

Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión

Facultad de Ingeniería Agraria, Industrias Alimentarias y Ambiental

Escuela Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias



TESIS

**Determinación de Capacidad Antioxidante y Fenoles Totales en
Semillas de *Vitis vinifera L.* “Vid”, del Valle de Cañete**

**PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE
INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

PRESENTADO POR:

BACH. CONTRERAS ORELLANA, DEISY ELIZZETH

ASESOR:

ING. RICARDO ANÍBAL, ALOR SOLORZANO

HUACHO – 2019

Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión

Facultad de Ingeniería Agraria, Industrias Alimentarias y Ambiental

Escuela Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias



TESIS

**Determinación de Capacidad Antioxidante y Fenoles Totales en
Semillas de *Vitis vinifera L.* “Vid”, del Valle de Cañete**

Ing. Edwin Antonio Macavilca Ticlayauri

PRESIDENTE

Ing. Luis Miguel Chávez Barbery

SERETARIO

Ing. Sarela Carmela Alfaro Cruz

VOCAL

Ing. Ricardo Aníbal Alor Solórzano

ASESOR

HUACHO – 2019

DEDICATORIA

A Dios por darme la oportunidad de vivir y por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante el periodo de estudio pudiéndola terminar satisfactoriamente

A mis padres por ser el pilar fundamental en todo lo que soy, en toda mi educación, tanto académica como en la vida, por su incondicional apoyo perfectamente mantenido a través del tiempo.

A mis hermanos por las palabras de motivación y apoyo moral para no rendirme y seguir con mis objetivos.

AGRADECIMIENTO

En primera instancia agradezco a mis formadores, personas de gran sabiduría quienes se han esforzado por ayudarme a llegar al punto donde me encuentro sencillo no ha sido el proceso, pero gracias a las ganas de transmitirme sus conocimientos y dedicación que los ha regido, he logrado importantes objetivos como culminar el desarrollo de mi tesis con éxito y obtener una afable titulación profesional.

Al Ing°. Edwin Macavilca T. Coordinador del proyecto de Investigación; “Formulación de bebidas funcionales con capacidad antioxidante a base de frutas y verduras”, que está instalado en el laboratorio de procesos e ingeniería de alimentos de la UNJFSC, por su orientación, apoyo y las facilidades dadas en el uso de la infraestructura y equipamiento, el cual permitió la realización de esta tesis.

Al Ing. Ricardo Alor S., por su aceptación a ser asesor de esta tesis.

Al Jurado Evaluador por sus sugerencias, que de esta manera han permitido mejorar la presente investigación.

ÍNDICE

DEDICATORIA	iii
ÍNDICE	v
ÍNDICE DE TABLAS	viii
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
INTRODUCCIÓN	xii

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la realidad problemática.....	13
1.2. Problemas de la Investigación	13
1.2.1. Problema General	13
1.2.2. Problemas Específicos.....	13
1.3. Objetivos de la Investigación.....	14
1.3.1. Objetivos General	14
1.3.2. Objetivos Específicos	14
1.4. Justificación de la Investigación	14
1.5. Delimitación del estudio	15
1.6. Viabilidad del estudio	15

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la Investigación.....	16
2.2.1. Antecedentes Nacionales	16
2.2.2. Antecedentes Internacionales	18
2.2. Bases Teóricas	21
2.2.1. Vitis vinifera “Uva”	21
2.2.1.1. Clasificación taxonómica.	23
2.2.1.2. Composición.....	23
2.2.1.3. Producción.....	25
2.2.1.4. Variedades de uva en Perú.....	27

