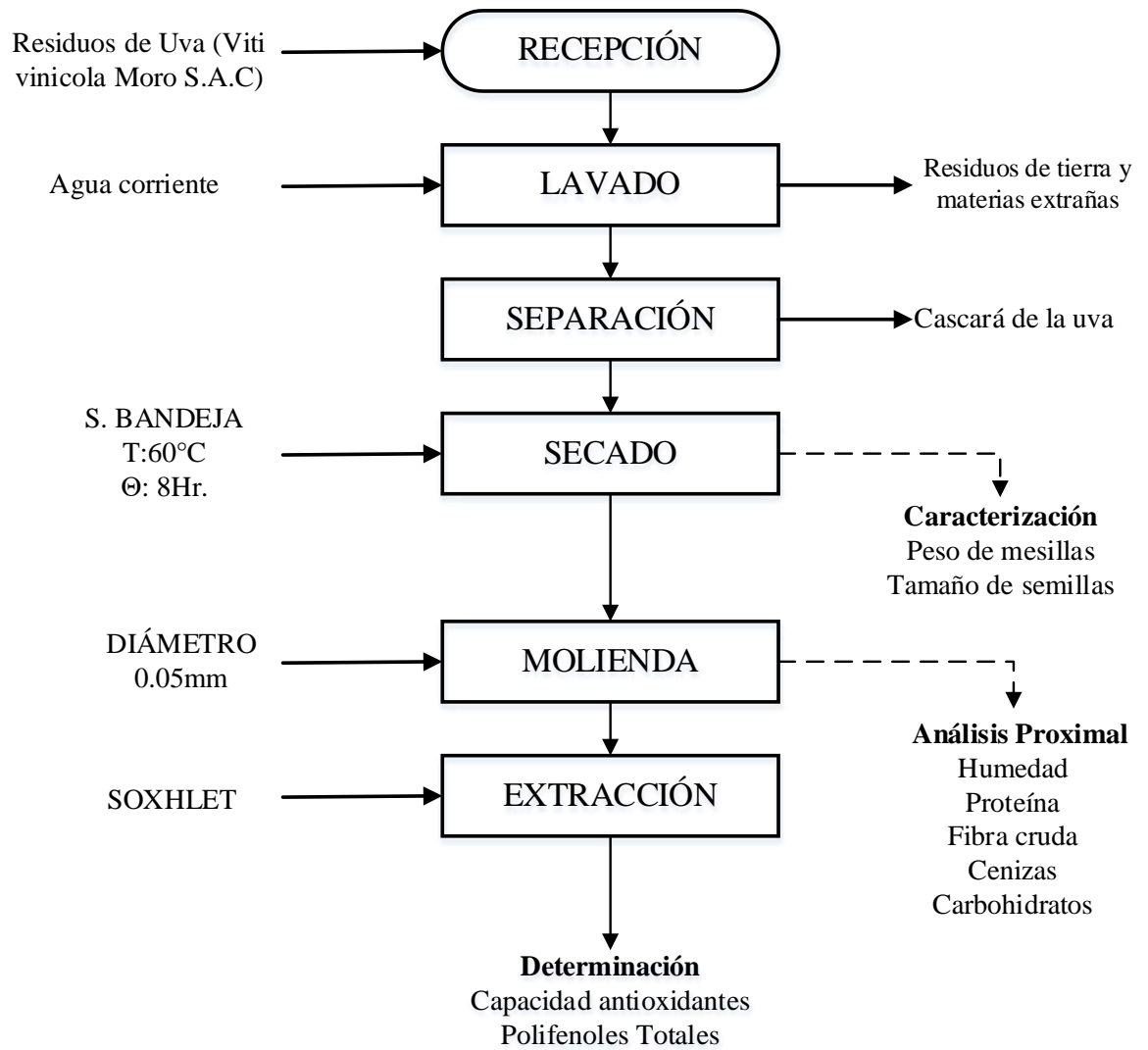


Figura 15. Diagrama de Flujo del proceso de preparación de la muestra Var. Criolla Negra e Italia para la extracción y análisis

3.4.2 Procedimiento de la preparación de muestra de la Variedad Red Globe

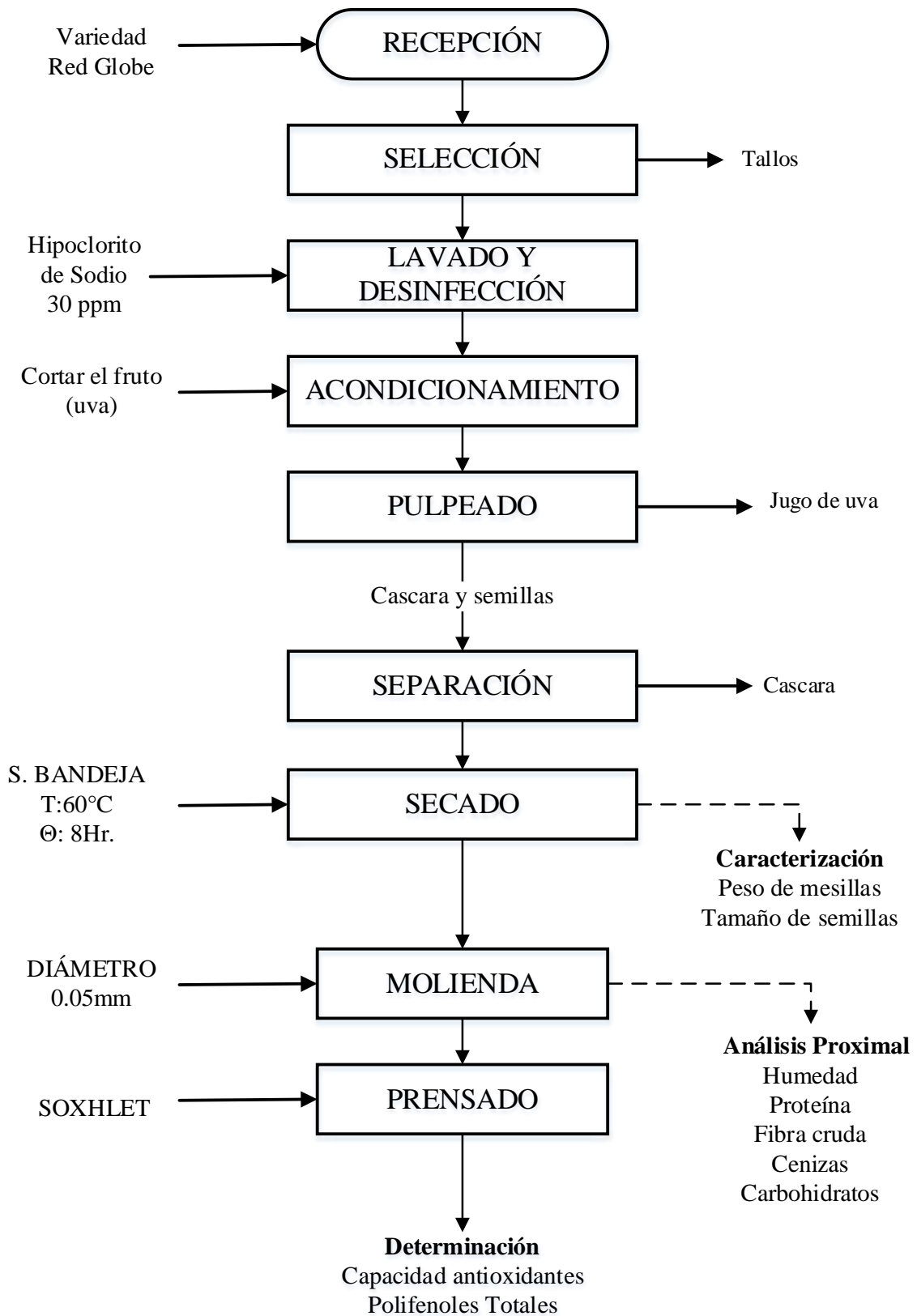


Figura 16. Diagrama de Flujo del proceso de preparación de la muestra Var. Criolla Negra e Italia para la extracción y análisis

3.4.3 Métodos de Análisis para la caracterización de las muestras (Análisis proximal).

3.4.3.1. Determinación de Humedad

En la harina de semilla de uva de las var. Red Globe, Criolla Negra e Italia, se determinó el porcentaje de humedad empleando el método AOAC 19th edition 2012, 925.10. Colocar

3.4.3.2. Determinación de Cenizas

Se determinó el porcentaje de cenizas, empleando el método de incineración en mufla, método AOAC 19th edition 2012, 923.03. Colocar el crisol en el horno incinerador a una temperatura de 600°C durante 3 a 5 horas.

3.4.3.3. Determinación de Grasa

Se determinó el porcentaje de grasa, mediante el método AOAC 938.06 19th Edition 2012. Con el método de Soxhlet, con hexano como reactivo extractor.

3.4.3.4. Determinación de Proteínas

En la harina de semilla de uva de las var. Red Globe, Criolla Negra e Italia, se determinó a través del método Kjeldahl, método AOAC 19th edition 2012, 920.87. El método determina nitrógeno total.

3.4.3.5. Determinación de Fibra Cruda

Se determinó el porcentaje de fibra cruda, empleando el método NMX-F-090,1978.

3.4.4 Procedimiento para la extracción de P.T y antioxidantes:

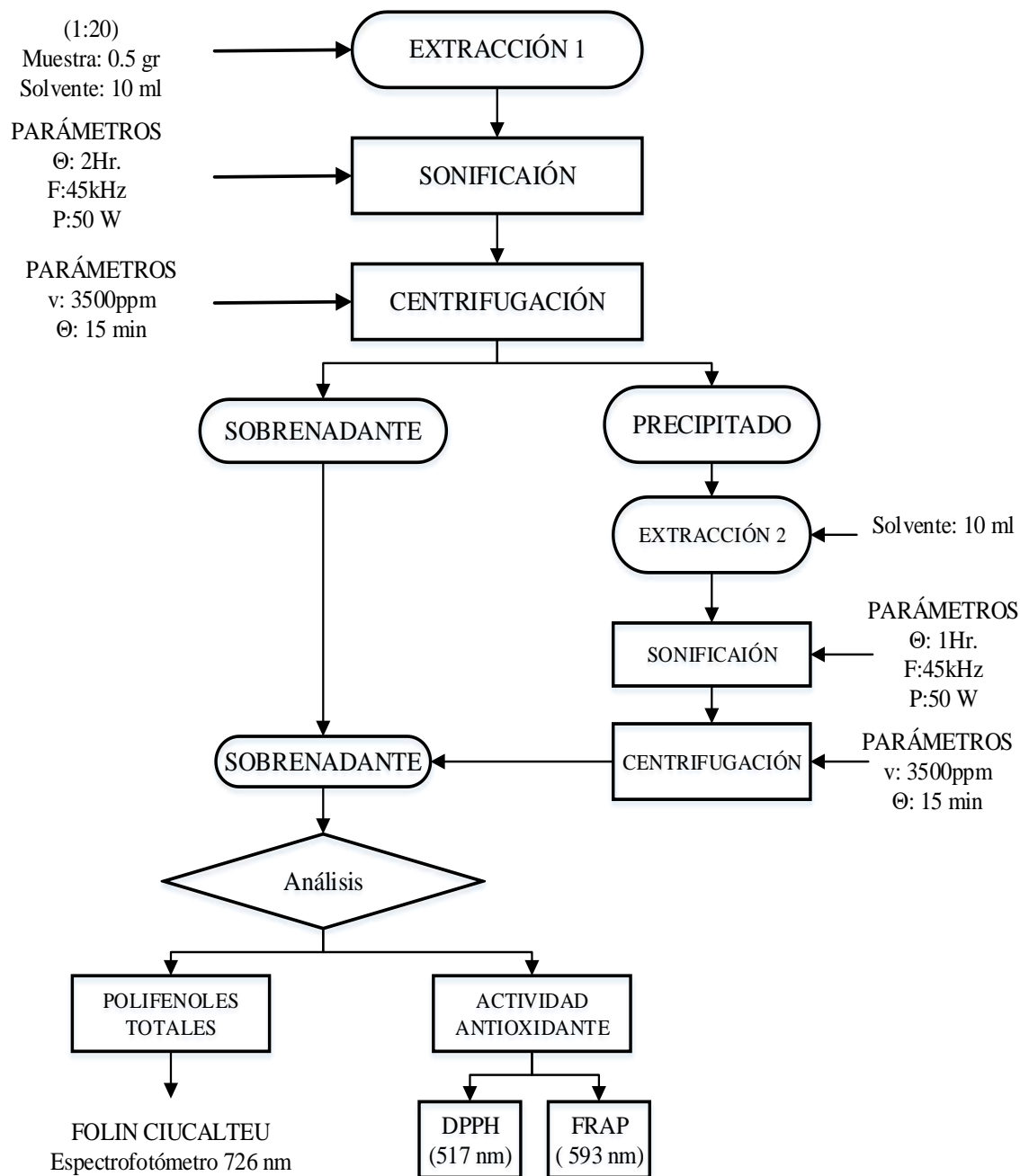


Figura 17. Diagrama de flujo para la preparación de muestra

Fuente: Elaboración propia

3.4.5 ANÁLISIS DE COMPUESTOS FENÓLICOS

El contenido total de polifenol (TP) se determinó mediante un método colorimétrico utilizando el ensayo de Folin-Ciocalteu siguiendo el mismo procedimiento que se informó anteriormente (**Kurabachew S. et al. 2015**). Las medidas se llevaron a cabo a 726 nm y la curva de calibración se realizó con soluciones estándar de ácido gálico, todos los análisis se realizaron por triplicado. El rendimiento de TP se expresó en miligramos de ácido gálico equivalente por gramo de sustrato seco (mgGAE / g).

Preparación de Reactivos

- **Reactivos Folin-Ciocalteu**

El reactivo Folin-Ciocalteu se preparó en una fiola de 10 ml cubierta con papel aluminio para protegerlo de la luz. Se colocó 1.25 ml del reactivo Folin-Ciocalteu y se aforo con agua destilada.

- **Carbonato de sodio, 7.5%. (w/v)**

Se pesó 0.750 g de carbonato de sodio (NaCO_3) en papel aluminio y se transfirió luego a una fiola de 10 ml, se agregó 5ml de agua destilada y se agito en un vortex hasta diluir completamente. Finalmente se aforo con agua destilada.

- **Estándar de ácido gálico (50mg/L)**

Se pesó 25 mg de ácido gálico en un papel aluminio y se transfirió luego a una fiola de 100 ml, obteniéndose una concentración de 250 ppm. Posteriormente se extrajo 2ml de dicha solución en una fiola de 10 ml y se aforo con agua destilada, obteniéndose una concentración final de 50 ppm, utilizada en la construcción de la curva de calibrado de Ácido Gálico.

- **Preparación de la curva de calibrado:** En siete viales de vidrio cubiertos con papel aluminio se colocó volúmenes de 150 uL, 300 uL, 600uL,

900uL, 1200uL y 1500uL uL de la solución estándar de ácido gálico (50 ppm), se agregó en cada uno de los viales agua destilada hasta completar un volumen de 3300 uL. Posteriormente se adicionó 150 uL de carbonato de sodio al 7.5% y 300 uL de reactivo Folin-Ciocalteau. La mezcla se agitó y se dejó reposar, a temperatura ambiente y en oscuridad, durante 15 minutos. Finalmente se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 726 nm, en un espectrofotómetro Marca JASCO.

Análisis de la muestra: Se tomó 900uL de cada muestra preparada, se adicionó 2400 uL de agua destilada y se agitó. Posteriormente se adicionó 150 uL de carbonato de sodio al 7.5% y 300 uL de reactivo Folin-Ciocalteau. La mezcla se agitó y se dejó reposar, a temperatura ambiente y en oscuridad, durante 15 minutos. Finalmente se leyó la absorbancia a una longitud de onda de 726 nm, en un espectrofotómetro Marca JASCO. Las muestras fueron analizadas por triplicado frente a un blanco que no tenía muestra. Los resultados se interpolaron en la curva de calibrado del Ácido Gálico, y las concentraciones obtenidas se multiplicaron por el factor de dilución correspondiente. Los resultados se expresaron como mg Equivalente Ácido Gálico (mg EqAG/g muestra).

3.4.6 ANÁLISIS DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

3.4.6.1. Método de DPPH

Se siguió como referencia el método descrito por Morales y Jiménez-Pérez (2001), con algunas modificaciones por Delgado-Andrade et al. (2005). La absorbancia se midió a 517 nm, la cual fue reemplazada en

una curva estándar considerando al trolox como equivalente químico. Los resultados fueron expresados como unidades ppm.

Preparación de reactivos:

- **Solución de DPPH (40mg/L)**

Con 4 mg del radical DPPH se disolvió con 50 mL de metanol grado HPLC por 10min en sonicador con ultrasonido luego se aforo con agua destilada a 100mL protegido de la luz.

- **Estándar de Trolox (50mg/100mL)**

Se pesó 5mg Trolox en papel aluminio y se transfirió a una fiola 10 ml, la cual estaba cubierta con papel aluminio; se adicionó 5ml de metanol HPLC y se agito durante 5 minutos en un vortex. Transcurrido el tiempo se agregó agua destilada y nuevamente se agito en un vortex durante 5 minutos. Finalmente se aforó con metanol HPLC.

Curva de calibración de Trolox: En cuatro viales de vidrio cubiertos con papel aluminio se agregaron volúmenes de 25, 50, 75 y 100 uL del estándar de Trolox (50mg//100mL). Se adicionó 6.25 ml de solución de DPPH en cada vial.

Los viales fueron colocados a incubación en baño María a 35°C por 2 horas. Posteriormente se realizó la lectura de las absorbancia a una longitud de onda de 517 nm utilizando como blanco agua destilada.

Análisis de las muestras: Para el análisis de las muestras se toma 100uL de muestra y 6000uL de solución de DPPH, se preparó el blanco de cada muestra con 100uL de muestra y 6000 agua destilada.

Análisis de capacidad antioxidante: La capacidad antioxidante por DPPH, se expresó en $\mu\text{mol ET/gr}$ muestra BS y en porcentaje de Inhibición (% I).

