



Universidad Nacional  
**SAN LUIS GONZAGA**



## **Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional**

Esta licencia permite a otras combinar, retocar, y crear a partir de su obra de forma no comercial, siempre y cuando den crédito y licencia a nuevas creaciones bajo los mismos términos.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0>



## INFORME DE REVISIÓN

Se ha realizado el análisis con el software antiplagio de la Universidad Nacional "San Luis Gonzaga", por parte de los docentes reponsables, al documento cuyo título es:

**ESTUDIO COMPARATIVO DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN LA CÁSCARA DE MANZANA (Malus domestica) EN DOS VARIEDADES Anna Israel y Delicious viscas**

presentado por:

**JESSICA BEATRIZ HUARIPATA ROJAS  
LOURDES AMEL ANTAHUA HUAYLLA**

del nivel **PREGRADO** de la facultad de **INGENIERIA PESQUERA Y DE ALIMENTOS** obteniéndose como resultado una coincidencia de **18.54%** otorgándosele el calificativo de:

**APROBADO**

Se adjunta al presenta el reporte de evaluación del software antiplagio.

Observaciones:

APROBADO OBTUVO 18.5% (MENOR AL 30% REQUERIDO)

Ica, 7 de Septiembre de 2021

  
**JULIO HERNAN ARENAS VALER**  
COORDINADOR  
SOFTWARE ANTIPLAGIO  
FACULTAD DE INGENIERIA PESQUERA Y DE ALIMENTOS

  
**ANGEL PASCASIO RUIZ FIESTAS**  
ASESOR  
SOFTWARE ANTIPLAGIO  
FACULTAD DE INGENIERIA PESQUERA Y DE ALIMENTOS



**UNIVERSIDAD NACIONAL "SAN LUIS  
GONZAGA"**



**FACULTAD DE INGENIERIA PESQUERA Y DE  
ALIMENTOS**

**ESCUELA DE INGENIERIA DE ALIMENTOS**

**ESTUDIO COMPARATIVO DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN LA CÁSCARA  
DE MANZANA (*Malus domestica*) EN DOS VARIETADES *Anna israel* y  
*Delicious viscas***

**TESIS:**

**PARA OPTAR EL TITULO DE  
INGENIERO DE ALIMENTOS**

**PRESENTADO POR:**

**BACHILLER ANTAIHUA HUAYLLA, LOURDES AMEL**

**BACHILLER HUARIPATA ROJAS, JESSICA BEATRIZ**

**PISCO – PERÚ**

**2017**

## **DEDICATORIA**

### **A Dios.**

Por darme la oportunidad de vivir y por estar conmigo en cada paso que doy.

### **A mis padres Víctor Antaihua Chipana y Nancy huaylla huayhuas.**

Por ser el pilar fundamental en todo lo que soy, por su incondicional apoyo perfectamente mantenido a través del tiempo. Todo este trabajo ha sido posible gracias a ellos. A mi hijo y hermanos.

Lourdes.

### **A Dios.**

Por permitirme llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis metas, además de su infinita bondad y amor.

### **A mi madre Carmen Rojas Saldaña.**

Por haber sido el principal ejemplo que me ha dado Dios de ser una mujer fuerte, luchadora e independiente, por su apoyo en todo momento, pero más que nada, por su amor. Y a mis familiares más cercanos.

Jessica.

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios por haber conspirado para mantenernos firmes y no decaer a pesar de las adversidades presentadas durante este gran esfuerzo y dedicación que comprendió nuestra carrera como Ingenieras de Alimentos.

A nuestra asesora, la Dra. Matilde Tenorio Domínguez por su gran ayuda y colaboración en cada momento de consulta y soporte en este trabajo de investigación.

A la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad San Luis Gonzaga de Ica – Laboratorio de Calidad.

Un agradecimiento especial al Dr. Felipe Surco por su constante apoyo en la parte metodológica con la que pudo asesorarnos, nuestro profundo agradecimiento por brindarnos su tiempo incondicional.

A todas las personas que de una u otra forma contribuyeron al buen logro de esta investigación.

*“No esperes que el triunfo llegue hasta ti, sal tú a su encuentro”*

**Miguel A. Cornejo**

## ÍNDICE

<b>CARATULA</b>	i
<b>DEDICATORIA</b>	ii
<b>AGRADECIMIENTO</b>	iii
<b>INDICE</b>	iv
<b>RESUMEN</b>	xv
<b>ABSTRACT</b>	xvi
<b>CONTRACARÁTULA</b>	xvii
<b>INTRODUCCIÓN</b>	18
<b>CAPÍTULO I. MARCO TEÓRICO</b>	19
<b>1.1 Antecedentes del problema de investigación</b>	20
1.1.1 Antecedentes a nivel internacional	20
1.1.2 Antecedentes a nivel nacional	22
1.1.3 Antecedentes a nivel local	23
<b>1.2 Bases teóricas de la investigación</b>	24
1.2.1 La manzana	24
1.2.1.1 Clasificación científica	26
1.2.1.2 Hábitat	27
1.2.2 Componentes principales	27
1.2.3 Propiedades y beneficios de la manzana	30
1.2.4 Producción internacional	31
1.2.5 Situación nacional	31
1.2.5.1 Variedades de mayor producción en la provincia de Cañete	32
1.2.6 Cáscara de manzana	35
1.2.7 Propiedades nutritivas de la cáscara de manzana	35
1.2.8 Estrés oxidativo	37
1.2.9 Radicales libres	38

1.2.9.1 Especies reactivas de oxígeno	40
1.2.9.2 Especies reactivas de nitrógeno	41
1.2.10 Antioxidantes	43
1.2.10.1 Capacidad antioxidante	43
1.2.10.2 Clasificación	43
A) Antioxidantes endógenos	43
B) Antioxidantes exógenos	44
1.2.11 Antioxidantes dietarios	47
1.2.12 Determinación de la fibra dietética	47
1.2.13 Antioxidantes de la manzana	48
A) Flavonoides	51
B) Consecuencia en la actividad antioxidante en el proceso de la manzana	53
1.2.14 Determinación de la capacidad antioxidante	55
1.2.14.1 Ensayo DPPH (1,1-Difenil-2-Picril-Hidrazilo)	58
1.2.14.2 Ensayo ABTS (Ácido 2,2'-Azino-Bis-3- Etilbenzotiazolin- 6 Sulfónico)	60
1.2.15 Análisis sensorial	62
1.2.15.1 Percepción personal	63
1.2.15.2 Pruebas sensoriales	64
A) Pruebas afectivas	66
B) Prueba de preferencia	66
1.2.15.3 Atributos sensoriales	67
1.2.16 Análisis microbiológico	68
1.2.16.1 Mohos y levaduras	68
1.2.16.2 Coliformes totales	69
1.2.16.3 Echerichia coli	70
<b>1.3 Marco conceptual</b>	<b>71</b>



<b>3.2 Población y muestra materia de investigación</b>	83
3.2.1 Población de estudio	83
3.2.2 Muestra de estudio	84
<b>CAPÍTULO IV. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE INVESTIGACIÓN</b>	85
<b>4.1 Técnicas de recolección de datos</b>	86
4.1.1 Técnica experimental	86
4.1.2 Técnica de observación	86
4.1.3 Técnica estadística	86
<b>4.2 Instrumentos de recolección de datos</b>	87
4.2.1 Materiales, equipos y reactivos	87
<b>4.3 Técnicas de procesamiento de datos, análisis e interpretación de resultados</b>	90
<b>4.3.1 Técnicas de procesamiento de datos</b>	90
4.3.1.1 Diagrama de proceso de operación	90
A) Recepción	91
B) Lavado	92
C) Pelado	92
D) Secado	93
E) Molido y tamizado	94
F) Almacenado	95
4.3.1.2 Balance de materia del proceso de obtención de la harina de cáscara de manzana de la variedad <b><i>Anna israel</i></b>	96
4.3.1.3 Balance de materia del proceso de obtención de la harina de cáscara de manzana de la variedad <b><i>Delicious viscas</i></b>	97
<b>4.3.2 Análisis e interpretación de resultados</b>	98
4.3.2.1 Análisis de temperatura y tiempo de secado	98
4.3.2.2 Análisis de humedad	98

4.3.2.3 Evaluación de la actividad antioxidante	99
A) Método de inhibición con el radical libre DPPH	99
B) Evaluación de la actividad antioxidante por método ABTS	101
4.3.2.4 Análisis sensorial	103
4.3.2.5 Análisis microbiológico	103
<b>CAPÍTULO V. PRESENTACIÓN, INTERPRETACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS</b>	104
<b>5.1 Presentación e interpretación de resultados</b>	105
5.1.1 Resultados de los parámetros de temperatura, tiempo de secado y contenido de humedad en la cascara seca de manzana en las dos variedades	105
5.1.2 Resultado de la capacidad antioxidante en la harina de cáscara de manzana de las dos variedades	108
5.1.2.1 Resultado de la capacidad antioxidante según el método DPPH	108
5.1.2.2 Resultado de la capacidad antioxidante según el método ABTS	111
5.1.3 Resultado del análisis sensorial	114
A) Preferencia del producto	114
5.1.4 Resultado del análisis microbiológico	115
<b>5.2 Discusión de resultados</b>	116
<b>CAPÍTULO VI. COMPROBACIÓN DE HIPÓTESIS</b>	118
6.1 Contrastación de hipótesis general	119
6.2 Contrastación de hipótesis específicas	119

<b>CONCLUSIONES</b>	125
<b>RECOMENDACIONES</b>	126
<b>FUENTES DE INFORMACIÓN</b>	127
<b>ANEXOS</b>	139

## ÍNDICE DE TABLAS

CONTENIDO	PAG.
<b>Tabla 1.</b> Clasificación científica de la manzana	26
<b>Tabla 2.</b> Valores nutritivos de la manzana	29
<b>Tabla 3.</b> Variedades de la manzana cultivadas en la provincia de Cañete – Principales características	34
<b>Tabla 4.</b> Principales especies reactivas de oxígeno (ERO) y especies reactivas de nitrógeno (ERN)	40
<b>Tabla 5.</b> Antioxidantes exógenos	45
<b>Tabla 6.</b> Principales sistemas de antioxidantes del organismo	46
<b>Tabla 7.</b> Compuestos fenólicos descritas en la manzana.	49
<b>Tabla 8.</b> Concentración de fenoles y actividad antioxidante en tres cultivares de manzanas, sanas y con daño por sol	50
<b>Tabla 9.</b> Factores que afectan la capacidad antioxidante de un alimento	55
<b>Tabla 10.</b> Clasificación de los modelos de ensayos in vitro según su modo de reacción	56
<b>Tabla 11.</b> Pruebas sensoriales	65
<b>Tabla 12.</b> Operacionalización de variables	81
<b>Tabla 13.</b> Resultado del secado de la cáscara de manzana en las dos Variedades, con una temperatura de 40°C	105
<b>Tabla 14.</b> Detalle de los resultados de orden polinomial	107
<b>Tabla 15.</b> Porcentaje de inhibición a diferentes concentraciones	108
<b>Tabla 16.</b> Análisis de la capacidad antioxidante equivalente al trolox	111
<b>Tabla 17.</b> Análisis microbiológico	115
<b>Tabla 18.</b> Rangos de datos de la cáscara de manzana de las dos variedades (método DPPH)	120

<b>Tabla 19.</b> Estadísticos de contraste: cáscara de manzana de las dos variedades (método DPPH)	121
<b>Tabla 20.</b> Rangos de datos de la cáscara de manzana de las dos variedades (método ABTS)	123
<b>Tabla 21.</b> Estadísticos de contraste: cáscara de manzana de las dos variedades (método ABTS)	123
<b>Tabla 22.</b> Porcentaje de inhibición de un ensayo duplicado en cáscara (método DPPH)	144
<b>Tabla 23.</b> Porcentaje de inhibición de un ensayo duplicado en cáscara (método ABTS)	145
<b>Tabla 24.</b> Resultados de las lecturas de las soluciones estándares de trolox en el método ABTS	146
<b>Tabla 25.</b> Valores de la curva de calibración de trolox por el método ABTS	147

## ÍNDICE DE FIGURAS

CONTENIDO	PAG.
<b>Figura 1.</b> Variedad <i>Anna israel</i>	32
<b>Figura 2.</b> Variedad <i>Delicious viscas</i>	33
<b>Figura 3.</b> Formación de radicales libres	42
<b>Figura 4.</b> Flavonoides, estructura básica y tipos	53
<b>Figura 5.</b> Características estructurales de los diferentes tipos de flavonoides	53
<b>Figura 6.</b> Estructura del DPPH antes y después de la reacción con el antioxidante	59
<b>Figura 7.</b> Estructura del ABTS antes y después de la reacción con el antioxidante	61
<b>Figura 8.</b> Formula estructural del trolox	62
<b>Figura 9.</b> Desarrollo del análisis sensorial	63
<b>Figura 10.</b> Percepción personal	64
<b>Figura 11.</b> Esquema de recuento de mohos y levaduras	69
<b>Figura 12.</b> Fruta enterrada en la provincia de Cañete (2012 – 2013)	75
<b>Figura 13.</b> Cáscara de manzana <i>Delicious viscas</i>	87
<b>Figura 14.</b> Cáscara de manzana <i>Anna israel</i>	87
<b>Figura 15.</b> Manzana <i>Anna israel</i>	91
<b>Figura 16.</b> Manzana <i>Delicious viscas</i>	91
<b>Figura 17.</b> Pelado manual de las manzanas	92
<b>Figura 18.</b> Pesado de la cáscara	92
<b>Figura 19.</b> Medida del pH	93
<b>Figura 20.</b> Secado artificial de la cáscara	93
<b>Figura 21.</b> Pesado de la cáscara seca	94
<b>Figura 22.</b> Molido de la cáscara seca	94
<b>Figura 23.</b> Medida del pH final	95

<b>Figura 24.</b> Análisis del comportamiento del secado de la cáscara de manzana de cada variedad en condiciones de humedad y tiempo	106
<b>Figura 25.</b> Análisis de respuesta de la actividad antioxidante de la cáscara de manzana <i>Delicious viscas</i> comparado al porcentaje de inhibición y concentración	109
<b>Figura 26.</b> Análisis de respuesta de la actividad antioxidante de la cáscara de manzana <i>Anna israel</i> comparado al porcentaje de inhibición y concentración	110
<b>Figura 27.</b> Análisis de respuesta de la actividad antioxidante de la cáscara de manzana <i>Delicious viscas</i> comparado a los valores de TEAC y concentración	112
<b>Figura 28.</b> Análisis de respuesta de la actividad antioxidante de la cáscara de manzana <i>Anna israel</i> Comparado a los valores de TEAC y concentración	113
<b>Figura 29.</b> Resultado de las preferencias de las muestras	114
<b>Figura 30.</b> Reactivo DPPH	140
<b>Figura 31.</b> Dosificación del reactivo	140
<b>Figura 32.</b> Disolución con etanol	141
<b>Figura 33.</b> Preparación del blanco	141
<b>Figura 34.</b> Absorbancia del blanco	142
<b>Figura 35.</b> Preparación de las muestras en diales	142
<b>Figura 36.</b> Muestras por duplicados	143
<b>Figura 37.</b> Medida de absorbancia de las muestras	143
<b>Figura 38.</b> Curva de calibración del trolox	147

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>CONTENIDO</b>	<b>PAG.</b>
<b>Anexo 1.</b> Esquema gráfico del proceso de determinación de la capacidad antioxidante.	140
<b>Anexo 2.</b> Ensayos de porcentajes de inhibición con ambos métodos	144
<b>Anexo 3.</b> Modelo de la ficha para la encuesta de evaluación sensorial	148
<b>Anexo 4.</b> Resultado de la prueba de preferencia ampliada	149
<b>Anexo 5.</b> Prueba no paramétrica de Friedman	150
<b>Anexo 6.</b> Resultado del análisis microbiológico	151
<b>Anexo 7.</b> Tabla de distribución de Friedman 5%	152
<b>Anexo 8.</b> Tabla de distribución de T	154

## RESUMEN

El objetivo de este trabajo de investigación fue determinar cuál de las cáscaras de las dos variedades de manzana posee mayor capacidad antioxidante: *Delicious viscás* o *Anna israel*. Corresponde a un tipo de estudio experimental, descriptivo, observacional, transversal y prospectivo. Las dos variedades de manzanas obtenidas fueron procedentes del valle de Cañete. La muestra biológica fue la cáscara de manzana *Anna israel* y *Delicious viscás*, secada y molida respectivamente; también se utilizó como muestras solo por referencia, el extracto acuoso de la pulpa de las dos variedades de manzana. Se utilizó dos métodos para determinar la actividad antioxidante como son: reducción Radical libre estable 2,2 difenil - 1 - picrilhidrazil (DPPH\*) y el radical ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin- 6 sulfónico (ABTS"). El valor de la capacidad antioxidante por DPPH de la cáscara de manzana de la variedad *Delicious Viscás* resulto ser mayor ya que inhibió en un 97.692% la formación de radicales libres frente a un 68.566% de la cáscara de la variedad *Anna israel*, ambas en una concentración de 0.2 µg/ml; mientras que por el método ABTS para obtener una capacidad antioxidante equivalente a 0,5mM de trolox se requiere 0,034ug/ml de la variedad *Delicious viscás* mientras que de la variedad *Anna Israel se requiere 0.094ug/mL*. Luego, la prueba estadística no paramétrica U Mann-Whitney corrobora que efectivamente existen diferencias significativas de la capacidad antioxidante en la cáscara de manzana entre las dos variedades en estudio con el método DPPH y con el método ABTS. Como conclusión la cáscara de la manzana *Delicious viscás* presenta una mayor acción antioxidante frente al sistema generador de radicales libres.

Palabras claves: Cáscara de manzana *Delicious viscás*, cáscara de manzana *Anna israel*, capacidad antioxidante, 2,2 difenil - 1 - picrilhidrazil, 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin- 6 sulfónico.

## ABSTRACT

The objective of this research work was to determine which peel of the two varieties of apple has major antioxidant capacity: *Delicious viscas* or *Anna* apple. Corresponds to a type of experimental, descriptive, observational, cross-sectional and descriptive study. The two varieties of apples obtained came from the Cañete Valley. The biological sample was the peel of *Anna* apple and *Delicious viscas*, dried and ground respectively; the aqueous extract of the pulp of the two apple varieties was also used as samples only by reference. Two methods were used to determine the antioxidant activity, such as: stable free Radical reduction 2,2 diphenyl - 1 - picrilhidrazil (DPPH \*) and the radical 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin- 6 sulfonico (ABTS "). The value of the antioxidant capacity by DPPH of the apple peel of the variety *Delicious viscas* turned out to be greater since it inhibited in 97.692% the formation of free radicals against 68.566% of the peel of the variety *Anna* apple, both in a concentration 0.2 µg / ml; while by the ABTS method to obtain an antioxidant capacity equivalent to 0.5mM of trolox, 0.034ug / ml of the *Delicious visca* variety is required, while of the *Anna* apple variety, 0.094ug / ml is required. Then, the non-parametric U Mann-Whitney statistical test corroborates that there are indeed significant differences in antioxidant capacity in apple peel between the two varieties under study with the DPPH method and also with the ABTS method. As a conclusion the peel of the *Delicious viscas* apple peel present a greater antioxidant action against the generator of free radicals.

Key words: Peel of *Delicious viscas* apple, Peel of *Anna* apple, antioxidant capacity, 2,2 difenil-1-picrilhidrazil, 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6 sulfonico.

**UNIVERSIDAD NACIONAL “SAN LUIS GONZAGA”**  
**FACULTAD DE INGENIERÍA PESQUERA Y DE ALIMENTOS**  
**ESCUELA DE INGENIERÍA DE ALIMENTOS**

**TÍTULO**

**ESTUDIO COMPARATIVO DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN LA CÁSCARA  
DE MANZANA (*Malus domestica*) EN DOS VARIEDADES *Anna israel* y  
*Delicious viscas***

**ÁREA DE CONOCIMIENTO**  
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

**LÍNEA DE INVESTIGACIÓN**  
CIENCIA E INGENIERIA

**AUTORAS**

BACHILLER ANTAHUA HUAYLLA, LOURDES AMEL  
BACHILLER HUARIPATA ROJAS, JESSICA BEATRIZ

**ASESOR**

DRA. TENORIO DOMINGUEZ, MATILDE

## INTRODUCCIÓN

El cultivo del manzano en el país constituye una actividad frutícola de gran importancia por su extensión y valor de la producción. Así mismo por ser fruta, fuente alimenticia con alto porcentaje de calorías.

Sus frutos son de fácil conservación, pudiendo almacenarse en locales ventilados y frescos; o, en frigoríficas, por varios meses.

Sus productos además de ser utilizados como fruta fresca, constituyen materia prima para jugo, néctares, mermeladas, conservas y para la producción de sidra; la elaboración de estos productos nos deja la cáscara y pepas como mermas.

Tomando solo la cáscara que es nuestro objeto de investigación, esta aporta componentes metabólicos secundarios de naturaleza fenólica, los cuales muestran una gran capacidad para captar radicales libres causantes del estrés oxidativo, atribuyéndoseles a su vez un efecto beneficioso a la prevención de enfermedades tales como: cardiovasculares, circulatorias, cancerígenas y neurológicas.

Por ello, el presente trabajo tiene como finalidad determinar la capacidad antioxidante en la cáscara de manzana no solo de una variedad, sino compararlo a otra de las variedades más producidas en el valle de Cañete y determinar cuál de las dos posee mayor capacidad antioxidante, utilizando dos métodos para la determinación de la actividad antioxidante (ABTS Y DPPH), y concluir con mayor exactitud al resultado comparativo.

# **CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO**

## 1.1 Antecedentes del problema de investigación

### 1.1.1 Antecedentes a nivel internacional

**E. Marta Kuskoski, Agustín G. Asuero, Ana** (2005). Bajo la aplicación de métodos que permitan determinar su capacidad antioxidante.

El Brasil es visto como el mejor elaborador de zumos, siendo el tercer lugar respecto al tema. La variedad de frutas en el mercado es cada vez más, habiendo nuevos frutos tropicales siendo sus propiedades y acciones todavía no están bien establecidas. El gobierno de Brazil incentiva el comercio exterior de frutas, dirigiendo fondos para exponer y promover novedosos productos en los otros países de la Unión Europea, tal como la “Festival de Fruta Brasileña” donde se promueve frutas *naturales*, pulpa congelada y jugos procesados. Se están publicando con frecuencia novedosos estudios que vinculan el consumir de frutas con las propiedades beneficiosas para la salud. El presente trabajo tiene por objetivo de determinar el índice de fenoles totales, antocianos totales y la capacidad antioxidante de las pulpas de fruta, utilizando los métodos espectrofotométrico químicos más usados para establecer la actividad antioxidante. Se determinó la capacidad antioxidante de las pulpas de los frutos tropicales de más consumo en el mercado de la parte sur de Brazil siendo aplicado el método ABTS con estimaciones a dos tiempos o sea de 1 a 7 minutos, el DPPH entre 30 a 60 minutos y también el DMPD en 10 minutos. Las estimaciones TEAC resultan de las pulpas y varían entre 2 y 67.2  $\mu\text{mol/g}$  aplicando el ensayo ABTS, entre 1.02 y 67  $\mu\text{mol/g}$  utilizando DPPH y entre 4,2 y 46,6  $\mu\text{mol/g}$  usando DMPD. Luego, la capacidad antioxidante resultante por los métodos mencionados ABTS y también DPPH se encuentran relacionadas con los compuestos fenólicos y antocianos respectivamente.

**Fabio A. Cuéllar C., Cecilia Anzola V.** (2013), Comparando la capacidad antioxidante del Arazá (*Eugenia stipitata* Mc Vaugh) en el transcurso de la maduración de frutas.

El arazá es un fruto amazónico con capacidad antioxidante. En este trabajo de Colombia se clasificó el epicarpio y mesocarpio del fruto de arazá en su maduración alcanzada. Se han extraído compuestos fenólicos usando mezclas de solventes determinando su contenido (método Folin-Ciocalteu), encontrando en el mesocarpio mayor contenido en el estado verde y en epicarpio en estados maduro y verde. La capacidad antioxidante fue determinada por métodos hidrofílicos (ABTS, DPPH, FRAP) y lipofílico (decoloración del b-caroteno) encontrando en el mesocarpio la mayor capacidad en estados verde y maduro, siendo los compuestos fenólicos los principales contribuyentes, dando al fruto de arazá la posibilidad de utilizarse en elaboración o enriquecimiento de productos alimenticios.

### 1.1.2 Antecedentes a nivel nacional

**Alfredo Matos Chamorro, Julio Paredes Guzmán, Luis González Rengifo** (2010). Sancayo (*Corryocactus brevistylus*), su capacidad de determinación del antioxidante.

La finalidad del estudio es determinar la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos del sancayo (*Corryocactus brevistylus*). El distribuir los ensayos para extraer los compuestos fenólicos es teniendo en cuenta el diseño Box Behnken siendo las variables: concentrado de etanol, temperatura al momento de extraer y el disolver la materia prima solvente; y como variable consecuencia el contenido de fenoles en la muestra. Se han elegido tres muestras que reflejan los contenidos de fenoles de los quince resultados de la experimentación y son los siguientes primero 0.259, segundo 0.682 y tercero 1.012 mg de ácido gálico/mL, a estas muestras se le complementó la capacidad antioxidante siendo los resultados de primero 266.32, segundo 363.76 y tercero 439.11 µg Trolox/g. En referencia con extraer fenoles, los factores más importantes fueron la temperatura y el concentrado de etanol y la capacidad antioxidante está vinculada con el contenido de fenoles.

**(Pedro Rengifo, 2012)**, Caracterización de sustancias bioactivos extraíbles con poder antioxidante en residuos vegetales de naranja, zanahoria y manzana.

La presencia de sustancias antioxidantes en los alimentos está directamente relacionada con los componentes vitaminas, polifenoles y por su concentración en los extractos investigados. Planteando la evaluación de los extractos de los residuos de naranja var. Valencia, zanahoria var. Chantenay y manzana var. Winter.

Se demostró que los solventes etanólicos fueron los mejores extractores: zanahoria 77.60% (2.30), manzana 58.30% (1.50) y naranja 18.40% (1.80). de otro lado, se comprobó que el mejor rendimiento para fenoles totales fue el metanol: manzana 0.692% (0.20), zanahoria 0.378% (0.12) y en el caso de la naranja fue el etanólico 0.095% (0.030). finalmente, el máximo poder antioxidante fue 89.48% (2.65) para la manzana y 76.89% (1.35) zanahoria, en ambos casos para el extracto metanólico; y el máximo para la naranja se apreció para el extracto etanólico con 48.29% (1.40). en todos los casos las condiciones óptimas de extracción se dieron a 50 °C, por 30min y con una relación disolvente soluto de 5/1.

Todos los residuos tienen poder antioxidante debido al contenido de polifenoles.

### **1.1.3 Antecedentes a nivel local**

**Nadia Caceres Cruzado, Víctor Peña Crisóstomo.** (2012), Determinación de los parámetros óptimos de proceso para la extracción de la fibra dietética antioxidante natural del orujo de uva.

La sociedad demanda cada vez más el desarrollo de procesos para la obtención de productos de utilidad respetuosos en el medio ambiente. Por ese motivo, se están realizando numerosos trabajos dirigidos a la producción de distintos compuestos químicos y de especialidad mediante la bioconversión de excedentes y residuos agroindustriales. En esta línea, en el presente trabajo se pretende profundizar en el desarrollo de un nuevo proceso, de bajo impacto medio ambiental y de costos muy reducidos, para aprovechar el principal subproducto de la industria vitivinícola: el orujo de uva.

El objetivo de este trabajo de investigación fue determinar los parámetros óptimos de procesos (temperatura y tiempo de secado) para la extracción de fibra dietética antioxidante del orujo de uva quebranta, obteniendo una harina para consumo humano, proponiendo así una alternativa para el uso del orujo de uva. Se estudiaron el efecto de dos factores, la temperatura de secado (45-55°C); tiempo de secado (21 – 90 horas), en relación al contenido de humedad, capacidad antioxidante, fibra dietética. El diseño experimental utilizado fue el diseño compuesto central rotatable (DCCR) con 2 puntos centrales. Los parámetros se optimizaron con el Diseño de superficie de respuesta ( $p < 0.05$ ), optimizando la actividad antioxidante, fibra dietética, humedad; el mayor rendimiento obtenido fue de una actividad antioxidante de 50.6235% y de fibra dietética total de 40% con una humedad de 12%. Utilizando una temperatura de 52.12°C y tiempo 24 horas.

## **1.2 Bases teóricas de la investigación**

### **1.2.1 La Manzana (*Malus domestica*)**

La manzana es comestible, muy bueno ingiriéndola en modo crudo, cocido, sola o mezclada con otras frutas, con la manzana se fabrica la sidra, bebida con alcohol, mermelada de manzana hecha con zumo de manzana siendo nutritiva por que se presenta más azúcares, prioritariamente la fructuosa y demás compuestos.