2.2.1.5. Compuestos fenólicos.....	34
2.2.2. Semillas de uva.	35
2.2.2.1. Extracto de semillas de uva.	35
2.2.2.2. Composición.....	35
2.2.2.3. Beneficios.....	37
2.2.2.4. Usos.....	39
2.2.2.5. Compuesto fenólicos y antioxidantes.....	40
2.2.2.6. Extracción de compuestos fenólicos.....	41
2.2.3. Antioxidantes.....	42
2.2.3.1. Clasificación.....	43
2.2.3.2. Aplicaciones.....	44
2.2.4. Polifenoles.....	45
2.2.4.1. Clasificación.....	46
2.2.4.2. Beneficios.....	46
2.2.5. Actividad antioxidante.....	46
2.2.5.1. Métodos.....	47
2.3. Definiciones conceptuales.....	50
2.4. Formulación de Hipótesis.....	50
2.4.1. Hipótesis General.....	50
2.4.2. Hipótesis Específicos.....	50
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA	
3.1. Diseño Metodológico.....	51
3.1.1. Tipo de Investigación.....	51
3.1.2. Nivel de Investigación.....	51
3.1.3. Diseño.....	51
3.1.4. Enfoque.....	51
3.2. Población y Muestra.....	52
3.3. Operacionalización de Variables e indicadores.....	53

3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	53
3.4.1. Técnicas a emplear	53
3.4.1.2. Determinación de Polifenoles Totales.	56
3.4.2. Descripción de instrumentos	57
3.5. Técnicas para el procesamiento de la información.....	57

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

4.1 Muestras de semillas de uva	58
4.2 Capacidad antioxidante de las muestras	59
4.2.1. Método DPPH.....	59
4.3 Contenido de Polifenoles.....	66
4.4 Relación de la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles	68

CAPÍTULO V: DISCUSIÓN, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Discusión	71
5.1.1. De la capacidad antioxidante	71
5.1.2. Del contenido de fenoles totales.....	72
5.1.3. De la relación de la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles	73
5.2. Conclusiones.....	75
5.3. Recomendaciones	76

CAPÍTULO VI: FUENTES DE INFORMACIÓN

6.1. Fuentes Bibliográficas	77
ANEXOS	87

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición de la uva (<i>Vitis Vinifera</i>) cada 100 g.....	24
Tabla 2. Contenido fenólico en GSE	36
Tabla 3. Los métodos HAT y ET utilizados para evaluar la actividad antioxidante.....	49
Tabla 4. Operacionalización de las variables e indicadores del estudio.....	53
Tabla 5. Capacidad antioxidante de semillas de uvas por el método directo DPPH-Quencher.....	59
Tabla 6. Capacidad antioxidante de la semilla de uvas por el método de DPPH extractable.....	60
Tabla 7. Calculo del ICI e IC50 en la capacidad antioxidante de la semilla de uvas por el método de DPPH extractable.....	61
Tabla 8. Capacidad antioxidante de las semillas de uvas por el método ABTS+	63
Tabla 9. Capacidad antioxidante de las semillas de uvas por el método FRAP	65
Tabla 10. Contenido de polifenoles totales en las muestras de semilla de uvas	66
Tabla 11. Coeficientes de correlación de los ensayos de capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales en 7 semillas de uvas.....	69

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Partes de la uva <i>Vitis Vinifera</i>	22
Figura 2. Producción de uva por región, Enero – Abril 2017 – 2018..	25
Figura 3. Producción de Uva, Enero – Abril 2000 – 2018..	26
Figura 4. Uva Italia.....	29
Figura 5. Uva Moscatel.	29
Figura 6. Uva Albilla.....	30
Figura 7. Uva Torontel	31
Figura 8. Uva Quebranta	31
Figura 9. Negra criolla.....	32
Figura 10. Uvina.....	33
Figura 11. Uva Mollar.	33
Figura 12. Localización de los principales compuestos fenólicos encontrados en la vid de uva <i>Vitis vinifera</i>	34
Figura 13. Clasificación de antioxidantes.....	44
Figura 14. Representación de las clases de polifenoles, su estructura básica y un compuesto de ejemplo.	45
Figura 15. Esquema del proceso experimental de la investigación.....	52
Figura 16. Muestras de las 7 variedades de semillas de uvas procedentes del Valle de Cañete....	58
Figura 17. Comparación de la capacidad antioxidante por el método DPPH.....	60
Figura 18. Relación lineal de la capacidad antioxidante por el método DPPH del extracto de semillas de uvas para la estimación de IC50	62
Figura 19. Curva estándar del patrón Trolox para la capacidad antioxidante método ABTS+.	63
Figura 20. Capacidad antioxidante de las semillas de uvas expresada en TEAC, Equiv. Trolox..	64
Figura 21. Curva estándar patrón de ácido gálico para la capacidad antioxidante método FRAP.	65
Figura 22. Capacidad antioxidante de las semillas de uvas determinadas por el método FRAP... ..	66
Figura 23. Curva de Calibración del patrón ácido gálico para la cuantificación del contenido de polifenoles totales en las semillas de uvas.....	67
Figura 24. Contenido de Polifenoles totales en las semillas de uvas del Valle Cañete.....	67
Figura 25. Comportamiento biplot de los ensayos realizados en las semillas de uvas procedentes del Valle de Cañete.	68
Figura 26. Matriz de correlación de Pearson para los ensayos realizados en las 7 semillas de uvas procedentes del Valle de Cañete.	70