3.4.6.2. Método FRAP

Este método se basa en un aumento de la absorbancia a 593 nm debido a la formación de complejos de tripiridil-S-triazina con Fe^{2+} + [TPTZ-Fe (II)] en presencia de un agente reductor (Benzie & Strain, 1996; Benzie & Szeto, 1999)

Preparación de Soluciones

- **Solución $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 20 nM:** Pesar 0.054 g de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ agregar a un afional de 10 ml y enrasiar con agua destilada y almacenar a 4°C en ausencia de luz. Reactivo preparado en el mismo día.
- **Solución TPTZ 10 nM :** Pesar 0.031 g de TPTZ en fiola de 10 ml y aforar con HCl 0.04 M
- **Acido clorihidrico 0.04 M**
1.64 ml de Ácido Clorihidrico concentrado en una fiola de 500 ml y aforar con agua bidestilada
- **Buffer 0.03 M, pH 3.6:** 1.55 g $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, 8 ml de ácido acetico en una fiola de 500 ml y aforar con agua destilada, sonificar 4 min. Verificar y corregir pH.
- **Reactivo FRAP:** 100 ml Buffer 0.03 M, pH 3.6, 10 ml de TPTZ 10 nM y 10 ml de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 20 nM

Determinación de la capacidad antioxidante

Para la determinación de la capacidad antioxidante, en cada pocillo de la placa se agrega 20 µL de muestra (diluida si es necesario), luego se inyecta 280 µL de solución FRAP. La mezcla se dejó reposar durante 4 minutos a temperatura ambiente antes de medir la absorción a 593 nm. La calibración se realizó con Trolox como se describió anteriormente.

3.5. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

3.5.1 DESCRIPCIÓN DEL PROCESO PARA LA OBTENCIÓN DE TORTA DESGRASADA.

Se describe el proceso para la obtención de torta desgrasada de las tres variedades de uva (Criolla Negra, Red Globe e Italia), por extracción mediante el método de Soxhlet, empleados en la determinación de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de la presente investigación.

3.5.1.1. Descripción de los procesos para la obtención de torta desgrasa de semillas de Var. Criolla Negra e Italia

- **Recolección y recepción de materia prima:** Las semillas de uva de las variedades Criolla Negra e Italia, fueron recolectadas del residuo de la producción de vino y pisco de la Empresa “Viti Vinicola Moro S.A.C.” ; ubicado en el distrito de Moro, provincia del Santa, departamento de Áncash. Durante su recolección se consideró su adecuado traslado.
- **Recepción y pesado de materia prima:** se recepciona y pesa el fruto al recibirlo.

- **Lavado:** El lavado se realizó con flujo corriente de agua potable, hasta retirar restos de tierra y material extraño. No se uso concentraciones de cloro para evitar que reaccione con los antioxidantes de esparrago.
 - **Separación:** en esta etapa se separa la cascara de las semillas de uva, descartando la cascara, para esta investigación.
 - **Lavado y desinfectado:** se lava con abundante agua y se desinfecta con 30 ppm de hipoclorito de sodio para eliminar microorganismos.
 - **Separación:** en esta etapa se separa cuidadosamente las semillas de las bayas de uva, se descarta el fruto y la cascará que luego puede ser usado en otros tratamientos.
 - **Almacenamiento:** una vez obtenido las semillas de uva se almacenan en refrigeración.
- **Obtención de la torta desgrasada de semilla de uva por el método de Soxhlet**
- **Recepción y pesado de materia prima:** se pesa las semillas de uva obtenidas en el proceso anterior, y se pesa para determinar el rendimiento.
 - **Secado:** se reduce la humedad aproximadamente hasta 8%, secándose en una estufa durante 8 h (60 ° C).
 - **Prensado:** El método consistió en realizar una extracción sólido-líquido utilizando éter de petróleo, como disolvente orgánico en un equipo Soxhlet durante un periodo de tiempo de 6 horas.
 - **Almacenamiento:** Los residuos de prensado resultantes se enfriaron, se sellaron en bolsas de polietileno a vacío y se mantuvieron a 20°C hasta que se analizaron.

3.6. DISEÑO EXPERIMENTAL Y ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El diseño estadístico que se usará es un diseño completamente al azar (DCA) multifactorial categórico con dos factores categóricos o variables independiente (3 niveles), con 3 repeticiones, es decir 27 experimentos, cuyos resultados serán evaluados con el test de Tuckey, en un nivel de confianza del 1% el análisis de varianza (ANAVA) se desarrolla para estudiar las diferencias de las variedades analizadas.

Modelo estadístico

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + \varepsilon_{ij}$$

Y_{ij} = Cualquier observación de polifenoles totales, capacidad antioxidante

μ = Media poblacional

α_i = Efecto del i-esimo variedad

ε_{ij} = Error aleatorio del experimento

Hipótesis para el tratamiento (variedades):

$$\alpha_1 = \alpha_2 = \alpha_3$$

$$\alpha_1 \neq \alpha_2 \neq \alpha_3$$

Tabla 10: Matriz experimental para el estudio de la Torta desgrasada de semilla de uva (*Vitis Vinifera*)

Ejecución	VAR.	Polifenoles totales	CA	
			DPPH	FRAP
Criolla Negra	Metanol (0.1% HCl)			
Criolla Negra	Etanol:Agua (3:1)			
Criolla Negra	Agua (75°C)			
Red Globe	Metanol (0.1% HCl)			
Red Globe	Etanol:Agua (3:1)			
Red Globe	Agua (75°C)			
Italia	Metanol (0.1% HCl)			
Italia	Etanol:Agua (3:1)			
Italia	Agua (75°C)			
Criolla Negra	Metanol (0.1% HCl)			
Criolla Negra	Etanol:Agua (3:1)			
Criolla Negra	Agua (75°C)			
Red Globe	Metanol (0.1% HCl)			
Red Globe	Etanol:Agua (3:1)			
Red Globe	Agua (75°C)			
Italia	Metanol (0.1% HCl)			
Italia	Etanol:Agua (3:1)			
Italia	Agua (75°C)			
Criolla Negra	Metanol (0.1% HCl)			
Criolla Negra	Etanol:Agua (3:1)			
Criolla Negra	Agua (75°C)			
Red Globe	Metanol (0.1% HCl)			
Red Globe	Etanol:Agua (3:1)			
Red Globe	Agua (75°C)			
Italia	Metanol (0.1% HCl)			
Italia	Etanol:Agua (3:1)			
Italia	Agua (75°C)			

* Hoja de trabajo (Statgraphics)

P.T: Polifenoles Totales

C.A: Capacidad Antioxidante

3.7. DIAGRAMA EXPERIMENTAL

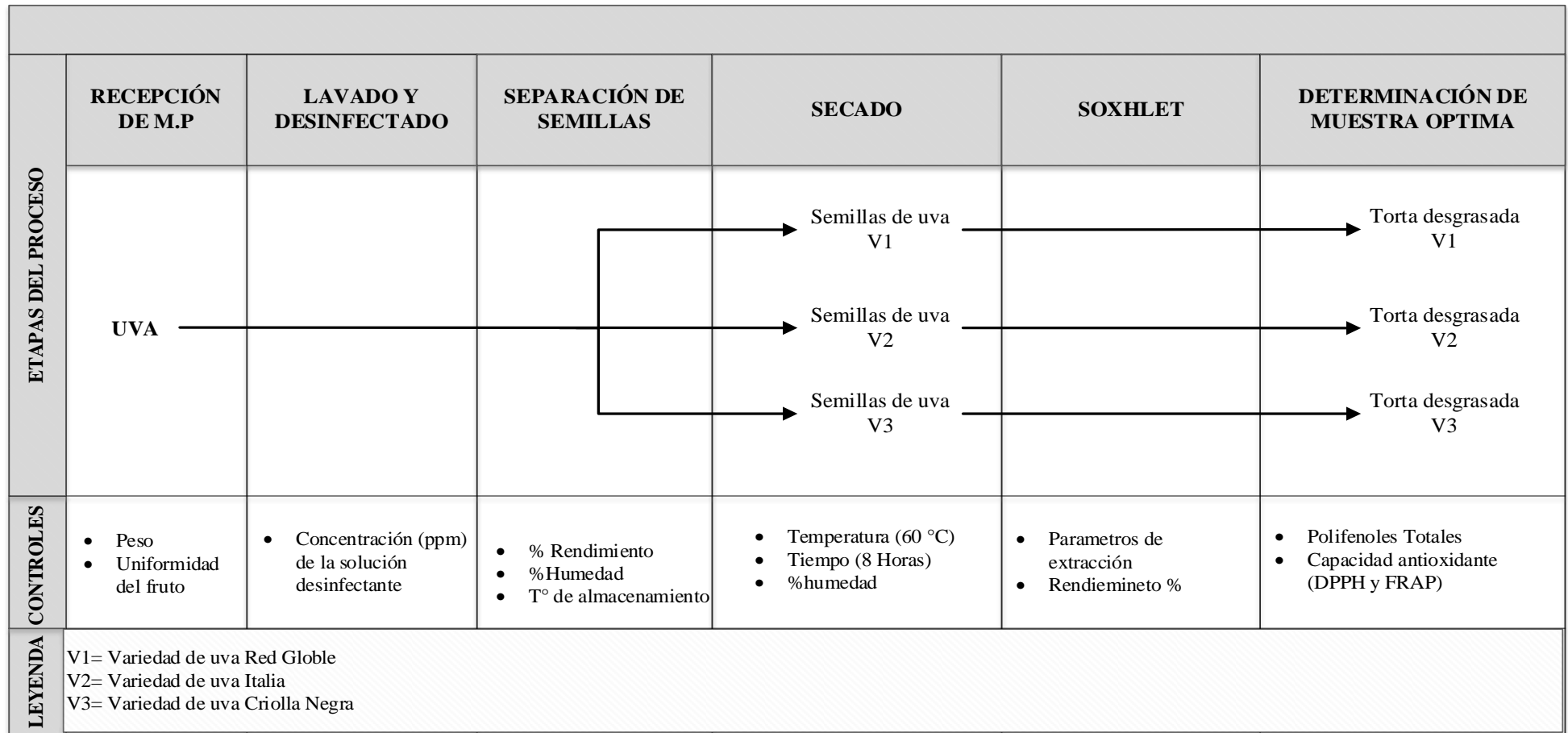


Figura 18. Esquema experimental de la obtención y análisis de la torta desgrasada de tres variedades de uva

IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1. OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE LA HARINA DE SEMILLA DE UVA

4.1.1. ANÁLISIS FÍSICO

En la tabla 10 se presenta los valores del peso (100gr semilla), largo, Ancho y grosor de las semillas:

Tabla 11: Análisis dimensional de semilla de uva

Variedades	Peso (100 semillas) gr	Largo (cm)	Ancho (cm)	Grosor (cm)
Criolla Negra	2.503±0.030	0.636±0.033	0.411±0.061	0.318±0.015
Red Globe	4.249±0.119	0.863±0.041	0.381±0.026	0.294±0.027
Italia	3.209±0.022	0.678±0.039	0.375±0.051	0.311±0.016

Los resultados de la tabla 2, se observa el peso promedio en 100 semillas (gr) y las dimensiones promedio de la semilla de uva largo, ancho y grosor en (cm), en diferentes variedades; criolla negra, red Globe y Italia tomando muestra aleatoria de 50 semillas, el peso promedio en 100 semilla estuvo comprendido entre 2.503 y 4.249 gr, en las dimensiones el largo entre 0.636 y 0.863 gr, ancho 0.375 y 0.411 cm, grosor 0.294 y 0.318cm respectivamente.

Estos resultados son consistentes con los de Adrian andrade y Ledyamil Garcia (2008) quienes informan que en la variedad Criolla Negra el peso de 1 semilla promedio es de 0.041, calculando en 100 semilla se obtendría 4.1 gr, por otro lado el largo es 0.650 cm y ancho 0.42 cm.

Según Contreras Orellana y Deisy Elizzeth (2019), el peso en 100 semillas comprende entre 2.3484 gr y 4.4572 gr donde se empleó siete variedades de semillas de uvas, Borgoña Blanca 2.348 gr, Borgoña Negra 4.4572 gr, Italia

3.1824 gr, Red Globe 2.5556 gr, Quebranta 2.6186 gr, Moscatel 2.4189 gr, Uvina 3.0389 gr, teniendo correlación con los datos obtenidos.

César Rodolfo Moya García (2017), obtuvieron resultados de la variedad de uva borgoña haciendo referente al peso de 1 semilla 0.036 gr, en 100 semillas sería 3.6gr, largo 6.768 mm y diámetro 3.8742 mm, teniendo similitud con los resultados obtenidos.

4.1.2. ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL DE LA HARINA DE SEMILLA DE UVA

Tabla 12. valores del análisis químico proximal de semillas de uva en base seca:

Parámetros	Variedades de semilla		
	Var. Criolla Negra	Var. Red Globe	Var. Italia
Humedad (%)	8.133 ± 0.003	8.067 ± 0.003	8.133 ± 0.002
Cenizas (%)	1.518 ± 0.001	1.662 ± 0.001	2.270 ± 0.001
Grasas (%)	11.240 ± 0.004	12.241 ± 0.005	14.997 ± 0.008
Proteínas (%)	10.607 ± 0.003	8.392 ± 0.002	11.657 ± 0.008
Fibra (%)	45.437 ± 0.006	46.678 ± 0.019	40.581 ± 0.017

El contenido de humedad de las harinas de semilla de uva desgrasada, obtenidas a partir de las tres variedades de uva está comprendidas entre 8.067% y 8.133%, valor semejante al 8.03% reportado por Barriga M. (2020), en variedad Borgoña Negra.

Estos valores de humedad son ligeramente mayores a los valores reportados por Surco *et al.* (2020), de 7.64 % ± 0.23 y 7.38% ± 0.09, en variedades Criolla Negra e Italia respectivamente. Según Benardini E. (1981), el contenido de agua en una semilla es un factor de suma importancia para la extracción de aceite de

las mismas, siendo 9% un valor óptimo de humedad para la mayoría de las oleaginosas.

El valor obtenido de cenizas en la Var. Italia y Criolla negra fue de 2.27% y 1.518%, respectivamente, valores semejantes al reportado por Surco *et al.* (2020) de 2.47 % en la Var. Italia y menor a 2% en Var. Criolla Negra. Los valores obtenidos en este estudio son mayores a los reportados por Berradre, M. *et al.* (2014), de 1.13 % en Var. Tempranillo y Juárez *et al.* (2017) de 1.43% en Var. de Uva Silvestre.

El porcentaje de grasa obtenido se encuentra entre 11.24% a 14.99%, dicho rango es mayor al reportando por Surco *et al.* (2020), de 5.16% a 11.2 % de grasa en semillas de uvas residuos de la producción de piscos, así como al 10.08% reportado por Berradre, M. *et al.* (2014) en la Var. tempranillo, y 11.05% por Barriga M. (2020), en la Var, Borgoña Negra.

Los contenidos de proteína y fibra obtenidos para la semilla de uva desgrasada en este estudio, se encuentran de 8.392 % a 11.657% y 40.581% a 46.678%, respectivamente, lo que permite inferir que este subproducto de la industria vitivinícola puede ser útil en la formulación de alimentos para animales, así como en la elaboración de productos proteicos (Camacho *et al.*, 2005).

El valor obtenido de fibra es mayor al reportado por Andrade y García (2018), de 38.53% en una híbrido entre las variedades *Vitis Vinífera* y *Vitis Caribaea*.

4.2. DETERMINACIÓN DE LOS COMPUESTOS FENOLICOS TOTALES EN LA HARINA DESGRASADA DE SEMILLA DE UVA

La determinación de polifenoles totales se realizó por el método de Folin Ciocalteu (1994), los resultados se expresaron como equivalente de ácido gálico (AGE) utilizando una curva de calibración (Anexo 6) obtenida con estándares de ácido gálico.

En esta investigación la variedad y los solventes de extracción fueron las variables independientes de estudio. La extracción sólida/líquido se realizó con sonicación, a una temperatura de 60°C, un tiempo de extracción de 3 horas minutos y una relación solido/liquido de 0.5g/20ml.

Tabla 13: Contenido de Polifenoles Totales en semillas de uva (*Vitis Vinifera*) desgrasadas de las variedades Criolla Negra, Red Globe e Italia; obtenidas por los solventes Metanol (0.1% HCl), Etanol/Agua (3:1) y Agua 75°C.

Muestra	Variedades	Solventes	Polifenoles Totales (mg AGE/gr Muestra)			Promedio
			R1	R2	R3	
1	Criolla Negra	Metanol (0.1%HCl)	23.275	22.797	23.319	23.130 ± 0.289
2	Criolla Negra	Etanol/agua (3:1)	10.247	9.118	9.227	9.531 ± 0.623
3	Criolla Negra	Agua 75°C	6.162	6.116	6.588	6.289 ± 0.260
4	Red Globe	Metanol (0.1%HCl)	71.402	77.223	71.998	73.541 ± 3.203
5	Red Globe	Etanol/agua (3:1)	60.334	59.164	59.030	59.509 ± 0.718
6	Red Globe	Agua 75°C	23.421	23.471	24.048	23.647 ± 0.348
7	Italia	Metanol (0.1%HCl)	81.279	81.363	81.286	81.309 ± 0.047
8	Italia	Etanol/agua (3:1)	68.376	65.662	67.260	67.099 ± 1.364
9	Italia	Agua 75°C	35.632	33.950	35.774	35.119 ± 1.015

R_i: Repeticiones

En la tabla 11, se muestran los resultados del contenido de polifenoles totales de los 9 tratamientos realizadas, considerando los 2 factores o variables independientes en estudio: variedad de semilla desgrasada de uva (Criolla Negra, Red Globe e Italia) y tipo de Solvente Metanol (0.1% HCl), Etanol/Agua (3:1) y Agua 75°C.