La fruta del manzano es un árbol de la familia rosáceas, en la actualidad hay más de mil especies de variados tamaños, colores y distinto sabor. Es un árbol de tamaño medio aprox. 2 metros de alto, de copa redonda, abierta y muchas ramas que se presentan casi horizontalmente, Tiene hojas en forma de ovalo, las

flores presentan corona, con pétalos de color blanco, redondos, con frecuencia son rojos o rosas, son hermafroditas. Están agrupadas en racimos entre 3 y 6 ramas laterales formando corimbos, siendo la parte central la que inicia la formación en posición terminal, reflejando la más desarrollada. (Potter et al., 2007).

El fruto que se forma desde este pedúnculo floral que se convierte en carnoso es la manzana. Siendo un pomo de 30-100 por 35-110 mm, globoso, con restos del cáliz en el ápice color verde, luego amarillo, también rojizo, etc., con semillas. (Richard, 1993).

### 1.2.1.1 Clasificación científica

**Tabla 1**

Clasificación científica de la manzana (*Malus domestica*)

---

Superreino:	Eukaryota
Reino:	Plantae
Subreino:	Tracheobionta
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Subclase:	Rosidae
Orden:	Rosales
Familia:	Rosaceae
Subfamilia:	Amygdaloideae
Tribu:	Maleae
Género:	<i>Malus</i>
Especie:	<i>Malus domestica</i>

---

Fuente: Manzana (*Malus domestica*), base de datos de clasificación de USDA. (1997).

### 1.2.1.2 Hábitat

- **Clima:**

La variedad *Malus domestica* resiste al ambiente frío y no requiere mucho calor y más luz para madurar. Se afecta menos con el excedente de frío que con el ambiente de calor y hay preferencia por los climas humedecidos a los secos. Las flores tiene sensibilidad a los climas muy fríos, el uso de riego contra las heladas u otras formas de protección son frecuentes en zonas con más riesgos.

El manzano aguanta climas menores a los -10°C, no se afecta su corteza, pero si sigue disminuyendo a los -15°C pueden perder yemas de las flores.

- **Suelo:**

El suelo debe tener la característica de ser profundo, suelto y fresco (con bastante agua), prioritariamente orientado hacia el sur-este y posee mínima exigencia en otros suelos, pues realizan adaptación a varios terrenos, en preferencia los de aluvión, dando preferencia a los frescos. Por presentar un sistema radicular por la superficie puede tener su hábitat en terrenos menos profundos. El agua estancada produce perjuicio y es muy tolerante al césped. (Sauer, 1993).

### 1.2.2 Componentes principales

- **Pectinas:** Tiene una acción como fibra soluble. Colabora disolviendo el colesterol y tiene compuestos para tratar la diabetes.

- **Aminoácidos:** Cisteína (compuesto de los tejidos, anula las toxinas del hígado); glicina (antiácido lo más natural posible y responde por el sistema inmunitario) arginina (es buena para el aumento muscular y repara los tejidos, siendo responsable en conjunto con la glicina del sistema inmunitario). Histidina (dilata el vaso y estimula el jugo gástrico. Combate muy

bien la anemia, la artritis y es utilizado para tratar las úlceras). Isoleucina (muy buena para un aumento apropiado y para el equilibrado uso del nitrógeno). Lisina (se usa para producir anticuerpos, se construye tejidos y absorbe el calcio). Serina (colabora en el fortalecimiento del sistema inmunológico). Valina (ayuda en el desarrollo del infante y es usado en el tratamiento del nitrógeno). Metionina (se necesita para producir cisteína, ayuda para tratar el colesterol).

- **Catequina.**- es un antioxidante polifenólico que procede de las plantas en las cuales aparece como un metabolito secundario. El término *catequina* se emplea comúnmente para referirse a la familia de los flavonoides y al subgrupo de los flavan-3-oles (o simplemente flavonoles). El nombre de catequina proviene de la familia de plantas denominada catechu (*Terra Japonica*) y concretamente del jugo extraído de la *Mimosa catechu* (*Acacia catechu* L.f).

- **Quercetina.**- La quercetina (fórmula molecular:  $C_{15}H_{10}O_7$ ) es un flavonol que se encuentra presente generalmente como O - glicósidos y raramente como C - glicósidos en altas concentraciones tanto en frutas como en verduras en especial en la cebolla. Es el flavonoide más abundante y el más habitual en la dieta humana, destacando por su elevada actividad antioxidante. A partir de él se obtienen otros flavonoides, como la naringenina o la rutina.

- **Ácidos:** glutamínico (antiulceroso, tónico, incrementa la capacidad mental), linoleico (Vitamina F), málico, oleico, palmítico y cafeico.

- **Azúcares:** fructosa, glucosa y sacarosa.

- **Sorbitol**

- **Fibra**

- **Elementos:** calcio, hierro, magnesio, nitrógeno, fósforo, potasio y zinc.

**Tabla 2**

Valores nutritivos de la manzana

---

<b>Valor nutricional por cada 100 g c/ piel</b>	
Energía 52 kcal 218 kJ	
Carbohidratos	13.81 g
• Azúcares	10.39 g
Grasas	0.17 g
Proteínas	0.26 g
Agua	85.56 g
Retinol (vit. A)	3 µg
• β-caroteno	27 µg
Tiamina (vit. B <sub>1</sub> )	0.017 mg
Riboflavina (vit. B <sub>2</sub> )	0.026 mg
Niacina (vit. B <sub>3</sub> )	0.091 mg
Ácido pantoténico (vit. B <sub>5</sub> )	0.061 mg
Vitamina B <sub>6</sub>	0.041 mg
Ácido fólico (vit. B <sub>9</sub> )	3 µg
Vitamina C	4.6 mg
Vitamina E	0.18 mg
Vitamina K	2.2 µg
Calcio	6 mg
Hierro	0.12 mg
Magnesio	5 mg
Manganeso	0.035 mg
Fósforo	11 mg
Potasio	107 mg
Sodio	1 mg
Zinc	0.04 mg

---

Fuente: Manzana en la base de datos de nutriente de USDA.

### **1.2.3 Propiedades y beneficios de la manzana**

Son innumerables los beneficios que brinda. Investigaciones hechas en Finlandia demuestran que protege del infarto y de cáncer, mencionando el cáncer a los pulmones. Para ello contribuye la quercetina, un compuesto de la manzana siendo antioxidante para evitar el envejecimiento de las células y un buen sistema inmunológico, responsable de la defensa del organismo de enfermedades y con propiedades antiinflamatorias. También, realiza protección al cerebro de algunas enfermedades a fines.

La fruta posee fibra soluble que disminuye el colesterol y está buscando el regular la glucosa en la sangre, así es una fruta beneficiosa para los diabéticos, luego ayuda a mantener bien el sistema digestivo.

Digerir manzanas provoca el adecuado funcionar intestinal contribuyendo a la purificación porque colabora a sentir saciedad y alivia el estreñimiento grave. Ahora, el estreñirse es una sintomatología del aparato digestivo que casi siempre está impidiendo que el cuerpo expulse toxinas y podría estar provocando trastornos como son las hemorroides hasta que aparezca cáncer de colon. Sirve también para el alivio de la diarrea. Ahora, cuando se presenta estreñimiento la manzana se ingiere cruda y cuando hay diarrea se ingiere en puré, en cocimiento, etc.)

La fruta también es buena para cuando hay inflamación renal, hidropesía, problemas del corazón, cuando hay anemia, ácido úrico. Puede favorecer también al hígado por su compuesto de cisteína. La manzana colabora en mejorar la memoria y activa las funciones del cerebro por el fósforo que contiene.

#### **1.2.4 Producción internacional**

La manzana es una de las frutas más cultivadas del planeta, así en el año 2005 se han producido 55 mill. de toneladas. De esto, 2/5 partes provienen de China. Otros productores son EEUU, Turquía, Francia, Italia y también Irán. A nivel América Latina está como productores Chile y Argentina, entre uno y el otro país hay 1 millón de toneladas por cada uno, siendo producidos principalmente en los valles de ambos países, áreas donde el clima y el suelo estarían favoreciendo el cultivo. Las manzanas se adaptaron al Ecuador a mayores altitudes del mar, donde hay cosechas 2 veces durante el año debido al clima templado de todo el año.

#### **1.2.5 Situación nacional**

El cultivo de manzano en el país contribuye una actividad frutícola de gran importancia por su extensión y valor de la producción.

Son de fácil conservación, pudiendo almacenarse en locales ventilados y frescos; o en cámaras frigoríficas por varios meses. Además de ser utilizados como fruta fresca, constituyen materia prima para jugos, néctares, mermeladas, conservas y para la producción de sidra.

El cultivo de manzano ocupa una extensión de 11 451ha que contribuyen el 6% del total del área frutícola nacional, está distribuido de la siguiente forma: 70% en la costa y 30% en la sierra. El departamento de Lima rinde 88 745t que equivale al 91% de la producción nacional 97 756t. (Rodríguez, 2005)

### 1.2.5.1 Variedades de mayor producción en la provincia de Cañete

#### ❖ *Anna israel*

Su tamaño estándar fluctúa 150 gr, 40% con coloración rojiza, de forma estriada y oscura, su fondo es de tonalidad verdosa. Adquiriendo su maduración y logra 20 lbs/p<sup>2</sup> de gran firmeza posee 12% de parte sólida, su apariencia es un poco alargada. Florecen en el año en dos ocasiones siendo sus árboles muy frondosos., Produce muy bien de 1500 a 2000 msnm. Requiere 250 – 300 horas frío.



*Figura 1. Variedad Anna israel*

#### ❖ *Delicius viscas*

Su mayor cultivo lo tiene Calango Mala. Este fruto tiene forma tronco-cónica, posee 5 lóbulos bien fijos, de apariencia irregular en algunos casos por su polinización. La forma de su piel es liza y en tonalidades de un rojizo muy brillante.

Cuando adquiere su tamaño mediano pesa 160 a 240 gr, con un calibre de 70 a 85 ml y altura 85-90 ml.

Sabor: posee un dulzor que no quepa el sabor ácido, muy aromático y su pulpa suele ser blanda.



*Figura 2. Variedad Delicious viscas*

**Tabla 3**

Variedades de manzana cultivadas en la provincia de Cañete – principales características.

<b>VARIEDAD</b>	<b>Origen</b>	<b>Polinización y polinizantes</b>	<b>Compatibilidad con el membrillo</b>	<b>Características de la planta</b>	<b>Color y forma del fruto</b>	<b>Conservación</b>	<b>Promedio t/ha</b>
<b>San Antonio</b>	Local	Autofertil	Regular	Poco vigorosa Muy rustica	Rojo Granate Redondeado	Buena	15
<b>Pero Manzano</b>	Local	Autofertil W. Banana	Mala	Poco vigorosa	Amarillo	Regular	10
<b>Winter Bannana</b>	U.S.A.	Autofertil Hoover	Mala	Vigor medio	Amarillo - Oval	Regular	12
<b>Delicious viscas</b>	U.S.A. (Grupo Red Delicious)	Autofertil	Regular	Vigurosa Gran producción	Rojo vinoso Ovoide Cónico	Buena	15
<b>Sipa (Pachacamac)</b>	U.S.A. (Grupo Red Delicious)	Autofertil Hover	Mala	Crecimiento abierto Vigor medio - Gran producción	Verde rojiso Ovoide	Buena	18
<b>California</b>	U.S.A.	Autofertil	Mala	Vigor medio	Rojo vinoso - Ovoide	Muy buena	12
<b>Anna israel</b>	Israel	Autofertil	Mala	Poco vigorosa 2 cosechas al corto período vegetativo	Rojo fondo, amarillo Ovoide, Oblondo	Regular	16

Fuente: Instituto nacional de Investigacion y Extension Agraria. (1998)

### **1.2.6 Cáscara de manzana**

De fácil digestión; debido a ello es muy recomendable su consumo diario por lo menos una vez, recomendando su ingesta con la cáscara.

Investigadores de la Universidad de Cornellhan determinan por lo menos 12 compuestos (triterpenoides) presentes en su cascara las cuales reducen o eliminan las células cancerosas, determinados en laboratorio.

En la actualidad basada en estudios con el ácido ursólico, la cual es la responsable de la apariencia cerosa en su cáscara. Ya que se tiene la certeza probada de que este ácido disminuye la masa grasa y aumentar la magra, disminuyendo obesidad y todas aquellas complicaciones que esta produce elevando el gasto de energía.

La cáscara de manzana contiene alto contenido de vit. C de modo tal que se comprueba que posee un aproximado más de 3 a 5 veces que la propia pulpa. Estos fitoquímicos se encuentran mayormente en la cáscara por su capacidad antioxidante y anticancerígeno.

Rui Hai Liu especialista en medicina y nutrición, dedujeron que existen componentes variados según a los años dependiendo el lugar donde se haya cultivado.

### **1.2.7 Propiedades nutritivas de la cáscara de manzana**

- **Vitaminas**

Las cáscaras de manzana están repletas de vitaminas A y C. De acuerdo con la Universidad de Illinois, casi la mitad del contenido vitamínico de una manzana se encuentra por debajo de su piel. Tu cuerpo utiliza la vitamina A para proteger tu visión y desarrollar revestimientos saludables en tus ojos, otros órganos y en procesos importantes como la división celular. Tu cuerpo utiliza la vitamina C para curar heridas y construir un sistema inmunológico fuerte.

- **Minerales**

Comer una manzana con su cáscara es una buena manera de aumentar tu ingesta de minerales. De acuerdo con la Universidad de Illinois, las cáscaras de manzana contienen importantes minerales como calcio, potasio, fósforo, ácido fólico y hierro. Tu cuerpo utiliza los minerales como el calcio y el fósforo para mantener tus huesos y dientes fuertes. El potasio ayuda a promover el adecuado funcionamiento de las células, el corazón y digestión. El hierro ayuda al cuerpo a regular el crecimiento celular y producir glóbulos rojos sanos. La cáscara de manzana es una buena fuente de vitaminas y minerales, y también está completamente libre de otros compuestos menos saludables como el sodio, colesterol y grasa.

- **Fibra**

Las cáscaras de manzana son una fuente importante de fibra soluble e insoluble. De acuerdo con la Universidad de Illinois, aproximadamente dos tercios de un contenido de fibra de manzana existe en su cáscara. La fibra es un nutriente importante que tu cuerpo utiliza para una variedad de funciones. El consumo de suficiente fibra en tu dieta es importante para mantener un sistema digestivo y cardiovascular saludable.

- **Antioxidantes**

Las cáscaras de manzana están llenas de antioxidantes. Según Cornell University's Chronicle Online, las cáscaras de manzana son especialmente ricas en fitoquímicos poderosos como los flavonoides y ácidos fenólicos. Estos compuestos trabajan para ayudar a mantener tus células libres de moléculas destructivas llamadas radicales libres. Los radicales libres atacan y dañan las células y pueden contribuir al desarrollo de una amplia gama de enfermedades. Consumir una dieta rica en alimentos que contienen cantidades generosas de antioxidantes puede ayudar a protegerte de problemas de salud peligrosos como las enfermedades cardiovasculares y la diabetes.

### 1.2.8 Estrés oxidativo

Este aumento en la concentración de radicales libres, se debe a diferentes agresiones como infecciones, ejercicio físico extremo, dietas desequilibradas, tóxicos alimentarios, contaminantes ambientales, entre otros, provoca un desbalance entre la velocidad de formación y su neutralización por el sistema antioxidante en el cuerpo, provocando los que se denomina estrés oxidativo pudiendo dañar severamente células (Venereo, 2002).

El estrés producto de la oxidación puede degenerar células, donde los radicales libres reaccionan junto con proteínas, con lípidos y el DNA, provocando el daño celular que puede generar el daño de los tejidos y probablemente la muerte de las células (Turrens, 2003).

Se sabe que el radical libre está oxidando los aminoácidos, que integran las proteínas generando varios cambios como son: se forma grupos carbonilo (Imlay, 2003), vinculación de fragmentos proteicos por entrecruzamientos de enlaces disulfuro, se rompen los enlaces peptídicos, se pierde la afinidad por los metales, aumento en la hidrofobicidad generando que las proteínas tengan variaciones en su compuesto, en su actividad y función generando que las proteínas malogradas den un escenario deteriorado en la acción hormonal y de enzimas, también en el traslado de iones, hay una gran sensibilidad a la degradación. (Roche, 1994; Perl-Treves, 2002).

De otro lado, los ácidos grasos poliinsaturados, parte principal de los fosfolípidos que integran la capa bilipídica de las membranas brindando fluidez, al realizar la oxidación por el radical libre aparece la lipoperoxidación, una reacción en donde se ceden sus electrones al radical libre. Esta consecuencia genera el gravísimo daño a la célula al haber modificaciones en la estructura molecular de la membrana, vinculado a formar puentes disulfuro de las proteínas de membrana, dando el reflejo de que ya no son permeables y buscando la estabilidad de la membrana, motivando la desaparición de la célula (Huanqui, 1997).

Luego, el radical libre también afecta el DNA, molécula donde se guarda la información genética que se transmite de una generación a otra y lleven a cabo todas las funciones celulares.

Se sabe que lo dañado oxidativo sobre el DNA ha generado específicamente por el OH, dirige modificación, principalmente en la desoxirribosa, generando una liberación de las bases nitrogenadas que están unidas. Se tiene como el rompimiento de una o varias cadenas televisivas ocasionando y teniendo como resultado mutaciones, hay un reordenamiento de acciones o no de genes, que está afectando y hay biosíntesis de la DNA. El estrés oxidativo presenta diverso hay variados sos durante la transcripción y traducción del RNA . (Lieber *et al.*, 2004; Venereo, 2002).

En las frutas y las legumbres se realicen sustancias capaces de atrapar radicales libres, mejorando nuestras defensas antioxidantes, entre estas sustancias se encuentran los compuestos polifenólicos (presentes en guayaba, mora, manzana, etc), los tocoferoles (vitamina E) presentes en semillas, aceites crudos y aguacate, los carotenoides (presentes en papaya, mango, guayaba, etc) y el elemento selenio.

### **1.2.9 Radicales libres**

Los radicales libres son moléculas que tienen uno o más electrones desapareados en su orbital externo. Esta situación permite que sean en lo químico muy inestables siempre con la capacidad para aparear o dar fácilmente un electrón a otros radicales libres o las estructuras moleculares no radicalaria con la finalidad de estabilizarse. Poseen una vida promedio de milisegundos por su gran reactividad, pero estaría variando según el tipo de radicales libres (Fitó, 2003; Gómez et al., 2004).

El radical libre se genera normalmente y con frecuencia en el proceso metabólico celular, realizándose prioritariamente en la mitocondria, por las varias reacciones redox, hechas por enzimas como la lipoxigenasas, también la cicloxigenasas y la peroxidadas (Adam-Vizi, 2005; Turrens, 2003), existen otros

orígenes endógenos del radical libre como las oxidaciones microsomales, fagosomas, autooxidación de sustratos y también los neutrófilos (Roche, 1994).

El radical libre endógeno, son generados con normalidad en el cuerpo y cumplen un rol en su defensa del mismo contra infecciones por bacterias y virus. También, estarían participando en procesos como el madurar de los reticulocitos y el degradar proteínas (Benezer *et al.*, 2008). Ahora, la concentración de éstos se puede controlar por los sistemas antioxidantes endógenos, pero existe un problema y es cuando el radical libre viene de origen exógeno, siendo el consumo de alimentos con mucha grasa, alimentos procesados industrialmente, fritos o asados y con conservantes, también por la ingesta excesiva de alcohol, el exponerse a varios químicos de la pintura o pegamentos, contaminación del medio ambiente (humo del tabaco, herbicidas, exposición de metales pesados, etc.), radiaciones ionizantes como la radioterapia, los rayos X y la luz UV del sol (Nguyen, 2005).

Existen muchas clases de Radicales Libres, tanto, especies reactivas de oxígeno (ERO) y especies reactivas de nitrógeno (ERN).

**Tabla 4**

Principales especies reactivas de oxígeno (ERO) y especies reactivas de nitrógeno (ERN).

<b>ESPECIE</b>	<b>SIMBOLO</b>
<b>Radical superóxido</b>	$O_2^{\cdot-}$
<b>Radical hidropéroxido</b>	$HO_2^{\cdot}$
<b>Peróxido de hidrógeno</b>	$H_2O_2$
<b>Radical hidróxilo</b>	$HO^{\cdot}$
<b>Radical alcóxido</b>	$RO^{\cdot}$
<b>Radical peróxido</b>	$ROO^{\cdot}$
<b>Óxido nítrico</b>	$NO^{\cdot}$
<b>Dióxido de nitrógeno</b>	$NO_2^{\cdot}$

Fuente: (Gomez Ribes et al., 2004)

### 1.2.9.1 Especies reactivas de oxígeno

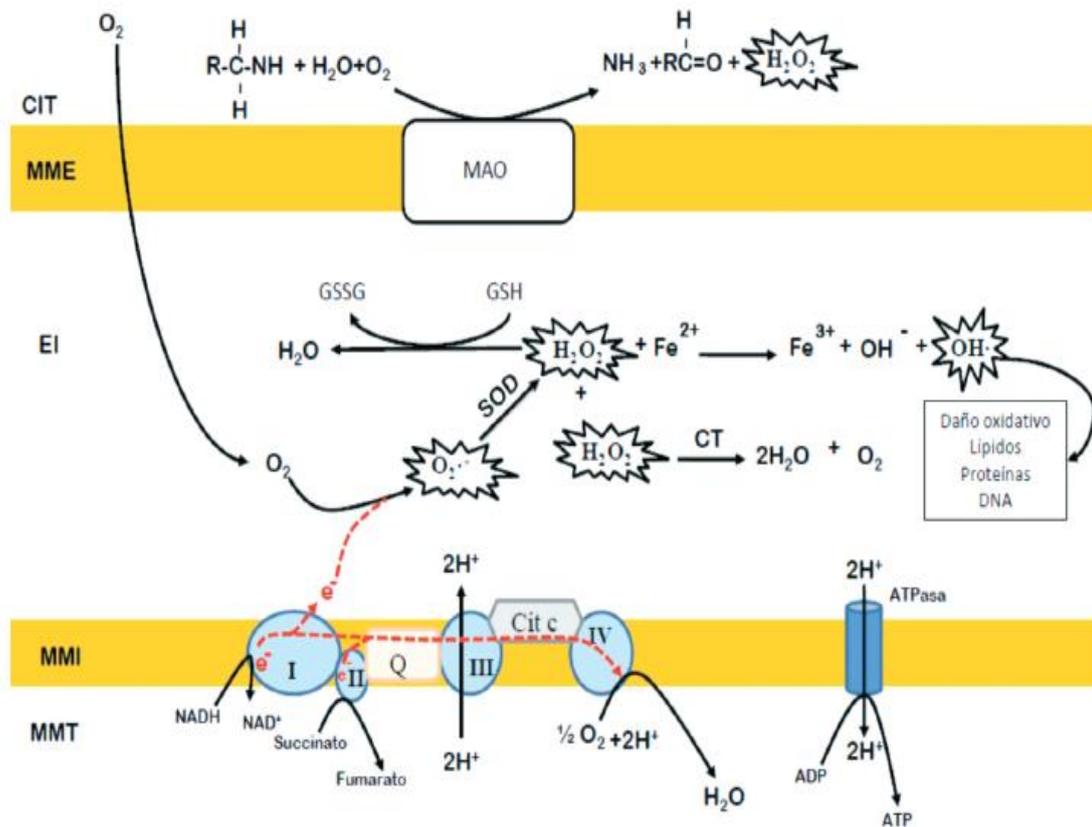
El oxígeno molecular ( $O_2$ ), da pase a que se formen las Especies Reactivas de Oxígeno (ROS, por sus siglas en ingles). La reducción del  $O_2$  se produce a través de los electrones que escapan de la cadena respiratoria, dando origen al súper oxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), el cual puede dismutar fácilmente y formar el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), que en presencia de metales de transición como el hierro ( $Fe^{2+}$ ) y el cobre ( $Cu^+$ ), produce el radical Hidroxil ( $OH^{\cdot}$ ), mediante la reacción de Fenton (Roche, 1994), que es considerado la especie oxidante más dañina en los sistemas biológicos y el principal responsable del daño oxidativo (Fig. 4) (Perl-Treves, 2002). Las Especies Reactivas de Oxígeno son también considerados radicales libres (RL), ya que son moléculas cuyos átomos carecen un electrón ( $e^-$ ), esto hace que sean muy reactivos porque toman el  $e^-$  que les falta de una molécula vecina provocando así la oxidación de ésta última, que, a su vez, al quedarse sin un  $e^-$ , se convierte en un RL con la capacidad de oxidar a otra

molécula cercana, induciendo una reacción en cadena (Adam-Vizi, 2005; Benezzer-Benezzer *et al.*, 2008; Turrens, 2003).

### **1.2.9.2 Especies reactivas de nitrógeno**

Otros radicales libres son los llamados especies reactivas de nitrógeno (ERN): NO = óxido nítrico y NO<sub>2</sub> = dióxido de nitrógeno. Ambos tienen su origen en el óxido nítrico, RL necesario a bajas concentraciones y por su acción vasodilatadora, que hace que sea considerado un protector vascular, pero tóxico a altas concentraciones. En el sistema cardiovascular el óxido nítrico producido por el endotelio es el responsable de la respuesta vasodilatadora esencial para la regulación de la presión arterial, inhibe la agregación plaquetaria, protege contra la hipoxia pulmonar y controla la circulación colateral. Además, tiene efecto inmuno-modulador y citotóxico. Su acción lítica sobre varios tipos de células es utilizada por el sistema mononuclear fagocítico (monocitos, macrófagos y células de Von Kupffer) para destruir células extrañas (microorganismos) o propias degeneradas.

Los efectos protectores del NO se ejercen donde no haya una excesiva producción de superóxido, porque en su presencia ambos reaccionan rápidamente generando peroxinitrilo, que produce nitración de proteínas y peroxidación lipídica con la consiguiente disfunción endotelial y aterogénesis.



Esta producen Especies Reactivas de Oxígeno entre las que se incluyen los Radicales Libres durante la fosforilación oxidativa, existe un flujo (- - -) de electrones (e-) a través de los complejos (del I al IV) de la cadena respiratoria en la membrana mitocondrial interna (MMI), donde el oxígeno molecular es el último receptor de electrones, dando como resultado la producción de agua y la obtención de energía con la formación de ATP. Durante su viaje a través de la cadena respiratoria, algunos electrones pueden escapar de los diversos complejos que forman la cadena y reducir el oxígeno molecular dando lugar a la formación del superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ); éste, mediante la acción de la enzima superóxido dismutasa (SOD), da origen al peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), que también puede ser formado mediante la acción de la monoamina oxidasa (MAO), enzima que se encuentra en la membrana mitocondrial externa (MME). El  $H_2O_2$  puede ser inactivado mediante la acción de la enzima catalasa o mediante la actividad de la glutatión, o bien al encontrarse en presencia de metales de transición como el hierro, y dar lugar a la reacción de Fenton para formar el RL más reactivo y más dañino: el radical oxidrilo ( $OH^{\cdot}$ ), responsable de la mayoría de los daños celulares causados por los RL, cuando éstos logran escapar del espacio intermembranal (EI) de la mitocondria al citosol (CIT) o a la matriz mitocondrial (MMT).

Fuente: (Perl-Treves, 2002).

**Figura 3.** Formación de radicales libres.

### 1.2.10 Antioxidantes

Es aquel que retarda o previene la oxidación de células, comportándose en dar electrones. Las personas respiramos oxígeno para adquirir energía, pueden liberar radicales libres, volviéndose incompatible con la vida a menos que hayan sistemas celulares para defender y neutralizar. Luego, a estos defensores se las llama antioxidantes. Pocos antioxidantes o el inhibirse las enzimas antioxidantes originan estrés oxidativo y pudieran dañar gravemente las células. (Ferretti, 2010).

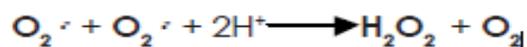
#### 1.2.10.1 Capacidad antioxidante

Trata sobre el “secuestro” de los radicales libres siendo una propiedad de compuestos bioactivos denominados polifenoles. El prevenir las consecuencias en la salud resultado de la actividad del radical libre generados en el organismo como efecto de la oxidación biológica está teniendo con más frecuencia importancia en la nutrición humana. (Saura et al., 2001). El deterioro de la oxidación puede prevenirse por compuestos antioxidantes, donde tiene la capacidad de otorgar electrones para estabilizar al radical libre y estar neutralizando las consecuencias dañinas, pudiendo ser de origen endógeno (internamente del organismo) y exógeno (de origen externo) (Uttara et al., 2009).

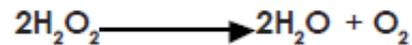
#### 1.2.10.2 Clasificación:

##### A) Antioxidantes endógenos (enzimáticos)

\*Superóxido dismutasa (SOD) que cataliza la dismutación del  $O_2^-$  para dar origen al  $H_2O_2$  (Markesbery, 1997) de acuerdo a la siguiente reacción:



\*Catalasa (CT), descompone el H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en oxígeno y agua mediante la siguiente reacción (Agudo *et al.*, 2007; Murray *et al.*, 1994; Perl-Treves, 2002)



\*Glutación peroxidasa (GHX), dependiente de selenio que cataliza la reducción del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Cisneros *et al.*, 1997; Halliwell, 1996), así mismo neutraliza al OH· cediéndole un electrón. (Guido, 1983).

Otros: glutación S-transferasas, tioredoxina-reductasas y sulfoci-metionina-reductasas

## **B) Antioxidantes exógenos (no enzimáticos)**

Entre estos están las vitaminas A, E y C, los β-carotenos, luteína, flavonoides, licopenos, el ácido tióico o lipoico, los cofactores (cobre, zinc manganeso, hierro) indispensables para esta actividad (Halliwell, 1996; Mohseni *et al.*, 2009; Venereo, 2002) porque conforman la parte activa del núcleo de las enzimas antioxidantes (Miquel, 1989). Los fitoestrógenos polifenoles, glutación, ácido úrico, ubiquinol (Co-enzima Q), melatonina. Los antioxidantes obtenidos a través de la dieta, pueden actuar de dos formas: primero, previniendo que se genere exageradamente el RL, impidiendo el deterioro celular acorde al estrés oxidativo. Y segundo, después de que se ha producido el daño, los antioxidantes pueden controlar los niveles de RL evitando que el daño continúe avanzando y con ello algunos síntomas del daño ocurrido por este estrés oxidativo generen declinación (Nuttall *et al.*, 1999; Uttara, *et al.*, 2009).

**Tabla 5**

Antioxidantes exógenos.

<b>Vitamina E (tocoferol)</b>	Aguacate, camote, espárragos, espinacas, tomate, brócoli, zanahoria, aceites (oliva, maíz, cártamo, soya), cereales, arroz, integral, lentejas, yema de huevo, mantequilla, plátano, mora, frutos secos.	Mantiene la integridad de la membrana celular, protege la destrucción de la vitamina A, retarda el envejecimiento celular.	NRN
<b>Vitamina C (ac. Ascórbico)</b>	Acelgas, tomate, perejil, pimiento verde, coliflor, coles de Bruselas, nabos, grosellas, cítricos, melón, kiwi, fresas.	Inhibidor de la oxidación de lípidos, regenera la vitamina E, ofrece protección contra todo tipo de cánceres.	Su ingesta en grandes cantidades puede ocasionar presencia de cálculos en riñones y vías urinarias.
<b>β-caroteno (pro – vitamina A)</b>	Zanahorias, tomates, espinaca, melón, melocotón, mango.	Protege el DNA, protege el deterioro de tejidos.	Su consumo excesivo produce descamaciones de la piel, caída del cabello, debilidad, ahogo y vómito.
<b>Flavonoides (polifenólicos)</b>	Espinacas, cebolla, ajos té verde, vino, manzanas, peras, cítricos.	Quela metales.	NRN
<b>Oligoelementos Selenio (Se), Zinc (Zn), Manganeso (Mn), cobre, (Cu)</b>	Carne, pescado, cereales integrales, lácteos, ajos, cebollas, brócoli, frutos secos, te, piña, vísceras. Cacao y derivados	Forman parte del núcleo activo de las enzimas con actividad antioxidantes, mantienen en buen estado las funciones, hepáticas, cardíacas y reproductoras, protector contra el cáncer.	El Se, es el más tóxico de los minerales, su ingestión en dosis altas produce pérdida del cabello, alteración de uñas y dientes, náuseas, vómito y aliento a leche agria.

Fuentes: <http://www.novavit.com/html/antioxidantes.html>; <http://quimicayciencias.cjb.net>

NRN. No se reportan efectos nocivos por exceso en su consumo

**Tabla 6**

Principales sistemas de antioxidantes del organismo.

<b>SISTEMA</b>	<b>FUNCION</b>
<b><i>Enzimas</i></b>	
<i>Superóxido dismutasa</i>	Eliminación del radical superóxido
<i>Catalasa</i>	Eliminación del radical superóxido (Ejm. H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )
<i>Glutación peroxidasa (GPx)</i>	Eliminación de hidroperóxidos
<i>Glutación reductasa (GRed)</i>	Reducción de glutación oxidado
<i>Glutación-s-transferasa (GST)</i>	Eliminación de peróxidos lipídicos
<i>Metionina sulfóxido reductasa</i>	Reparación de residuos oxidados de metionina.
<i>Peroxidasa</i>	Descomposición de peroxido de hidrogeno y peróxido lipídicos.
<b><i>Antioxidante de plasma/suero</i></b>	
<i>Ácido úrico</i>	Captador de oxigeno singlete y radicales libres.
<i>Albúmina</i>	Actividad peroxidasa en presencia de GSH.
<i>Bilirrubina</i>	Captación de radical peróxilo.
<i>Glutación reducido (GSH)</i>	Sustrato para la acción de las enzimas GPx y GST y captador de radicales libres.
<i>Ubiquinol (coenzimas Q)</i>	Captador de radicales libres.
<b><i>Antioxidantes de la dieta</i></b>	
<i>Ácido ascórbico</i>	Reacción de superóxido, oxigeno singlete y radical peróxilo. Regeneración de tocoferoles.
<i>Tocoferoles</i>	Protección de membranas lipídicas. Bloqueo de la cadena de reacciones de peroxidación.
<i>Compuestos fenólicos</i>	Captación de radicales libres y actividad captante de metales.
<i>Carotenoides</i>	Desactivación del oxígeno singlete. Bloqueo de la cadena de reacciones de peroxidación.

Fuentes: <http://www.novavit.com/html/antioxidantes.html>; <http://quimicayciencias.cjb.net>

### **1.2.11 Antioxidantes dietarios**

Definido por el consejo de nutrición del Instituto de Medicina de la Academia Nacional de Ciencias de los Estados Unidos, propuso en 1998 la definición de este Antioxidante dietario se encuentra en determinados alimentos que se encuentre en disminución de las especies reactivas entre oxígeno y nitrógeno, en las condiciones normales de las personas”. Con ella se consideran los criterios de que se trata de una sustancia presente en la dieta humana, cuya cantidad se ha medido en alimentos de consumo común y que la sustancia disminuye en el organismo humano. (Urquiaga et al., 1999)

Algunos de estos antioxidantes dietarios están bien establecidos como vitamina C, vitamina E, Carotenoides y Selenio, y otros son novedosos, particularmente polifenoles antioxidantes. (Urzúa et al., 1999)

### **1.2.12 Determinación de la fibra dietética**

Esta fibra es de fuente vegetal, involucra fracciones de lignina y/o otros componentes cuando están vinculados a polisacáridos en la pared celular de los vegetales y si son compuestos cuantificados a través del método de gravimétrico, siendo adaptación para el análisis de la fibra dietética (AOAC, 1990). Las porciones de lignina y los otros componentes que están fuertemente vinculados a los polisacáridos vegetales, se extraen con los polisacáridos según el método mencionado (CODEX, 2004).

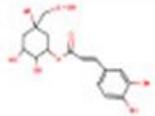
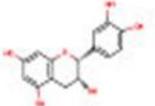
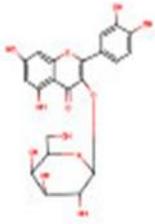
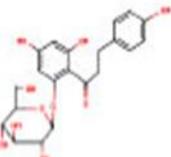
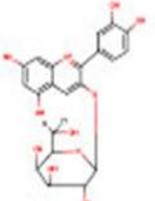
### **1.2.13 Antioxidantes de la manzana**

Una de las propiedades que benefician a la manzana para la salud de las personas es su acción antioxidante, debiéndose principalmente a su contenido en fenoles y flavonoides. Los primeros se han clasificado en 5 grupos principales: grupo ácidos hidrocínámicos, grupo flavanoles, grupo flavonoles,

grupo dihidrochalconas y el grupo antocianinas. Ahora, los flavonoides son resultado de los aminoácidos fenilalanina y tirosina, generándose los ácidos cinámico y p-hidroxicinámico, los que en una condensación con acetato promueven el cinamol de los flavonoides; luego se originan las formas glicosiladas y sulfatadas. La acción antioxidante de los flavonoides están planteadas por los grupos hidroxifenólicos, por el doble enlace y grupos cetónicos.

Tabla 7

Compuestos fenólicos descritas en la manzana.

Grupo	Ejemplos	Estructura
Ácido hidrocinámico	Ácido clorogénico	 Ácido clorogénico
Flavanoles	Catequina Epicatequina Procianidina B2 y otras	 Epicatequina
Flavonoles	Q 3-galactósido Q 3-glucósido Q 3-xilósido Q 3-arabinósido Q 3-ramnósido	 Q 3-galactósido
Dihidrochalconas	Floridizina	 Floridizina
Antocianina	Cianidina 3-galactósido	 Cianidina 3-galactósido

Adaptada de Khanizadeh S et al (14).  
Q, Quercetina

El contenido de flavonoides en la fruta se ve influenciado por diferentes factores como su cultivo y el clima de la zona y tipo de tejido (piel o pulpa). (J Oleo, 2010).

Algunas manzanas, en respuesta al exceso de radiación solar, sintetizan más fenoles en la cara expuesta, con una consecuente mayor actividad antioxidante, situación que se observa en la siguiente tabla. La fruta que presenta daño por sol,

generalmente es descartada para exportación, a pesar de su mayor contenido fenólico. (Mol Nutr Food Res., 2010).

**Tabla 8**

Concentración de fenoles y actividad antioxidante en tres cultivares de manzanas, sanas y con daño por sol.

	Fenoles totales (mg / g de peso fresco)		Actividad antioxidante (mg / g de peso fresco)	
	Sana	Dañada	Sana	Dañada
Galaxy	2.9±0.2	4.5±0.7	1.8±0.2	2.8±0.2
Fuji	1.5±0.2	2.0±0.3	1.5±0.1	2.0±0.3
Granny Smith	2.6±0.3	5.2±0.3	2.4±0.4	4.1±0.4

Fuente: Centro de Pomáceas. Universidad de Talca. Temporada 2009 - 2010.

La capacidad antioxidante total (CAT) de la manzana es superior a otras frutas, siendo el Red Delicious de 47.7 uM Trolox Equivalentes (TE)/g, versus otras tales como pera (19.1  $\mu$ M TE/g), durazno (18.6  $\mu$ M TE/g), naranja (18.1  $\mu$ M TE/g), uva de mesa (15.5 $\mu$ MTE/g) y kiwi (9.2 $\mu$ MTE/g). Casos particulares se presentan en frutas como cereza y arándano, donde sus valores de CAT son similares o superiores a los que presentan las manzanas, con 33.6 y 62.2  $\mu$ M TE/g, respectivamente, aunque con un nivel de consumo muy inferior.

#### A) Flavonoides

Poseen poco peso molecular compartiendo (C6-C3-C6), formado por 2 anillos de fenilos (A y B) ligado a un anillo C (heterocíclico). (fig. 5). Esta depende únicamente de sus propiedades redox de sus grupos y su estructura química (Bors et al., 1990).

En función de sus características estructurales se pueden clasificar en:

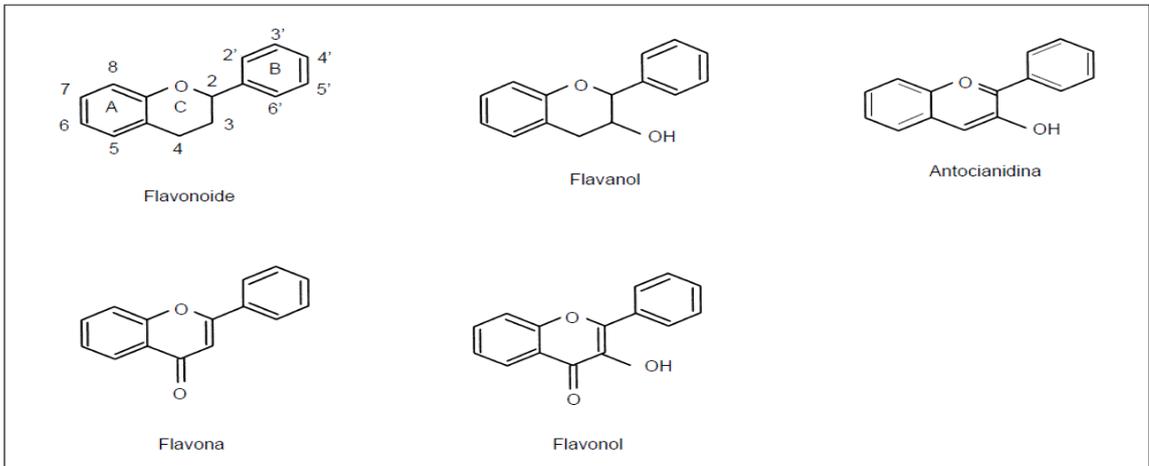
- 1. Flavanos**, Representado por la catequina.
- 2. Flavonoles**, representados por la quercitina,
- 3. Flavonas**, como la diosmetina,
- 4. Antocianidinas**, que tienen unido el grupo -OH en posición 3 pero además poseen un doble enlace entre los carbonos 3 y 4 del anillo C.

A los flavonoles y las flavonas se unen azúcares, preferentemente a la posición C3 y con menor frecuencia al C7 del anillo A, de forma que estos compuestos se encuentran comúnmente como O-glicósidos, siendo la D-glucosa el residuo azúcar más frecuente. Otros residuos de azúcares son la D-galactosa, la L-ramnosa, la L-arabinosa, la D-xilosa, así como el ácido D-glucurónico.

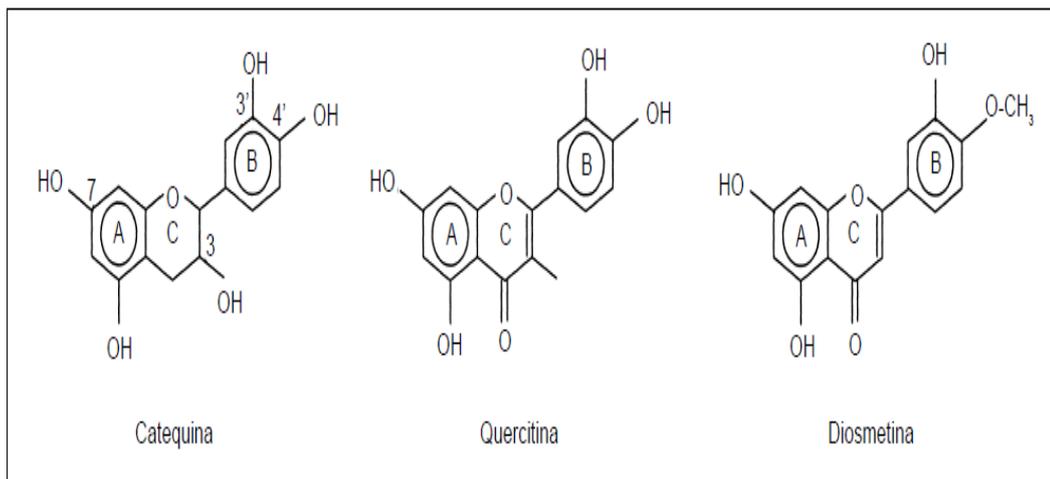
La parte sin azúcares de la molécula flavonoide se llama aglicona. Los glicósidos son más solubles en agua y menos reactivos frente a radicales libres que su aglicona o flavonoide respectivo. Las propiedades ácido-base muestran que los radicales flavonoides son neutros en un medio ácido (por debajo de pH 3) y con una carga negativa a pH 7 (Letan, 1966).

Las repercusiones de la carga negativa son sumamente importantes en la evaluación del potencial antioxidante de los flavonoides. Primero, el radical cargado negativamente no es probable que pase a través de la membrana celular con carga negativa. Segundo, la reacción de los radicales flavonoides con la vitamina E, que es termodinámicamente factible para algunos radicales flavonoides, tiene un obstáculo adicional a causa de la repulsión electrostática entre el anión del radical flavonoide y la membrana fosfolipídica cargada negativamente, donde la vitamina E se incrusta. Tercero, la oxidación de un solo electrón de los flavonoides por cualquier oxidante tendrá una barrera entrópica,

porque por lo menos dos protones se intercambian en la reacción. Los protones pueden intercambiarse entre los reactantes o con el solvente en el estado de transición, en este caso, la interfase del enlace con hidrógeno debe tenerse en cuenta (Steenken et al., 1989).



**Figura 4.** Flavonoides estructura básica y tipos.



**Figura 5.** Características estructurales de los diferentes tipos de flavonoides.

## **B) Consecuencia en la actividad antioxidante en el proceso de la manzana**

Se tiene que el proceso de manzanas, ya sea para cambiarla en jugos o un deshidratado, ha generado una importante disminución en el contenido fenólico, y acción antioxidante, al usar piel deshidratada del fruto, se observa una reducción de 45% aprox.. En investigaciones realizadas, se ve una reducción de aprox. 90% de la acción antioxidante presente en la manzana después de elaborar un jugo lo más natural posible, así queda dicha acción retenida en la pomasa. (Price et al., 2004). También, se evidencia en jugos producidos a partir de 3 variedades de manzana, involucra entre 10% hasta 12,7% del total de flavonoles en la fruta manzana, y queda lo sobrante en la pomasa. De otro lado, se confirma que el degradar fenólicamente a de prevenirse a través de un tratamiento de gran temperatura al inicio por un corto tiempo, se debe realizar de inmediato al culminar el prensado (Spanos et al., 2010).

En Chile, al sur de Sudamérica, según indagaciones realizadas hay jugos orgánicos de manzana existentes en el mercado, reflejaron entre tres a tres y medio veces menos cantidad de fenoles, haciendo comparación con la fruta en forma natural. Se observa que la cantidad de ácido clorogénico, un tipo de fenol, baja a la mitad tras la preparación del jugo. De igual forma el contenido de fenoles en ensayos hechos en el CP, se determinó que la acción antioxidante en manzana fresca, medida por un método denominado DPPH, fue tres veces mayor a la encontrada en el jugo. Según los resultados, se disminuye en el contenido de fenoles y su acción antioxidante son efecto del proceso de molienda en las plantas que procesan. También, se ha observado que la conservación de los jugos origina la baja concentración de compuestos con acción antioxidante, reflejado

por la degradación llegando a más de la mitad de quercetinas y floretina glicósido, después de 9 meses a una temperatura de 25°C.

Para conservar los compuestos fenólicos en la fruta mencionada, es con un golpe térmico en agua al momento de hervir por diez segundos y después se enfría, para después someter a procesamientos, como el deshidratar. (J Agric Food Chem, 2011)

La fruta manzana es usada con mucha frecuencia en hacer postres. Pero, poco se sabe de las variaciones que presentan los fenoles y su capacidad antioxidante durante la cocción. En un estudio donde se incorpora la piel de la fruta en la producción de bollos, se determina pérdidas de un mínimo de 20% y un máximo de 60% de fenoles, según su tipología, después de hornear.

### Tabla 9

Factores que afectan la capacidad antioxidante de un alimento.

<b>FACTORES QUE DEPENDEN DEL ANTIOXIDANTE</b>	<b>FACTORES QUE DEPENDEN DE LA ESTABILIDAD DEL ALIMENTO</b>	<b>FACTORES QUE DEPENDEN DE LAS CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO O CALENTAMIENTO</b>
<b>Estructura química</b>	Distribución en fase lipídica o acuosa.	Temperatura de almacenamiento.
<b>Potencial redox</b>	Presencia de prooxidantes	Almacenamiento.
<b>Polaridad</b>	Presencia de otros antioxidantes	Temperatura de calentamiento.
<b>Solubilidad</b>	Presencia de agentes sinergistas	Tiempo de calentamiento.
<b>Concentración</b>		Acceso de oxígeno.

Fuente: Pokomy, 2007.

#### **1.2.14 Determinación de la capacidad antioxidante**

Existen diversos métodos para evaluar la actividad antioxidante (Antolovich et al., 2002; Cintra et al., 2001), aplicado para *in vitro* en su estado de antioxidante de manera completa de un compuesto, a razón de determinar su capacidad antioxidante frente a diversas sustancias. (Arena et al., 2001; Moyer et al., 2002). Las que se realizan *in vitro* brinda solo un aproximado de lo que suceda en eventos exactos.

Este depende del microambiente en donde se ubica. Actuando entre ellos originando determinados efectos. Es por ello, se debe tener noción de que el ensayo *in vivo* probablemente presenten dificultades, en cuanto adaptación debido al incremento como del estrés oxidativo (Prior, 1999; Rice et al., 1996).

Con base a las reacciones químicas, la gran mayoría de los ensayos para determinar la capacidad antioxidante pueden ser divididos en dos categorías: (1) ensayos basados en la reacción por transferencias de átomos de hidrógenos (HAT) y (2) ensayos basados en la reacción por transferencias de electrones (TE) (Huang et al., 2005).

**Tabla 10**

Clasificación de los modelos de ensayo *in vitro* según su modo de reacción ET o HAT

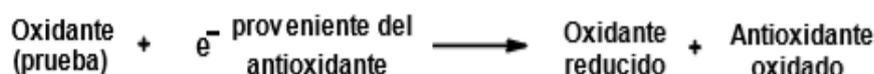
ENSAYO	CATEGORIA
Acido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico (ABTS●+)	Ensayos basados en la transferencia de electrones (ET)
1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH●)	
Poder de reducción antioxidante del hierro (FRAP)	
N, N- dimetilp -fenilendiamina (DMPD)	
Capacidad de reducción antioxidante del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

Los ensayos basados en la transferencia de electrones (ET) involucran una reacción redox con el oxidante como un indicador del punto final de reacción. La mayoría de los ensayos basados en HAT monitorean una reacción cinética competitiva, generalmente están compuestos de un generador de radical libre sintético, una prueba molecular oxidable y un antioxidante. Los ensayos basados en HAT y ET fueron desarrollados para medir la capacidad de atrapar radicales libres, en lugar de la capacidad preventiva antioxidante de una muestra (Huang et al., 2005).

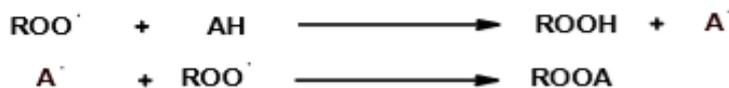
En los últimos años se han adoptado un amplio rango de ensayos espectrofotométricos para medir la capacidad antioxidante de los alimentos, muestras biológicas y extractos vegetales. Usualmente los ensayos antioxidantes *in vitro* utilizan un captador de radicales libres y son relativamente sencillos de realizar. Entre los ensayos de captación de radicales libres, el método DPPH es el

más rápido, es simple (no incluye muchos pasos) y de menor costo en comparación con otros modelos. Por otro lado, el ensayo de decoloración ABTS se puede aplicar a antioxidantes hidrofílicos y lipofílicos (Alam et al., 2012). Por lo anterior, estos dos métodos son los más utilizados.

### Ensayos basados en la transferencia de electrones (ET)



### Ensayos basados en la transferencia de átomos de hidrógeno (HAT)

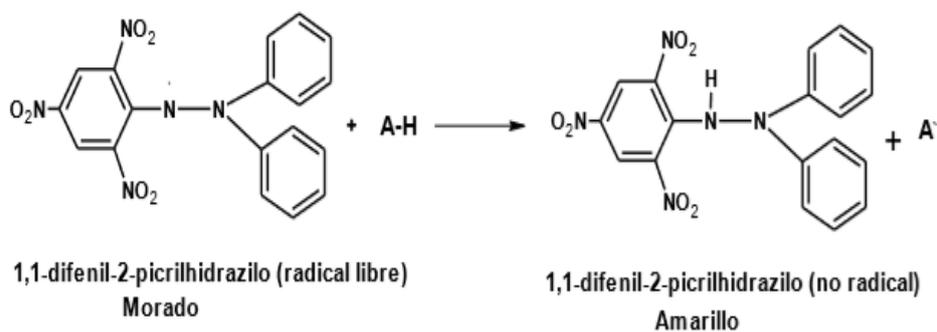


#### 1.2.14.1 Ensayo del DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo)

Este método fue propuesto por Blois (1958) en el cual se demostró por primera vez la capacidad del radical libre DPPH para aceptar un átomo de hidrógeno (H) proveniente de una molécula de cisteína.

La molécula 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH) es conocida como un radical libre estable, por lo cual la molécula no se dimeriza, como es el caso de la mayoría de los radicales libres. La deslocalización del electrón también intensifica el color violeta intenso típico del radical, el cual absorbe en metanol a 517 nm. Cuando la solución de DPPH reacciona con el sustrato antioxidante que puede donar un átomo de hidrógeno como se muestra en la figura 8, 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. Después de aproximadamente tres décadas este ensayo comenzó a utilizarse rutinariamente para la caracterización de las propiedades antioxidantes.

El procedimiento original para el ensayo DPPH ha sido adoptado por muchos laboratorios y a pesar de que existen modificaciones a conveniencia, una revisión detallada de la literatura ha revelado que la mayoría de los estudios están basados en un tiempo de reacción de 20-30 min en vez de un tiempo de reacción total de 120 minutos requerido para alcanzar el estado estacionario y completar la reacción redox (Ojha et al., 2012).



**Figura 6.** Estructura del DPPH antes y después de la reacción con el antioxidante (Alam et al., 2012).

Los resultados del ensayo DPPH se han presentado de diferentes maneras. La mayoría de los estudios expresan los resultados como el valor de la concentración máxima de la media inhibitoria ( $IC_{50}$ ), definido como la cantidad de antioxidante necesario para disminuir la concentración inicial de DPPH al 50%. Este valor se calcula graficando el porcentaje de inhibición contra la concentración del extracto. Para extractos de plantas o compuestos puros el valor  $IC_{50}$  cambia de acuerdo a la concentración final del DPPH usado (Deng et al., 2011).

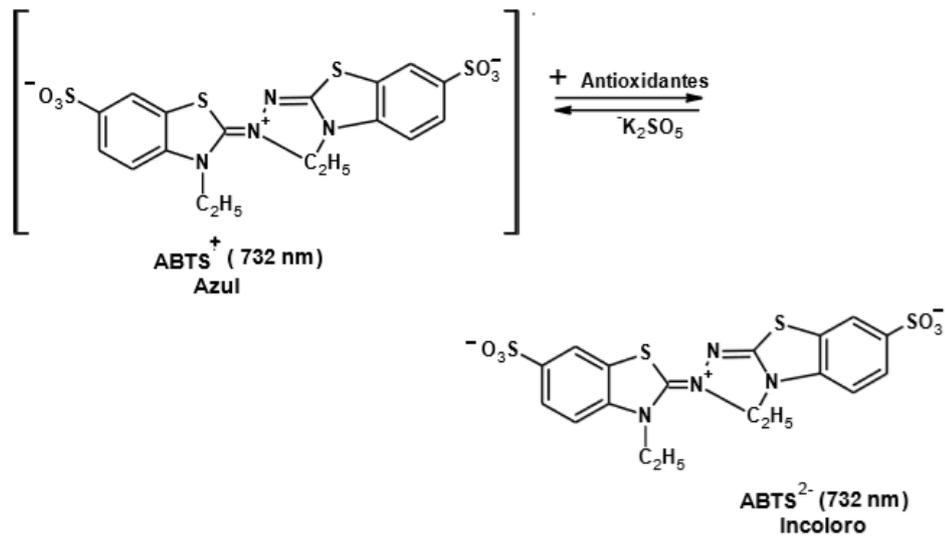
El ensayo DPPH tiene algunas desventajas que limitan su aplicación, entre estas se encuentran:

- La diferencia en el mecanismo de reacción que normalmente ocurre entre antioxidante y radicales peroxilo.
- DPPH es un radical del nitrógeno de larga vida, lo cual no guarda similitud con los radicales peroxilo altamente reactivos y transitorios involucrados en la peroxidación lipídica. Muchos antioxidantes que reaccionan rápidamente con radicales peroxilo, reaccionan lentamente o son inertes al DPPH. Esto se evidencia en el tiempo necesario para determinar el IC<sub>50</sub> que van en un rango de 1.15 min (Acido ascórbico) a 103 min (Rutina).
- La reacción cinética entre el DPPH y los antioxidantes no es lineal con la concentración de DPPH, por lo cual es arbitrario medir la capacidad antioxidante usando IC<sub>50</sub>.
- La reacción de DPPH con eugenol fue reversible (Vondet et al., 1997), lo que podría resultar en falsas lecturas (bajas) para la capacidad antioxidante de muestras que contengan eugenol y otros fenoles que guarden un tipo de estructura similar.

#### **1.2.14.2 Ensayo ABTS (Ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)**

La generación del radical ABTS constituye la base de uno de los métodos espectrométricos que han sido aplicados para medir la actividad antioxidante total de soluciones o sustancias puras y mezclas acuosas. El ensayo original de ABTS estaba basado en la activación de la metilmioglobina con peróxido de hidrógeno en presencia de ABTS para producir un radical catión, en presencia o ausencia de antioxidantes. Este fue criticado debido a que la reacción rápida de los antioxidantes, contribuye a la reducción del radical ferrilmioglobina. Un formato más apropiado para el ensayo consiste en la técnica de decoloración, en la cual el

radical es generado directamente en una forma estable antes de la reacción con los antioxidantes (Re et al., 1999).