El contenido de polifenoles totales de las semillas desgrasadas de uva, estuvo comprendida entre 6.289 ± 0.260 y 81.309 ± 0.047 mgAGE/gmuestra, variando dependiendo del tipo de solvente y de la variedad de la materia prima. Los valores obtenidos para harina de semilla de uva desgrasada, son mayores a lo reportado por Barriga M. (2020), quien reporta que el contenido de polifenoles totales en harina de semilla desgrasada de *Vitis labrusca* (Borgoña Negra), varía entre 9.46 ± 0.30 y 63.74 ± 2.95 mgAGE/gmuestra. El valor más alto (63.74 ± 2.95 mgAGE/gmuestra) fue extraído por sonicación con etanol 15% como solvente y tiempo de extracción de 2 horas, y el menor valor (9.46 ± 0.30 mgAGE/gmuestra), mediante extracción con liquido presurizado utilizando etanol al 50%. Esta variación la justifican por los métodos de extracción. Estos valores reportados por el autor pueden ser comparados directamente con los valores obtenidos con el solvente Etanol/agua (3:1) de la Var. Criolla Negra (9.531 ± 0.623 mgAGE/gmuestra) y Var. Italia (67.099 ± 1.364 mgAGE/gmuestra).

Juárez, et al. (2017). En su estudio sobre el contenido de polifenoles totales de la semilla de uva Silvestre (*Vitis tiliifolia*), extraído con Etanol:agua (3:1) (v:v) y Metanol:HCl 0.1% (v:v), durante 24h de agitación, reportó valores de 8.89 ± 0.5 y 7.4 ± 1.3 mgAGE/gmuestra, respectivamente, dichos valores pueden ser comparados con los obtenidos en la Var. Criolla Negra de 23.130 ± 0.28 (Metanol 0.1%HCl) y 9.531 ± 0.62

(Etanol/agua (3:1)). Ello puede atribuirse directamente a la variedad y tiempo de extracción, puesto que los solventes empleados son los mismos.

Contreras, O. (2019), da cuenta del contenido de polifenoles en las 7 semillas de uvas de las variedades más representativas del Valle de Cañete, variando de 63.23 a 97.26 mgAGE/gmuestra, en este estudio se reportó el valor de 74.25 mgAG/grmuestra para la Var. Red Globe, el cual se asemeja al determinado en este estudio con un valor de 73.541 ± 3.203 mgAG/grmuestra, del mismo modo reportó el valor de 96.55 mgAGE/grmuestra para la Var. Italia, cuyo valor está por encima de 81.309 ± 0.047 mgAGE/grmuestra, determinado en la misma Variedad.

Existe una amplia variación del contenido de polifenoles totales en las muestras de semillas de uva desgrasadas, dependiendo de la variedad de la materia prima y el tipo de solvente en la extracción. En la tabla 17 se muestra el análisis de varianza (ANOVA) que evalúa la variabilidad de los factores en estudio (variedad y tipo de solvente), sobre el contenido de polifenoles totales de las semillas de uva desgrasadas. La prueba-F en la tabla ANOVA, permite identificar los factores significativos.

Tabla 14: Análisis de Varianza ANOVA para Polifenoles Totales

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Variedades	11828.1	2	5914.03	3717.71	0.0000
B:Solvente	6518.78	2	3259.39	2048.94	0.0000
INTERACCIONES					
AB	1291.1	4	322.774	202.90	0.0000
RESIDUOS	28.6339	18	1.59077		
TOTAL (CORREGIDO)	19666.6	26			

*Todas las razones-F se basan en el cuadrado medio del error residual

Fuente: Statgraphics Centurion XVI.I

En la tabla 12 se muestra el análisis estadístico ANOVA de polifenoles totales de la torta desgrasada de semilla de uva, para los factores A (Variedades) y B (Tipos de Solvente) son altos, lo cual indica que son estadísticamente significativos, teniendo un nivel de confianza del 95%; asimismo, los valores de P menores a 0.05 reafirman que las variables A, B y la combinación de ambas (AB) son significativas.

Se llevó a cabo la prueba de rangos múltiples, entre las medias de los factores en estudio (variedad y tipo de solvente). En la tabla 13 y 14 respectivamente, se aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. El método empleado es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey.

Tabla 15: Pruebas de múltiples rangos para el contenido de Polifenoles Totales por VARIEDADES de semillas de uva desgrasadas

<i>VARIEDADES</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Criolla Negra	9	12.9844	0.420419	X
Red Globe	9	52.2311	0.420419	X
Italia	9	61.1756	0.420419	X

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Criolla Negra - Italia	*	-48.1911	1.51814
Criolla Negra - Red Globe	*	-39.2467	1.51814
Italia - Red Globe	*	8.94444	1.51814

* indica una diferencia significativa.

La tabla 13 muestran 3 grupos homogéneos (Var. Criolla Negra, Var. Red Globe y Var. Italia), los cuales muestran diferencia estadística significativa entre si, dado que las X's no están alineadas (no comparten una misma columna). El asterisco junto al par, indicando que este par muestra diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza.

En la gráfica 1 se observa la significancia existente y la comparación de medias (tukey HSD) del factor Variedad, donde la media de la Variedad Criolla Negra, Red Globe e Italia es de 12.9844; 52.2311; 61.1756 mgAGE/gmuestra respectivamente. La diferencia entre la variedad con mayor contenido de polifenoles totales y el menor contenido es de -48.1911, esto representa un 78.77% menos, respecto a la variedad Italia. La diferencia entre la variedad Criolla Negra y la variedad Red Globe es de (-39.2467) representando el 75.14 %, sin embargo, la menos diferencia se obtuvo entre la variedad Italia y Red Globe (8.944) que representa solo el 14.62% más en el contenido de polifenoles totales. Esto nos permite afirmar que existe evidencia estadística para señalar que el contenido de polifenoles totales es diferente en cada uno de los tipos de variedades (Criolla Negra, red Globe e Italia); sin embargo, es importante llevar a cabo la actividad antioxidante para evaluar el verdadero efecto de esta reducción.

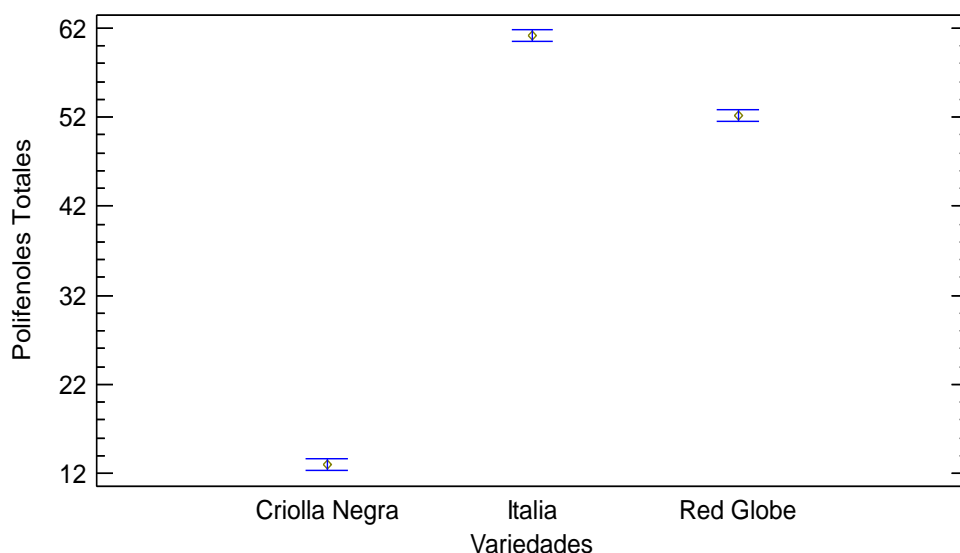


Figura 19. Medias y 95% de Tukey HSD para el factor variedad

La tabla 15 detalla 3 grupos homogéneos (Agua (75°C), Etanol: Agua (3:1), y Metanol (0.1%HCl)), observando diferencia estadística significativa entre sí, debido a que X's

no están alineadas. También se observa la significancia entre los pares de medias representada por un asterisco, con un nivel de confianza del 95% ($\alpha = 0.05$).

Tabla 16: Pruebas de múltiple rangos para Polifenoles Totales por TIPOS DE SOLVENTE de semillas de uva desgrasadas

<i>SOLVENTE</i>	<i>Casos</i>	<i>Media LS</i>	<i>Sigma LS</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
Agua (75°C)	9	21.6844	0.420419	X
Etanol: Agua (3:1)	9	45.38	0.420419	X
Metanol (0.1%HCl)	9	59.3267	0.420419	X

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Metanol (0.1%HCl) - Agua (75°C)	*	37.6422	1.24913
Metanol (0.1%HCl)- Etanol:Agua (3:1)	*	13.9467	1.24913
Agua (75°C) - Etanol:Agua (3:1)	*	-23.6956	1.24913

* indica una diferencia significativa.

En la gráfica 2, detalla la significancia existente y la comparación de medias (tukey HSD) del tipo de solvente, donde la media del solvente Agua (75°C), Etanol: Agua (3:1), y Metanol (0.1%HCl), es de 21.684; 45.38 y 59.327 mgAGE/gmuestra respectivamente.

Al comparar el contenido de Polifenoles Totales entre el solvente que extrajo más (Metanol 0.1%HCl) y el solvente que extrajo menos (Agua 75°C), se evidencia una diferencia de 37.642, esto representa un 63.45% más que el solvente (Agua 75°C).

La diferencia entre el solvente Agua (75°C) y Etanol: Agua (3:1) fue de (-23.695) representando el 52.22 % menos. La menor diferencia se obtuvo entre el solvente Metanol (0.1%HCl) - Etanol: Agua (3:1), el cual fue de (13.946) que representa el 23.51% más que el solvente Etanol: Agua (3:1). Podemos afirmar que existe evidencia estadística en el contenido de polifenoles lo que indica que es diferente en cada uno de

los solventes de extracción; sin embargo, es importante llevar a cabo la actividad antioxidante para evaluar el verdadero efecto de esta reducción.

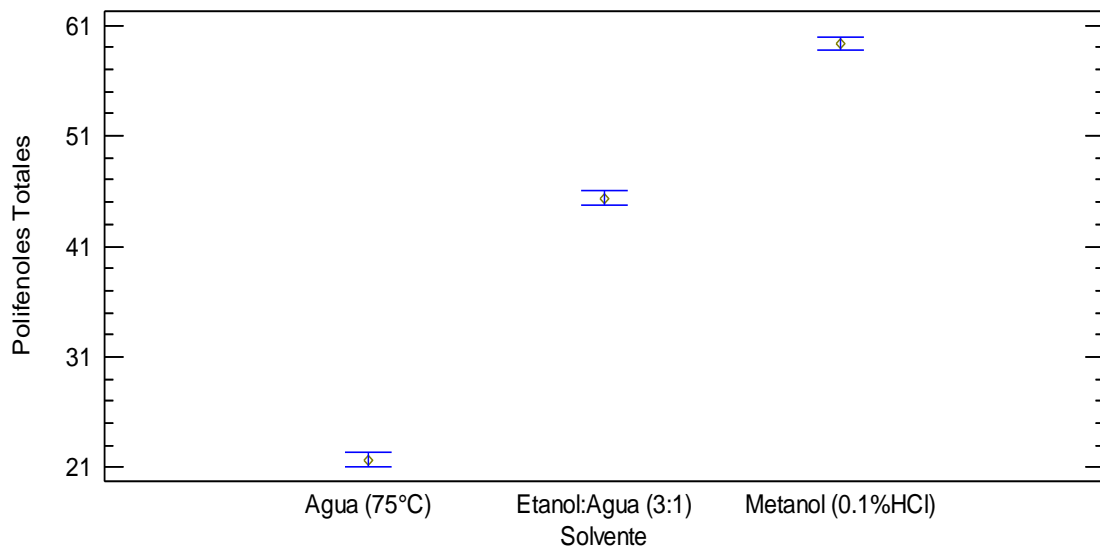


Figura 20. Medias y 95 % de Tukey HSD para el factor Tipo de Solvente

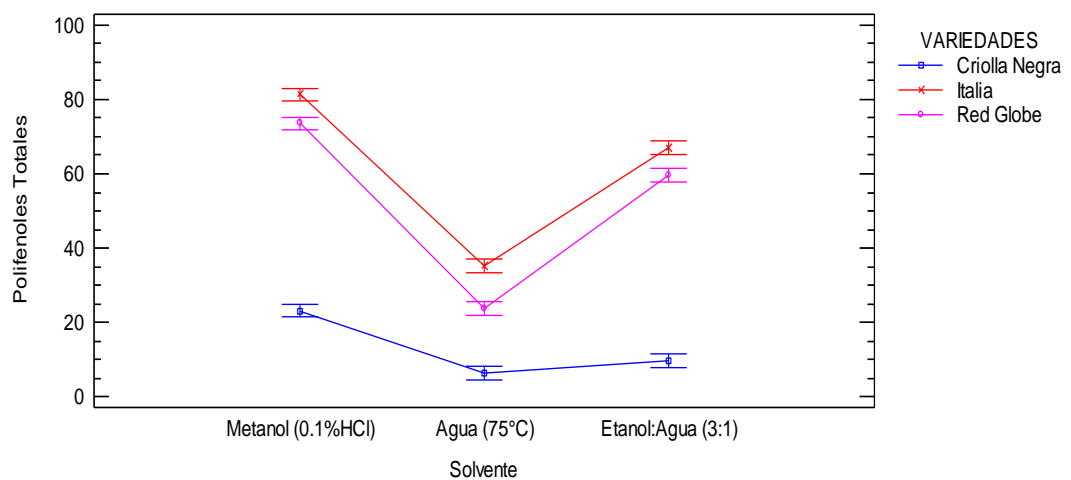


Figura 21. La interacción que existe entre tipo de Secado y Tipos de Solvente con respecto a la cantidad de polifenoles totales.

Del gráfico se puede observar que la variedad Imperial Italia presenta una mayor cantidad de polifenoles totales, en comparación de la variedad Red Globe e Italia, esta relación (Variedad Italia > variedad Red Globe) es semejante a lo reportado por

Contreras, O. (2019), ya que reportan que el contenido polifenólico de estas variedades difieren en un 23.1%. del mismo modo Torres A, (2018), reporta que el contenido de polifenoles totales en la Var. Italia es mayor a la Var. Criolla negra con un 13.82% de diferencia.

Es importante destacar que, según estudios se han demostrado que el contenido polifenólico en la semilla de uva, puede variar según el estado de madurez. Rivera, C. (2016).

Los resultados obtenidos en el presente estudio nos proporcionan información útil sobre los efectos del tipo de solvente y variedad en el contenido de polifenoles totales. Se reportó una influencia significativa del tipo de variedad y solvente, frente al contenido polifenólico. Se aprecia que el solvente que retiene mayor contenido de polifenoles independientemente del tipo de variedad es el Metanol (0.1% HCl), y el cual presento menor retención fue el Agua (75°C).

4.3. DETERMINACIÓN DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

La determinación de la capacidad antioxidante de la harina desgrasada de semilla de uva fue de 3 variedades y extraídas con 3 solvente, y se obtuvo a partir de 2 métodos colorimétricos de DPPH y FRAP.

4.3.1. MÉTODO DPPH (2,2-DIPHENYL-1-PICRYLHYDRAZYL)

La capacidad antioxidante se realizó por el método colorimétrico DPPH, el cual se basa en la reducción del radical libre estable 2,2- difenil-1-picrilhidrazil, este tiene un electrón desapareado azul-violeta, el cual se decolora a amarillo pálido por relación con la sustancia capturadora de radicales libres. La reducción del reactivo se siguió espectrofotométricamente a 517nm, midiendo la disminución de la absorbancia.

Los resultados obtenidos se expresaron como umolequivalente Trolox/100g de muestra utilizando una curva de calibración obtenida con estándares de Trolox además de un indicador catión radical DPPH. En esta investigación la variedad y los solventes de extracción fueron las variables independientes de estudio. La extracción sólida/líquido se realizó con sonificación, a una temperatura de 60°C, un tiempo de extracción de 3 horas minutos y una relación solido/liquido de 0.5g/20ml.

En la tabla 15 se muestra los resultados de capacidad antioxidante de la harina desgrasada de semilla de uva obtenida por método soxhlet, en la tabla se detalla los valores obtenidos de los 9 tratamientos, y considerando que se realizó 2 réplicas.

Tabla 17: Determinación de Capacidad antioxidante por el método DPPH en semilla de uva (*vitís vinífera*) desgrasada de las variedades Criolla Negra, Red Globe y Italia; obtenidas por los solventes Metanol(0.1%Hcl), Etanol-agua(3:1) y agua 75°C

Muestra	Variedades	Solvente	Capacidad Antioxidante- método DPPH (umolEqTrolox/gr Muestra)			Promedio
			R1*	R2*	R3*	
1	Criolla Negra	Metanol(0.1%Hcl)	282.1	286.4	288.4	285.64±0.0113
2		Etanol-Agua (3:1)	509.12	512.33	511.57	511.00±0.0033
3		Agua 75°	174.50	169.52	169.66	171.23±0.0166
4	Red Globe	Metanol(0.1%Hcl)	523.54	521.74	519.49	521.59±0.0039
5		Etanol-Agua (3:1)	721.58	719.93	715.66	719.06±0.0042
6		Agua 75°	466.64	468.76	469.39	468.26±0.0031
7	Italia	Metanol(0.1%Hcl)	1114.25	1119.00	1116.83	1116.69±0.0021
8		Etanol-Agua (3:1)	1636.89	1634.57	1635.36	1635.61±0.0007
9		Agua 75 °	724.10	723.43	723.64	723.72±0.0005

*: Replica / Ri: Repeticiones

En la tabla 15 muestra los resultados de DPPH de los 9 tratamientos, teniendo en consideración los 2 factores independiente de estudio que es variedades de semilla de uva (*vitís vinífera*) desgrasada (Criolla negra, Red Globe e Italia) y Tipos de solvente: Metanol (0.1%Hcl), Etanol-agua (3:1) y agua 75°C.