**Figura 7.** Estructura del ABTS antes y después de la reacción con el antioxidante (Zuleta et al., 2009).

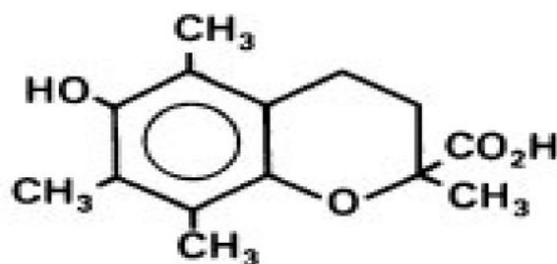
La técnica mejorada para la generación del radical catión ABTS, implica la producción directa del cromóforo ABTS verde-azul a través de la reacción entre ABTS y el persulfato de potasio ( $K_2S_2O_8$ ). Este presenta tres máximos de absorción a las longitudes de onda de 645 nm, 734 nm y 815 nm. La adición de los antioxidantes al radical pre-formado lo reduce a ABTS. De esta manera el grado de decoloración como porcentaje de inhibición del radical catión ABTS está determinado en función de la concentración y el tiempo; así como del valor correspondiente usando el Trolox como estándar, bajo las mismas condiciones.

### Patrón Trolox

Es un antioxidante como la vitamina E.

El compuesto ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-carboxílico, Trolox (ver figura 8), es un análogo soluble en agua de la vitamina E, que se puede comparar con varios antioxidantes comerciales.

Las reacciones entre el Trolox y varios radicales libres oxidantes incluyendo los radicales peroxi y varios radicales hidroxilos se examinaron mediante el uso de la técnica de pulso-radiólisis, demostrando que el Trolox puede someterse a reacciones rápidas de transferencia de electrones, así como los procesos de transferencia de hidrógeno; el radical fenoxilo resultante demuestra ser relativamente estable, en común con el radical fenoxi derivado de la vitamina E. Las reacciones entre el Trolox (radical fenoxilo) y una variedad de compuestos reductores biológicamente pertinentes se examinaron mediante el uso de radiolisis pulsos. Los resultados evidencian que el Trolox (radical fenoxilo) se repara fácilmente por el ascorbato y ciertos tioles, pero no por urato, NADH o galato de propilo. Las pruebas evidencian que el Trolox repara proteínas que se han oxidado por radicales libres.



*Figura 8.* Fórmula estructural del trolox.

### 1.2.15 Análisis sensorial

Es una evaluación de las características orgánicas de productos con los sentidos de las personas. Es decir, es examinar la apariencia, el olor, el aroma, la textura y el sabor de productos. Este tipo de exámenes tiene un grupo de técnicas para las respuestas de las personas hacia los alimentos y reduce los posibles efectos de desviación que la identificación de la marca y otros datos pueden influir sobre el juicio de las personas. Vale decir, se intenta el aislamiento de las propiedades sensoriales de los alimentos en sí mismos y está aportando datos muy útiles para su avance y/o mejoramiento para la sociedad científica del área de alimentos y para los gerentes de las organizaciones empresariales. (Ennis et al., 1982).

Antes, el examen sensorial fue considerada como un método no tan usado para la estimación de la calidad de los productos alimenticios. Pero, su evolución en el tiempo permite que actualmente el aplicar esta evaluación en la industria de alimentos sea conocida como la forma más relevante para el aseguramiento y el aceptar los productos alimenticios por parte del comprador. (Espinosa, 2007).

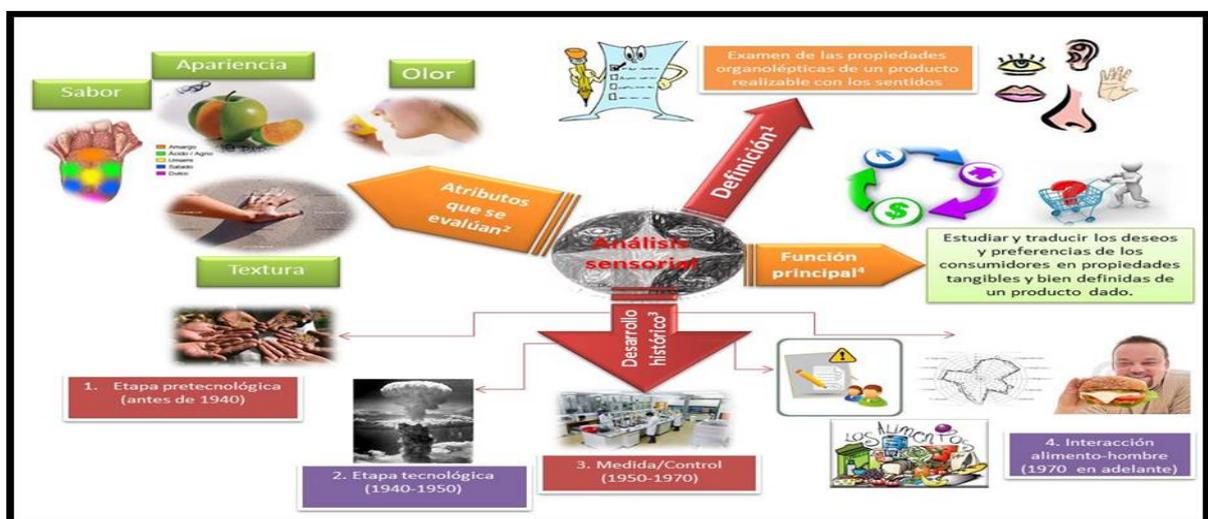


Figura 9. Desarrollo del análisis sensorial.

### 1.2.15.1 Percepción personal

La percepción significa que es la interpretación del percibir, vale decir la adquisición de la conciencia de los sentidos. La sensación se pueden estimar a través de métodos de psicología y los estímulos por métodos fisicoquímicos (J. Sancho, 2002). La percepción también es la capacidad de la mentalidad para recabar datos sensoriales de un objeto del exterior a medida que se refleja. De esta manera, el valor de los productos alimenticios se está percibiendo mediante los sentidos. El percibir un estímulo fisicoquímico, se debe prioritariamente al vínculo de los datos recibidos por los sentidos de las personas u órganos de recepción periférica, los cuales estarían codificando los datos y responden la sensación, según la intensidad, la duración y también la calidad de los estímulos, percibiendo el aceptar o rechazar (Pedrero, 1989).

Las secuencias del percibir de un consumidor para un alimento, es primero para el color, luego el olor, seguido por la textura captada por el tacto, sigue el sabor y terminando el sonido al ser consumido.

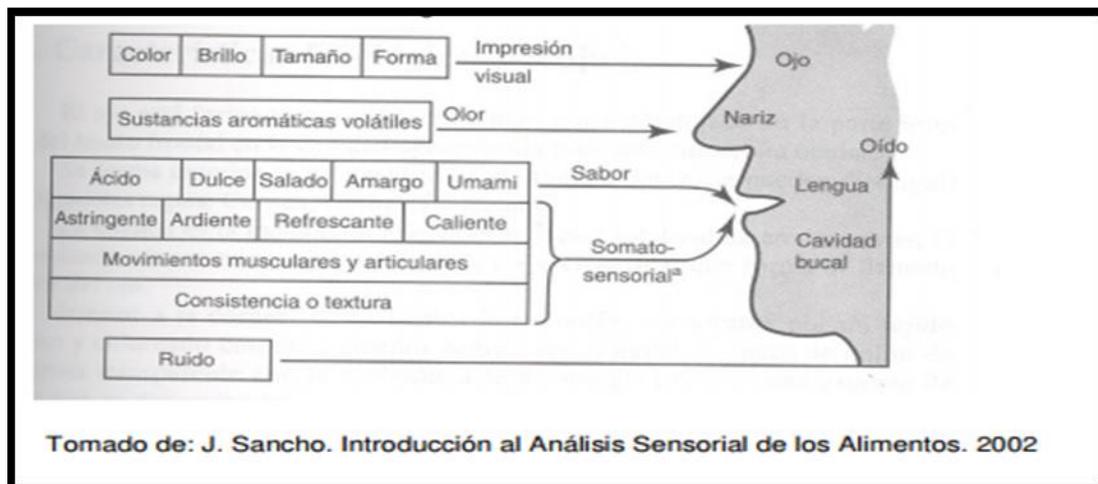


Figura 10. Percepción personal

### 1.2.15.2 Pruebas sensoriales

Los exámenes sensoriales utilizadas en la industria alimentaria, se clasifican en 3 grupos:

**Tabla 11**

Pruebas sensoriales.

<b>Pruebas discriminativas</b>	Pruebas de Diferenciación	<ul style="list-style-type: none"> <li>Prueba de pares</li> <li>Prueba de Dúo-trío</li> <li>Prueba triangular</li> <li>Prueba de ordenación</li> <li>Prueba escalar de control</li> </ul>
	Pruebas de Sensibilidad	<ul style="list-style-type: none"> <li>Umbral de detección</li> <li>Umbral de reconocimiento</li> </ul>
<b>Pruebas descriptivas</b>	Escala de Atributos	<ul style="list-style-type: none"> <li>Escala de categorías</li> <li>Escala estimación de la magnitud</li> </ul>
	Análisis Descriptivo	<ul style="list-style-type: none"> <li>Perfil de sabor</li> <li>Perfil de textura</li> </ul>
	Análisis Cuantitativo	
<b>Pruebas Afectivas</b>	Prueba de Preferencia	<ul style="list-style-type: none"> <li>Prueba de preferencia pareada</li> <li>Prueba de preferencia Ordenación</li> </ul>
	Prueba de Satisfacción	<ul style="list-style-type: none"> <li>Escala Hedónica verbal</li> <li>Escala Hedónica Facial</li> </ul>
	Prueba de Aceptación	

**Fuente:** Domínguez, 2007.

Este examen sensorial de los productos alimentarios, responden a los cuestionamientos sobre la calidad de productos. Se tiene la referencia prioritaria si existen o no existen diferencias entre dos o más muestras o productos alimentarios, se intenta la descripción y la medición de las diferencias que se presentan (exámenes descriptivos) y finalmente se intenta saber el grado de

preferencias, de gustos o demás disgustos y de satisfacer un producto alimentario. (Anzaldúa, 1994).

El método que se utiliza para hacer pruebas sensoriales a un producto alimenticio puede ser de la siguiente manera:

1. ¿Qué se desea conocer del producto a vender?
2. El diseño de índole experimental a desarrollar
3. Examen o exámenes a usar
4. Cantidad de panelistas
5. Presentación del panel
6. Métodos estadísticos a usar para tratar la información
7. Presentar el informe final

#### **A) Pruebas afectivas**

Las pruebas afectivas, son pruebas en donde el panelista expresa el nivel de agrado, aceptación y preferencia de un producto alimenticio, puede ser frente a otro. Se utilizan escalas de calificación de las muestras.

#### **B) Pruebas de preferencia**

Se emplean para definir el grado de aceptación y preferencia de un producto determinado por parte del consumidor. Para estas pruebas se requiere de un grupo bastante numeroso de panelistas los cuales no necesariamente tienen que ser entrenados. (Wolfe, 1979).

Casos en que se aplica:

- ◆ Es útil cuando las muestras son preclasificadas para análisis posteriores
- ◆ Desarrollo de nuevos productos

- ◆ Medir el tiempo de vida útil de los productos
- ◆ Selección y entrenamiento de catadores
- ◆ Mejorar el producto
- ◆ Cambiar tecnología

### **1.2.15.3 Atributos sensoriales**

#### **◆ Gusto y sabor**

Se entiende por gusto a la sensación percibida a través del sentido del gusto, localizado principalmente en la lengua y cavidad bucal. Se definen cuatro sensaciones básicas: ácido, salado, dulce y amargo.

Se define por sabor como la percepción percibida a través de las terminaciones nerviosas de los sentidos del olfato y gusto principalmente, pero no debe desconocerse la estimulación simultánea de los receptores sensoriales de presión, y los cutáneos de calor, frío y dolor (Sidel, 1976).

#### **◆ Aroma y olor**

Olor es la sensación producida al estimular el sentido del olfato. Aroma es la fragancia del alimento que permite la estimulación del sentido del olfato (Sidel, 1976).

#### **◆ Color y apariencia**

El color que percibe el ojo depende de la composición especial de la fuente luminosa, de las características físicas y químicas del objeto, la naturaleza de la iluminación base y la sensibilidad espectral del ojo. Todos los factores determinan el color que se aprecia: longitud de onda, intensidad de luz y grado de pureza

La visión es de importancia fundamental para la evaluación de aspecto y color. El consumidor espera un color determinado para cada alimento, cualquier desviación de este color puede producir disminución en la demanda, además es importante para la sensación gustativa y olfativa.

Se puede afirmar que la visión es el primer sentido que intervienen en la evaluación de un alimento, captando todos los atributos que se relacionan con la apariencia: aspecto, tamaño, color, forma, defectos, etc. (Sidel, 1976).

#### **1.2.16 Análisis microbiológico**

El control microbiológico nos permite conocer el número total de microorganismos presentes en el alimento. Este número no guarda relación con el de microorganismos patógenos por lo que no puede usarse como índice de su presencia y sólo debe considerarse un indicador de las características higiénicas generales del alimento.

Se puede detectar la presencia de microorganismos y bacterias tales como aerobios mesófilos, *bacillus cereus*, *campylobacter*, *candida albicans*, *clostridium perfringens*, etc. (Cano R., 2006).

##### **1.2.16.1 Mohos y levaduras**

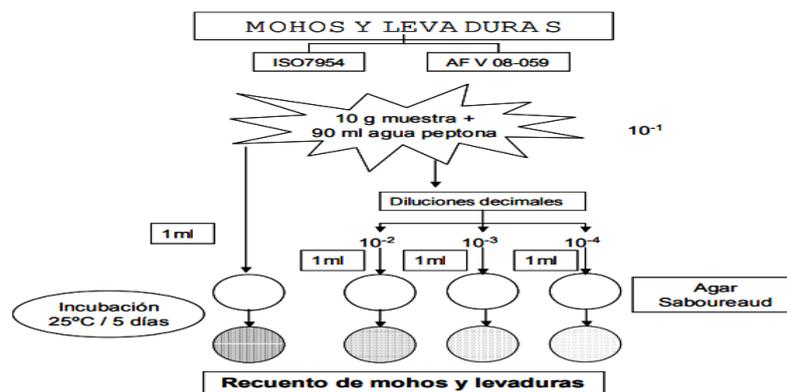
Los hongos son organismos eucarióticos, cuya pared celular contiene quitina y  $\beta$ -glucanos. Son unicelulares o filamentosos, de reproducción sexual o asexual, saprófitos mutualistas o parásitos. En función de la temperatura de crecimiento se dividen en:

- Termófilos: 20 – 50° C (40 – 50° C)

- Termolátentes: máximo 50° C, mínimo por debajo de 20° C
- Mesófilos: 10 – 40° C (20 – 35° C)
- Psicrófilos: por debajo de 10° C (por debajo de 20° C)

Los hongos engloban los mohos y las levaduras. Los mohos son multicelulares filamentosos cuyo crecimiento en un alimento se reconoce por su aspecto aterciopelado. Las levaduras crecen en agregados de células independientes, cuando crecen en los alimentos forman colonias características.

El significado de la contaminación fúngica de los alimentos viene determinado por su capacidad para deteriorar los alimentos, produciendo defectos en el aspecto modificaciones químicas, alterando el valor nutricional, variando sus características organolépticas y dificultando su conservación. Algunos mohos pueden producir infecciones en el hombre e incluso reacciones alérgicas. Además, muchos mohos producen gran número de toxinas a las que el hombre es susceptible.



**Figura 11.** Esquema de recuento de mohos y levaduras

### **1.2.16.2 Coliformes totales**

Lo representan: Enterobacteriaceae: Citrobacter, Enterobacter, Escherichia, y Klebsiella. Todos ellos son fermentadores lactosa. Ubicados en la parte intestinal del ser vivo, del mismo modo en plantas y suelo, etc. No siendo los óptimos en indicadores, empleados si como indicador fecal y para un proceso sanitario nada bueno.

Para ello es ubicar su incidencia en E. coli ya que esta indica su grado de contaminación.

Después de todo lo mencionado, estos se identifican como indicador de inocuidad. Aplicables al APPCC. Suelen desarrollarse en sales biliares. Suelen fermentar la lactosa produciendo gas, lográndolo determinar presuntivamente. (Cano R., 2006).

### **1.2.16.3 Echerichia coli**

Escherichia coli es un coliforme fecal. Los coliformes fecales son un grupo de microorganismos seleccionados por incubación de los inóculos procedentes de un caldo de enriquecimiento de coliformes a temperaturas superiores a las normales ( $44 \pm 0,5^\circ \text{C}$ ) y son muy indicativos de una posible contaminación de origen fecal del alimento. Se definen por la producción de ácido y de gas en caldo EC a  $44 - 46^\circ \text{C}$  ( $44,5 - 45,5^\circ \text{C}$ ). Las cepas enterohemorrágicas de E. coli no crecen a  $44,5^\circ \text{C}$  en la formulación convencional de EC, pero lo hacen cuando el porcentaje de sales biliares se reduce del 0,15 al 0,112%. Sólo unas pocas cepas son patógenos verdaderos, enteropatógenos; o patógenos oportunistas. Es muy resistente en suelo y agua. Muere a  $60^\circ \text{C}$  en 15 minutos, y con 0,5 p.p.m. de cloro.

Vive en el tracto intestinal del hombre y animales, por eso su presencia en un alimento indica contaminación directa o indirecta de origen fecal. Es indicador de posibles patógenos entéricos en el agua, moluscos, productos lácteos. (Cano R., 2006).

### 1.3 Marco conceptual

- **Análisis sensorial:** Consiste en una evaluación de las propiedades de un producto mediante los sentidos humanos. Vale decir, es el examen de la apariencia, del olor, del aroma, de la textura y del sabor de los productos alimentarios.
- **Análisis microbiológico:** Es cuando se está realizando la inspección de alimentos por medio de pruebas que permiten detectar si se presentan o no elementos patógenos.
- **Capacidad antioxidante:** Es un compuesto molecular para el retraso de la oxidación de otros químicos. La oxidación es una respuesta química de llevar electrones de un agente oxidante. Las respuestas de oxidación pueden generar radicales libres que inician reacciones en simultaneo que afectan las células.
- **Cáscara de manzana:** La cáscara es la capa protectora de una manzana, del cual puede desprenderse. la fruta contiene una sustancia cerosa, denominada ácido ursólico, que disminuye el desgaste muscular y promueve el crecimiento de músculo.
- **Espectrofotómetro:** Es una evaluación frecuentemente usada en la física óptica que posee como beneficio para la medición, en relación a la longitud de onda, la vinculación entre valores de una misma estimación fotométrica

relativos a dos radiaciones. También es usado en laboratorios de química para cuantificar sustancias y microorganismos.

- **Fibra dietética:** Es un grupo de diferentes sustancias de origen vegetal, tienen resistencia a la digestión y al momento de absorber en el intestino delgado, pero que están sufriendo en una digestión parcial o total en el colon. El comer fibra es relevante por sus beneficios a nivel del tránsito en los intestinos, sino también a los vinculados con los demás procesos metabólicos.
- **Fenoles:** Son compuestos químicos orgánicos que contienen el grupo hidroxilo como grupo de funciones. La paupérrima acidez del grupo fenólico ha determinado que estas sustancias sean agrupadas químicamente junto a los ácidos carboxílicos y lo conformado así el grupo de los ácidos orgánicos. La acumulación orgánica de compuestos fenólicos son inferiores a 1 µg/l y las más frecuentes, los fenoles, cresoles y los ácidos siríngico, vainílico y p-hidroxibenzoico.
- **Flavonoides:** Son compuestos fenólicos constituyendo de la parte no energética de la dieta. Se están encontrado en vegetales, semillas, frutas y en bebidas alcohólicas. Estos están integrados en los productos verdes y están cuidando de los daños generados por agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas, la polución ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos, etc. El cuerpo puede producir estas sustancias químicas que protegen, por lo que ya deben obtener alimentación.
- **Método DPPH:** Este método es utilizado para establecer la capacidad antioxidante de los alimentos y compuestos sintéticos; para este fin se ha hecho uso de este radical libre en concentraciones comprendidas entre 0,037 y 0,200 mM, así mismo, para llevar a cabo esta evaluación se utilizó los estándares de

catequina y epicatequina en un rango de concentración que estuvo entre  $6,67 \times 10^{-3}$  y  $2,2 \times 10^{-2}$  mM.

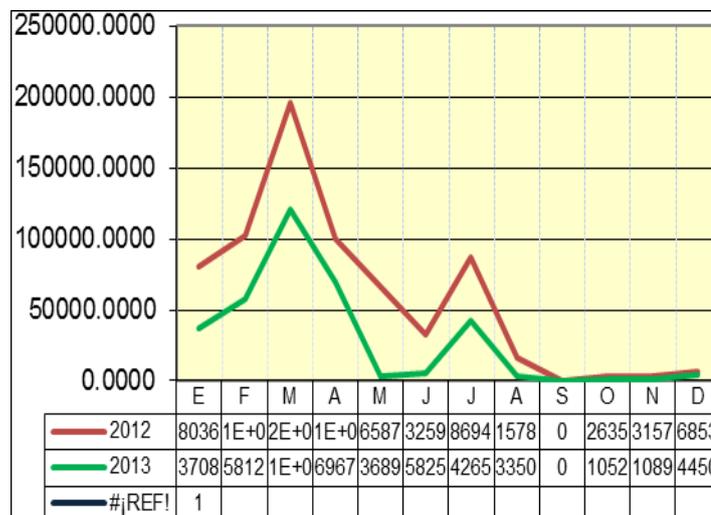
- **Método ABTS:** Con este método se realiza el medir la actividad de compuestos llamados hidrofílica y lipofílica. El radical ABTS + posee la ventaja de que presenta altos rangos de absorción como 414, 654, 754 y 815 nm en un escenario alcohólico.

## **CAPÍTULO II: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN**

## 2.1 Situación problemática

El Valle de Cañete ofrece condiciones favorables para el desarrollo de la fruticultura; manzanas y cítricos en especial. Estos cultivos constituyen una actividad importante en el valle de Cañete, con más del 10% de la superficie cultivada. Las plantaciones están constituidas básicamente por manzanas, vid y cítricos, entre otros en menor grado. (Rodríguez, 2005). Las unidades de producción para el cultivo de manzano son en su mayoría pequeñas y aun medianas (las denominadas parcelas). Esta gran producción conlleva también una desventaja que se genera por la competencia de venta de la fruta post cosecha, la cual causa una baja de precios que no genera ganancias para los pequeños y medianos agricultores frutícolas; esto trae como consecuencia, la pérdida y el desaprovechamiento de la fruta como materia prima en campo. (Ruestas, 2005)

El Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA), revela cifras de entierro de fruta sana, especialmente manzana, que son mayormente las últimas cosechas que quedan abandonadas en campo debido a su baja de precio.



**Figura 12.** Fruta enterrada en la Provincia de Cañete (2012 – 2013).

## **2.2 Formulación del problema**

Debido a esta problemática se plantea la siguiente interrogante:

### **2.2.1 Problema general**

¿Es posible hacer un estudio comparativo de la capacidad antioxidante de la cáscara de manzana en dos variedades (*Anna israel* y *Delicious viscas*)?

### **2.2.2 Problemas específicos**

**PE<sub>1</sub>:** ¿Es posible determinar los parámetros óptimos: temperatura y tiempo de secado de la cáscara de manzana de cada variedad?

**PE<sub>2</sub>:** ¿Es posible determinar el contenido de humedad de la cáscara seca de manzana de cada variedad?

**PE<sub>3</sub>:** ¿Es posible hacer un estudio comparativo de la capacidad antioxidante de la cáscara de manzana en dos variedades (*Anna israel* y *Delicious viscas*) con el método DPPH?

**PE<sub>4</sub>:** ¿Es posible hacer un estudio comparativo de la capacidad antioxidante de la cáscara de manzana en dos variedades (*Anna israel* y *Delicious viscas*) con el método ABTS?

**PE<sub>5</sub>:** ¿Es posible determinar la evaluación sensorial del producto final (color, olor y sabor)?

**PE<sub>6</sub>:** ¿Es posible determinar el análisis microbiológico del producto final?

## **2.3 Delimitación del problema**

### **2.3.1 Delimitación espacial o geográfica**

La investigación se realizó en el Laboratorio de Calidad de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica.

### **2.3.2 Delimitación temporal**

Esta investigación inicio en el año 2017, culmino el año 2018.

### **2.3.3 Delimitación social**

El producto final de esta investigación “harina de cáscara de manzana *delicious viscas*” por tener un alto contenido antioxidante, está dirigido a todos los extractos sociales sin distinción alguna, especialmente a las personas que padecen cáncer.

### **2.3.4 Delimitación conceptual**

En esta investigación se hizo un estudio comparativo de la capacidad antioxidante de la cáscara de manzana *Delicious viscas* y cáscara de manzana *Anna israel*, utilizando los métodos DPPH y ABTS. De acuerdo a los resultados se concluyó que la cáscara de manzana *delicious viscas* presento la mayor capacidad antioxidante.

## **2.4 Justificación e importancia de la investigación**

### **2.4.1 Justificación**

Se justifica realizar la investigación porque el consumo de alimentos naturales en Perú está en ascenso, y se cuenta con una fruta como es la manzana de gran producción que además contiene gran fuente de vitaminas, fibras, calorías y antioxidantes; queremos con este trabajo de investigación aportar con el incentivo de aprovechar la fruta al máximo, ya que mayormente lo que se merma es la cáscara, y a la vez también, servir como una alternativa de industrialización de la manzana en el valle de cañete.

Debido a los grandes volúmenes de desechos eliminados (cáscaras) por la industria de néctares y mermeladas de manzanas, junto con el creciente problema de la contaminación ambiental, existe interés a nivel mundial sobre el control de ambos aspectos, enfocado hacia un control y disminución de la contaminación ambiental, por ende, necesariamente a una disminución de los desechos generados por esta industria. (Dominique, 1990).

Ante esta situación, reviste interés la búsqueda de nuevas alternativas en productos naturales (antioxidantes) que resulten menos perjudiciales con lo cual la cáscara de manzana dejaría de ser considerada un desecho y pasaría a ser una materia prima de mayor valor agregado. Los beneficiados con la investigación son la población iqueña, en especial, contribuyendo a solucionar en parte la salud que es la tendencia en estos últimos tiempos hacia el consumo de aditivos netamente naturales ya que estos productos reemplazarían a los, antioxidantes artificiales que últimamente con los estudios toxicológicos que se han realizado se han considerado como causantes de enfermedades como el cáncer. (Wolfe et al., 2003).

#### **2.4.2 Importancia**

En la actualidad se realizan investigaciones sobre los beneficios presentes en las cascaras de frutas y verduras con la finalidad de complementarlas en la dieta; la manzana presenta muchos beneficios para la salud de las personas, confirmadas en otras investigaciones que se han realizado sobre esta fruta en los últimos años. No obstante, poseen escasos documentos que efectúen una evaluación de la actividad antioxidante específicamente en la cáscara de estas dos variedades de manzana las cuales se consumen más.

## 2.5 Objetivos de la investigación

### 2.5.1 Objetivo general

Determinar cuál de las cáscaras de las dos variedades de manzana posee mayor capacidad antioxidante

### 2.5.2 Objetivos específicos

**OE<sub>1</sub>:** Determinar los parámetros óptimos de proceso: temperatura y tiempo de secado de la cáscara de manzana.

**OE<sub>2</sub>:** Determinar el contenido de humedad de la cáscara seca de manzana de cada variedad.

**OE<sub>3</sub>:** Realizar un estudio comparativo de la capacidad antioxidante de la cáscara de manzana en dos variedades (*Anna israel* y *Delicious viscás*) con el método DPPH

**OE<sub>4</sub>:** Realizar un estudio comparativo de la capacidad antioxidante de la cáscara de manzana en dos variedades (*Anna israel* y *Delicious viscás*) con el método ABTS

**OE<sub>5</sub>:** Determinar la evaluación sensorial del producto final (color, olor y sabor)

**OE<sub>6</sub>:** Determinar el análisis microbiológico del producto final.

## 2.6 Hipótesis de investigación

### 2.6.1 Hipótesis general

**H<sub>0</sub>:** La capacidad antioxidante que presenta la cáscara de la manzana *Delicious viscás* no es mayor a la capacidad antioxidante que presenta la cáscara de la manzana *Anna israel*.

**H<sub>a</sub>:** La capacidad antioxidante que presenta la cáscara de la manzana *Delicious viscas* es mayor a la capacidad antioxidante que presenta la cáscara de la manzana *Anna israel*.

### **2.6.2 Hipótesis específicas**

**HE<sub>1</sub>:** Si es posible determinar los parámetros óptimos de temperatura y tiempo de secado de la cáscara de manzana de cada variedad

**HE<sub>2</sub>:** Si es posible determinar el contenido de humedad de la cáscara seca de manzana de cada variedad.

**HE<sub>3</sub>:** La capacidad antioxidante que presenta la cáscara de la manzana *Delicious viscas* es mayor a la capacidad antioxidante que presenta la cáscara de la manzana *Anna israel* con el método DPPH.

**HE<sub>4</sub>:** La capacidad antioxidante que presenta la cáscara de la manzana *Delicious viscas* es mayor a la capacidad antioxidante que presenta la cáscara de la manzana *Anna israel* con el método ABTS.

**HE<sub>5</sub>:** La evaluación sensorial del producto final (color, olor y sabor) presenta aceptabilidad.

**HE<sub>6</sub>:** El análisis microbiológico del producto final determina que es apta para el consumo humano.

## **2.7 Variables de investigación**

### **2.7.1 Identificación de variables**

**-Variable independiente:** X = Cáscara de manzana

**-Variable dependiente:** Y= Capacidad antioxidante de la cáscara de manzana.

## 2.7.2 Operacionalización de variables

**Tabla 12**

Operacionalización de Variables

<b>Variable independiente (X):</b> Cáscara de manzana	
<b>Indicadores</b>	<b>Indices</b>
X <sub>1</sub> = Tiempo de Secado	-Mayor a 24 horas
X <sub>2</sub> = Temperatura de Secado.	-Entre 40 a 50 °C
X <sub>3</sub> = Contenido de humedad de la cáscara	-Humedad (%) -pH inicial -pH final
<b>Variable dependiente (Y):</b> Capacidad antioxidante de la cáscara de manzana.	
<b>Indicadores</b>	<b>Indices</b>
Y <sub>1</sub> = Análisis de la capacidad antioxidante: método de DPPH y ABTS.	- Porcentaje de inhibición y concentración. -Valores de TEAC y concentración.
Y <sub>2</sub> = Análisis Sensorial: olor, sabor y color.	-Preferencia del producto
Y <sub>3</sub> = Análisis Microbiológico	-Calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano.

**CAPÍTULO III: ESTRATEGIA  
METODOLÓGICA / METODOLOGÍA DE  
LA INVESTIGACIÓN**

### **3.1 Tipo, nivel y diseño de investigación**

#### **3.1.1 Tipo de investigación**

Su propósito es práctico y definido, en la cual, se procede a la investigación para efectuar una transformación u originar cambios en determinados sectores de la realidad. (Carrasco D., 2009).

#### **3.1.2 Nivel de investigación**

Experimental, el cual se realizó en el Laboratorio de Calidad de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica.

#### **3.1.3 Diseño de investigación**

Se tiene el diseño experimental, pues es el procedimiento de planeación y conducción de experimento, así como la definición del análisis estadístico para evaluar los resultados, con el objetivo de tener conclusiones válidas y objetivas. El procedimiento incluye la definición de factores a modificar, la manera de su aplicación y el número de pruebas a realizar. (Mellado B., 2015).

### **3.2 Población y muestra materia de investigación**

#### **3.2.1 Población de estudio**

Como población, se utilizó 115 gr. de cáscara de manzana de la variedad *Anna israel* y 162 gr. de cáscara de manzana de la variedad *Delicious viscas*, provenientes de la Provincia de Cañete del Departamento de Lima.

#### **3.2.2 Muestra de estudio**

Como muestra, se utilizó 19.5 gr. de cáscara de manzana de la variedad *Anna Israel* y 35.5 gr. de cáscara de manzana de la variedad *Delicious viscas*, provenientes del proceso de obtención de la harina de cáscara de manzana de ambas variedades.

# **CAPÍTULO IV: TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE INVESTIGACIÓN**

## **4.1 Técnicas de recolección de datos**

### **4.1.1 Técnica experimental**

Esta técnica involucra el hacer experimentos donde se implica la determinación cuantitativa de las magnitudes que intervienen en ellos. Es decir, de alguna forma (directa o indirecta) hay que medirlas. Y medir implica comparar el estado de una magnitud con un patrón. (Ramírez P.,2010). Para el caso se hizo una experimentación en laboratorio para evaluar la capacidad antioxidante en la cáscara de manzana de las variedades *Anna israel* y *Delicious viscas*.

### **4.1.2 Técnica de observación**

Es una técnica que consiste en observar atentamente el fenómeno, hecho o caso, tomar información y registrarla para su análisis. La observación es un elemento fundamental de todo proceso de investigación; en ella se apoyan las investigadoras para obtener el mayor número de datos. (Díaz L.,2011). Para la presente investigación datos observados de la capacidad antioxidante en la cáscara de manzana de las variedades *Anna israel* y *Delicious viscas*.

### **4.1.3 Técnica estadística**

Se utilizó la prueba de U Mann-Whitney para dos muestras independientes que es un método que estudia las pruebas no paramétricas más utilizadas para comparar, donde si el valor de probabilidad (vale decir *p-value*) igual o menor que 0.05 (5%) se rechaza la hipótesis nula ( $H_0$ ) y entonces se acepta la hipótesis alterna ( $H_a$ ).

## 4.2 Instrumentos de recolección de datos

### 4.2.1 Materiales, equipos y reactivos

#### -Materia prima

Para realizar la investigación se utilizó cáscara de la manzana *Anna israel* y la cáscara de la manzana *Delicious viscas*, provenientes de la Provincia de Cañete del Departamento de Lima.



*Figura 13.* Cáscara de manzana *Delicious viscas*



*Figura 14.* Cáscara de manzana *Anna israel*.

### **-Materiales**

- Probeta de 100 mL
- Vaso precipitado de diferentes tamaños 500mL
- Espátula de metal
- Micropipeta de 10 – 1000 uL
- Micropipeta de 10 – 100 uL Braund
- Punteras
- Pipetas de 10 mL y 5 mL Kimax
- Celdas de espectrofotómetro (UNICO)
- Tubos de centrifugas
- Matraz 250mL Kimax
- Viales 5mL
- Papel aluminio
- Papel de filtro
- Papel toalla
- Bandeja de aluminio
- Guantes
- Cuchillo
- Tamiz Retsch # 20
- Cámara de decantación
- Agitadores magnéticos Ohaus

### **-Equipos**

- Molino Analítico IKA A11
- Balanza digital Kossodo S. P

- Balanza gramera
- Espectrofotometro UNICO
- Centrifugadora Meditronic BL - S
- Cronometro
- Horno secadora BINDER
- Computadora
- Cámara fotográfica
- Estufa electrónica VELD SCIENTIFICA

**-Reactivos**

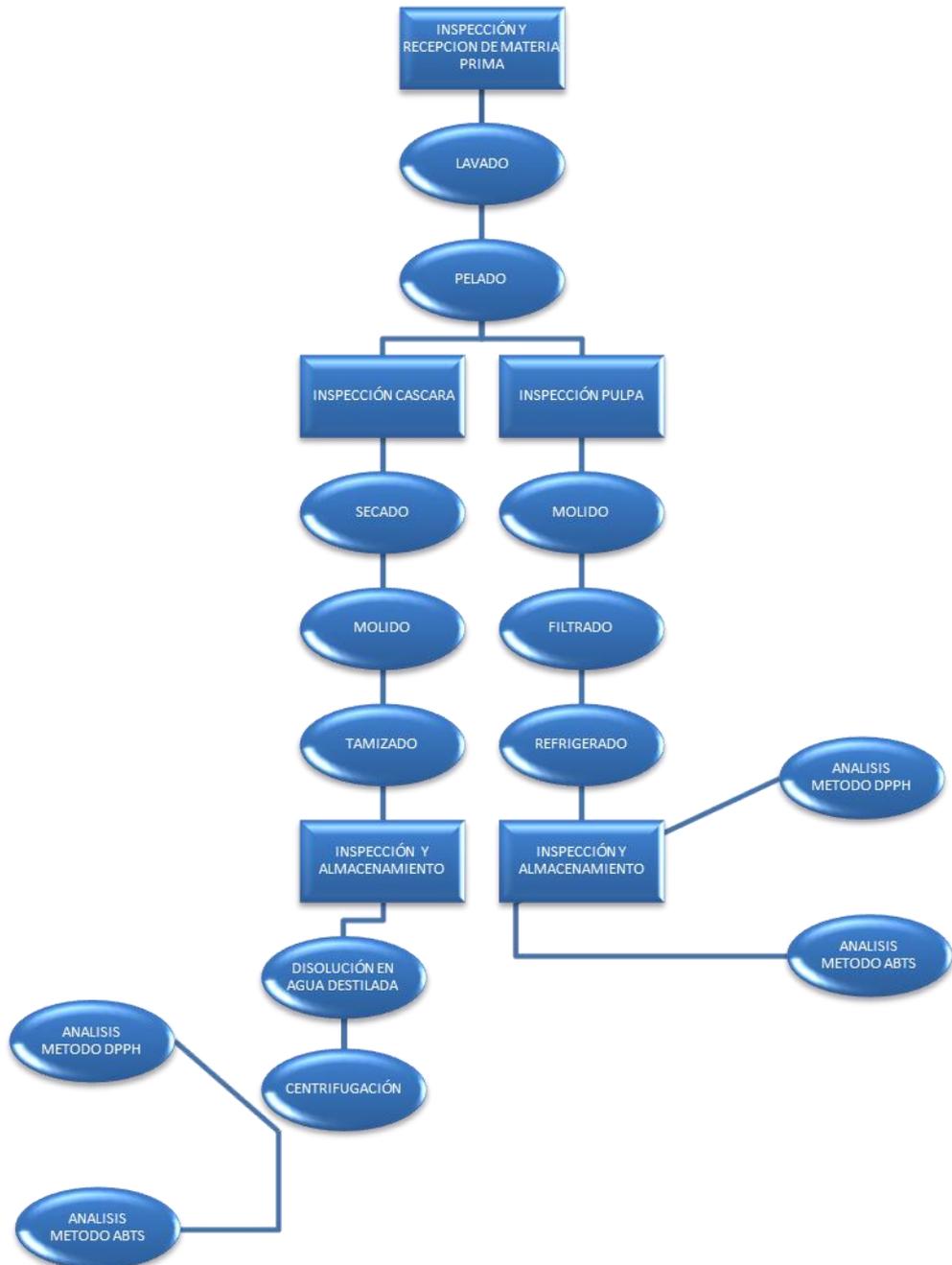
- Radical 2,2 difenil – 1 – picrilhidrazil (DPPH) Sigma Aldrich
  - Metanol 99.5% (CH<sub>3</sub>OH) Merck
  - Agua destilada
  - Acido 2,2-azinobis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico (ABTS•+)
- Sigma Aldrich
- Etanol absoluto (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH). Merck

Ahora, con estos materiales, equipos y reactivos esta investigación está basada en dos fases. En la primera fase se obtuvo la harina de cada una de las variedades de cáscara de manzana, ambas a las mismas condiciones de temperatura y tiempo; En la segunda fase se determinó el contenido de humedad y la actividad antioxidante presente en la harina obtenida de las dos variedades de cáscara de manzana; así mismo el análisis sensorial y el microbiológico (del cual se requirió un servicio a un laboratorio externo).

## 4.3 Técnicas de procesamiento de datos, análisis e interpretación de resultados

### 4.3.1 Técnicas de procesamiento de datos

#### 4.3.1.1 Diagrama de proceso de operación



En este punto, se describe el diagrama de proceso de operación de la obtención de la harina de cascara de las dos variedades de manzana.

#### **A) Recepción**

Se obtuvo las dos variedades de manzanas en el mercado mayorista de fruta del distrito de Imperial, provincia de Cañete, departamento de Lima. Seleccionándolas manualmente, tratando que las manzanas de cada variedad tengan el mismo color y tamaño.



***Figura 15. Manzana Anna israel***



***Figura 16. Manzana Delicious viscas***

## B) Lavado

Se lavaron las manzanas con agua clorada a una concentración de 20 ppm para eliminar microorganismos e impurezas. Se retiró hojas secas y pedúnculos.

## C) Pelado

Se procedió al pelado manual con ayuda de un cuchillo pequeño, separando las cáscaras de ambas variedades, pesándolas y midiendo el pH (2.71 en la variedad *Anna israel* y 3.20 en la variedad *Delicious viscas*, ambos medidos a un 10%), se retiró pulpa y semillas.



**Figura 17.** Pelado manual de las manzanas



**Figura 18.** Pesado de la cáscara



*Figura 19.* Medida del pH

#### **D) Secado**

Se llevó las cáscaras al secado artificial, ambas variedades al mismo tiempo y temperatura; al final del secado se volvió a pesar las cáscaras para obtener el porcentaje de humedad.



*Figura 20.* Secado artificial de la cáscara: (parte superior, *Delicious viscas* y parte inferior, *Anna Israel*).



**Figura 21.** Pesado de la cáscara seca.

### **E) Molido y tamizado**

Después del secado se procedió a moler la cáscara seca en el molino analítico, se retiró partículas muy finas que quedan adheridas en el molino; una vez molido se tamizó para eliminar las partículas de mayor tamaño (mayores a 1mm) hasta obtener una harina con partículas más uniformes y se volvió a medir el pH (4.41 en la variedad *Anna israel* y 3.89 en la variedad *Delicious viscas*).



**Figura 22.** Molido de la cáscara seca.

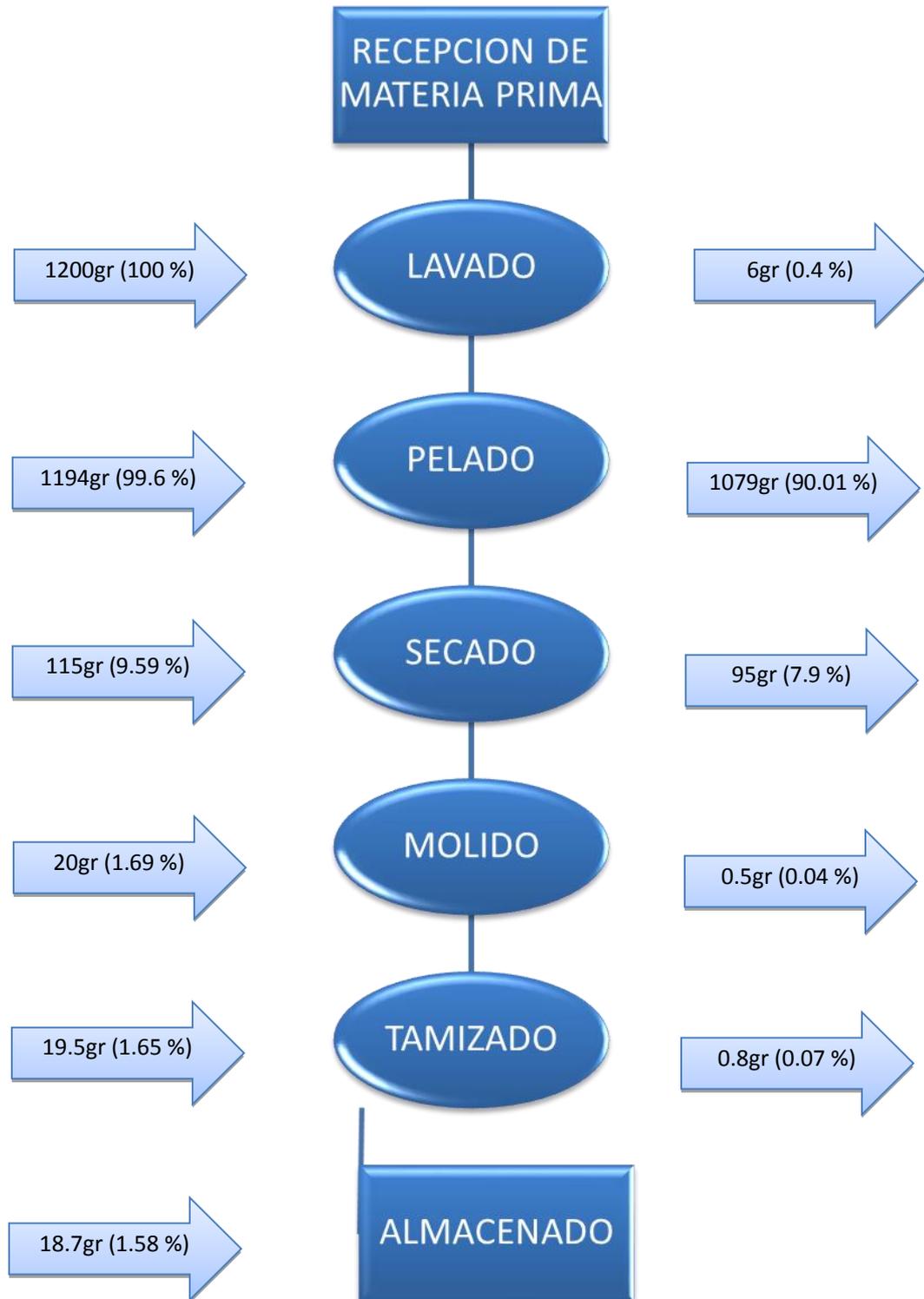


*Figura 23.* Medida del pH final.

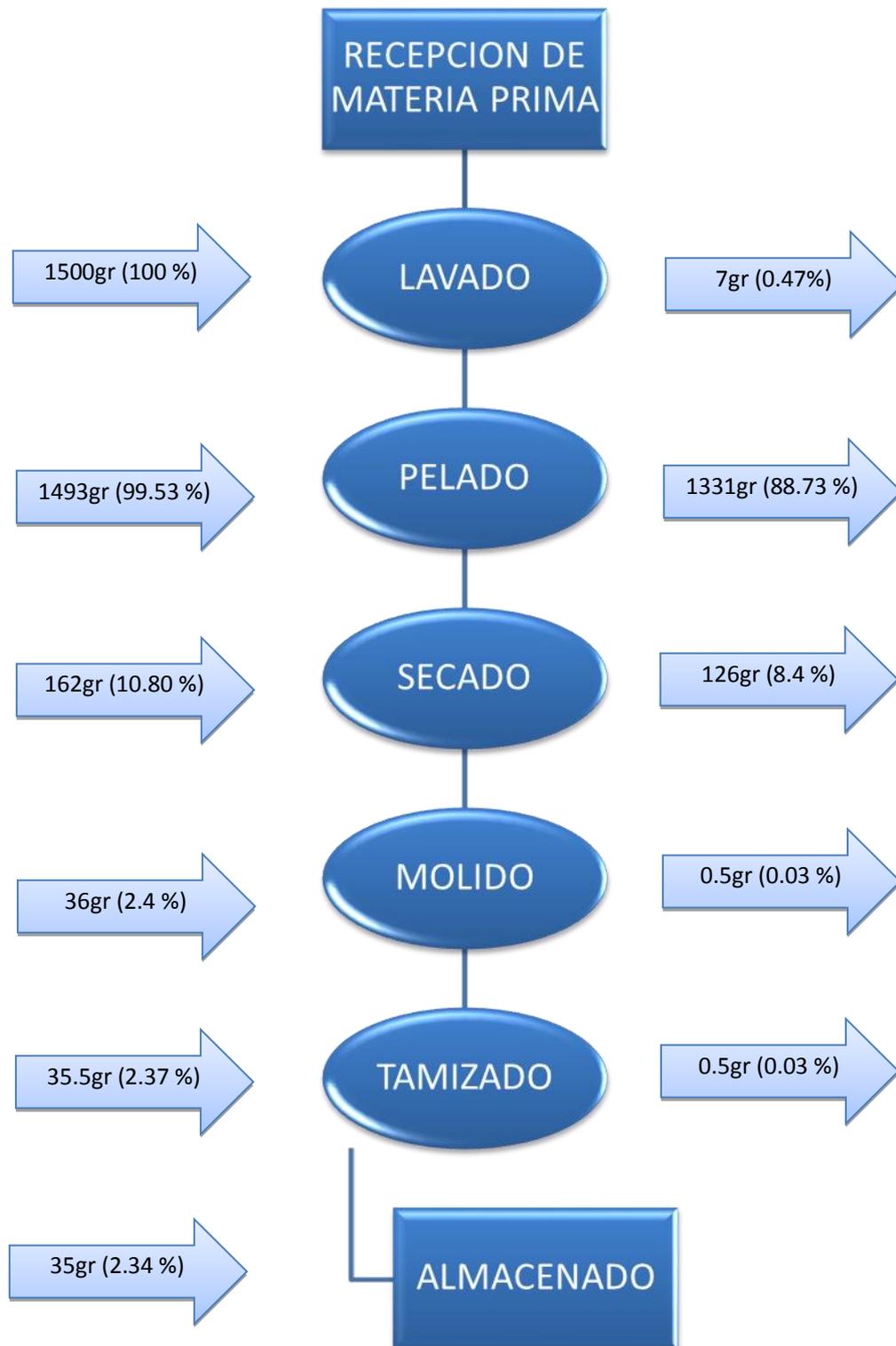
#### **F) Almacenado**

Se almaceno en bolsas de plástico siplock de cierre hermético procurando extraer todo el aire posible para extender su vida útil, hasta los próximos análisis, sensorial y microbiológicos.

**4.3.1.2 Balance de materia del proceso de obtención de la harina de cáscara de manzana de la variedad *Anna israel***



**4.3.1.3 Balance de materia del proceso de obtención de la harina de cáscara de manzana de la variedad *Delicious viscás*.**



## **4.3.2 Análisis e interpretación de resultados**

### **4.3.2.1 Análisis de temperatura y tiempo de secado**

Se obtuvo la harina de cáscara de manzana de cada una de las variedades, ambas a las mismas condiciones de temperatura y tiempo; según antecedentes bibliográficos se requiere una temperatura entre 40 a 50 °C y un tiempo mayor a 24 horas.

Se realizó el secado a una temperatura de 40°C y para el cálculo matemático avanzado se utilizó como herramienta DataFit. Versión 9.1.32, con el cual se simplifico el análisis estadístico para el secado de cáscara de manzana en ambas variedades.

### **4.3.2.2 Análisis de humedad**

Para determinar la humedad de la cáscara de manzana, en las dos variedades, se pesaron en bandejas de papel aluminio la cáscara fresca de cada una de las variedades de manzana por separado; luego se secaron en la estufa la cáscara de las dos variedades a la vez, por un tiempo de 78 h, a una temperatura de 40 °C, posteriormente se enfriaron en un desecador por 30 min; al final se volvió a pesar en las mismas bandeas de aluminio cada variedad por separado.

Con estos datos se determinó el contenido de humedad en base húmeda, que indica el porcentaje que representa la masa de agua evaporable de un producto con relación a su masa total (masa seca del producto más masa de humedad o de agua), y se calcula de la siguiente manera:

$$x = 100 * \left( \frac{mw}{mt} \right) \quad (1)$$

$$mt = ms + mw \quad (2)$$

Donde:

x: contenido de humedad en base húmeda (%)

mt: masa total del producto (kg)

ms: masa seca del producto (kg)

mw: masa agua evaporable (kg)

El contenido de humedad en base seca representa la masa de agua evaporable de un producto con relación a su masa, y se calcula de la siguiente manera:

$$x = mw/ms \quad (3)$$

#### **4.3.2.3 Evaluación de la actividad antioxidante**

La capacidad antioxidante del extracto de las cáscaras manzana fue evaluada en función a la captación del radical 2,20-azino-bis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) diammonium salt (ABTS) e inhibición frente al radical libre 2,2-Difenil-1-picrilhidraizil (DPPH), descritos a continuación:

##### **A) Método de inhibición frente al radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidraizil.**

El DPPH, hace posible la medición a toda aquello que es capaz de acaparar compuestos que tengan actividad antioxidante (Mensor et al., 2001).

Este reactivo tiene una coloración violeta y con una absorbancia de 517 nm. Efectuándose por el descuento del átomo de hidrógeno el cual lo origina un donador por el radical libre DPPH, el cual procede al cambio de la tonalidad violeta a un tono amarillento a medida en la que se ve disminuida su concentrado; evaluándolo en el espectrofotómetro pasado treinta minutos de reacción (Nenadi, 2002; Fukumoto, 2000).

Al promediarse las medidas, bajo formula siguiente:

$$\%I = \left( \frac{Ab - Am}{Ab} \right) \times 100$$

Dónde:

%I = porcentaje de inhibición

Ab = absorbancia del blanco (etanol + reactivo)

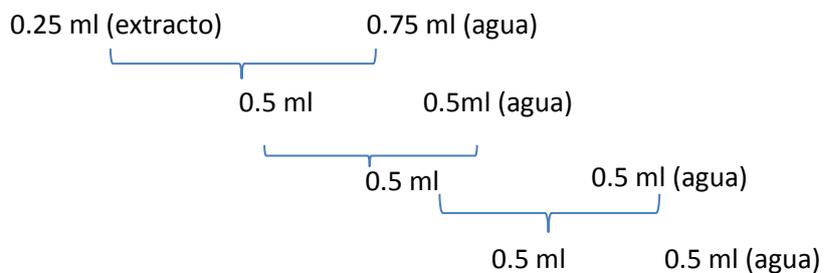
Am = absorbancia de la muestra

- **Ensayo con la harina de cáscara de manzana de cada variedad**

Para este ensayo se pesó 50 g de harina de cáscara de manzana en 40 ml de agua destilada, se mezcló, centrifugo y filtro para obtener un extracto acuoso; cada variedad por separado.

Luego de obtener el extracto acuoso, se realizaron ensayos con diferentes concentraciones hasta obtener la concentración más cercana a la absorbancia del blanco.

Se realizaron cuatro disoluciones de la siguiente manera, sin considerar el blanco:



Para los denominados blanco la proporción fue la siguiente:

100 µl de agua destilada + 2900 µl de solución (DPPH con etanol absoluto).

Cada disolución en un vial distintos. Paralelamente se preparó la solución de DPPH 0,1 mM en etanol, una vez leída su absorbancia en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 517nm, da un valor no menor a 0.9 ni mayor a 1.1; se agregó 2.9 ml de esta solución en cada vial.

La lectura se realizó por duplicado y se promedió. A este valor se denominó absorbancia del control.

Cada ensayo consistió en evaluar tanto el blanco y la muestra, que conjuntamente con el valor del control se plasmaron en la fórmula y se determinó el porcentaje de inhibición frente al radical libre DPPH.

Cada vial contenía en total un volumen de 3000 ul, en diferente proporción de muestra, disolvente y/o DPPH.

Una vez realizada las diluciones, se dejó en reposo cada vial con su contenido, protegido de la luz por 30 minutos. La absorbancia se leyó a 517 nm, y el promedio obtenido fue absorbancia del blanco.

## **B) Evaluación de la actividad antioxidante por método ABTS.**

El radical ABTS•+ se obtuvo tras la reacción de ABTS (7 mM) con persulfato potásico (2,45 mM, concentración final, incubados a temperatura ambiente ( $\pm 25^{\circ}\text{C}$ ) y en la oscuridad durante 16 h. Una vez formado el radical ABTS•+ se diluyó con etanol hasta obtener un valor de absorbancia comprendido entre 0,70 ( $\pm 0,1$ ) a 754 nm (longitud de onda de máxima absorción).

Las muestras filtradas se diluyeron con etanol hasta que se produce una inhibición del 20 al 80%, en comparación con la absorbancia del blanco, tras añadir 20  $\mu\text{L}$  de la muestra a 980  $\mu\text{L}$  de dilución del radical ABTS•+ así generado se le determina la A 754 a  $30^{\circ}\text{C}$ , se añadió 20  $\mu\text{L}$  de la muestra

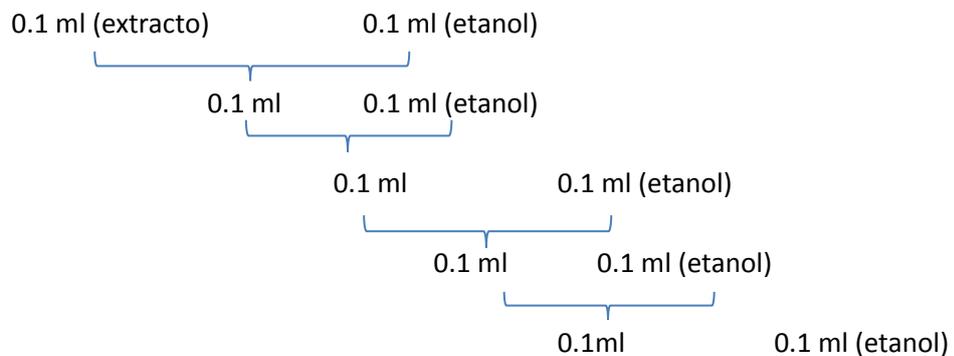
(dilución de extractos) y se midió de nuevamente A754 después de 1 min. La absorbancia se midió de forma continua transcurrida 6 min.

El antioxidante sintético de referencia, Trolox, se ensayó a una concentración de 0-500  $\mu$ M concentrada en etanol a igualdad de condiciones. Expresando en TEAC (actividad antioxidante equivalente a Trolox).

#### - **Ensayo con la harina de cáscara de manzana**

Para este ensayo se pesó 50 g de harina de cáscara de manzana y se añadió en 60 ml de agua destilada, se mezcló, centrifugo y filtro para obtener un extracto acuoso; cada variedad por separado.

Para este método se realizaron cinco concentraciones diferentes:



Se realizaron dos medidas de cada concentración, de las cuales se obtiene una diferencia.

#### **4.3.2.4 Análisis sensorial**

Se desarrolló una prueba afectiva y de aceptabilidad; se improvisó un panel de 30 jueces no entrenados de distintas edades (de 18 años a +), las evaluaciones se realizaron de tres maneras: en agua mineral, en leche esterilizada y en jugo de naranja. La aceptabilidad se midió a través de una escala numérica de tres puntos. El método utilizado para medir la aceptabilidad fue la siguiente: se pidió a los panelistas que luego de su primera impresión consideraran como el número 1 al producto que más le agradaba, con el número 2 al siguiente de su agrado y con el 3 al que menos le agradaba.