En los resultados de Capacidad antioxidante Método DPPH de la torta desgrasada de semilla de uva estuvo comprendido entre 171.23±0.0166 y 1635.61±0.0007 umoleqTrolox/gmuestra, dependiendo de la variedad de materia prima y tipo de solvente. Respecto a los solventes Metanol (0.1%Hcl), Etanol-agua (3:1) y agua 75°C, la variedad Criolla Negra, obtuvo los valores promedio 285.64, 511.00, 171.239 umoleqTrolox/g muestra respectivamente, en la variedad de Red Globe fue de 714.70,441.44,334.78 umoleqTrolox/g muestra y de Italia fue 2233.28, 1980.06, 1048.37 umoleqTrolox/g muestra respectivamente.

El valor más alto es de 1635.61 $\mu\text{moleqTrolox/gmuestra}$ de variedad de Italia extraída por el solvente Etanol-Agua (3:1) y el menor valor (171.23 ± 0.0166 $\mu\text{moleqTrolox/gmuestra}$) es criolla negra extraída por agua 75°C . Al comparar los valores respecto a variedades podemos decir que la variedad de Italia tiene mayor poder reductor que la Criolla Negra y Red Globe, y respecto a Tipos de solvente el Etanol-agua (3:1) obtuvo mayor poder reductor férrico, seguido del metanol(0.1%Hcl) y agua 75°C respectivamente. Los resultados reportados son menores a los reportados por Barriga M. (2020), quien reporta datos DPPH de harina de semilla desgrasada de vitis labrusca (Borgoña Negra) que comprende de 753.85 ± 129.97 y 2608.03 ± 444.91 $\mu\text{molTE/gextracto}$ mediante 6 diferentes extracciones por una maceración de concentraciones de etanol (15, 32.5, 50, 70%), agua subcrítica y con liquido presurizado. El valor más alto 2608.03 ± 444.91 $\mu\text{molTE/gextracto}$, fue obtenido por agua subcrítica como solvente. En comparación solo podemos comparar los datos extraídos por etanol al 70% dando el valor de 1692.81 ± 173.66 siendo este mayor a los datos obtenidos con Etanol-agua (3:1) como solvente en criolla negra 511.00 ± 0.0033 $\mu\text{moleqTrolox/gmuestra}$ y Red Globe 719.06 ± 0.0042 $\mu\text{moleqTrolox/gmuestra}$ mientras en Italia 1635.61 ± 0.0007 $\mu\text{moleqTrolox/gmuestra}$ este dato es similar al antes mencionado por el autor. Podemos justificar que los datos existen una variación debido a la variedad y los solventes utilizados en cada estudio.

Se debe recalcar, que existe muy limitada bibliografía en el método de DPPH en semilla de uva desgrasada expresada $\mu\text{moleqTrolox/gmuestra}$, existe diversas investigaciones, pero están expresadas en IC50, en el caso del autor contreras et al (2019) en donde utilizan el método de DPPH extractable y Quencher de las variedades Borgoña Negra, Borgoña Blanca, Italia Red Globe, Quebranta, Moscatel, Uvina los datos fueron expresados en ICI que oscila desde 86.11

hasta 207.49 y IC50 que oscila de 0.21 a 0.55 (mg/ml), por lo antes mencionado los resultados solo se puede mencionar mas no para una posible comparación.

La tabla 16 ANOVA descompone la variabilidad de DPPH en contribuciones debidas a varios factores en estudio variedades y Tipos de solvente. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que 3 valores-P son menores que 0.05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre DPPH con un 95.0% de nivel de confianza.

Tabla 18: Análisis de Varianza ANOVA para capacidad antioxidante por el método DPPH – Metodología convencional

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	GL	CUADRADO MEDIO	RAZÓN-F	VALOR-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Variedades	3.32089	2	1.66045	340345.77	0.0000
B:Tipo de solvente	1.15289	2	576444.	118155.05	0.0000
INTERACCIONES					
AB	386406.	4	96601.6	19800.65	0.0000
RESIDUOS	87.8167	18	4.87871		
TOTAL (CORREGIDO)	4.86028	26			

Fuente: Statgraphics Centurion XVI

La prueba de rangos múltiples, entre las medias de variedades de semilla desgrasada de uva y Tipo de solvente, como se muestra en la tabla 17 se muestra las medias que son significativamente diferentes de otras, se aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras.

Tabla 19: Prueba de múltiple rango para capacidad antioxidante (Método DPPH) Variedades de semilla de uva

Variedades	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
Criolla Negra	9	322.622	0.73626	X
Red Globe	9	569.637	0.73626	X
Italia	9	1158.67	0.73626	X

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Criolla Negra - Italia	*	-836.052	2.65864
Criolla Negra - Red Globe	*	-247.014	2.65864
Italia - Red Globe	*	589.038	2.65864

*Indica una diferencia significativa

En la tabla 17 se han identificado 3 grupos homogéneos (Var Criolla Negra, Red Globe y Italia), los cuales muestran diferencias estadísticamente significativas entre si. En este caso se ha colocado un asterisco junto al par, indicando que este par muestra diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

En la gráfica, observamos la significancia que hay entre el factor variedad, así como una comparación de Tukey HSD, donde la media de la variedad de Criolla negra, Red Globe y Italia es de 322.622, 569.637 y 1158.67 $\mu\text{molEqTrolox/gmuestra}$ respectivamente. La variedad de Criolla Negra y Italia lo cual existe una diferencia de -836.052 que representa el 72.16 %. La diferencia entre la variedad de Criolla negra y Red Globe es de -247.014 que representa el 46.36 % y respecto a la Variedad de Italia y Red Globe existe una diferencia de 589.038 que representa 50.84%.

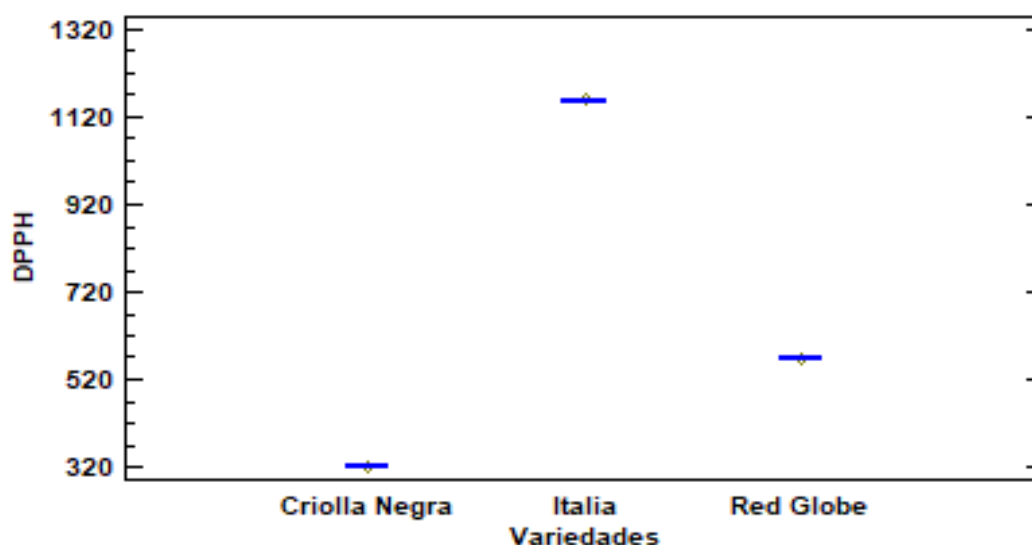


Figura 22. Medias y 95% de Tukey HSD para el factor VARIEDAD –Método DPPH

En la tabla 18 muestra 3 grupos homogéneos tipo de solvente (Metanol(0.1%Hcl), Etanol-agua (3:1) y agua 75°C), los cuales presentan diferencia estadística significativa entre sí, ya que los X's no están alineados. La significancia entre los pares de media tiene un nivel del 95.0% de confianza, representada por el asterisco que está presente en la tabla.

Tabla 20: Pruebas de múltiple rango para capacidad antioxidante (Método DPPH) Tipo de solvente:

Tipo de solvente	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
Agua 75°C	9	454.404	0.73626	X
Metanol(0.1%Hcl)	9	641.306	0.73626	X
Etanol-Agua(3:1)	9	955.223	0.73626	X

Metodo: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Agua 75°C - Etanol-Agua(3:1)	*	-500.819	2.65864
Agua 75°C – Metanol(0.1%Hcl)	*	-186.901	2.65864
Etanol-Agua(3:1)-Metanol (0.1%Hcl)	*	313.918	2.65864

*Indica una diferencia signicativa

En la gráfica, se observa la significancia y la comparación de medias (Tukey HSD) del factor de Tipo de solvente, donde la media de Agua 75°C, Etanol-Agua (3:1) y Metanol(0.1%Hcl) es de 454.404, 641.306 y 955.223 $\mu\text{molEqTrolox/gmuestra}$ respectivamente. La diferencia de los valores de Capacidad antioxidante método FRAP entre los solvente de Agua 75°C y Etanol-Agua (3:1) es de -500.819 esto representa un 52.43%, la menor diferencia es del solvente Agua75°C y Metanol (0.1% Hcl) es de -186.901 esto representa un 29.14%, la diferencia entre el solvente Etanol: Agua (3:1) y Metanol(0.1% Hcl) es de 313.9018 que representa solo el 32.86%.

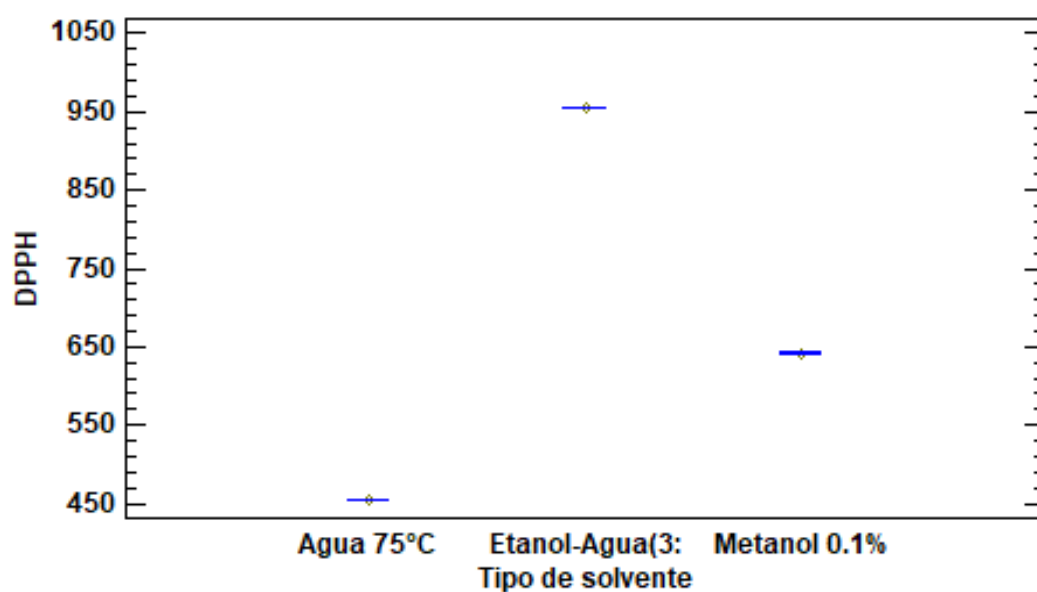


Figura 23. Media y 95% de Tukey y HSD para el Factor de Tipo de Solvente – Método DPPH

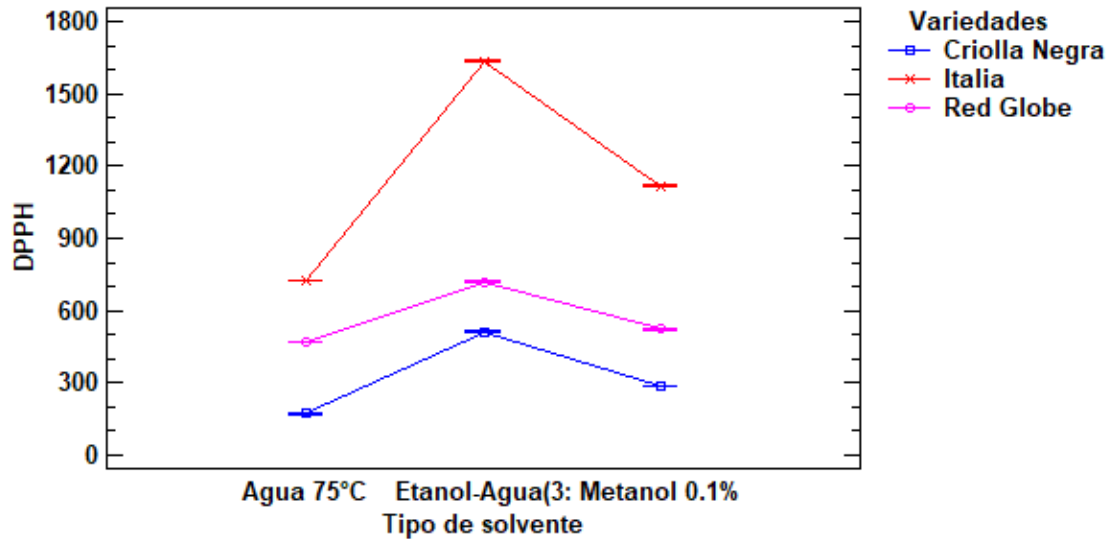


Figura 24. Interacción existente entre la Variedad y Tipo de Solvente, con respecto a la capacidad antioxidante método DPPH.

4.3.2. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE - MÉTODO FRAP

El método FRAP se basa en la reducción del complejo TPTZ-Fe³⁺ a TPTZ-Fe²⁺, resultado un color azul por la acción de los compuestos antioxidantes lecturando a 593 nm. La muestra a analizar es la semilla de uva (*Vitis Vinífera*) desgrasada de las variedades Criolla Negra, Red Globe, Italia se realizó la preparación de las muestras antes mencionadas con 3 diferentes solventes metanol (0.1%HCL), Etanol: Agua (3:1) y Agua 75°C. los resultados obtenidos se expresaron como $\mu\text{moleqTrolox/g}$ muestra los factores de esta investigación es la variedad y los Tipo de solventes.

Tabla 21: Capacidad de Antioxidante método FRAP en semilla de uva (*Vitis Vinífera*) desgrasada de las variedades Criolla Negra, Red Globe e Italia, obtenidas por los solventes metanol (0.1%HCL), Etanol: Agua (3:1) y Agua 75°C .

Muestra	Variedad	Solvente	Capacidad antioxidante – Método FRAP (umoleqTrolox/g muestra)			Promedio
			R1*	R2*	R3*	
1		Metanol(0.1%Hcl)	149.6	150.3	150.8	150.23±0.0041
2	Criolla Negra	Etanol-Agua (3:1)	58.14	58.06	58.49	58.23±0.0039
3		Agua 75°	42.39	43.02	45.65	43.69±0.0396
4		Metanol(0.1%Hcl)	715.40	713.88	714.82	714.70±0.0011
5	Red Globe	Etanol-Agua (3:1)	444.97	441.76	437.59	441.44±0.0084
6		Agua 75°	334.88	334.32	335.15	334.78±0.0013
7		Metanol(0.1%Hcl)	2231.89	2232.99	2234.96	2233.28±0.0007
8	Italia	Etanol-Agua (3:1)	1979.77	1981.54	1978.87	1980.06±0.0007
9		Agua 75 °	1049.40	1048.08	1047.63	1048.37±0.0009

*: Replica / Ri: Repeticiones

Los resultados de FRAP de las muestras de harina desgrasada de semilla de uva estuvieron entre el rango de 43.69±0.0396 y 2233.28±0.0007 umoleqTrolox/g muestra, dependiendo de la variedad de materia prima y tipo de solvente. Respecto a los 3 solvente Metanol(0.1%Hcl), Etanol-agua (3:1) y agua 75°C, la variedad Criolla Negra, obtuvo los valores promedio de 150.23±0.0041, 58.23±0.0039, 43.69±0.0396 umoleqTrolox/gmuestra respectivamente, en la variedad de Red Globe fue de 714.70±0.0011, 441.44±0.0084, 334.78±0.0013 umoleqTrolox/gmuestra y de Italia fue 2233.28±0.0007, 1980.06±0.0007, 1048.37±0.0009 umoleqTrolox/g muestra.

El valor más alto 2233.28±0.0007 umoleqTrolox/gmuestra de variedad de Italia extraída con solvente Metanol(0.1%Hcl) este solvente permite un mayor rendimiento de extracción de antioxidante reflejándose valores más elevados de capacidad de antioxidante en las 3 variedades.

Al comparar los valores respecto a las variedades podemos decir que la variedad de Italia tiene mayor poder reductor que la Criolla Negra y Red Globe, y respecto a Tipos de solvente el metanol(0.1%Hcl) obtuvo mayor poder reductor férrico, seguido del Etanol-agua (3:1) y agua 75°C respectivamente.

Los valores se asemejan a los valores reportados por Barriga M. (2020), en donde obtuvo los extractos de la variedad de borgoña negra utilizando como solvente Etanol al (15,32.5, 50 y 70%) agua suscritica y liquido presurizado en uva, orujo y semilla desgrasada, los valores de la semilla desgrasada estuvieron entre el rango de 516.59 y 56.42 $\mu\text{moleqTrolox/gmuestra}$ dependiendo del solvente utilizado.

Es importante recalcar que, a pesar que existe diversas investigaciones que abarcan el estudio de capacidad antioxidante en semilla desgrasada de uva, son pocos las investigaciones que realizan el método de FRAP a la ves expresado en $\mu\text{moleqTrolox/g muestra}$, por ende, se cuenta con muy limitada bibliografía, por lo que mencionamos los resultados de semilla de uva para una posible comparación.