Código	Orden de preferencia en cuanto al sabor
115	1
234	2
347	3

#### **4.3.2.5 Análisis microbiológico**

En esta investigación se utilizó la Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano NTS No. 071 – MINSA / DIGESA – V.01 - 2010

# **CAPÍTULO V: PRESENTACIÓN, INTERPRETACIÓN Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS**

## 5.1 Resultados e interpretación de resultados

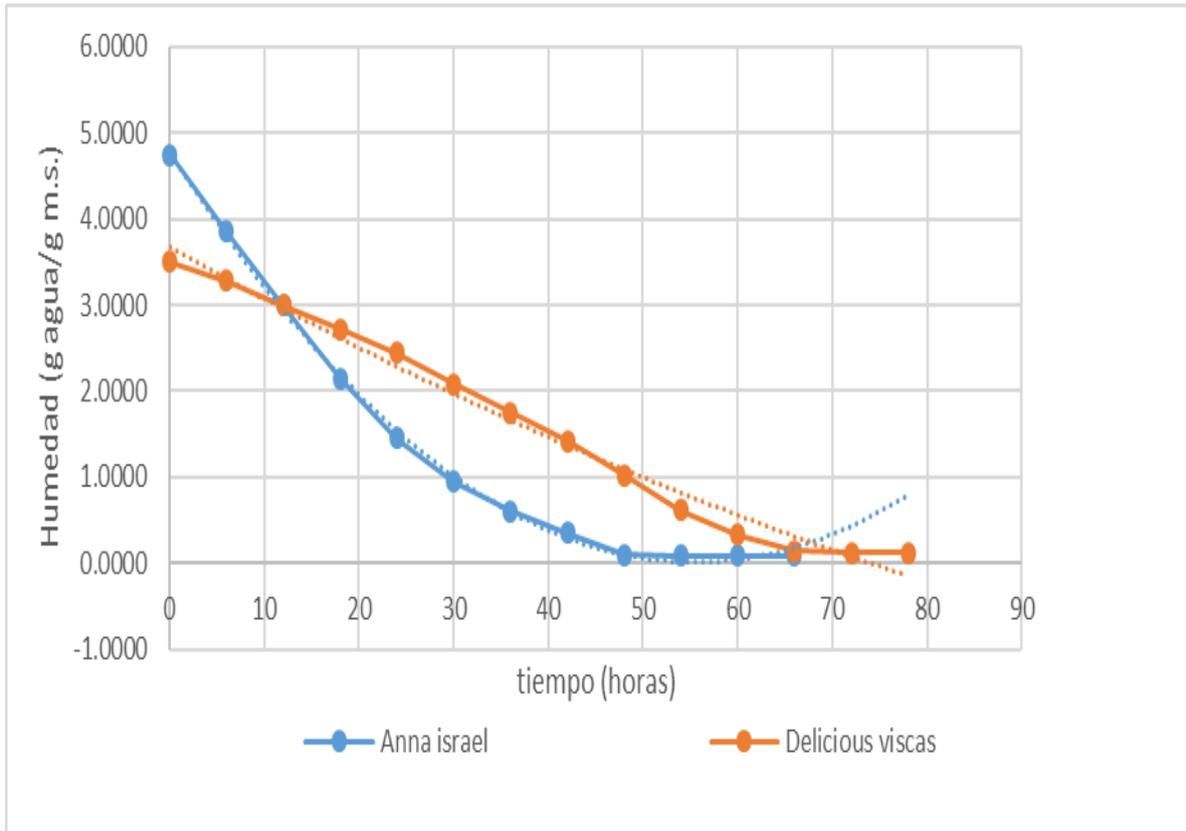
### 5.1.1 Resultados de los parámetros de temperatura, tiempo de secado y contenido de humedad en la cáscara seca de manzana de las dos variedades

**Tabla 13**

Resultado del secado de la cáscara de manzana en las dos variedades, con una temperatura de 40°C

Tiempo (horas)	<i>Delicious viscas</i>				<i>Anna israel</i>			
	Peso (gramos)	Humedad (g <sub>H2O</sub> /g muestra)	Pérdida de peso (gramos)	Humedad en base seca (g <sub>H2O</sub> /g m. s.)	Peso (gramos)	%Humedad (g <sub>H2O</sub> /g muestra)	Pérdida de peso (gramos)	Humedad en base seca (g <sub>H2O</sub> /g m. s.)
0	162	77.7778	126.0000	3.5000	115	82.6087	95.0000	4.7500
6	154	76.6234	118.0000	3.2778	97	79.3814	77.0000	3.8500
12	144	75.0000	108.0000	3.0000	80	75.0000	60.0000	3.0000
18	134	73.1343	98.0000	2.7222	63	68.2540	43.0000	2.1500
24	124	70.9677	88.0000	2.4444	49	59.1837	29.0000	1.4500
30	111	67.5676	75.0000	2.0833	39	48.7179	19.0000	0.9500
36	99	63.6364	63.0000	1.7500	32	37.5000	12.0000	0.6000
42	87	58.6207	51.0000	1.4167	27	25.9259	7.0000	0.3500
48	73	50.6849	37.0000	1.0278	22	9.0909	2.0000	0.1000
54	58	37.9310	22.0000	0.6111	20	8.2645	1.6529	0.0909
60	48	25.0000	12.0000	0.3333	20	8.2645	1.6529	0.0909
66	41	12.1951	5.0000	0.1389	20	8.2645	1.6529	0.0909
72	36	10.7079	4.3902	0.1220	-	-	-	-
78	36	10.7079	4.3902	0.1220	-	-	-	-

El contenido de humedad de la cáscara de manzana, está dado en función de su masa total, es decir en base húmeda, sin embargo, para fines de cálculo es conveniente referirse a su humedad en base seca, ya que la cantidad de materia en el producto permanece constante.



**Figura 24.** Análisis del comportamiento del secado de las cáscaras de manzana de cada variedad en condiciones de humedad y tiempo.

Ambas variedades presentaron diferentes comportamientos en su velocidad de secado, la porosidad de la cáscara de la variedad *Anna israel* determino que la mayor parte de agua se evaporo durante un periodo de velocidad constante mas acelerada que la variedad *Delicious viscas*, por lo que alcanzo su humedad crítica en un menor tiempo.

En el siguiente cuadro veremos los resultados obtenidos mediante la herramienta DataFit. Versión 9.1.32 con una solución de tipo no lineal.

**Tabla 14.**

Detalles de los resultados de orden polinomial

	<i>Delicious viscas</i>	<i>Anna israel</i>
Model Definition	$Y = 0.0002x^2 - 0.0619x + 3.6763$	$Y = 0.0015x^2 - 0.1717x + 4.773$
Residual tolerance	0.0000000001	0.0000000001
Sum of Residuals	6.6779004548323E-10	4.55590010162155E-11
Average Residual	4.45193363655486E-11	3.03726673441436E-12
Residual Sum of Squares (Absolute)	0.737394495426023	0.28749463571991
Residual Sum of Squares (Relative)	0.737394495426023	0.28749463571991
Standard Error of the Estimate	0.42935838626549	0.268092631248935
Coefficient of Multiple Determination ( $R^2$ )	0.9999355823	0.9999726721
Proportion of Variance Explained	99.99355823%	99.99726721%
Adjusted coefficient of multiple determination ( $R_a^2$ )	0.9997745382	0.9999043522
Durbin-Watson statistic	3.21147604470892	3.31037409697475

El bajo valor de la suma de cuadrados indica que el experimento tuvo buena productibilidad. El coeficiente de determinación múltiple ( $R^2$ ) indica que la variación en cada una de las respuestas es explicada por el correspondiente modelo seleccionado, y el coeficiente de determinación múltiple ( $R_a^2$ ) indica que el modelo estimado se ajusta de manera adecuada a los datos experimentales referidos en la tabla 13.

La estadística de Durbin – Watson que toma valores de 0 a 4, nos indicó con un  $d > 2$  que los términos de error sucesivos están correlacionados negativamente, esto implica una subestimación del nivel de significación estadística.

## 5.1.2 Resultado de la capacidad antioxidante en la harina de cáscara de manzana de las dos variedades

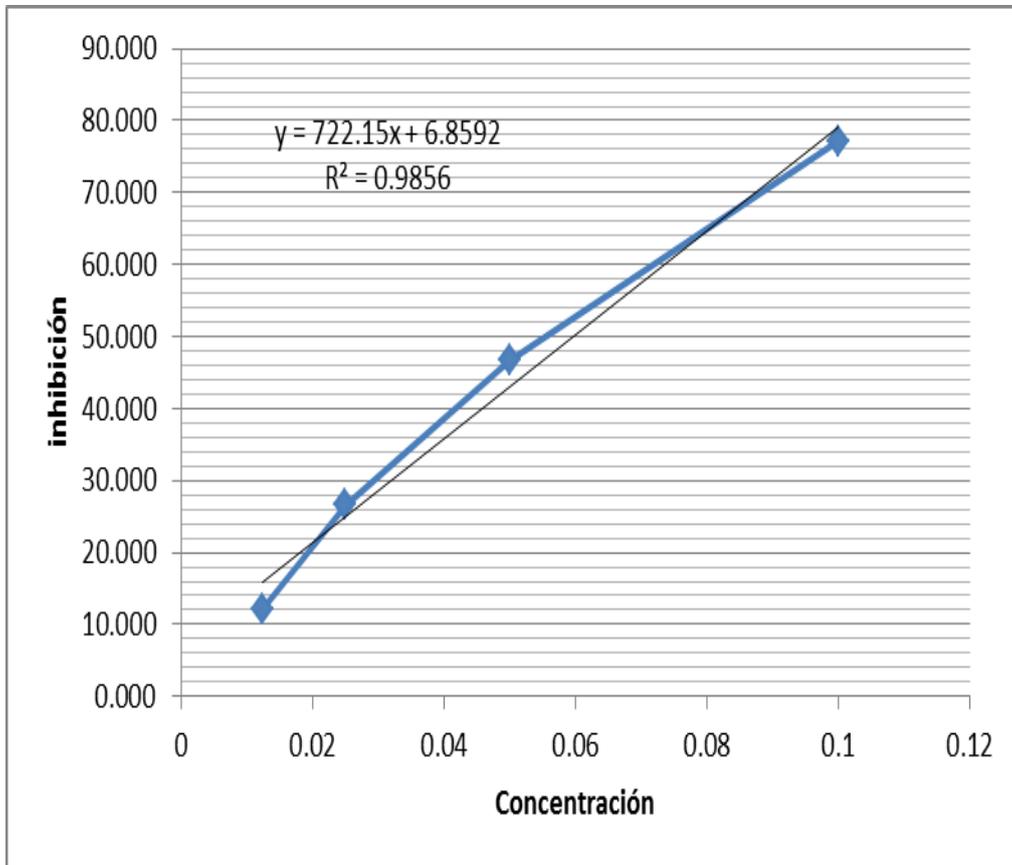
### 5.1.2.1 Resultados de la capacidad antioxidante según el método DPPH

Tabla 15

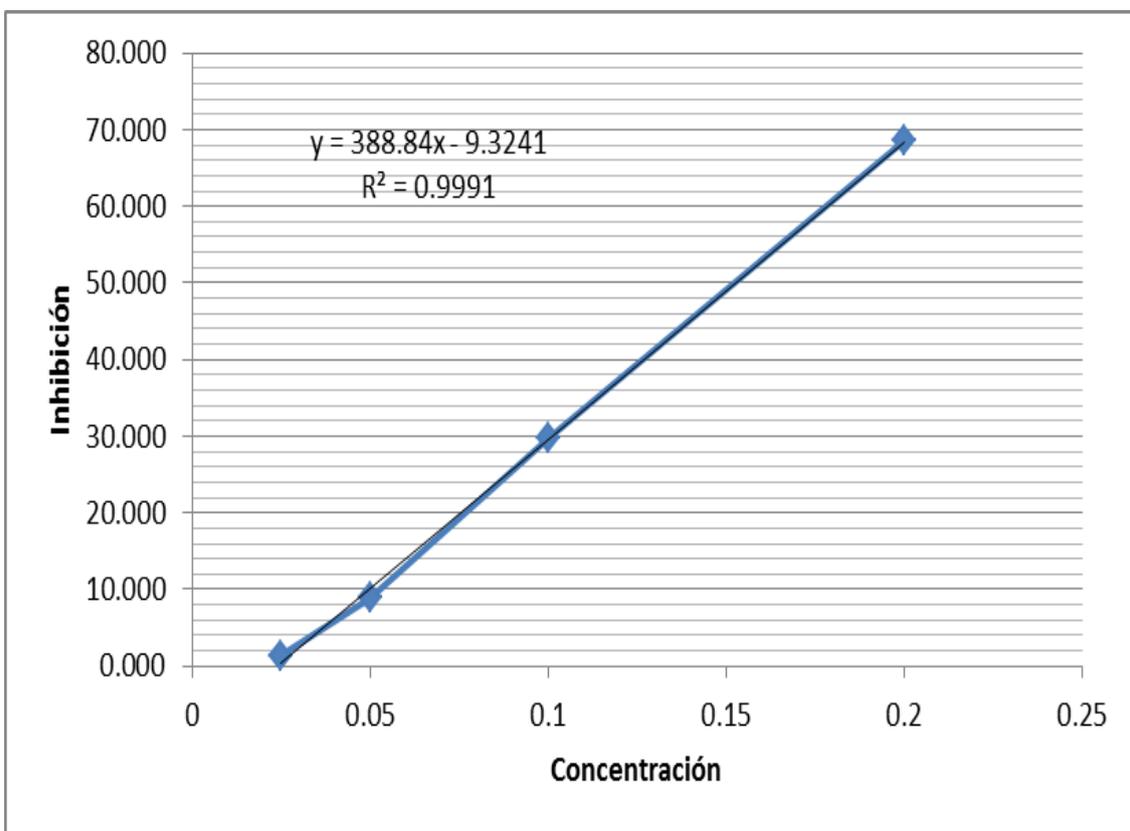
Porcentaje de inhibición a diferentes concentraciones

CC $\mu\text{g/ml}$	INHIBICION %	
	<i>C. Delicious viscas</i>	<i>C. Anna israel</i>
0.2	97.69	68.57
0.1	77.21	29.67
0.05	46.74	8.93
0.025	26.66	1.35
0.0125	12.23	0.00

La tabla da un resultado comparativo en el porcentaje de inhibición a distintas concentraciones, con una diferencia notoria entre las dos variedades de cáscara de manzana; lo que indica que la variedad de cáscara *Delicious viscas* posee una mayor capacidad antioxidante al de la cáscara de la variedad *Anna Israel*.



**Figura 25.** Análisis de respuesta de la actividad antioxidante de la cáscara de manzana *Delicious viscás* comparado al porcentaje de inhibición y concentración.



**Figura 26.** Análisis de respuesta de la actividad antioxidante de la cáscara de manzana *Anna israel* comparado al porcentaje de inhibición y concentración.

Para tener una comparación más clara se halló la  $I_{c50}$  (concentración que inhibe el radical DPPH en 50%), mediante las ecuaciones del gráfico.

Para la variedad *Delicious viscas*, la  $I_{c50}$  es 0.0597 g/ml; y para la variedad *Anna israel*, la  $I_{c50}$  es 0.153 g/ml. Lo que nos indica que la cáscara de la variedad *Delicious viscas* necesitó una menor concentración que la otra variedad para llegar a un 50% de inhibición, con la que se concluyó que es más reactiva a la variedad *Anna israel*.

### 5.1.2.2 Resultado de la capacidad antioxidante según el método ABTS

**Tabla 16**

Análisis de la capacidad antioxidante equivalente al trolox.

HARINA DE CÁSCARA DE MANZANA				
cc (µg)	<i>Delicious viscas</i>		<i>Anna israel</i>	
	PROM.ABS	TEAC	PROM. ABS	TEAC
0.17	0.667	1.040	0.5315	0.816
0.085	0.6505	1.012	0.341	0.500
0.0425	0.403	0.602	0.2185	0.297
0.0213	0.26	0.365	0.135	0.158
0.0106	0.202	0.269	0.109	0.115

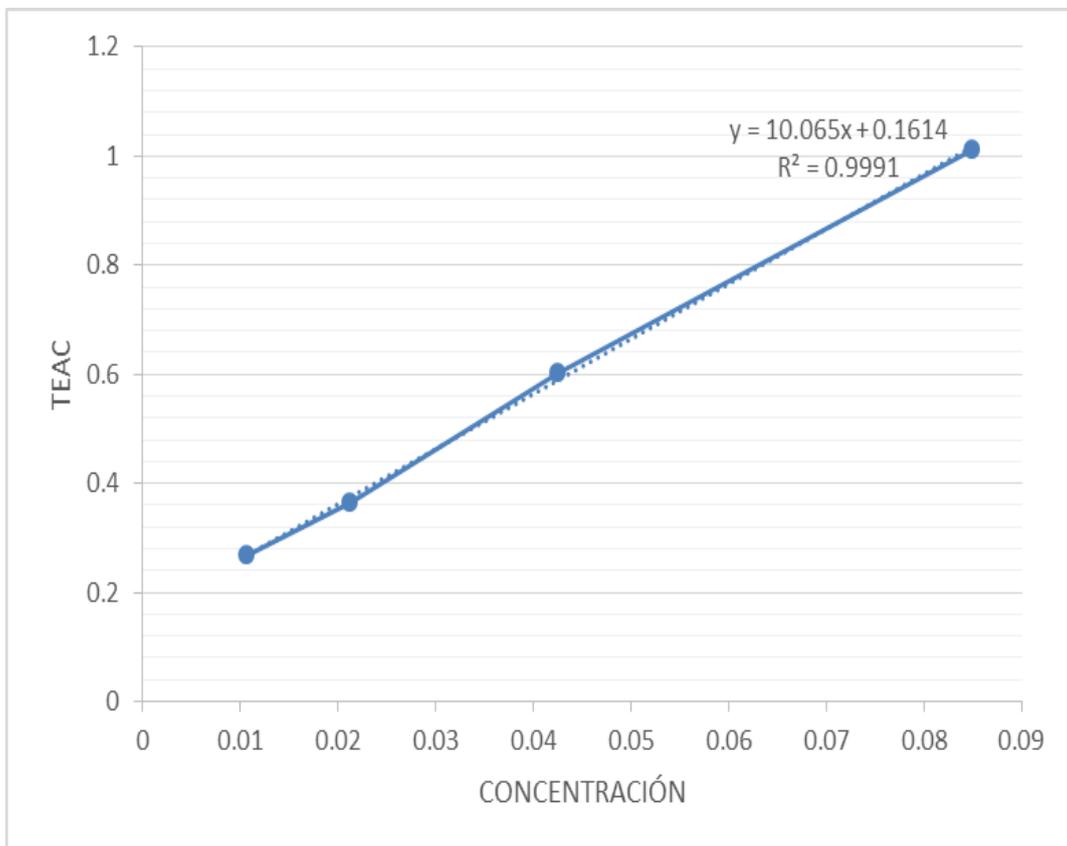
Se determinó los valores TEAC tomando la ecuación de la figura 38 de la curva de calibración del trolox, en anexos

$$y = 0.6033 x + 0.0395$$

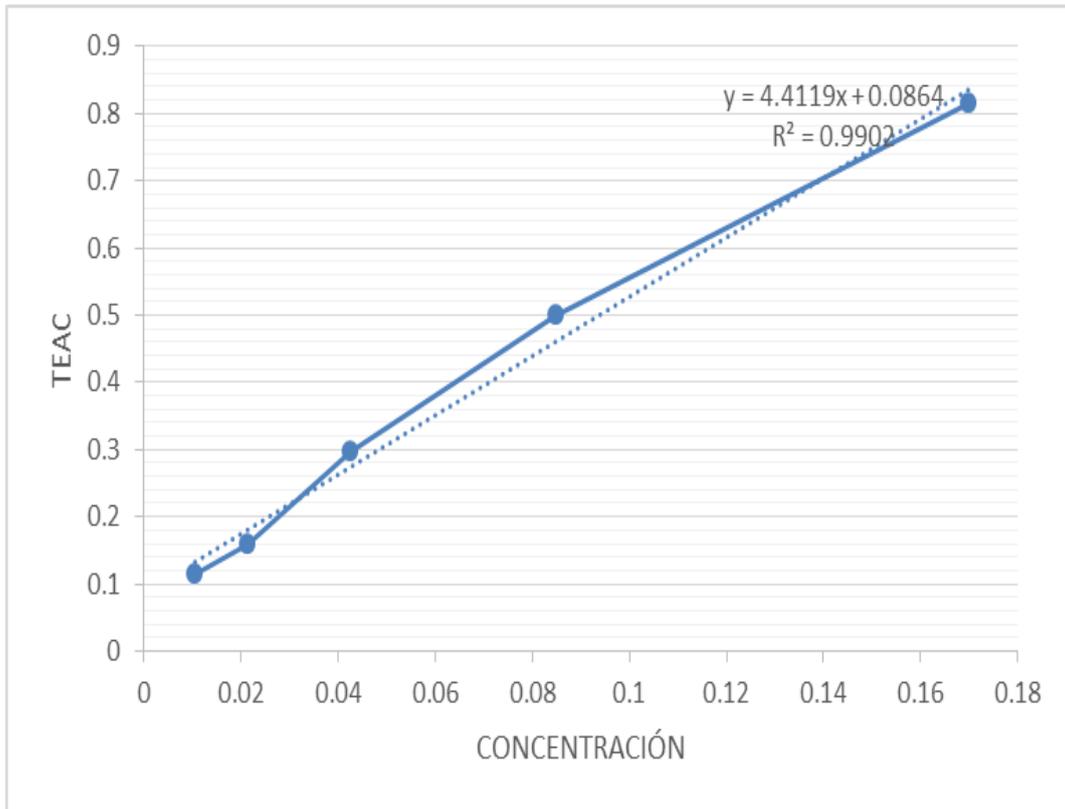
Donde:

y = promedio de absorbancia

x = capacidad antioxidante equivalente al trolox (TEAC)



**Figura 27.** Análisis de respuesta de la actividad antioxidante de la cáscara de manzana *Delicious viscus* comparado a los valores de TEAC y concentración.



**Figura 28.** Análisis de respuesta de la actividad antioxidante de la cáscara de manzana *Anna israel* comparado a los valores de TEAC y concentración.

Realizando la comparación al 0.5mM trolox según las ecuaciones del gráfico, se obtuvo que la variedad *Delicious viscás* necesitó una concentración de 0.034  $\mu$ g/ml y la variedad *Anna israel* una concentración de 0.094  $\mu$ g/ml. Lo que indica que por este método también da como resultado que la cáscara de manzana de la variedad *Delicious viscás* posee mayor capacidad antioxidante que la otra variedad ya que requirió una menor concentración para obtener un 0.5 TEAC.

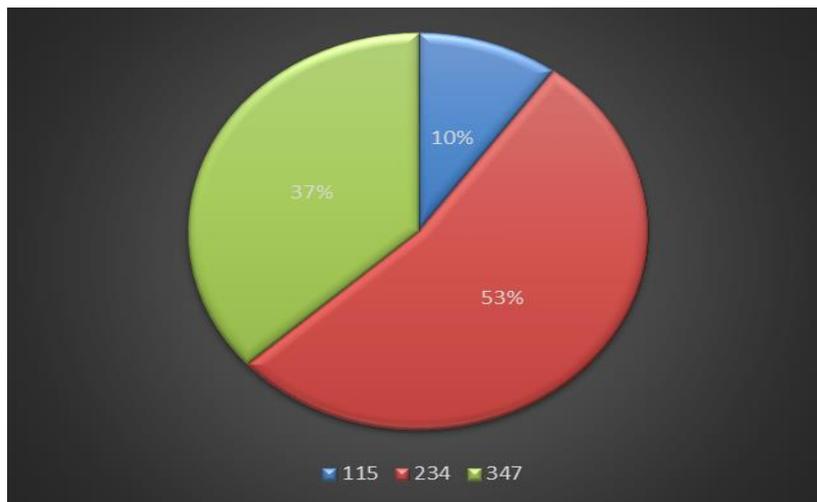
### 5.1.3 Resultado del análisis sensorial

Se realizó el análisis sensorial de la harina de cáscara de manzana *Delicious viscas* a través de una prueba hedónica de tres puntos, con un total de 30 jueces no entrenados seleccionados de forma intencional, brindándole a cada uno la muestra del producto. Se inició disolviendo la harina de la cáscara de manzana en los siguientes medios: agua, leche fresca Gloria UHT y zumo de naranja.

#### A) Preferencia del producto

Se observó que el producto presentó características más agradables al ser tomado con zumo de naranja, a pesar que no se lograba una disolución completa del mismo. Por lo que era necesario hacer un nuevo lavado con zumo para lograr arrastrar las partículas de producto que pudieran haber quedado en el fondo.

Una vez desarrollada la evaluación sensorial se mostró el siguiente resultado:



**Figura 29.** Resultados de las preferencias de las muestras.

- 115: código de harina de cáscara de manzana en agua.
- 234: código de harina de cáscara de manzana en zumo de naranja.
- 347: código de harina de cáscara de manzana en leche fresca Gloria UHT

En la figura 29 se observa que la harina de cáscara de manzana en zumo de naranja es la de mayor preferencia por los jueces, seguida por la disolución en leche fresca y por último el de la disolución en agua.

### 5.1.4 Resultado del análisis microbiológico

**Tabla 17**

Análisis microbiológico.

<b>MUESTRAS</b>	<b>Aerobios mesofilos Ufc/g</b>	<b>Dato bibliográfico</b>	<b>Coliformes totales Ufc/g</b>	<b>Dato bibliográfico</b>	<b>Mohos y levaduras Ufc/g</b>	<b>Dato bibliográfico</b>	<b>Salmonella a 25 g</b>	<b>Dato bibliográfico</b>
<i>Harina de cáscara de manzana Anna israel</i>	1,600		<10		<10		0	
<i>Harina de cáscara de manzana Delícious viscas</i>	910	<10,000 Ufc/g	<10	10 – 100 Ufc/g	<10	100 – 1000 Ufc/g	0	Ausencia en 25 g

#### Referencia

Límites máximos permisibles NTS 071 – MINSA/DIGESA-V.01 Norma sanitaria que establece los criterios microbiológicos de calidad sanitaria e inocuidad para los alimentos y bebidas de consumo humano (Resolución Ministerial 27 de agosto del 2008)

Del análisis microbiológico realizado a la harina de las dos variedades en estudio, podemos decir que se encuentran aptas para el consumo humano ya que de acuerdo a los resultados de los análisis estos representan resultado cero o menor a la referencia.

## 5.2 Discusión de resultados

Según antecedentes bibliográficos se requiere una temperatura entre 40 a 50 °C y un tiempo mayor a 24 horas. Considerando esto, el secado se realizó a 40°C la cual determino una humedad crítica de 0.1220 ( $\text{g}_{\text{H}_2\text{O}}/\text{g}_{\text{m.s.}}$ ) en un tiempo de 72 horas para la variedad *Delicious viscás*, y una humedad crítica de 0.0909 ( $\text{g}_{\text{H}_2\text{O}}/\text{g}_{\text{m.s.}}$ ) en un tiempo de 54 horas para la variedad *Anna Israel*.

Según Wallapan et al (1983) encontró que la porosidad tiene un efecto directo en otras propiedades físicas tales como el coeficiente de difusión de masa, la conductividad térmica y la difusividad térmica, y que las variedades de manzana de pigmentación más rojas son menos porosas a otras variedades. Se puede deducir que la variedad *Anna israel* es más porosa a la variedad *Delicious viscás*, por esta razón presento un secado más acelerado.

Amarowics y col., (1995) comprobó que, en intervalos pequeños de humedad, no debería influir el contenido en humedad de las muestras en la actividad antioxidante.

Según esta investigación los resultados obtenidos en el análisis de las dos variedades de manzana, es que la cáscara de variedad *Delicious viscás* fue más reactiva a menor concentración que la variedad *Anna israel*, según los dos métodos utilizados, su máximo porcentaje de inhibición estuvo entre un 80%. Estudios realizados por los doctores Pedro Rengifo y Luis Ártica (2011), con la cáscara de manzana variedad *Winter*, demuestran que posee un poder antioxidante de  $82.3\% \pm 1.48$  (con disolvente etanol) y  $89.48\% \pm 2.65$  (con disolvente metanol); a temperaturas de 50°C por 30 minutos y a una dilución (5/1). Al parecer la cáscara de la variedad *Delicious viscás* posee un poder antioxidante próximo al de la variedad *Winter*.

Estadísticamente, la prueba U Mann-Whitney (No paramétrica) confirma la existencia de diferencias significativas de la capacidad antioxidante en la cáscara de manzana entre las dos variedades en estudio con el método DPPH y también con el método ABTS.

Conjuntamente con los ensayos realizados en esta investigación para determinar la capacidad antioxidante con la cáscara de manzana también se determinó la capacidad antioxidante con la pulpa de manzana de cada variedad, la cual nos dio como resultado que la cáscara posee mayor capacidad antioxidante al de la pulpa. Con el método DPPH, la pulpa de manzana de la variedad *Delicious viscás* requirió una concentración de 336.29  $\mu\text{g/ml}$  para alcanzar un  $\text{Ic}_{50}$ , concentraciones muy altas comparado al de la cáscara seca de dicha variedad que requirió un 0.0597  $\mu\text{g/ml}$ , y la pulpa de manzana de variedad *Anna israel* requirió una concentración de 45.95  $\mu\text{g/ml}$  para alcanzar un  $\text{Ic}_{50}$ , concentración mayor al de la cáscara seca de dicha variedad que requirió un 0.153  $\mu\text{g/ml}$ . Con el método ABTS realizando la comparación al 0.5Mm trolox, la pulpa de la variedad *Delicious viscás* requirió una concentración de 12.49  $\mu\text{g/ml}$ , mayor al 0.034  $\mu\text{g/ml}$  que requirió su cáscara seca, y la pulpa de la variedad *Anna israel* requirió una concentración de 12.90  $\mu\text{g/ml}$  comparados al 0.094  $\mu\text{g/ml}$  de concentración que requirió su cáscara seca.

# **CAPÍTULO VI:**

## **COMPROBACIÓN DE HIPÓTESIS**

## 6.1 Contrastación de hipótesis general

**H<sub>0</sub>:** La capacidad antioxidante que presenta la cáscara de la manzana *Delicious viscas* no es mayor a la capacidad antioxidante que presenta la cáscara de la manzana *Anna israel*.

**H<sub>a</sub>:** La capacidad antioxidante que presenta la cáscara de la manzana *Delicious viscas* es mayor a la capacidad antioxidante que presenta la cáscara de la manzana *Anna israel*.

Ahora, para contrastar la hipótesis general de la investigación se tuvo en cuenta lo mencionado sobre la operacionalización de variables que dice: expresa las variables contenidas en la hipótesis, desagrega las variables contenidas en las hipótesis formuladas, las variables expresadas en términos abstractos usando como recurso la deducción para obtener de esta manera indicadores y posteriormente índices, a fin de viabilizar la contrastación de las hipótesis, es decir, cumplir con la exigencia de la verificación.(Portilla R.,1995). De lo citado, se tiene que las hipótesis específicas planteadas en la presente tesis al quedar estadísticamente contrastadas también por consecuencia la hipótesis general queda contrastada, porque de ella (hipótesis general) se desagregan o se deducen las hipótesis específicas N° 1 y N° 2. Luego, se rechaza la hipótesis nula.

## 6.2 Contrastación de hipótesis específicas

### 6.2.1 Contrastación de la hipótesis específica N°1:

**HE<sub>0</sub>:** La capacidad antioxidante que presenta la cáscara de la manzana *Delicious viscas* no es mayor a la capacidad antioxidante que presenta la cáscara de la manzana *Anna israel* con el método DPPH

**HE<sub>1</sub>:** La capacidad antioxidante que presenta la cáscara de la manzana *Delicious viscás* es mayor a la capacidad antioxidante que presenta la cáscara de la manzana *Anna israel* con el método DPPH

Entonces:

**1º Paso: Formulación de hipótesis estadísticas**

**H<sub>0</sub>:** No existe diferencias significativas de la capacidad antioxidante en la cáscara de manzana entre las dos variedades en estudio con el método DPPH

**H<sub>a</sub>:** Existe diferencias significativas de la capacidad antioxidante en la cáscara de manzana entre las dos variedades en estudio con el método DPPH

**2º Paso: Estadígrafo de prueba no paramétrica**

-Prueba de U Mann-Whitney para dos muestras independientes

**3º Paso: Determinar la región crítica**

Si se tiene que para el valor de probabilidad (vale decir *p-value*) igual o menor que 0.05 (5%), se rechaza la hipótesis nula (H<sub>0</sub>). y por consecuencia se acepta la hipótesis alterna (H<sub>a</sub>).

**4º Paso: Calculando con la Prueba de U Mann-Whitney para dos muestras independientes**

**Tabla 18**

Rangos de datos de la cáscara de manzana de las dos variedades (Método DPPH)

<i>C. Delicious viscás</i> Y <i>C. Anna israel</i>		N	Rango promedio	Suma de rangos
INHIBICIÓN %	1,00	5	7,00	35,00
	2,00	5	4,00	20,00
	Total	10		

Fuente: Programa SPSS versión 21

**Tabla 19**

Estadísticos de contraste<sup>b</sup>:  
Cáscara de manzana de las dos variedades (Método DPPH)

---

	INHIBICIÓN %
<b>U de Mann-Whitney</b>	<b>5,000</b>
W de Wilcoxon	20,000
Z	-1,567
<b>Sig. asintót. (bilateral)</b>	<b>,039</b>
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	,151 <sup>a</sup>

---

a. No corregidos para los empates.

b. Variable de agrupación: C.*Delicious viscas* y C. *Anna israel*

Fuente: Programa SPSS versión 21

### **5º Paso: Decisión sobre el rechazo o no de la hipótesis nula**

El valor U de Mann-Whitney, calculado anteriormente tiene un Sig. asintót. (bilateral) correspondiente a 0.039, el cual es menor al nivel de significancia 0.05; por lo tanto, se rechaza la hipótesis nula (H<sub>0</sub>) y se acepta la hipótesis alterna (H<sub>a</sub>) que menciona: existe diferencias significativas de la capacidad antioxidante en la cáscara de manzana entre las dos variedades en estudio con el método DPPH. Vale decir, la capacidad antioxidante que presenta la cáscara de la manzana *Delicious viscas* es mayor a la capacidad antioxidante que presenta la cáscara de la manzana *Anna israel* con el método DPPH.

### 6.2.2 Contrastación de la hipótesis específica N°2:

**HE<sub>0</sub>:** La capacidad antioxidante que presenta la cáscara de la manzana *Delicious viscas* no es mayor a la capacidad antioxidante que presenta la cáscara de la manzana *Anna israel* con el método ABTS

**HE<sub>1</sub>:** La capacidad antioxidante que presenta la cáscara de la manzana *Delicious viscas* es mayor a la capacidad antioxidante que presenta la cáscara de la manzana *Anna israel* con el método ABTS

Entonces:

#### 1° Paso: Formulación de hipótesis estadísticas

**H<sub>0</sub>:** No existe diferencias significativas de la capacidad antioxidante en la cáscara de manzana entre las dos variedades en estudio con el método ABTS

**H<sub>a</sub>:** Existe diferencias significativas de la capacidad antioxidante en la cáscara de manzana entre las dos variedades en estudio con el método ABTS

#### 2° Paso: Estadígrafo de prueba no paramétrica

Prueba de U Mann-Whitney para dos muestras independientes

#### 3° Paso: Determinar la región crítica

También, si se tiene que para el valor de probabilidad (vale decir *p-value*) igual o menor que 0.05 (5%), se rechaza la hipótesis nula (H<sub>0</sub>) y por consecuencia se acepta la hipótesis alterna (H<sub>a</sub>).

**4º Paso: Calculando con la Prueba de U Mann-Whitney para dos muestras independientes**

**Tabla 20**

Rangos de datos de la cáscara de manzana de las dos variedades (Método ABTS)

<i>C.Delicious viscas</i> y <i>C. Anna israel</i>	N	Rango promedio	Suma de rangos
1,00	5	6,80	34,00
TEAC	5	4,20	21,00
Total	10		

Fuente: Programa SPSS versión 21

**Tabla 21**

Estadísticos de contraste<sup>b</sup>:  
Cáscara de manzana de las dos variedades  
(Método ABTS)

	TEAC
<b>U de Mann-Whitney</b>	<b>6,000</b>
W de Wilcoxon	21,000
Z	-1,358
<b>Sig. asintót. (bilateral)</b>	<b>,045</b>
Sig. exacta [2*(Sig. unilateral)]	,222 <sup>a</sup>

a. No corregidos para los empates.

b. Variable de agrupación: *C.Delicious viscas*  
Y *C. Anna israel*

Fuente: Programa SPSS versión 21

### **5° Paso: Decisión sobre el rechazo o no de la hipótesis nula**

El valor U de Mann-Whitney, calculado anteriormente tiene un Sig. asintót. (bilateral) correspondiente a 0.045, teniendo inferior significancia 0.05; por lo tanto, rechazando la (H<sub>0</sub>) y aceptando la alterna (H<sub>a</sub>) que menciona: existe diferencias significativas de la capacidad antioxidante en la cáscara de manzana entre las dos variedades en estudio con el método ABTS. Es decir, la capacidad antioxidante que presenta la cáscara de la manzana *Delicious viscas* es mayor a la capacidad antioxidante que presenta la cáscara de la manzana *Anna israel* con el método ABTS.

## Conclusiones

- Según la prueba estadística U Mann-Whitney (No paramétrica) existen diferencias significativas de la capacidad antioxidante en la cáscara de manzana entre las dos variedades en estudio con el método DPPH y también con el método ABTS.
- Los parámetros de secado fueron: un tiempo de aproximado de 72 horas para la variedad *Delicoius viscas* y un tiempo aproximado de 54 horas para la variedad *Anna Israel*, ambos a una temperatura de 40°C.
- La humedad crítica que alcanzaron la cáscara seca de la variedad *Delicoius viscas* fue de 0.1220 (g<sub>H2O</sub>/g<sub>m.s.</sub>) y la cáscara seca de la variedad *Anna Israel* fue de 0.0909 (g<sub>H2O</sub>/g<sub>m.s.</sub>).
- La harina de cáscara de manzana *Delicious viscas* posee mayor capacidad antioxidante a la harina de cáscara de manzana *Anna israel*, con un  $I_{C50}$  de 0.0597 g/ml y 0.153 g/ml. Según el método DPPH.
- La harina de cáscara de manzana *Delicious viscas* posee mayor capacidad antioxidante con un TEAC de 0.5 Mm de trolox reactivo con 0.034 g/ml comparado a la harina de cáscara de manzana *Anna israel* reactivo con 0.094 g/ml. Según el método ABTS.
- El análisis sensorial de la harina de cascara de manzana *Delicious viscas*, tiene una aceptación de 53% en zumo de naranja, 37% en leche fresca UHT y 10% en agua mineral. Lo que indica que el producto deshidratado tiene una aceptación favorable. Mejor aún con el zumo de naranja que es el más aceptable ya que actuaría como un complemento ante la vitamina E de la naranja que también actúa como un antioxidante.
- Según el análisis microbiológico se encuentra dentro de los parámetros permisibles según (NTS 071 – MINSA / DIGESA).

## **RECOMENDACIONES**

Realizar estudios de capacidad antioxidante en otras variedades de manzana.

Investigar si la actividad antioxidante se relaciona directamente con los flavonoides que actúan en la pigmentación de la cáscara de manzana.

Investigar a que se debe que las variedades de manzana con mayor poder antioxidante tienen un proceso de oxidación más acelerado a otras de menor actividad antioxidante.

Realizar estudios de actividad antioxidante en otro tipo de desechos orgánicos de frutas o verduras.

Realizar estudios de costo y presupuestos para la producción de harina de cáscara de manzana a gran escala.

## FUENTES DE INFORMACIÓN

- Adam-Vizi, V. (2005). *Antioxidants and Redox Signaling. transport chain and non-electron transport chain sources*. 7(8),1140-1149.
- Agudo, Larrañaga, N. Martínez, C. Navarro, C. Quirós, J.R. Sánchez, M.J. Tormo, M.J. González, C.A. (2007). *American Journal Clinical Nutrition. Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC-Spain)*. 85(6), 1634-42.
- Antolovich, M.; Prenzler, P.D.; Patsalides, E.; McDonald, S.; Robards, K. (2002). *Methods for testing antioxidant activity*. *Analyst.*, 127, 183-198.
- Anzaldúa-Morales A. (1994). *La Evaluación Sensorial de los Alimentos en la Teoría y la Práctica*. Zaragoza: Editorial Acribia, S.A.
- Arena, E.; Fallico, B.; Maccarone, E. (2001). *Evaluation of antioxidant capacity of blood orange juices as influenced by constituents, concentration process and storage*. *Food Chem.*, 74, 423-427.
- Arnous, A.; Makris, D.; Kefalas, P. (2002). *Correlation of pigment and flavanol content with antioxidant properties in selected aged regional wines from Greece*. *J. Food Comp. Anal.*, 15, 655-665.
- Auroma, O.I. (2003). *Methodological considerations for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in plant foods*. *Mutation research*, 523-24: 9-20
- Benezer-Benezer, M. Castro-Mercado, E. y García Pineda, E. (2008). *Revista Mexicana de Fitopatología. La producción de Especies Reactivas de Oxígeno Durante la Expresión de la Resistencia a Enfermedades en Plantas*. 26(1), 56-61, 2008.
- Bors W, Heller W, Christa M Y Cols. (1990). *Methods Enzymol, Flavonoids as antioxidants: determination of radical-scavenging efficiencies*. 186:343-355.

- Borscak, J.D.; Covatta, F. (octubre de 2008). *Propagación sexual de especies frutales*. En Sozzi, Gabriel O. *Árboles frutales. Ecofisiología, cultivo y aprovechamiento*. 1ª reimpresión. Buenos Aires: Facultad de Agronomía. p. 105-126. ISBN 950-29-0974-7.
- Brand-Williams, W.; Cuvelier, M. E.; Berset, C. (1995). *Lebensmittel Wissemchaft und Technologie, Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity*. 28: 25-30
- Brand-Williams,W.; Cuvelier, M.E.; Berset, C. (1995). Use of free radical method to evaluuate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol.*, 22, 25-30.
- Cintra, R.M. G.; Mancini-Filho, J. (2001). *Efeito antioxidante de especiarias: avaliação e comparação de métodos in vitro e in vivo*. *Nutrire*, 22, 49-62.
- Dennis, Frank (2003). *Flowering, Pollination and Fruit Set and Development*. En Ferree, D. C.; Warrington, I. J. *Apples. Botany, Production and Uses*. Wallingford, Oxon: CABI Publishing. pp. 153–166. ISBN 0-85199-592-6.
- Dominique Thiery (1990). *Los Sistemas de Producción frutícolas en el Valle de Cañete*. Bull Inst. Fr. Et.
- Donaldson, K. Beswick, P.H. y Gilmour, P.S. (1996). *Toxicology Letters. Free radical activity associated with the surface of particles: a unifying factor in determining biological activity*. 88(1-3), 293-298.
- Dunkan, S. Farewell, A. Ballesteros, Radman, M. y Nystrom T.(2000). *Proceedings of the National Academy of Science. Protein oxidation in response to increased transcriptional or translational errors*. 97(11), 5746-5749.
- Díaz L. (2011). *La Observación*. México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- Elejalde, G.J.I. (2001). *Anales de medicina Interna. Oxidación, entre la vida y la enfermedad*. 18(1), 1-4, 2001.

- Ennis, D.M., Boelens, H., Haring, H. y Bowman, P. (1982). *Multivariate analysis in sensory evaluation. Food Technology*, 36 (11):83.
- Espin, J.C.; Sololer-Rivas, C.; Wichers, H.J.; García-Viguera, C. (2000). *Anthocyanin-based natural colorants: A new source of antiradical activity for foodstuff. J. Agric. Food Chem.* 48, 1588-1592, 2000.
- Espinosa, M. J. (2007) *Evaluación Sensorial de los Alimentos*. Versión digital. Editorial Universitaria, Cuba.
- Ferretti G, Bacchetti T, Belleggia A , Neri D. (2010). *Cherry antioxidants: from farm to table. Molecules.* 15(10): 6993-7005.
- Fogliano, V.; Verde, V.; Randazzo, G.; Ritieni, A. (1999). *J. Agric. Food Chem. Method for measuring antioxidant activity and its application to monitoring the antioxidant capacity of wines.* 47, 1035-1040.
- Folinn, C.; Ciocalteu, V. (1927). *J. Biol. Tyrosine and tryptophan determination in proteins.* 73, 627-650.
- FrankeL, E.N.; Waterhouse, A.L.; Teissedre. (1995). *J. Agric. Food Chem P.L. Principal phenolic phytochemicals in selected California wines and their antioxidant activity in inhibiting oxidation of human low density lipoproteins.*, 43, 890-894.
- Fromm, M., Loos, H.M., Bayha, S., Carle, R., Kammerer, D.R. (2012), *Food Chemistry. Recovery and characterisation of coloured phenolic preparations from apple seeds.*
- Giusti, M.M.; Wrolstad, R. (2001). *R.E., E.; John Wiley & Sons: New York. Anthocyanins. Characterization and measurement with UV-Visible spectroscopy. In: Current Protocols in Food Anal.Chem., Wrolstad. E. Unit. F1.2.1-13.*
- Guido, R.M.M. y Aalt, B. (1983). *FEBS Letter. Protection against lipid peroxidation by a microsomal glutathione-dependent labile factor.* 159(1-2), 24-28.

- Halliwell, B. (1996), *Annual Reviews. Antioxidants in humans health and disease*. 16, 33-50.
- Harborne, J. B.; Williams, C.A. (2000). *Phytochemistry. Advances in flavonoid research since 1992*. 52, 481-504.
- Hassimoto, N.M.A.; Genovese, M.I.; Lajolo, F.M. (2005). *J. Agric. Food Chem. Antioxidant activity of dietary fruits, vegetables and commercial frozen fruit pulps*. 53, 2928-2935.
- Heim, K.E.; Tagliaferro, A.R.; Bobilya, D.J. (2002). *J. Nutr. Biochem. Flavonoid antioxidants: chemistry, metabolism and structure-activity relationships*. 13, 572-584.
- Heinonen, A.; Meyer, A.S.; Frankel, E.N. (1998). *J. Agric. Food Chem Antioxidant activity of berry phenols on human low-density lipoprotein and liposome oxidation*. 46, 4107- 4112.
- Hertog, M.G.L.; Hollman, P.C.H.; Katan, M.B. (1992). *J. Agric. Food Chem. Content of potentially anti-carcinogenic flavonoids of 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in The Netherlands*. 40, 2379-2383.
- Huanqui, G.C. (1997). *Revista Peruana de Reumatología. Oxidantes-antioxidantes en reumatología*. 3(1), 35-40.
- Imeh, U.; Khokhar, S. (2002). *J. Agric. Food Chem. Distribution of conjugated and free phenols in fruits: antioxidant activity and cultivar variations*. 50, 6301- 6306.
- Imlay J.A. (2003). *Annals Review of Microbiology. Pathways of oxidative damage*. 57, 395-418.
- Ishige, K.; Schubert,D.; Sagara,Y. (2001). *Free Rad. Biol. Med. Flavonoids protect neuronal cells from oxidative stress by three distinct mechanisms*. 30, 433-446.

- Jimenez – Escrig A; Rincón M; Pulido R and Saura – Calixto F. (2001). Guava fruit (*Psidium guajava* L.) as a new source of antioxidant dietary fiber. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 49, 5489 – 5493.
- Katsube, N.; Keiko, I.; Tsushida, T.; Yamaki, K.; Kobori, M. (2003). *Induction of apoptosis in cancer cells by bilberry (Vaccinium myrtillus) and the anthocyanins*. *J. Agric. Food Chem.*, 51, 68-75.
- Kim, D-O.; Lee, K.W.; Lee, H.J.; Lee, C.Y. (2002). *Vitamin C equivalent antioxidant capacity (VCEAC) of phenolic phytochemicals*. *J. Agric. Food Chem.* 50, 3713-3717.
- Knekt, P.; Järvinen, R.; Reunanen, A.; Matela, J. (1996). *Flavonoid intake and coronary mortality in Finland: a cohort study*. *British Medical J.*, 312, 478-481.
- Kühnau J. (1976). *World Rev Nutr Diet. The Flavonoids: a class of semi-essential food components: their role in human nutrition*. 1976, 24:117-190.
- Kuskoski, E.M., Vega, J.M., Rios, J.J., Fett, R., Troncoso, A.M.; Asuero, A.G. (2003). *J. Agric. Food Chem. Characterization of anthocyanins from the fruits of baguaçu (Eugenia umbelliflora Berg)*. 51, 5450-5454.
- Kuskoski, E.M.; Asuero, A.G.; Troncoso, A.M.; Garcia-Parilla, M. C.; Fett, R. (2004). *Rev. Bras. Ciênc. Tecnol. Alim. Actividad antioxidante de pigmentos antocianicos*. v. 24, n.4, 691-693.
- Lapidot, T.; Harel, S.; Akiri, B.; Granit, R.; Kanner, J. (1999). *J. Agric. Food Chem. pH-Dependent forms of red wine anthocyanins as antioxidants*. 47, 67-70.
- Letan A. (1966). *J Food Sci. The relation of structure to antioxidant activity of quercetin and some of its derivatives*. 31:518- 523.

- Lieber, M.R. y Karanjawala, Z.E. (2004). *Nature. Ageing, repetitive genomes and DNA damage.* 5, 69-75.
- Lindley, M.G. (1998). *Trends in Food Science and Technology. The impact of food processing on antioxidants in vegetable oils, fruit and vegetables.* 9 (8/9): 336-40.
- Malaga, G. y Ordoñez, A.F.A. (2006). *Boletín de Pediatría. Crisis Hipertensivas.* 46(S1), 24-28.
- Markesbery, W.R. (1997). *Free Radical Biology & Medicine. Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease.* 23(1), 134-147.
- Miller, N.J.; Diplock, A.T.; Rice-Evans, C.A. (1995). *J. Agric. Food Chem. Evaluation of the total antioxidant activity as a marker of the deterioration of apple juice on storage.* 43, 1794-1801.
- Miller, N.J.; Rice-Evans, C.A. (1997). *Food Chem. The relative contributions of ascorbic acid and phenolic antioxidants to the total antioxidant activity of orange and apple fruit juices and blackcurrant drink.* 60, 331-337.
- Miquel J. (1989). *Handbook of free radicals and antioxidants. Vol 1. Boca Ratón, FL. Historical introduction of free radical and antioxidants biomedical research.* En: Miquel J, Quintanilha AT, Weber H (eds). CRC press. p.3-13
- Mohseni Salehi Monfared, S.S. Vahidi, H. Abdolghaffari, A.H. Nikfar, S. y Abdollahi, M. (2009). *World Journal of Gastroenterology. Antioxidant therapy in the management of acute, chronic and post-ERCP pancreatitis: a systematic review.* 15(36), 4481-90.
- Montoya, B.H.; Lemeshko, V.; López, J.B.; Pareja, A.; Urrego, R.; Torres, R. (2003). *Vitae. Actividad antioxidativa de algunos extractos vegetales.* 10, 2, 72-79.
- Morales A. (2000). *Malus en Flora Ibérica, RJB/CSIC, Madrid pdf*

- Moreira, A.V.B.; Mancini-Filho, J. (2003). Atividade antioxidante das especiarias mostarda, canela e erva doce em sistemas aquoso e lipídico. *Nutrire*, 24.
- Morgan, A. Richard. (1993). Book apples. *Koidzumi in acta phytotax. geobot.*3:170-196.
- Moure, A.; Cruz, J.M.; Franco, D.; Dominguez, M.J.; Sineiro, J.; Domínguez, H.; Núñez, A.J.; Parajó; J.C. (2001). *Food Chem. Natural antioxidants from residual sources.* 72, 145-171.
- Moyer, R.A.; Hummer, K. E.; Finn, C.E.; Frei, B. Wrolstad R.E. (2002). *J. Agric. Food Chem. Anthocyanins, phenolics, and Antioxidants capacity in diverse small fruits: Vaccinium, Rubus, and Ribes.* 50, 519-525.
- Murray, R.K., et al. (1994). *Bioquímica de Harper.* México: El manual moderno, 135-142.
- Mellado B. (2015). *Diseños Experimentales.* México: Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
- Neta P, Huie Re, MAruthamuthy P. Y. Steenken S. (1989). *Arch Biochem Biophys. Solvent effects in the reactions of alkyl peroxy radical with organic reductants. Evidence for proton-transfer-mediated electron transfer.* 93:7654.
- Nguyen, A.T. y Donnalson, R.P. (2005). *Archives of Biochemistry and biophysics. Metal-Cattalyzed oxidation induces carbonylation of peroxisomal proteins and loss of enzymatic activities.* 439, 25-31.
- Nuttall, S.L. Kendall, M.J. y Martin, U. (1999). *Quarterly Journal of Medicine.* Antioxida therapy for the prevention of cardiovascular disease. 92, 239-244.
- Nyström, T. (2003). *The EMBO Journal. Role of oxidative carbonilation in quality control and senescence.* 60, 1333- 1341.
- Pedrero, D.L. y Pangborn, R.M. (1989). *Evaluación sensorial de los alimentos.* Alambra Mexicana, México. 251 p.

- Perl-Treves, R. y Perl, A. (2002). *Oxidative stress in plants. Oxidative Stress: An introduction in Inzé, D. and Van Montagu M. (ed).* London: Taylor & Francis, 1-32.
- Pinelo, M.; Monzocco, L.; Nuñez, M.J.; Nicoli, M.C. (2004). *J. Agric. Food Chem. Interaction among phenolics in food fortification: negative synergism on antioxidant capacity.* 52, 1177-1180.
- Prior, R.L.; Cao, G. (1999). *Free Rad. Biol. Med. In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods.* 27, 11/12, 1173-1181.
- Prior, R.L.; Cao, G.; Martin, A.; Sofic, E.; Mce-Wan, J.; O'Brien, C.; Lischner, N.; Ehlenfeldt, M.; Kalt, W.; Krewer, G.; Mainland, C.M. (1998). *J. Agric. Food Chem. Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity and variety of Vaccinium specie.* 46, 2686-2693.
- Pellegrini, N.; Proteggente, A.; Pannala, A.; Yang, M.; Rice-Evans, C. (1999). *Free Radic. Biol. Med. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay.* 26, 9/10, 1231-1237.
- Portilla R. (1995). *La Tesis Universitaria.* 1º Ed. Lima-Perú: Editorial Mantaro.
- Ramírez P. (2010). *Medida de Magnitudes.* España: Universidad Politécnica de Madrid.
- Rice-Evans, C.A.; Miller, N.J.; Papaganda, G. (1996). *Free Radical Biol. Med. Structure antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids.* 20, 933-956.
- Robards, K.; Prenzler, P.D.; Tucker, G.; Swatsitang, P.; Glover, W. (1999). *Food Chem. Phenolic compounds and their role in oxidative processes in fruits.* 66, 401-436.
- Roberts, C.K. Y Sindhu, K.K. (2009). *Life Sciences. Oxidative stress and metabolic syndrome.* 80, 705-712.

- Roberts,W.G.; Gordon,M.H. (2003). *J. Agric. Food Chem. Determination of the antioxidant activity of fruits and vegetables by a liposome assay.* 51, 1486-1493.
- Roche, C.E. Y Romero, A.D. (1994). *Medicina clínica.* Estrés oxidativo y degradación de proteínas. 103(5), 189-196.
- Rodriguez F. y Ruestas L. (2005). *El Cultivo del Manzano en el Perú.* Instituto Nacional de Investigación y Extensión Agraria. Lima –Perú. Manual R.I. N°2
- Ross,J.A.; Kasum, C.M. (2002). *Annu. Rev. Nutr. Dietary Flavonoids:Bio-availability, metallic effects, and safety.* 22, 19-34.
- Sánchez-Moreno, C. (2002). *Compuestos polifenólicos: efectos fisiológicos. Actividad antioxidante.* Alimentaria.,ene-feb, 29-40.
- Sánchez-Moreno,C.;Larrauri,J.A.; Saura-Calixto, F.A (1998). *J. Sci. Food Agric.* procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. 76, 270-276.
- Satué-Gracia, M.T.; Heinonen, M.;Frankel, E.N. (1997). *J. Agric. Food Chem.* Anthocyanin as antioxidants on human low-density lipoprotein and lecithin-liposome systems. 45, 3362-3367.
- Sauer, Jonathan D. (1993). *Historical Geography of Crop Plants: A Select Roster.* CRC Press. p. 109. ISBN 0-8493-8901-1.
- Schramm,D.D. Ygerman,J.B. (1998). *J. Nutr. Biochem.* Potential effects of flavonoids on the etiology of vascular disease. 9, 560-566.
- Sellappan,S.; Akoh, C.C.; Krewer,G. (2002). *J. Agric. Food Chem.* Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-Grown blueberries and blackberries. 50, 2432-2438.
- Sidel, J.L. y Stone, H. (1976). *Food Technology.* Experimental design and analysis of sensory tests. 30(11):32.