A su vez los resultados reportados por Contreras *et al.* (2019), obtuvo los extractos de las semillas de 7 variedades de uva del Valle de Cañete: Quebranta, Italia Uvina, Borgoña blanca, Moscatel, Red Globe y Borgoña negra, donde realizó la extracción por maceración con metanol: agua (50:50) y una segunda extracción luego de separar el sobrenadante, se usó acetona/agua (70:30), los valores se obtenidos van desde 451.19 a 225.01 $\mu\text{MolEquiv.Ácidogálico/g}$ de semillas, los resultados reportados están expresados en unidades deferentes y no es posible una comparación directa, pero si se evidencia el alto poder reductor de los extractos de semilla de uva proveniente del valle del cañete.

De igual modo los reportados por Taco R. (2017) semilla de uva de variedad de Moscatel obtuvo un valor de 35.29 $\mu\text{MoleqTrolox/g}$ semilla. En la variedad Pedro Ximénes, el valor

obtenido fue de 226.9 $\mu\text{moles TE/g}$ de semilla seca según Jara *et al.* (2016) utilizando metanol al 75% como solvente, cabe mencionar que los datos varían dependiendo de las variedades y tipo de solvente.

La tabla ANOVA descompone la variabilidad de FRAP en contribuciones debidas a varios factores en estudio variedades de semilla y Tipos de solvente. Los valores-P prueban la significancia estadística de cada uno de los factores. Puesto que 3 valores-P son menores que 0.05, estos factores tienen un efecto estadísticamente significativo sobre FRAP con un 95.0% de nivel de confianza.

Tabla 22: Análisis de Varianza para capacidad antioxidante por el método FRAP

FUENTE	SUMA DE CUADRADOS	GL	CUADRADO MEDIO	RAZÓN-F	VALOR-P
EFECTOS PRINCIPALES					
A:Variedades	1.36164E7	2	6.80818E6	2666702.54	0.0000
B:Tipo de Solvente	1.4282E6	2	714098	279705.7	0.0000
INTERACCIONES					
AB	1.15839E6	4	289599	113433.11	0.0000
RESIDUOS	45.9546	18	2.55303		
TOTAL (CORREGIDO)	1.6203E7	26			

Fuente: Statgraphics Centurion XVI

La prueba de rangos múltiples, entre las medias de variedades de semilla desgrasada de uva y Tipo de solvente, como se muestra en la tabla 21 se muestra las medias son significativamente diferentes de otras, se aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras

Tabla 23: Prueba de múltiple rango para capacidad antioxidante (Método FRAP) Variedades de semilla de uva

Variedades	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
Criolla Negra	9	84.05	0.532607	X
Red Globe	9	496.974	0.532607	X
Italia	9	1753.9	0.532607	X

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Criolla Negra - Italia	*	-1669.85	1.92325
Criolla Negra - Red Globe	*	-412.924	1.92325
Italia - Red Globe	*	1256.93	1.92325

*Indica una diferencia significativa

En la tabla 23 se han identificado 3 grupos homogéneos (Var Criolla Negra, Red Globe y Italia), los cuales muestran diferencias estadísticamente significativas entre sí. En este caso se ha colocado un asterisco junto al par, indicando que este par muestra diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95.0% de confianza. Con este método hay un riesgo del 5.0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

En la gráfica, observamos la significancia que hay entre el factor variedad, así como una comparación de Tukey HSD, donde la media de la variedad de Criolla negra, Red Globe y Italia es de 84.05, 496.974 y 1753.9 $\mu\text{molEqTrolox/gmuestra}$ respectivamente. Con respecto al menos y mayor capacidad reductora fue con variedad de Criolla Negra y Italia lo cual existe una diferencia de -1669.85 que representa el 95.21 % menos.

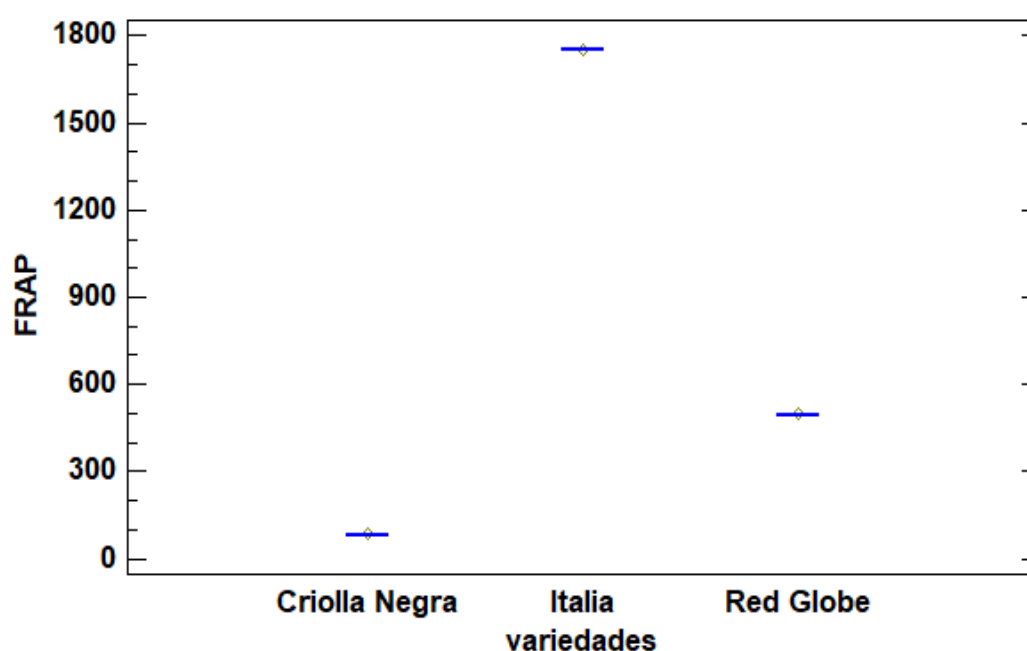


Figura 25. Medias y 95% de Tukey HSD para el factor VARIEDAD – Método FRAP

La diferencia entre la variedad de Criolla negra y Red Globe es de -412.924 que representa el 83.09 % menos y respecto a la Variedad de Italia y Red Globe existe una diferencia de 1256.93 que representa 71.66%.

En la tabla 22 muestra 3 grupos homogéneos tipo de solvente (Metanol(0.1%Hcl), Etanol-agua (3:1) y agua 75°C), los cuales presentan diferencia estadística significativa entre sí, ya que los X's no están alineados. La significancia entre los pares de media tiene un nivel del 95.0% de confianza, representada por el asterisco que está presente en la tabla.

Tabla 24: Pruebas de múltiple rango para capacidad antioxidante (Método FRAP) Tipo de solvente

Tipo de solvente	Casos	Media LS	Sigma LS	Grupos Homogéneos
Agua 75°C	9	475.613	0.532607	X
Etanol-Agua (3:1)	9	826.577	0.532607	X
Metanol(0.1%Hcl)	9	1032.74	0.532607	X

Método: 95.0 porcentaje Tukey HSD

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Agua 75°C - Etanol-Agua (3:1)	*	-350.963	1.58246
Agua 75°C - Metanol/Hcl 0.1%	*	-557.124	1.58246
Etanol-Agua (3:1) - Metanol/Hcl 0.1%.	*	-206.161	1.58246

*Indica una diferencia significativa

En la gráfica, se observa la significancia y la comparación de medias (Tukey HSD) del factor de Tipo de solvente, donde la media de Agua 75°C, Etanol-Agua (3:1) y Metanol(0.1%Hcl) es de 475.613, 826.577 y 1032.74 $\mu\text{molEqTrolox/gmuestra}$ respectivamente. La diferencia de los valores de Capacidad antioxidante método FRAP entre los solvente de Agua 75°C y Etanol-Agua (3:1) es de -350.963 esto representa un 42.46%, el menor y mayor capacidad antioxidante es de solvente Agua75°C y

Metanol(0.1%Hcl) con una diferencia de -557.124 esto representa un 53.95%, sin embargo la menor diferencia se obtuvo entre el solvente Etanol-Agua(3:1) y Metanol(0.1%Hcl)-206.161 que representa solo el 19.96%.

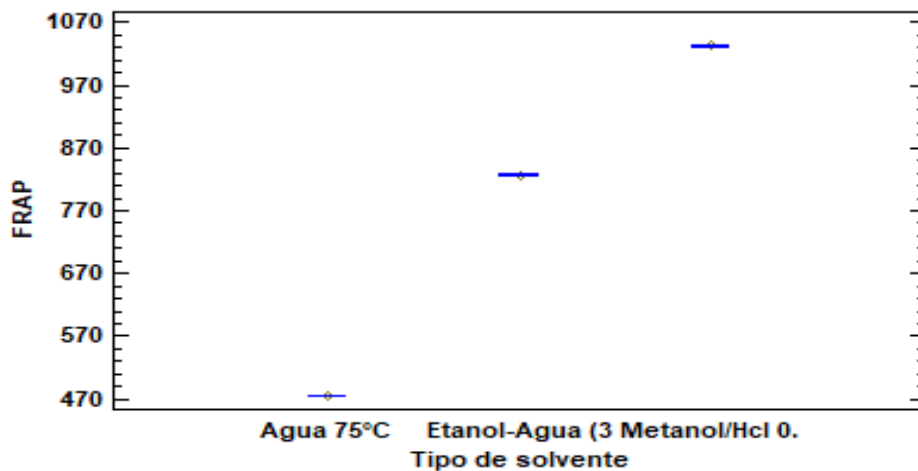


Figura 26. Media y 95% de Tukey y HSD para el Factor de Tipo de Solvente – Método FRAP

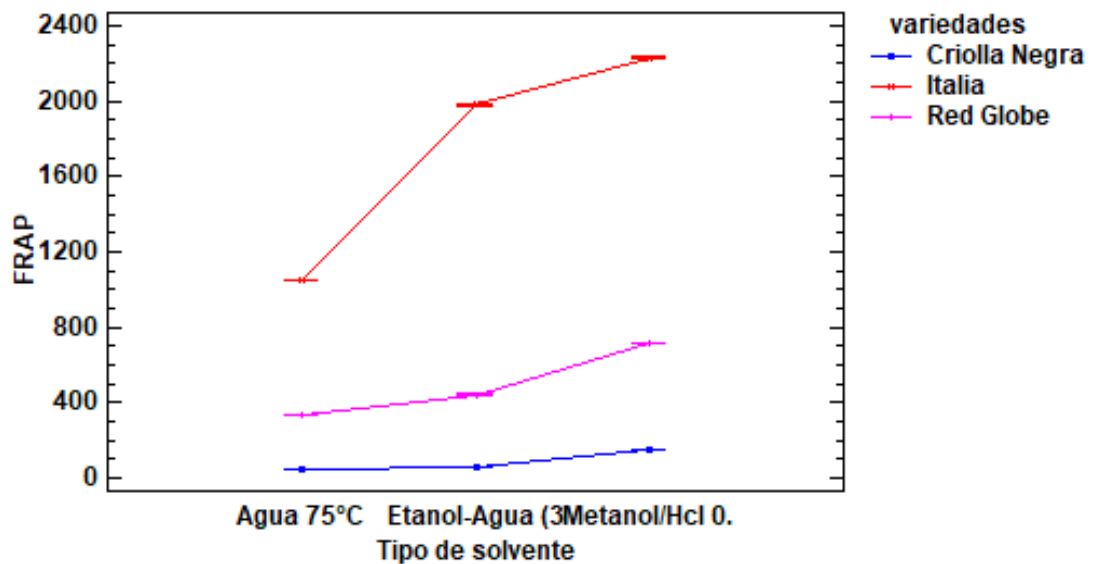


Figura 27. Interacción existente entre la Variedad y Tipo de solvente de las muestras, con respecto a la capacidad antioxidante método FRAP

En el gráfico se puede observar que la variedad de Italia presenta un valor FRAP mayor en comparación de la variedad de Red Globe e Italia, lo cual representa un poder reductor más alto que corresponde a la capacidad antioxidante más alta. Los Tipos de solvente también incluyen en la capacidad antioxidante de las muestras evaluadas.

V. CONCLUSIONES

- Se obtuvo un % alto de fibra en las semillas de uva variando de 40.58 a 46.678 % , del mismo modo se obtuvo como resultado valores significativos de proteína de 8.392 a **11.657%**
- El mayor contenido de polifenoles totales y actividad antioxidante por el método de FRAP se dio en la variedad Italia y solvente metanol(0.1%Hcl), con **81.309 mgAGE/gmuestra Y 2233.28 μ molEqTrolox/gmuestra**, respectivamente. Mientras que en el DPPH el solvente que tuvo mayor retención fue Etanol-agua (3:1) **1635.61 μ molEqTrolox/gmuestra**.
- De los resultados podemos concluir que la torta desgrasada de las tres variedades estudiadas con fuentes ricos en compuestos fenólicos, los cuales se pueden emplear en la industria alimentaria, como cosmética.
- Podemos afirmar que las variedades de semilla de uva desgrasada y Tipo de solvente presentan un efecto estadísticamente significativo, con un nivel de confianza del 95%, en el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante de las harinas desgrasada de semilla de uva

VI. RECOMENDACIONES

- Determinar capacidad antioxidante en la torta desgrasada de uva con el método ORAC
- Realizar la extracción del aceite por el método de prensado en frío.
- Realizar un estudio con las variedades más comerciales del Perú
- Seguir estudiando los residuos de la uva, reduciendo el impacto ambiental proveniente de la vinícola
- Investigar posibles aplicaciones de la harina de semilla desgrasada de uva en la industria de la panificación el uso como alimento funcional en diversos productos.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Acucache, R. y Luque, D. (2001). *Estudio fenológico de la vid (Vitis vinifera L.), Var. Red Globe, en la zona media del valle de Ica campaña 1998 - 1999*. Tesis Ing. Agr. U. Nac. San Luís Gonzaga. Ica - Perú.
- Agrobanco. (2008). Cultivo de la uva. Obtenido de http://www.agrobanco.com.pe/pdfs/publicacionagroinforma/4_cultivo_de_la_uva.
- Aldana, C. & Guayasamín, L. (2014). *Evaluación de la actividad antioxidante de los extractos (alcohólico y acuoso) de las hojas de ficus citrifolia y caracterización química de los polifenoles*. [Tesis pregrado]. Politécnica Salesiana.
- Almanza Merchan P.J. (2011). Determinación del crecimiento y desarrollo del fruto de vid (*Vitis vinifera L.*) bajo condiciones de clima frío tropical. [Tesis de grado]. Universidad Nacional de Colombia Facultad Agronomía. Disponible en <http://bdigital.unal.edu.co/4366/1/797009.2011.pdf>
- AMPEX (2008). Asociación Macro regional de productores para la exportación, Perú. Perfil de producto uva. Obtenido en [http://: www.ampex.com.pe](http://www.ampex.com.pe).
- Andrade, A. y García, L. (2008). *Evaluación de los componentes principales del orujo de uva como materia prima para la elaboración de nuevos productos*. [Tesis de pregrado]. Universidad de Carabobo.
- Ariga, T. (2004). The antioxidative function, preventive action on disease and utilization of proanthocyanidins. *Biofactors* 21.s.l, s.e. p. 197–201.

- Bagchi, D.; Garg, A.; Krohn, R. L.; Bagchi, M.; Tran, M. & Stohs, S. J. (1997). Oxygen free radical scavenging abilities of vitamins C and E, and a grape seed proanthocyanidin extract in vitro. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol.* 95. 89–179.
- Barriga M. (2020). *Compuestos Fenólicos y Actividad Antioxidante de extractos de la uva, orujo y semillas de Vitis Labrusca, obtenidos con líquidos presurizados.* [Tesis de grado]. Universidad Autónoma de Ica.
- Benzie, F. F., & Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry.* 239. 70-76.
- Bernardini, E (1961). *Tecnología de aceites y grasas.* Madrid España.
- Berradre, M., González, C., Sulbarán, B., & Fernández, V. (2013). Contenido de polifenoles y actividad antioxidante de extractos de semilla de uva (*Vitis vinifera*) variedad Malvasia y Tempranillo. *Revista de la Facultad de Agronomía,* 30(4), 619-631.
- Berradre, M.; Arias, N.; Ojeda, G.; Sulbarán, B.; Fernández, V. y Peña, J. (2014). Actividad antioxidante del aceite de semillas de uva *Vitis vinifera* de la variedad Tempranillo. *Rev. Fac. Agron. (LUZ).* 31: 393-406.
- Blouin, J.; Guimberteau, G. (2004). *Maduración y Madurez de la uva.* Mundi Prensa.
- Brand-Williams W., Cuvelier M.E., Berset, C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol.,* 22, 25-30.
- Cáceres, H., Quispe, P., Pignataro, D., Orjeda, G. y Lacombe, T. (2017). Caracterización morfológica de variedades de vid para producción de Pisco bajo condiciones de la zona media del valle de Ica, Perú. *Scientia Agropecuaria.* 8 (1): 63 -72.

- Camacho, D., López, I.; García, D.; González, M.; Moreno, M.; y Medina, C. (2005). Evaluación fisicoquímica de la semilla y del aceite de corozo (*Acrocomia aculeata* Jacq.). *Grasas y aceites*. 56:311-316.
- Carochoa, M., Morales, P., & Ferreira, I. (2018). Antioxidants: Reviewing the chemistry, food applications, legislation and role as preservatives. *Trends in Food Science & Technology*. 71, 107-120.
- Carochoa, M., Morales, P., & Ferreira, I. C. (2018). Antioxidants: Reviewing the chemistry, food applications, legislation and role as preservatives. *Trends in Food Science & Technology*. 71, 107-120.
- Caycho, E., Condezo, P., Pancorbo, K., & Romero, J. (2017). *Planeamiento estratégico de la Uva en el Perú*. [Tesis de Pregrado]. Pontificia Universidad Católica del Perú.
- Chauvet, A. y Reynier, A. (1984). *Manual de Viticultura*. Ed. Mundi Prensa S.A.
- Chouchouli, V., Kalogeropoulos, N., Konteles, S. J., Karvela, E., Makris, D. P., & Karathanos, V. T. (2013). Fortification of yoghurts with grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. *LWT - Food Science and Technology*. 53. 522 - 529. Disponible: doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2013.03.008>
- Cömert, E. D., & Gökmen, V. (2017). Antioxidants Bound to an Insoluble Food Matrix: Their Analysis, Regeneration Behavior, and Physiological Importance. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. doi:10.1111/1541-4337.12263.
- Consejo Regulador del Pisco (2012). Catálogo ampelográfico de variedades de uvas pisqueras. AL INVEST IV Región Andina. Editorial InPlus. Lima – Perú. 10-11, 18-19.

- Contreras, O. (2019). *Determinación de Capacidad Antioxidante y Fenoles Totales en semillas de Vitis Vinifera l. "vid", del Valle de Cañete*. [Tesis de pregrado]. Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión.
- Coombe, B. G. (1987). Distribution of solutes within the developing grape berry in relation to its morphology. *American Journal of Enology & Viticulture* 38, 120-127.
- Cuya, E. (2013). Propagación e instalación del cultivo de vid (Guía técnica). Obtenido de <http://www.agrobanco.com.pe/data/uploads/ctecnica/040-b-vid.pdf>
- Daglia, M. Polyphenols as antimicrobial agents. (2012). *Current Opinion Biotechnology*. 23(2):174-181.
- De Piérola, C. (2011). ANUARIO DEL PISCO 2011. Guía con toda la información y actualidad del pisco. Fondo Editorial de Guía de Barricas. Lima – Perú.
- Devalaraja, S.; Jain, S. y Yadav, H. (2011). Exotic fruits as therapeutic complements for diabetes, obesity and metabolic síndrome. *Food Research International*. 44(7). 1856-1865.
- Dong, J. et al. (2014). Investigación sobre la extracción asistida por ultrasonido del ácido salvianólico B de Salvia miltiorrhiza raíz. *Sonoquímica ultrasonidos* 17/1. 61-65.
- Duthie, G.; Gardner, P.; Kyle, J. (2003). Plant polyphenols: are they the new magic bullet?. *Proc. Nutri. Soc.* 62. 599-603.
- ETSIAMN. Universidad Politécnica de Valencia- Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/52056/Garcia%20Mart%C3%ADnez%20et%20al.pdf?sequence=1>

- Felhi, S., Baccouch, N., Ben Salah, H., Smaoui, S., Allouche, N., Gharsallah, N., & Kadri, A. (2016). Nutritional constituents, phytochemical profiles, in vitro antioxidant and antimicrobial properties, and gas chromatography–mass spectrometry analysis of various solvent extracts from grape seeds (*Vitis vinifera* L.). *Food Science and Biotechnology*. 1537 - 1544.
- García E., Fernández I., et al. (2015). Determinación de polifenoles totales por el método de Folin Ciocalteu. ETSIAMN. Universidad Politécnica de Valencia. Artículo 2011, (9), 4-5.
- Gil G.F. (2012). Fruticultura: Madurez de la Fruta y Manejo Poscosecha. Frutas de Climas Templado y Subtropical. 4° ed. Universidad Católica de Chile.
- Gimeno, CE. (2004). Compuestos Fenólicos. Un análisis de sus beneficios para la salud. OFFARM 23(6).
- Hatta Sakoda, B. (2004). *Influencia de la fermentación con orujos en los componentes volátiles del pisco de uva Italia*. [Tesis de Maestría, Universidad Nacional Agraria la Molina]. Repositorio Institucional – UNALM.
- Hidalgo L. (2002). *Tratado de Viticultura General*. 3ª Edición. Editorial Mundi Prensa.
- Hidalgo L. (2006). *La calidad del Vino desde el viñedo*. Editorial Mundi Prensa.
- Hidalgo, I.; Hidalgo, J. (2011). Tratado de viticultura. Tomo I. 4° ed. *Editorial Mundi-Prensa*
- Hidalgo, R.; Gómez, M.; Rojas, P.; Soliz, M.; Soliz, R.; Quiroga, D.; Saravia, G. & Saavedra, D. (2016). Propiedades medicinales de la semilla de uva. *Revista de Investigación e Información en Salud*. 11(26). 53-57.
- Huertas, L. (2004). Historia de la producción de vinos y piscos en el Perú. *Revista Universum*. 19 (2). 44 – 61. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-23762004000200004>

- Ibacache, A., Zurita, A., González, C. y Montoya, A. (2015). Caracterización genética y agronómica de variedades pisqueras no tradicionales, *INIA*, Intihuasi La Serena-Chile, boletín INIA - N° 315.
- Instituto Nacional de Estadística e Informática. (2020). PERÚ: Panorama Económico Departamental. Informe Técnico. Disponible en: <https://www.inei.gob.pe/media/MenuRecursivo/boletines/02-informe-tecnico-panorama-economico-departamental-dic-2020.pdf>
- Izquierdo, A. (2011). *Estudio comparativo de cuatro métodos de extracción de compuestos fenólicos de bayas de vitis vinifera*. [Tesis de Pregrado]. Universidad de Chile. Disponible en <http://repositorio.uchile.cl/handle/2250/111142>
- Juárez, N.; Jiménez, V.; Guerrero, J.; Monribot, J. y Jiménez, M. (2017). Caracterización del aceite y harina obtenido de la semilla de uva silvestre (*Vitis tiliifolia*). *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 8 (5). 1113-1126.
- Khokhar, S.; Owusun, R. (2003). Iron binding characteristics of phenolic compounds: Some tentative structure-activity relations. *Food Chemistry*. 81. 133-140.
- Kobus, J.; Flaczyk, E.; Rudzinska, M. & Kmiecik, D. (2014). Antioxidant properties of extracts from Ginkgo biloba leaves in meatballs. *Meat Science*. 97(2).
- Lars, M., Aschenbrenner, J., Marienhagen, J., & Kallscheuer, N. (2018). Production of plant-derived polyphenols in microorganisms: current state and perspectives. *Appl Microbiol Biotechnol*. 102(4):1575–1585.
- León, J.(10 de Marzo del 2021). *Exportaciones de uva de mesa en la campaña 2020/2021 superan en 18% el volumen de todo lo despachado en la campaña anterior*. Agencia Agraria de Noticias. Recuperado el 15 de Marzo del 2021 de

<https://agraria.pe/noticias/exportaciones-de-uva-de-mesa-en-la-campana-2020-2021-superan-23861>

- Liu, R. (2004). Potential synergy of phytochemicals in cáncer prevention: mechanisms of action. *The Journal of Nutrition*. 134(12). 3479S – 3485S.
<https://doi.org/10.1093/jn/134.12.3479S>
- Manach, C.; Scalbert, A.; Morand, C.; Rémésy, C. & Jiménez, L.(2004). Polyphenols: Foodsources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition*. 79(5), 727–747.
- Marsal, G. (2015). *Caracterización e identificación de 449 accesiones de Vitis vinifera L. procedentes de dos Colecciones Ampelográficas*. [Tesis doctoral]. Universidad de Rovira y Virgili.
- Martin, D. (2018). Los compuestos fenólicos, un acercamiento a su biosíntesis, síntesis y actividad biológica. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 9(1). Doi: 10.22490/21456453.1968
- Martin, D. (2018). Los compuestos fenólicos, un acercamiento a su biosíntesis, síntesis y actividad biológica. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental*, 9(1). Doi: 10.22490/21456453.1968
- Masella, R.; Benedetto, R.; Vari, R.; Filesi, C.; Giovanninni, C. (2005). Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: involvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *Journal of Nutrition biochemistry*. 16. 577-586.
- Maximixe (2015). *Riesgo de Mercado: Uva*. Centro de Inteligencia de Negocio y Mercados

- Milla, A.; Cabezas, J.; Cabello, F. y Cervera, M. (2007). Determining the Spanish Origin of Representative Ancient American Grapevine Varieties. *American Journal of Enology and Viticulture*. 58(2): 242-251.
- Moharram , H. A., & Youssef, M. M. (2014). Methods for Determining the Antioxidant Activity: A Review. *Food Science and Technology*, 11(1), 31-42.
- Moreiras, O.; Carvajal, L. Cabrera y Cuadrado M. (2001). Tablas de Composición de Alimentos. Ediciones Pirámide. Madrid. 328 p.
- Moya García C.R. (2017). Extracción y Caracterización de Aceite Vegetal de las Semillas de Uva Borgoña (*Vitis Vinifera*) utilizando Enzimas. [Tesis de grado]. Universidad Nacional Agraria La Molina. Disponible en: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/2654/Q02-M693-T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Mullins, M., A. Bouquet y L.E. Williams (1992). The structure of the grapevine: vegetative and reproductive anatomy. *Biology of the grapevine*. Cambridge University Press Cambridge.
- Nawaz, H., Shi, J., Mittal, G. S., & Kakuda, Y. (2006). Extraction of polyphenols from grape seeds and concentration by ultrafiltration. *Separation and Purification Technology*, 48. 176 - 181. doi:10.1016/j.seppur.2005.07.006
- Negrillos, X. (1997). *Efecto de tres niveles de NPK y su interacción sobre el rendimiento de uva de mesa Cvs. Italia y Cardinal, Irrigación Majes*.
- Nowshehri, J. A., Bhat, Z. A., & Shah, M. Y. (2015). Blessings in disguise: Bio-functional benefits of grape seed extracts. *Food Research International*. doi:10.1016/j.foodres.2015.08.026

- Ojha H., Mishra K., Chaudhury N.K. (2012). Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results, *Food Chemistry*; 130, 1036–1043.
- Olaya, J. A., y Restrepo, L. P. (2012). Estudio del contenido de fenoles y actividad antioxidante de guayaba en diferentes estados de madurez. *Acta Biológica Colombiana*. 17(3), 611-624.
- Olmedilla, B.; Granado, F.; Blanco I., Gil, E. y Rojas, E. (2001). Composición en carotenoides y en equivalentes de retinol de verduras, hortalizas y frutas -crudas y cocidas- por 100 g de porción comestible. En: Tablas de Composición de Alimentos. Moreiras O, A. Carvajal, L. Cabrera y M. Cuadrado (eds.). Ediciones Pirámide, Madrid. 245 p.
- Pérez, J. J. Salas, M. Zavaleta, T. Paucar, E. (2012). *Systematic analysis of the content of 502 polyphenols in 452 foods and beverages: an application of the phenol-explorer database*. *J Agric Food Chem.* ; 58(8):4959-4969.
- Picornell, R. M. y Martínez, J. M. (2013). Historia Del Cultivo de la Vid y el Vino, su expresión en la Biblia. *Revista de la Facultad de Educación de Albacete*, Nro. 27. 217-246p.
- Plank, D. W., Sapirstein, H., Szpylka, J., & Woollard, D. (2012). Determination of Antioxidant Activity in Foods and Beverages by Reaction with 2,2'-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (DPPH): Collaborative Study First Action 2012.04. *Journal of AOAC International*, 95(6), 1562-1569.
- Pokorny, J. (2007). Are natural antioxidants better and safer than synthetic antioxidants. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 109(6). 629-642.
- Pszczółkowski, P. y Lacoste, P. (2016). Variedades criollas, una oportunidad para el Pisco de Chile. *Rev. FCA Uncuyo* 48(1): 239-251.

- Pugliese M. B. (2009). Efecto de la malla antigranizo sobre el microclima y variables de calidad en la cv Red Globe. En: 2do Simposio internacional de uva de mesa y pasa. Instituto Nacional de Tecnología, San Juan, Argentina. p. 59-76.
- Pulido, R.; Bravo, L., Saura-Calixto, F. (2000). Antioxidant Activity of Dietary Polyphenols As Determined by a Modified Ferric Reducing/Antioxidant Power Assay, *Journal Agric Food Chem.* 48. 3396-3402.
- Rinaldo, D.; Mbégué, D.; Fils, B. (2010). Advances on polyphenols and their metabolism in sub-tropical and tropical fruits. *Trends in Food Science & Technology.* 21(12). 599-606.
- Shahidi, F., & Ambigaipalan, P. (2018). Antioxidants in oxidation control. En R. Apak.
- Shi, J., Yu, J., Pohorly, J. E., & Kakuda, Y. (2003). Polyphenolics in Grape Seeds - Biochemistry and Functionality. *Journal of Medicinal Food.* 6(4). 291 - 299.
- Soriano, J. (2006). Nutrición básica humana. Editorial Universitat de Valencia.
- Surco, F.; Ayquipa, H.; Quispe, W.; García, J. y Valle, M. (2020). Determinación de Polifenoles Totales y Actividad Antioxidante de extracto de semillas de uvas residuos de la producción de piscos. *Rev Soc Quím Perú.* 86(2)
- Thorsten, M.; Andreas, S.; Dietmar, R. & Reinhold, C. (2009). Residues of grape (*Vitis vinifera* L.) seed oil production as a valuable source of phenolic antioxidants. *Food Chemistry.* 112 (2009) 551–559.
- Tobar, R.J. (2013). Determinación de la actividad antioxidante por DPPH Y ABTS de 30 plantas recolectadas en la ecorregión cafetera. [Tesis de pregrado]. Universidad Tecnológica de Pereira.

- Urrea-Victoria, V., Pires Janaína, Bezerra Torres, P., Alves Cursino dos Snatos, D., & Chow Fungyi. (2016). *Ensaio antioxidante em microplaca do poder de reducao do ferro (FRAP) para extratos de algas*. [Tesis Pregrado.] Universidad de Sao Paulo.
- USDA. 2002. Nacional Nutrient Database for Standard Referente, Release 15
- Valverde. M. (2005). Nuevas tecnologías no contaminantes para preservar la calidad de la uva mesa durante su conservación post-recolección. [Tesis doctoral]. Universidad Miguel Hernández. Disponible en: <http://dspace.umh.es/bitstream/11000/1728/1/Tesis%20JM%20Valverde.pdf>
- Vaysse P., Charmont S., Audubert A., Marion M., Thiault J. F., Scandella D. y Bergougnoux F. (2001). Recognizing table grape varieties. Reconnaître les varieties de raisin de table. *Éditions Centre technique interprofessionnel des fruits et legumes*. Paris, Francia. 69 p.
- Vingerhoets, M. 2015. Los secretos del Pisco. Universidad de San Martín de Porres. Fondo editorial. Lima, Perú. 69 pp.
- Vintimilla, M. (2013). *Determinación de la actividad antioxidante de las fracciones lipofílicas e hidrofílicas de los subproductos agroindustriales de mango*. [Tesis de grado, Universidad Técnica Particular de Loja]. Repositorio Institucional de la UTPL. <http://dspace.utpl.edu.ec/handle/123456789/5752>
- Wang, J.; Sun, B.; Coa, Y.; Tian, Y. & Li, X. (2008). Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compound from wheat bran. *Food Chemistry*, 106 (2), 804-810.
- Wilfredo, K. (5 de Enero del 2021). Uvas Frescas Perú Exportación 2020 Diciembre. AGRODATAPERU. Recuperado el 15 de Marzo del 2021 de

<https://www.agrodataperu.com/2021/01/uvas-frescas-peru-exportacion-2020-diciembre.html>

Williamson, G.; Holst, B. (2008). Dietary reference intake (DRI) value for dietary polyphenols: are we heading in the right direction. *Br. J. Nutr.* 99.

VIII. ANEXOS

ANEXO 1. METODOLOGÍA PARA EL ANÁLISIS PROXIMAL

A. Determinación de la Humedad

Procedimiento:

- Secar la placa petri durante 15 minutos y transferir al desecador hasta que enfríe.
- Pesar la placa petri y agregarle 5g de muestra.
- Colocarlos en la estufa a 100-105 °C por 6 horas.
- Por la diferencia de peso se obtiene la humedad de la muestra y luego se lleva a porcentaje.

Cálculos:

$$\%Humedad = \frac{Peso\ total - peso\ final}{peso\ muestra} \times 100$$

Dónde:

Peso total = peso de la placa + muestra fresca

Peso final = peso de la placa + muestra seca

B. Determinación de Cenizas

Procedimiento:

- Colocar el crisol limpio en un horno de incineración a 600 °C durante una hora.
- Trasladar el crisol del horno al desecador y enfriarlo a la temperatura de laboratorio.
Pesarlo utilizando pinzas de metal.
- Pesar por diferencia 2g de muestra en el crisol previamente tarado.
- Colocar el crisol en el horno incinerador a una temperatura de 600°C durante 3 a 5 horas.

- Luego, sacar del horno y trasladar el crisol a un desecador para enfriarse a temperatura ambiente.
- Pesar lo más pronto posible para evitar la absorción de humedad.

Cálculos:

$$\%Cenizas = \frac{\text{Peso ceniza}}{\text{Peso de muestra}} \times 100$$

C. Determinación de Proteína

Procedimiento:

- Pesar de 0,25g de muestra, luego agregar 1g del catalizador (mezcla de sulfato de potasio con sulfato de cobre) para acelerar la reacción.
- Limpiar con un poco de agua el cuello del balón de digestión.
- Agregar 2,5mL de ácido sulfúrico concentrado y colocar el balón en la cocina de digestión. La digestión termina cuando el contenido del balón es completamente cristalino.
- Colocar la muestra digerida en el aparato de destilación.
- Adicionar 5mL de hidróxido de sodio concentrado al 80% e inmediatamente conectar el vapor para que se produzca la destilación.
- Conectar el refrigerante y recibir el destilado en un matraz Erlenmeyer de 125mL conteniendo 5mL de la mezcla de los indicadores de pH.
- La destilación termina cuando ya no pasa más amoniaco (5mm) y hay viraje titulando con ácido clorhídrico 0,05N. Anotar el gasto.