- Sozzi, Gabriel O., ed. (octubre de 2008). «Ciclo de obtención de plantas en vivero». *Árboles frutales. Ecofisiología, cultivo y aprovechamiento*. 1ª reimpression. Buenos Aires: Facultad de Agronomía. p. 127-131. ISBN 950-29-0974-7.
- Spagna,G., Tomaino,A., Cimino,F.,Barbagallo,R., Ventura, D., Bonina, F. Saija, A. (2002). *J. Sci. Food Agric. Chemical análisis and photoprotective effect of an extract of wine from Jacques grapes*. 82, 1867-1874.
- Sun, J.; Chu, Y.F.; Wu,X.; Liu,R.H. (2002). *J. Agric. Food Chem. Antioxidant and antiproliferative activities of common fruits*. 50, 7449–7454.
- Tabernerero, M.; Serrano, J.; Saura-Calixto, F. (2006). *International Journal of Food Science and Technology. The antioxidant capacity of cocoa products: contribution to the Spanish diet*. 41: 28-32
- Tsuda, T.; Watanabe, M.; Ohshima, K.; Norinobu, S.; Choi, S.W.; Kawakishi, S., Osawa, T. (1994). *J. Agric. Food Chem. Antioxidative activity of the anthocyanin pigments cyanidin 3-O-β-D glucoside and cyanidin*. 42, 2407-2410.
- Turrens, F.J. (2003). *Journal Physiology. Mitochondrial formation of reactive oxygen species*. 552(2), 335-344.
- Ursini,F.; Tubaro,F.;Rapuzzi,P.; Zamburlini, A.; Maiorino, M. (1996). *Wine antioxidants: Effects in vitro and in vivo. Wine and Human Health*. Udine 9-11.
- Van Den Berg,R.; Haenen, G.R.M.M.; Van Den Berg, H.; Bast, A. (1999). *Food Chem. Applicability of an improved trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures*. 66, 511-517.
- Venereo, G.J.R. (2002). *Revista Cubana Medico Militar. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes*. 31(2), 126- 133.

Villaño,D.; Fernández-Pachón, A.M.; Troncoso, A.M.; Garcia-Parrilla, M.C. (2004). *Talanta. The antioxidant activity of wines determined by the ABTS method: influence of sample dilution and time.* 64, 501-509.

Wolfe K, Wu X, Liu RH(2003). *J Agrid food Chem.* Actividad Antioxidante de la Piel de Manzana.

Wolfe, K.A. (1979). *Food Technology. Use of reference standards for sensory evaluation of product quality.* 33(9):43.

Yen, G.C.; Duh, P. D. y Tsai, H. L. (2002). *Food Chemistry. Antioxidant and pro-oxidant properties of ascorbic acid and galic acid.* 79; 307-13

## **INFORMACIÓN VIRTUAL**

1. <http://www.monografias.com/trabajos45/manzano/manzano2.shtml#ixzz3e1kZ965>.(Consultado el 01 de junio del 2017)
2. <http://www.cocinasalud.com/propiedades-y-beneficios-de-las-manzanas>. (Consultado el 03 de junio del 2017)
3. <http://issuu.com/revistaindustriaalimentaria/docs/revista26> . (Consultado el 15 de junio del 2017)
4. Servicio Nacional de Sanidad Agraria (SENASA) (2015). <https://app.senasa.gob.pe>. (Consultado el 15 de julio del 2018)

# ANEXOS

**Anexo 1. Esquema gráfico del proceso de determinación de la capacidad antioxidante**



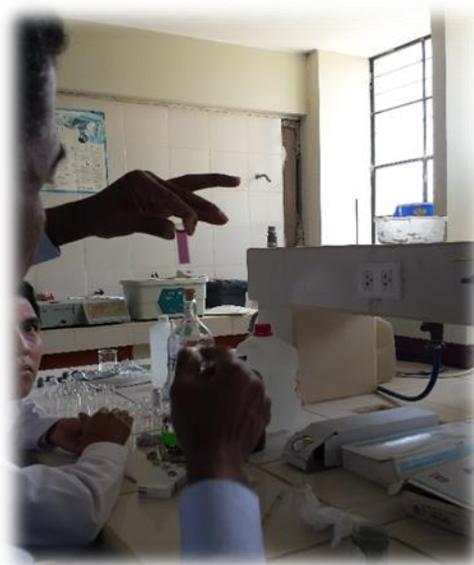
**Figura 30.** Reactivo DPPH



**Figura 31.** Dosificación del reactivo



**Figura 32.** Disolución con etanol



**Figura 33.** Preparación del blanco



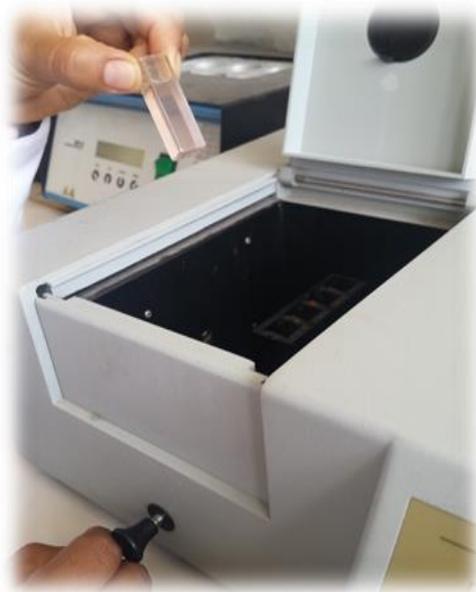
**Figura 34.** Absorvancia del blanco



**Figura 35.** Preparación de las muestras en diales



**Figura 36.** Muestras por duplicado



**Figura 37.** Medida de absorvancia de las muestras

## Anexo 2. Ensayos de porcentaje de inhibición con ambos métodos.

**Tabla 22**

Porcentaje de inhibición de un ensayo duplicado en cáscara, método DPPH.

HARINA DE CÁSCARA DE MANZANA								
Concentraciones %	<i>Delicious viscas</i>				<i>Ana israel</i>			
	Grupo a	Grupo b	Promedio	I%	Grupo a	Grupo b	Promedio	I%
0.2	0.020	0.02	0.020	97.692	0.225	0.310	0.268	68.566
0.1	0.196	0.199	0.198	77.207	0.603	0.594	0.599	29.671
0.05	0.474	0.449	0.462	46.740	0.774	0.776	0.775	8.931
0.025	0.666	0.605	0.636	26.659	0.841	0.838	0.840	1.351
0.0125	0.762	0.759	0.761	12.233				
blanco	0.874	0.859	0.867		0.854	0.848	0.851	

**Tabla 23**

Porcentaje de inhibición de un ensayo duplicado en cáscara, método ABTS.

HARINA DE CÁSCARA DE MANZANA													
	<i>Delicious viscas</i>						<i>Ana israel</i>						
	PRUEBA 1			PRUEBA 2			PRUEBA 1			PRUEBA 2			
Concentraciones %	Abs. inicial	Abs. final	Abs. corregida	Abs. inicial	Abs. final	Abs. corregida	Abs. inicial	Abs. final	Abs. corregida	Abs. inicial	Abs. final	Abs. corregida	
0.17	0.693	0.025	0.668	0.694	0.028	0.666	0.656	0.166	0.490	0.675	0.102	0.573	
0.085	0.707	0.050	0.657	0.668	0.024	0.644	0.653	0.354	0.299	0.677	0.294	0.383	
0.0425	0.691	0.290	0.401	0.651	0.246	0.405	0.674	0.475	0.199	0.673	0.435	0.238	
0.0213	0.663	0.412	0.251	0.689	0.420	0.269	0.647	0.526	0.121	0.674	0.525	0.149	
0.0106	0.663	0.487	0.176	0.719	0.491	0.228	0.686	0.566	0.120	0.670	0.572	0.098	

**Tabla 24**

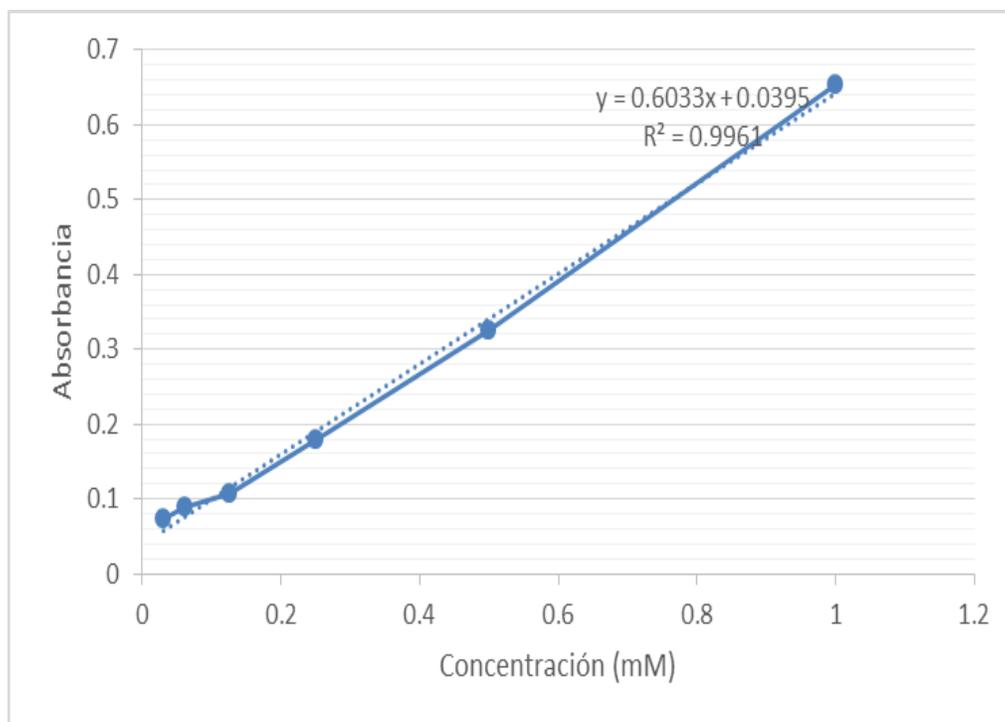
Resultados de las lecturas de las soluciones estándares de Trolox en el método de ABTS.

<b>Concentración de Trolox</b>	<b>Absorbancia inicial</b>	<b>Absorbancia final</b>	<b>Absorbancia corregida</b>
1 mM	0.661	0.011	0.65
	0.671	0.015	0.656
	0.668	0.013	0.655
0,5 mM	0.668	0.344	0.324
	0.664	0.338	0.326
	0.673	0.349	0.324
0,25 mM	0.667	0.487	0.18
	0.669	0.493	0.176
	0.674	0.495	0.179
0,125 mM	0.671	0.568	0.103
	0.663	0.556	0.107
	0.67	0.562	0.108
0,0625 mM	0.677	0.589	0.088
	0.67	0.583	0.087
	0.673	0.585	0.088
0,03125 mM	0.66	0.592	0.068
	0.669	0.593	0.076
	0.673	0.596	0.077
0,01562 mM	0.668	0.602	0.066
	0.672	0.608	0.064
	0.665	0.597	0.068

**Tabla 25**

Valores de la curva de calibración de Trolox por el método de ABTS.

mM Trolox	Absorbancia	SD	CV%
1 mM	0.654	0.0032146	0.49
0,5 mM	0.325	0.0011547	0.36
0,25 mM	0.178	0.0020817	1.17
0,125 mM	0.106	0.0026458	2.5
0,0625 mM	0.088	0.0005774	0.66
0,03125 mM	0.074	0.0049329	6.7



**Figura 38.** Curva de calibración de trolox

### Anexo 3. Modelo de la ficha para la encuesta de evaluación sensorial

N° .....	
FICHA DE EVALUACIÓN	
PRUEBA DE PREFERENCIA AMPLIADA	
NOMBRES Y APELLIDOS:	FECHA:
.....	.....
1. INDICACIONES:	
Evalúe las muestras de naranja, leche y agua con la harina de cáscara de manzana <b>Delicius Viscas</b> , en el orden indicado, y ordénelas de acuerdo a su preferencia en cuanto al sabor, colocando en primer (1) lugar la que prefiera más hasta llegar al último lugar (3) donde colocara la que prefiera menos.	
Producto: naranja (234), leche (347) y agua (115)	
Código	Orden de preferencia en cuanto al sabor
2. OBSERVACIONES:	
MUCHAS GRACIAS	

#### Anexo 4. Resultados de la prueba de preferencia ampliada.

<i>JUECES</i>	<i>CODIGOS DE MUESTRAS</i>		
	115	234	347
1	2	1	3
2	3	2	1
3	2	1	3
4	3	1	2
5	1	2	3
6	3	1	2
7	3	1	2
8	3	2	1
9	2	1	3
10	2	3	1
11	3	2	1
12	3	1	2
13	2	1	3
14	2	3	1
15	3	2	1
16	3	1	2
17	2	3	1
18	3	2	1
19	2	1	3
20	2	1	3
21	1	2	3
22	2	1	3
23	3	2	1
24	2	1	3
25	2	3	1
26	3	1	2
27	3	1	2
28	2	1	3
29	3	1	2
30	3	1	2
<i>TOTAL</i>	73	46	61

## Anexo 5: Prueba no paramétrica de Friedman

### 1. Hipótesis del análisis sensorial

**Ho:** No existe diferencia significativa en la preferencia de las muestras.

**Ha:** Al menos una de las muestras tiene diferente preferencia con respecto a las demás.

### 2. Verificación

$$R_{..} = \frac{N * K(K + 1)}{2} = 180$$

### 3. Obtención del estadístico de Friedman $\chi^2$ calculado y el $\chi^2$ tabular

$$\chi^2_c = \frac{12 * \sum_{i=1}^4 R_i^2}{N * K(K + 1)} - 3 * N(K + 1) = 12.2$$

$$\chi^2_t = \{(1 - \alpha), (K - 1), (N - 1)(K - 1)\} = 3.142$$

### 4. Prueba de comparación de Friedman

$$F = t * \sqrt{\frac{2 * N * (A2 - B2)}{(N - 1)(K - 1)}} = 14.08$$

$$t = \left(1 - \frac{\alpha}{2}, (N - 1) * (k - 1)gl\right) = 2.0021$$

$$A2 = \frac{N * K(K + 1)(2K + 1)}{6} = 420$$

$$B2 = \frac{\sum_{i=1}^4 R_i^2}{N} = 372.2$$

N: número de jueces

K: número de muestras

### 5. Obtención de la comparación de Friedman

COMPARACIONES	DIFERENCIA	VALOR F	RESULTADO
R2-R3	46-61=15	14.08	Se rechaza Ho
R2-R1	46-73=27	14.08	Se rechaza Ho
R3-R1	61-73=12	14.08	Se acepta Ho

- R1: Harina de cáscara de manzana en agua
- R2: Harina de cáscara de manzana en zumo de naranja
- R3: Harina de cáscara de manzana en leche esterilizada

En conclusión, el tratamiento R2 es preferido significativamente, a nivel del 5%  
**Anexo 6. Resultado del análisis microbiológico**



**INFORME DE ENSAYO**  
**N° N0724 - 2019**

**Ciente:** JESSICA HUARIPATA ROJAS  
**Dirección:** Calle Abraham Valdelomar R-4 - Los Aquijes - Ica  
**R.U.C.:** 0004455365  
**e-mail:** beatriz\_1536@hotmail.com  
**Nombre del Producto:** CASCARA DE MANZANA  
**Información proporcionada por el cliente:** M1: CASCARA DE MANZANA ISRAEL  
M2: CASCARA DE MANZANA DELICIA  
**Características de la muestra:** Presentación y Tipo de Envase: A granel en bolsa de polietileno transparente cerrada.  
**Cantidad recibida:** 50 g de cada muestra  
**Fecha de recepción:** 04 de febrero de 2019  
**Fecha de ejecución de ensayos:** Del 04 al 09 de febrero de 2019

ENSAYOS MICROBIOLÓGICOS				
N°	Ensayo	Resultado		Unidades
		M1	M2	
01	N. Aerobios mesófilos	16x10 <sup>2</sup>	91x10	UFC/g
02	N. Mohos y Levaduras	<10	<10	UFC/g
03	N. Coliformes totales	<10	<10	UFC/g
04	Det. Salmonella sp.	Ausencia	Ausencia	/25g

**Métodos de ensayo utilizados:**

01. AOAC 990.12, Cap. 17.2.07, 20Th Ed.: 2016 Aerobic Plate Count in Foods.
02. AOAC 997.02, Cap. 17.2.09, 20Th Ed.: 2016 Yeast and Mold Counts in Foods.
03. AOAC 991.14, Cap. 17.3.04, 20Th Ed.: 2016 Coliform and *Escherichia coli* Counts in Foods.
04. ICMSF Microorganismos de los Alimentos. Su significado y métodos de enumeración. Método 1, Pág. 172-176, 2da Ed. Reimpresión 2000: 1983 *Salmonella* sin determinación serológica.

- Los resultados del presente Informe de Ensayo se relaciona únicamente a las muestras analizadas. No es un certificado de conformidad, ni certificado del sistema de calidad de quien produce la muestra.
- CERTILAB no es responsable de la información proporcionada por el cliente.
- Este documento al ser emitido sin el símbolo de acreditación, no se encuentra dentro del marco de la acreditación otorgada por INACAL-DA (Declaración exigida por el Reglamento de Uso del Símbolo de Acreditación y Declaración de la Condición de Acreditado DA-acr-05R. Sin embargo, el organismo emisor está ACREDITADO ante el INACAL).
- CERTILAB es responsable del Informe de Ensayo en sus versiones original y copia impresas, reproducciones adicionales son responsabilidad del cliente o usuario del documento.
- El presente Informe tiene una vigencia de 01 año después de la fecha de emisión.

San Miguel, 11 de febrero de 2019

  
**Biol. Sara León Marín**  
Laboratorio de Microbiología  
C.B.P. 8889

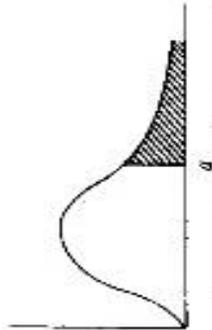
Informe de Ensayo N° N0724-2019

Pág. 1 de 1

**CERTIFICADORA Y LABORATORIOS ALAS PERUANAS S.A.C.**  
Av. La Paz 1598, San Miguel, Lima - PERÚ  
Teléfono: (511) 578-4986 - 578-4970 - 578-5062 - 578-4542 E-mail: certilab@certilabperu.com

Anexo 7. Tabla de distribución de Friedman

**Tabla 6** (Continuación). Distribución  $F, P [F(m; n) \geq a] = 0,05$



Grados de libertad del denominador	Grados de libertad del numerador														$\infty$				
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20	24		30	40	60	120
1	161,40	199,50	215,70	224,60	230,20	234,90	236,80	238,90	240,50	241,90	243,90	245,90	248,00	249,10	250,10	251,10	252,20	253,30	254,30
2	18,51	19,00	19,16	19,25	19,30	19,33	19,35	19,37	19,38	19,40	19,41	19,43	19,45	19,45	19,46	19,47	19,48	19,49	19,50
3	10,13	9,55	9,28	9,12	9,01	8,94	8,89	8,85	8,81	8,79	8,74	8,70	8,66	8,64	8,62	8,59	8,57	8,55	8,53
4	7,71	6,94	6,59	6,39	6,26	6,16	6,09	6,04	6,00	5,96	5,91	5,86	5,80	5,77	5,75	5,72	5,69	5,66	5,63
5	6,61	5,79	5,41	5,19	5,05	4,95	4,88	4,82	4,77	4,74	4,68	4,62	4,56	4,53	4,50	4,46	4,43	4,40	4,36
6	5,99	5,14	4,76	4,53	4,39	4,28	4,21	4,15	4,10	4,06	4,00	3,94	3,87	3,84	3,81	3,77	3,74	3,70	3,67
7	5,59	4,74	4,35	4,12	3,97	3,87	3,79	3,73	3,68	3,64	3,57	3,51	3,44	3,41	3,38	3,34	3,30	3,27	3,23
8	5,32	4,46	4,07	3,84	3,69	3,58	3,50	3,44	3,39	3,35	3,28	3,22	3,15	3,12	3,08	3,04	3,01	2,97	2,93
9	5,12	4,26	3,86	3,63	3,48	3,37	3,29	3,23	3,18	3,14	3,07	3,01	2,94	2,90	2,86	2,83	2,79	2,75	2,71
10	4,96	4,10	3,71	3,48	3,33	3,22	3,14	3,07	3,02	2,98	2,91	2,85	2,77	2,74	2,70	2,66	2,62	2,58	2,54
11	4,84	3,98	3,59	3,36	3,20	3,09	3,01	2,95	2,90	2,85	2,79	2,72	2,65	2,61	2,57	2,53	2,49	2,45	2,40
12	4,75	3,89	3,49	3,26	3,11	3,00	2,91	2,85	2,80	2,75	2,69	2,62	2,54	2,51	2,47	2,43	2,38	2,34	2,30
13	4,67	3,81	3,41	3,18	3,03	2,92	2,83	2,77	2,71	2,67	2,60	2,53	2,46	2,42	2,38	2,34	2,30	2,25	2,21
14	4,60	3,74	3,34	3,11	2,96	2,85	2,76	2,70	2,65	2,60	2,53	2,46	2,39	2,35	2,31	2,27	2,22	2,18	2,13

\* Multiplicar por 100.

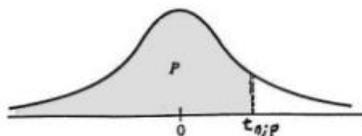
Distribución F.  $P [F(m; n) \geq a] = 0,05$



Grados de libertad del denominador	Grados de libertad del numerador																		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20	24	30	40	60	120	$\infty$
15	4,54	3,68	3,29	3,06	2,90	2,79	2,71	2,64	2,59	2,54	2,48	2,40	2,33	2,29	2,25	2,20	2,16	2,11	2,07
16	4,49	3,63	3,24	3,01	2,85	2,74	2,66	2,59	2,54	2,49	2,42	2,35	2,28	2,24	2,19	2,15	2,11	2,06	2,01
17	4,45	3,59	3,20	2,96	2,81	2,70	2,61	2,55	2,49	2,45	2,38	2,31	2,23	2,19	2,15	2,10	2,06	2,01	1,96
18	4,41	3,55	3,16	2,93	2,77	2,66	2,58	2,51	2,46	2,41	2,34	2,27	2,19	2,15	2,11	2,06	2,02	1,97	1,92
19	4,38	3,52	3,13	2,90	2,74	2,63	2,54	2,48	2,42	2,38	2,31	2,23	2,16	2,11	2,07	2,03	1,98	1,93	1,88
20	4,35	3,49	3,10	2,87	2,71	2,60	2,51	2,45	2,39	2,35	2,28	2,20	2,12	2,08	2,04	1,99	1,95	1,90	1,84
21	4,32	3,47	3,07	2,84	2,68	2,57	2,49	2,42	2,37	2,32	2,25	2,18	2,10	2,05	2,01	1,96	1,92	1,87	1,81
22	4,30	3,44	3,05	2,82	2,66	2,55	2,46	2,40	2,34	2,30	2,23	2,15	2,07	2,03	1,98	1,94	1,89	1,84	1,78
23	4,28	3,42	3,03	2,80	2,64	2,53	2,44	2,37	2,32	2,27	2,20	2,13	2,05	2,01	1,96	1,91	1,86	1,81	1,76
24	4,26	3,40	3,01	2,78	2,62	2,51	2,42	2,36	2,30	2,25	2,18	2,11	2,03	1,98	1,94	1,89	1,84	1,79	1,73
25	4,24	3,39	2,99	2,76	2,60	2,49	2,40	2,34	2,28	2,24	2,16	2,09	2,01	1,96	1,92	1,87	1,82	1,77	1,71
26	4,23	3,37	2,98	2,74	2,59	2,47	2,39	2,32	2,27	2,22	2,15	2,07	1,99	1,95	1,90	1,85	1,80	1,75	1,69
27	4,21	3,35	2,96	2,73	2,57	2,46	2,37	2,31	2,25	2,20	2,13	2,06	1,97	1,93	1,88	1,84	1,79	1,73	1,67
28	4,20	3,34	2,95	2,71	2,56	2,45	2,36	2,29	2,24	2,19	2,12	2,04	1,96	1,91	1,87	1,82	1,77	1,71	1,65
29	4,18	3,33	2,93	2,70	2,55	2,43	2,35	2,28	2,22	2,18	2,10	2,03	1,94	1,90	1,85	1,81	1,75	1,70	1,64
30	4,17	3,32	2,92	2,69	2,53	2,42	2,33	2,27	2,21	2,16	2,09	2,01	1,93	1,89	1,84	1,79	1,74	1,68	1,62
40	4,08	3,23	2,84	2,61	2,45	2,34	2,25	2,18	2,12	2,08	2,00	1,92	1,84	1,79	1,74	1,69	1,64	1,58	1,51
60	4,00	3,15	2,76	2,53	2,37	2,25	2,17	2,10	2,04	1,99	1,92	1,84	1,75	1,70	1,65	1,59	1,53	1,47	1,39
120	3,92	3,07	2,68	2,45	2,29	2,17	2,09	2,02	1,96	1,91	1,83	1,75	1,66	1,61	1,55	1,50	1,43	1,35	1,25
$\infty$	3,84	3,00	2,60	2,37	2,21	2,10	2,01	1,94	1,88	1,83	1,75	1,67	1,57	1,52	1,46	1,39	1,32	1,22	1,00

\* Multiplicar por 100.

## Anexo 8. Tabla de distribución de T



La tabla A.4 da distintos valores de la función de distribución en relación con el número de grados de libertad; concretamente, relaciona los valores  $p$  y  $t_{n;p}$  que satisfacen

$$P(t_n \leq t_{n;p}) = p.$$

$n$	$t_{0,55}$	$t_{0,60}$	$t_{0,70}$	$t_{0,80}$	$t_{0,90}$	$t_{0,95}$	$t_{0,975}$	$t_{0,99}$	$t_{0,995}$
1	0,1584	0,3249	0,7265	1,3764	3,0777	6,3138	12,7062	31,8205	63,6567
2	0,1421	0,2887	0,6172	1,0607	1,8856	2,9200	4,3027	6,9646	9,9248
3	0,1366	0,2767	0,5844	0,9785	1,6377	2,3534	3,1824	4,5407	5,8409
4	0,1338	0,2707	0,5686	0,9410	1,5332	2,1318	2,7764	3,7469	4,6041
5	0,1322	0,2672	0,5594	0,9195	1,4759	2,0150	2,5706	3,3649	4,0321
6	0,1311	0,2648	0,5534	0,9057	1,4398	1,9432	2,4469	3,1427	3,7074
7	0,1303	0,2632	0,5491	0,8960	1,4149	1,8946	2,3646	2,9980	3,4995
8	0,1297	0,2619	0,5459	0,8889	1,3968	1,8595	2,3060	2,8965	3,3554
9	0,1293	0,2610	0,5435	0,8834	1,3830	1,8331	2,2622	2,8214	3,2498
10	0,1289	0,2602	0,5415	0,8791	1,3722	1,8125	2,2281	2,7638	3,1693
11	0,1286	0,2596	0,5399	0,8755	1,3634	1,7959	2,2010	2,7181	3,1058
12	0,1283	0,2590	0,5386	0,8726	1,3562	1,7823	2,1788	2,6810	3,0545
13	0,1281	0,2586	0,5375	0,8702	1,3502	1,7709	2,1604	2,6503	3,0123
14	0,1280	0,2582	0,5366	0,8681	1,3450	1,7613	2,1448	2,6245	2,9768
15	0,1278	0,2579	0,5357	0,8662	1,3406	1,7531	2,1314	2,6025	2,9467
16	0,1277	0,2576	0,5350	0,8647	1,3368	1,7459	2,1199	2,5835	2,9208
17	0,1276	0,2573	0,5344	0,8633	1,3334	1,7396	2,1098	2,5669	2,8982
18	0,1274	0,2571	0,5338	0,8620	1,3304	1,7341	2,1009	2,5524	2,8784
19	0,1274	0,2569	0,5333	0,8610	1,3277	1,7291	2,0930	2,5395	2,8609
20	0,1273	0,2567	0,5329	0,8600	1,3253	1,7247	2,0860	2,5280	2,8453
21	0,1272	0,2566	0,5325	0,8591	1,3232	1,7207	2,0796	2,5176	2,8314
22	0,1271	0,2564	0,5321	0,8583	1,3212	1,7171	2,0739	2,5083	2,8188
23	0,1271	0,2563	0,5317	0,8575	1,3195	1,7139	2,0687	2,4999	2,8073
24	0,1270	0,2562	0,5314	0,8569	1,3178	1,7109	2,0639	2,4922	2,7969
25	0,1269	0,2561	0,5312	0,8562	1,3163	1,7081	2,0595	2,4851	2,7874
26	0,1269	0,2560	0,5309	0,8557	1,3150	1,7056	2,0555	2,4786	2,7787
27	0,1268	0,2559	0,5306	0,8551	1,3137	1,7033	2,0518	2,4727	2,7707
28	0,1268	0,2558	0,5304	0,8546	1,3125	1,7011	2,0484	2,4671	2,7633
29	0,1268	0,2557	0,5302	0,8542	1,3114	1,6991	2,0452	2,4620	2,7564
30	0,1267	0,2556	0,5300	0,8538	1,3104	1,6973	2,0423	2,4573	2,7500
40	0,1265	0,2550	0,5286	0,8507	1,3031	1,6839	2,0211	2,4233	2,7045
50	0,1263	0,2547	0,5278	0,8489	1,2987	1,6759	2,0086	2,4033	2,6778
60	0,1262	0,2545	0,5272	0,8477	1,2958	1,6706	2,0003	2,3901	2,6603
80	0,1261	0,2542	0,5265	0,8461	1,2922	1,6641	1,9901	2,3739	2,6387
100	0,1260	0,2540	0,5261	0,8452	1,2901	1,6602	1,9840	2,3642	2,6259
120	0,1259	0,2539	0,5258	0,8446	1,2886	1,6577	1,9799	2,3578	2,6174
$\infty$	0,126	0,253	0,524	0,842	1,282	1,645	1,960	2,327	2,576