Cálculos:

- La cantidad de nitrógeno de la muestra se obtiene por la siguiente fórmula:

$$\%Nirógeno = \frac{G(NC)(Meq.)}{\text{Peso muestra}} \times 100$$

Dónde:

G = Gasto del HCl

NC = Normalidad corregida

Meq. = peso miliequivalente del nitrógeno

- Para obtener la cantidad de proteína bruta, se multiplica por el factor 6,25:

-

$$\%Proteína = \%Nitrógeno \times 6.25$$

D. Determinación de Grasa

Procedimiento:

- Usar muestras deshidratadas, secadas en una estufa, y colocarlas en un desecador.
- Poner a secar en una estufa (110 °C) el número de matraces que se van a utilizar.
- Luego de una hora, sacar los matraces de la estufa y ponerlos a enfriar en una campana que contengan una sustancia deshidratante. Pesar los matraces fríos.
- Pesar la muestra seca de 3-5g, empaquetarla en un pedazo de papel filtro.
- Colocar el paquete en el cuerpo del aparato de soxhlet y luego agregar éter, hexano hasta que una parte del mismo sea sifoneado hacia el matraz; conecta la fuente de calor de la cocina.
- El solvente (hexano o éter) al calentarse se evapora (69 °C - 34,6 °C) y asciende a la parte superior del cuerpo del equipo. Allí se condensa por refrigeración con agua y cae sobre la muestra, regresando posteriormente al matraz por sifón, arrasando consigo la grasa. El ciclo es cerrado, y la velocidad de goteo del hexano debe ser de 45-60 gotas por minuto. El proceso dura 3 horas.
- El matraz debe sacarse del aparato cuando contiene poco hexano o éter.
- Evaporar el solvente remanente en el matraz en una estufa y enfriarlo en una campana que contenga sustancia deshidratante.

Cálculos:

$$\%Grasa = \frac{(Peso\ matraz\ con\ grasa) - (peso\ matraz\ vacio)}{peso\ muestra} \times 100$$

E. Determinación de Fibra

Procedimiento:

- Digestión ácida: Pesar 3g de muestra exenta de grasa en un vaso de 600mL.
- Añadir 200mL de H₂SO₄ al 1,25%. Hervir durante 30 minutos. Luego, filtrar y lavar con agua destilada caliente hasta neutralizar la acidez.
- Digestión alcalina: Añadir 200mL de NaOH 1,25% y hervir por 30 minutos.
- Filtrar y lavar con agua destilada caliente.
- Poner a la estufa el papel filtro y la muestra por 2 horas, y pesar. Este peso se llamará P1.
- Luego se coloca a la mufla para eliminar la materia orgánica y obtener las cenizas por 3 horas. Se pesa nuevamente siendo el P2.

Cálculos:

$$\%Fibra = \frac{P1 - P2}{Peso\ muestra} \times 100$$

F. Determinación de Carbohidratos

- Son los valores calculados por diferencia que incluye el valor de fibra. Se obtiene restando de 100, el peso en gramos de los macro componentes, según la siguiente fórmula:

$$Carbohidratos = 100 - (proteina + grasa + humedad + ceniza)$$

Anexo 2. Obtención de semilla de uva de 3 variedades Italia, Red Globe, Criolla Negra



Figura 29. Recolección de materia prima Mercado “La Perla”

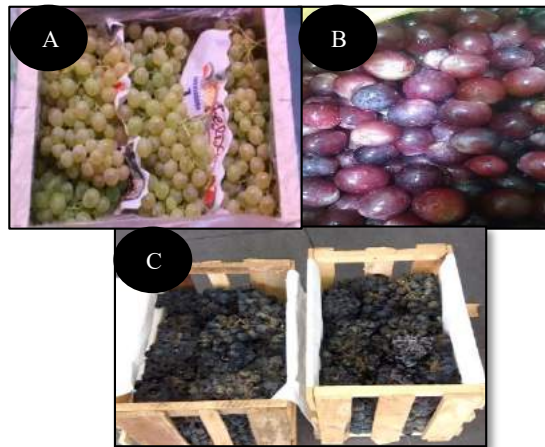


Figura 28. Recepción de materia prima 3 variedades de uva A). Italia B). Red Globe C). Criolla Negra



Figura 32. Lavado y desinfección por inmersión



Figura 31. Selección y separación de tallos



Figura 33. Pesado de tallo



Figura 34. Cortado de uva



Figura 30. Pulpeado de la uva



Figura 36. Selección de semilla



Figura 35. Semilla Criolla Negra, Italia y Red Globe

Anexo 2. Obtención de Harina de semillade Uva de 3 variedades: Italia, Red Globe, Criolla Negra



Figura 37. Secado por estufa de la semilla de uva A) Acondicionamiento de la semilla en la bandeja B) colocacion de la bandeja en el secador C) Estufa



Figura 39. Molienda de semilla

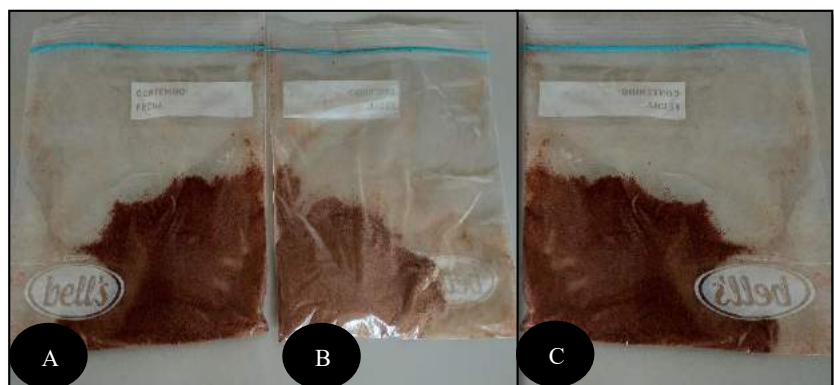


Figura 38. Harina de semilla de uva de 3 variedades A) Harina var. Criolla Negra B) Harina var. Italia C) Harina var. Red Globe

Anexo 3. Análisis Físico de la semilla de uva de 3 variedades: Italia, Red Globe, Criolla Negra.

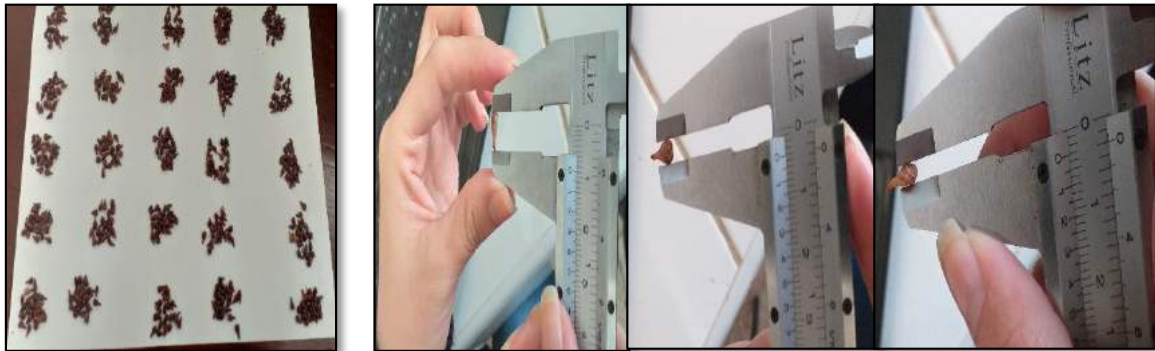


Figura 40. Peso y dimensiones de las semillas

Anexo 4. Análisis fisicoquímico de la harina de semilla de uva de 3 variedades: italia, red globe, criolla negra.

Anexo 4.1. Determinación de humedad

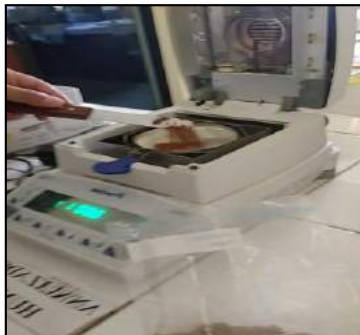
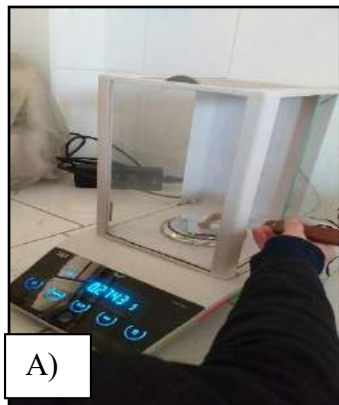


Figura 41. Pesado de muestra

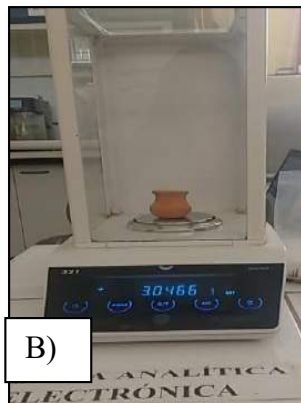


Figura 42. Muestra puesta en la termobalanza

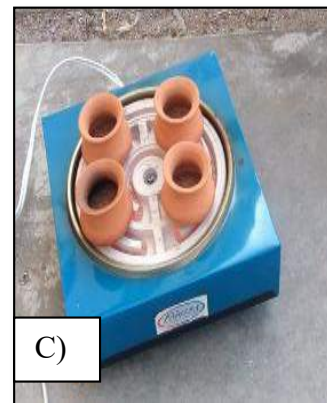
Anexo 4.2. Determinación del Contenido de Cenizas



A)



B)



C)

Figura 43. A) Pesado de las muestras; B) pesado del crisol; C) Incineración de las muestras en una cocina eléctrica.



Figura 44. D) muestra en mufla a 600°C; E) pesado de muestras después de incineradas.

Anexo 4.3. Determinación de grasa metodo soxhlet.



Figura 45. A) Pesado del matraz; B) pesado de las muestras junto al capacho.; C) Adición de 200 ml de éter Petroleo

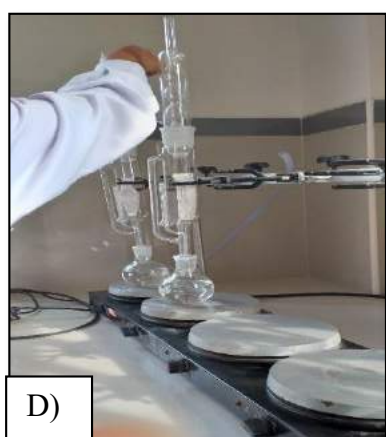


Figura 46. D) armado de soporte, E) extracción del aceite

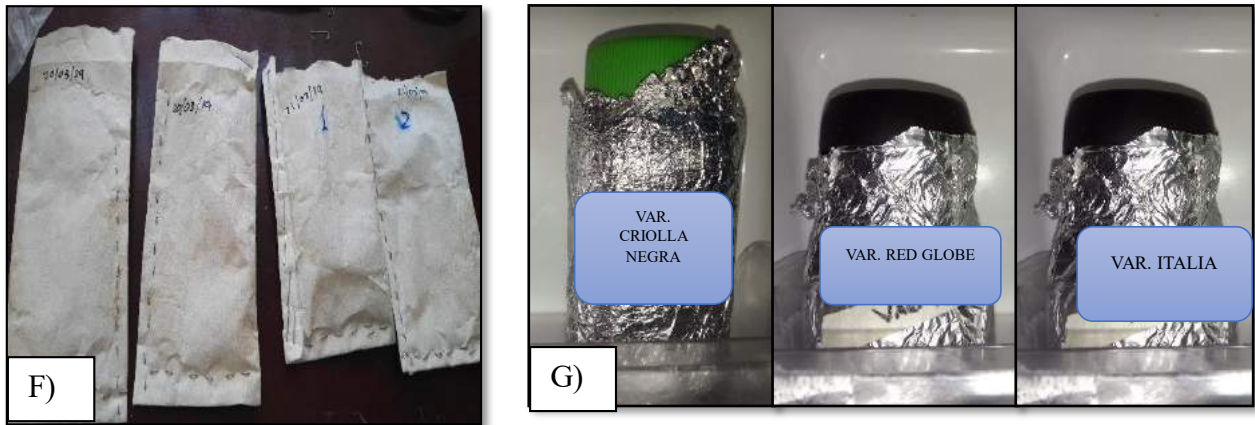


Figura 47. F) terminado la extracción se extrajó los capachos; G) Guardar las muestras desgrasadas para su posterior analisis. Harina desgrasada de semilla de uva de 3 variedades



Figura 48. Pesado del matraz con el aceite extraído, luego se remplaza en la formula.

Anexo 4.4. Determinación de fibra cruda.

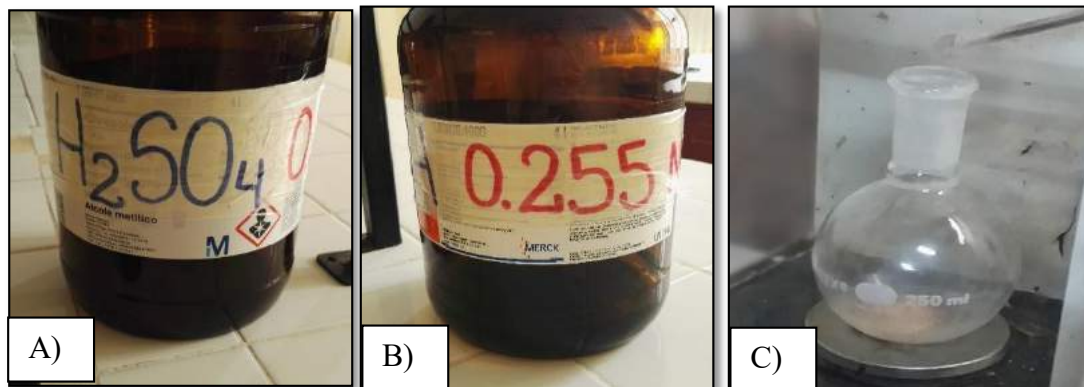


Figura 49. A) Acido sulfurico al 0.255 N; B) KOH al 0.255 N; C) pesar 0.5 gr de muestra desgrasada



Figura 52. D) Adicionar 75 ml H_2SO_4 al balón y colocar calentar en una cocina por 30 min, apartir de su ebullición; E) Quitar el balón y filtrar con papel filtro para fibra, enjuagar con abundante agua

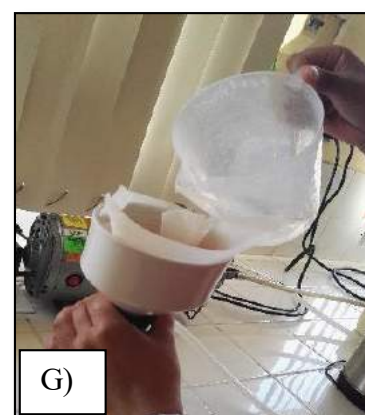
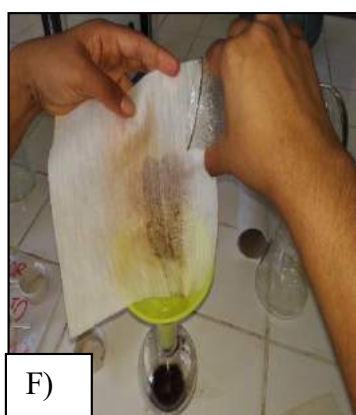


Figura 51. F) Colocar la misma muestra enjuagada en el balon con KOH al 0.255 N y hacer el mismo procedimeinto que el H_2SO_4 . G) Quitar el balon y filtrar con papel filtro para fibra, enjuagar con abundante agua.



Figura 50. H) Colocar la muestra en un crisol. I) Pesar la muestra antes de colocar a la estufa. J) Muestras colocadas en la Mufla por 3 horas a $600\text{ }^{\circ}\text{C}$.

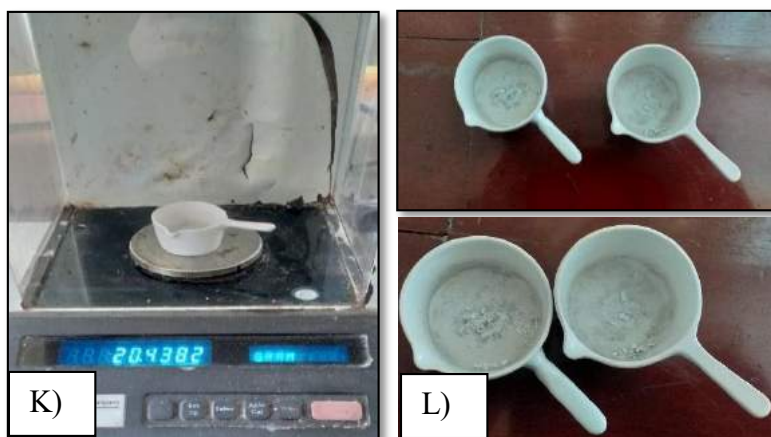


Figura 53. Pesar la muestra después de la estufa

Anexo 4.5. Determinación de proteínas totales.

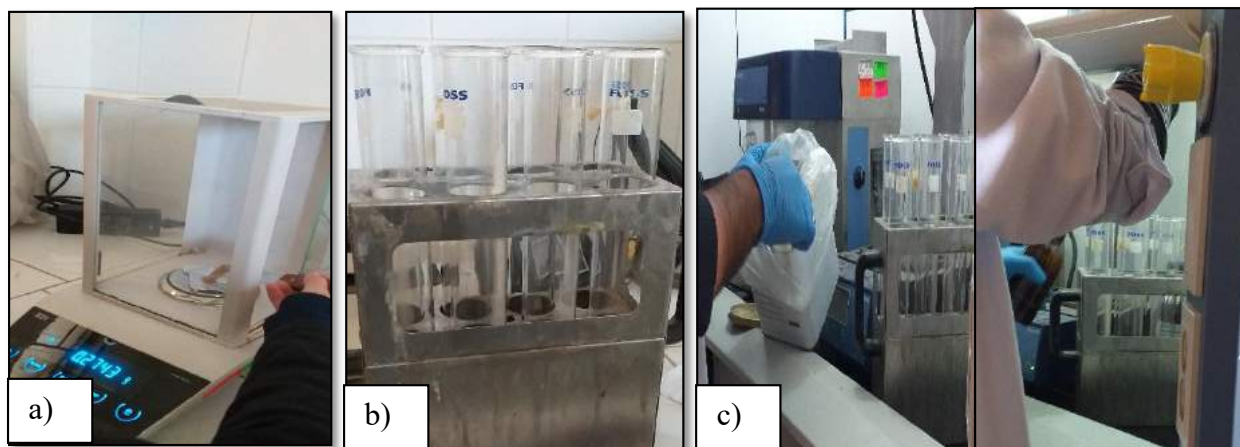


Figura 54. a) Pesado de la muestra. b) Adición de las muestras en los tubos de mineralización. c) Adición de catalizador (mezcla sales de cobre y óxido de titanio) y H₂SO₄ concentrado

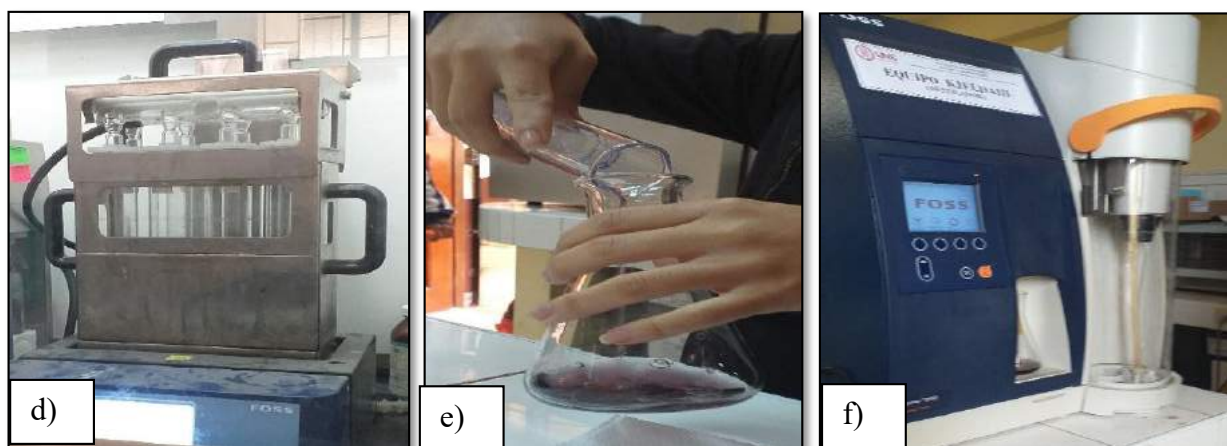


Figura 55. d) Digestión de las muestras. e) Ácido bórico para la destilación. f) Destilación de las muestras



Figura 56. Titulación de las muestras con solución de HCl 0.1 N, valoración hasta cambiar de color rosa

Anexo 5. Descripción del proceso de extracción en base seca (Harina)

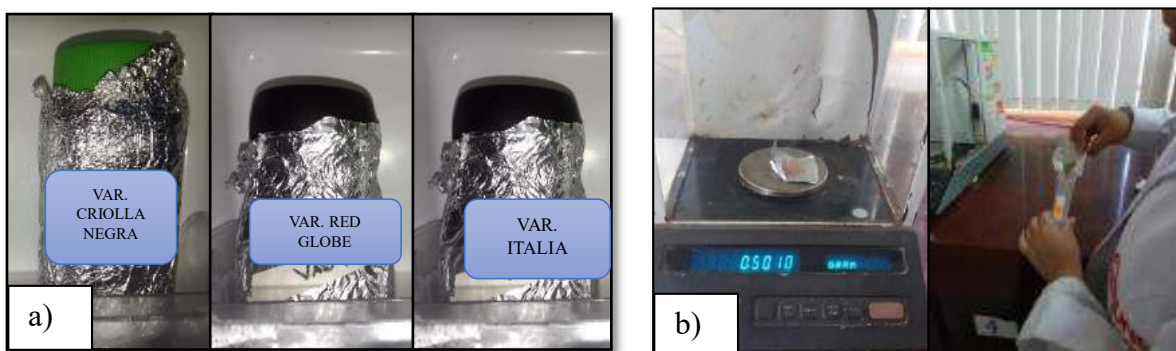


Figura 57. a) Harina desgrasada de semilla de uva de 3 variedades. b) Pesado 0.5 gr de las muestras, colocarlo en un tubo de ensayo.



Figura 58. C) Adición 10 ml del solvente en cada tubo que contiene Harina desgrasada: se trabajó con 3 solventes metanol acidificado al 0.1%, etanol- agua (3:1 vv) y agua destilada a 75°C. d) Colocación de las muestras en el equipo de ultrasonido durante 120 min.

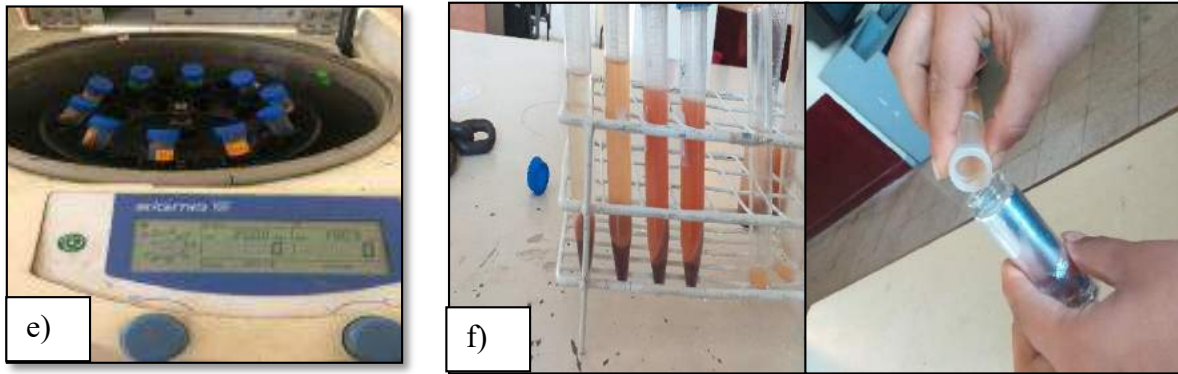


Figura 59. E) Centrifugación de las muestras, 3500 rpm durante 15 minutos. f) Transferencia del sobrenadante de las muestras (harina) en viales de vidrio.



Figura 60. Extractos de harina desgrasada de semilla de 3 variedades de uva con 3 solventes

Anexo 6. Cuantificación de polifenoles totales

Preparación de reactivos



Figura 56: Adición 1.25 ml del reactivo Folin-Ciocalteu en una fiola de 10 ml aforado con agua destilada



Figura 57: Carbonato de sodio al 7.5% en una fiola de 10 ml aforada con agua destilada.



Figura 58: 2 ml de Solución Estandar de Ácido Gálico al 0.025% en una fiola de 10 ml aforado con agua destilada

B.2 Curva de calibración de Ácido Gálico



Figura 59: Volúmenes de 100, 200, 400, 600, 800 y 1000, 1200 uL de solución estándar de Ácido Gálico son colocados en viales de vidrio.



Figura 60: Adición de agua destilada en cada vial, completando un volumen de 2650 uL.



Figura 61: Adición de 50 uL de carbonato de sodio 7.5%..



Figura 62: Adición de 100 uL del reactivo Folin-Ciocalteu. Agitar y reposar 5 min y luego leer a 726 nm.

B.3 Preparación de la muestra y cuantificación de polifenoles totales



Figura 63: Dilución de las muestras según la cantidad de polifenoles de harina de semilla desgrasada



Figura 64: **Muestra:** Adición en un tubo 600 ul de muestra con 50 ul de carbonato, folin 100 ul y 1900 agua destilada



Figura 65: **Blanco:** Adición en un tubo 600 ul de muestra con 50 ul de carbonato y 1900 agua destilada



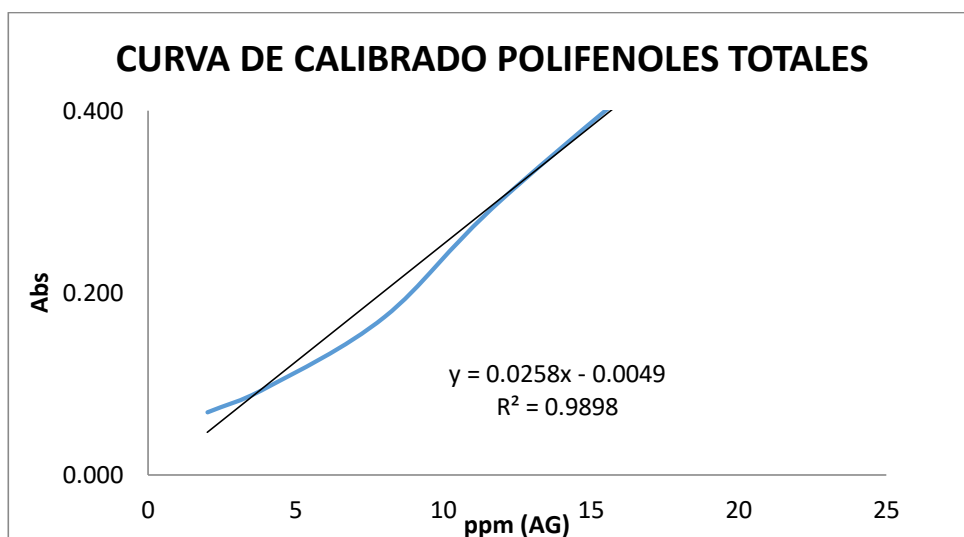
Figura 66: Agitar y reposar 5 minutos y lectura a 726 nm.

B.4. Curva Calibración de Ácido Gálico

Tabla 1. Datos de la curva de calibración de Ácido Gálico

N°	Concentración (ppm)	Abs (726 nm)
1	2	0.069
2	4	0.096
3	8	0.174
4	12	0.303
5	16	0.523
6	24	0.356

GRÁFICO 1: Curva de calibración de Ácido Gálico



Anexo 7. Cuantificación de capacidad antioxidante- método DPPH

A. Procedimiento

B.1 Preparación de reactivos



Figura 69: Solución DPPH (40 mg/L)



Figura 70: Estándar Trolox (50 mg/100mL)

B.2 Preparación de Curva de calibrado

	[] ppm	TROLOX (ul)	DPPH (ml)
1	2	25	6.25
2	4	50	6.25
3	6	75	6.25
4	8	100	6.25
Blanco		Agua destilada	

B.3 Preparación de la muestra



Figura 71: **Muestra:** Adición en un tubo 100 ul de muestra y 6.25 ml de DPPH preparado.



Figura 72: **Blanco:** Adición en un tubo 100 ul de muestra y 6.25 ml de agua destilada.

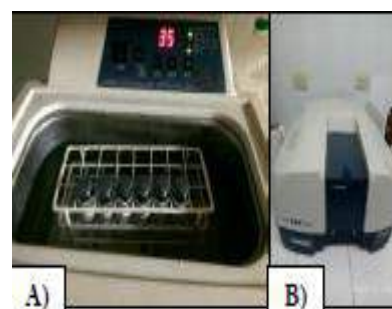
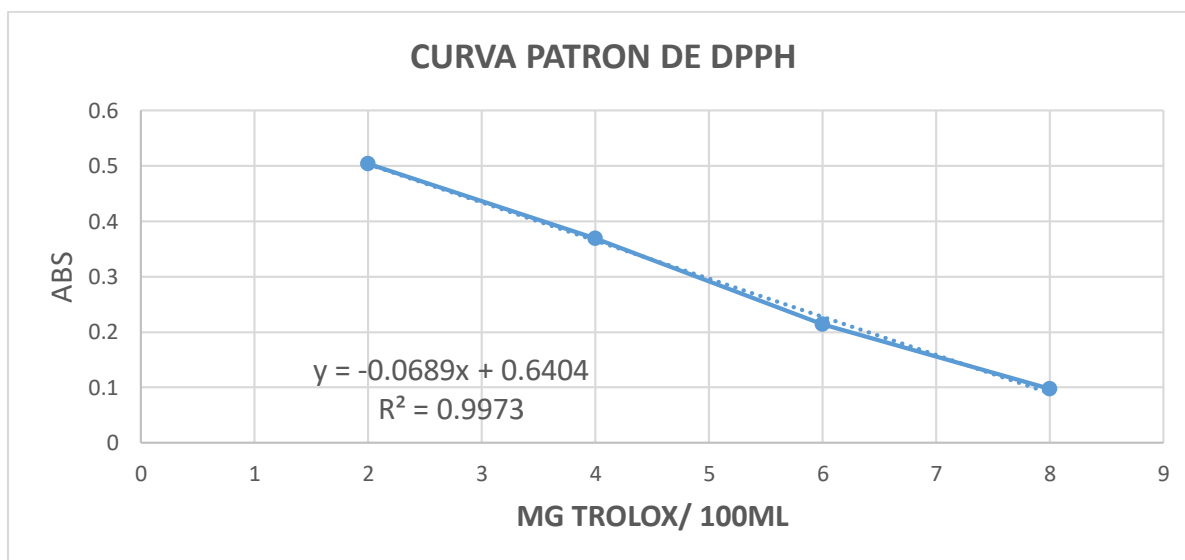


Figura 73: A) Colocación al sonificación a una temperatura de 37 °C por 1 hr B) lectura a 517 nm.

B.4 Curva de Calibrado

CONCENT. (uM Trolox)	ABS
2	0.5044
4	0.369065
6	0.213816
8	0.0969825

GRAFICO 2: Curva de calibración de DPPH



Anexo 8. Determinación de antioxidante - método FRAP

A. Materiales



Figura 74: Solución FeCl₃.6H₂O (20mM)



Figura 75: Solución TPTZ (10mM).



Figura 76: Tampon acetato 0.3M, pH 3.6



Figura 77: Estándar Trolox (25mM)



Figura 78: Metanol 50%

B. Procedimiento

B.1. Determinación de Capacidad antioxidante

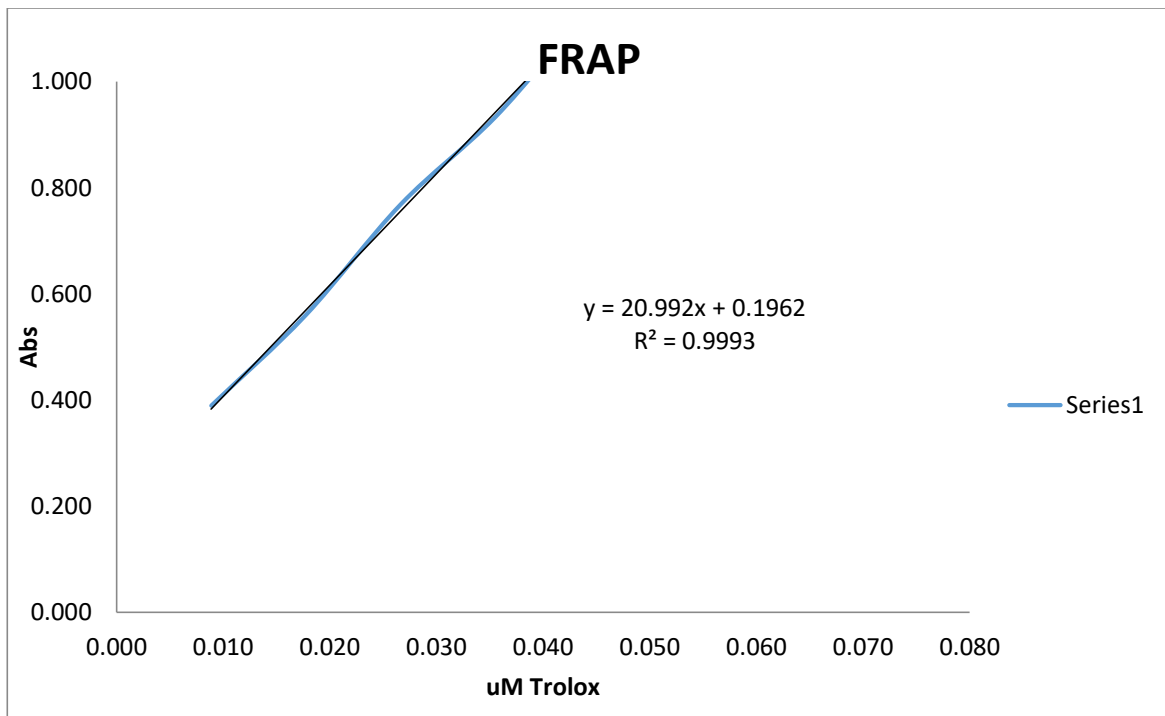


Figura 79: Viales con muestra y reactivos FRAP antes de la medición

B.2. Determinación de Capacidad antioxidante

N°	CONCENT. (uM Trolox)	ABS (593 nm)
1	0.009	0.389
2	0.018	0.560
3	0.027	0.768
4	0.036	0.933
5	0.044	1.134
6	0.053	1.298
8	0.071	1.698

GRAFICO 2: Curva de Calibrado metodo Frap



“TORTA DESGRASADA DE SEMILLAS DE TRES VARIEDADES DE UVA (Vitis Vinifera), COMO FUENTE DE ANTIOXIDANTES FENÓLICOS”

INFORME DE ORIGINALIDAD

28%

INDICE DE SIMILITUD

28%

FUENTES DE INTERNET

2%

PUBLICACIONES

10%

TRABAJOS DEL ESTUDIANTE

FUENTES PRIMARIAS

1	repositorio.uns.edu.pe Fuente de Internet	12%
2	Submitted to Universidad Nacional del Santa Trabajo del estudiante	5%
3	repositorio.lamolina.edu.pe Fuente de Internet	3%
4	repositorio.unjfsc.edu.pe Fuente de Internet	2%
5	hera.ugr.es Fuente de Internet	2%
6	repositorio.unap.edu.pe Fuente de Internet	1%
7	repositorio.unsa.edu.pe Fuente de Internet	1%
8	es.scribd.com Fuente de Internet	1%

9	dspace.ups.edu.ec Fuente de Internet	<1 %
10	bdigital.unal.edu.co Fuente de Internet	<1 %
11	cienciasagricolas.inifap.gob.mx Fuente de Internet	<1 %
12	repositorio.untumbes.edu.pe Fuente de Internet	<1 %
13	mriuc.bc.uc.edu.ve Fuente de Internet	<1 %
14	produccioncientificaluz.org Fuente de Internet	<1 %
15	agraria.pe Fuente de Internet	<1 %
16	repositorio.autonomadeica.edu.pe Fuente de Internet	<1 %

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 30 words

Excluir bibliografía

Activo