**Determinación de Capacidad Antioxidante y Fenoles Totales en Semillas de *Vitis*
Vinifera L. “Vid”, del Valle De Cañete**

Determination of Antioxidant Capacity and Total Phenols in Seeds of *Vitis Vinifera L.* "Vid",
from the Cañete Valley

Deysi Elizzeth Contreras Orellana, Ricardo Aníbal Alor Solorzano

RESUMEN

Objetivo determinar la capacidad antioxidante y el contenido de fenoles totales de las semillas de uvas (*Vitis vinifera*) cultivadas y más representativas del Valle de Cañete-Lima. **Métodos** se emplearon siete variedades de semillas de uvas; Quebranta, Italia, Uvina, Borgoña blanca, Moscatel, Red globe y Borgoña negra, todas son escogidas y seleccionadas desde el orujo de las vitivinícolas después del proceso de fermentación, luego de secarlas y molerlas se realizó una extracción de dos fases (Metanol/agua 1/1 v/v pH=2.2 y Acetona/Agua 70/30 v/v) y en ella se determinó la capacidad antioxidante mediante los métodos DPPH, ABTS+ y FRAP, también el contenido de polifenoles totales mediante el ensayo de Folin-Ciocalteu, con el Análisis de Componentes Principales se visualizó la asociación y variabilidad de los ensayos y variedades de uvas, mediante el coeficiente de correlación de Pearson se estableció la relación entre la capacidad antioxidante y el contenido de polifenoles totales, con la prueba de Tukey se compararon las medias de las mediciones en las variedades. En los **Resultados** todos los extractos mostraron actividad inhibitoria en los ensayos, la variedad Quebranta mostro mayor promedio, aunque no hay diferencia significativa en los promedio de las variedades Italia y Uvina, la variedad Borgoña negra arrojó el menor promedio, en el método DPPH se probó directamente sin extracción tipo Quencher y todas las semillas arrojaron bajas actividades antioxidante, sin embargo en los extractos se obtuvo 181.08-53.46 uMol DPPH Inhibido/g semilla, un Índice de Capacidad de Inhibición que va de 207.49 a 86.11 uMol DPPH secuestrado/g de semilla y un IC50 entre 0.21 a 0.55 mg semilla/mL de extracto, en el ensayo ABTS+ dio 1292.94 a 660.4 uMol Equiv. Trolox/g de semillas, en la prueba de FRAP se obtuvo 451.19 a 225.01 uMol Equiv. Ácido gálico/g de semilla y en la cuantificación de polifenoles se obtuvo el mismo orden de las semillas Quebranta con mayor promedio y la Borgoña negra con el mínimo, los valores fueron de 97.26 a 63.23 mg Equiv. Ácido gálico/g de semilla. Se encontró una buena correlación ($\alpha=0.05$) entre los polifenoles totales y los ensayos FRAP ($r=0.942$), DPPH ($r=0.919$) y ABTS+ ($r=0.890$). **Conclusiones:** las semillas de uvas procedentes del Valle de Cañete son una fuente natural de compuestos fenólicos y tienen una excelente actividad antioxidante y están relacionadas entre ambas determinaciones, asegurando que los extractos tienen un valor funcional.

Palabras claves: extracto de semillas, uvas, ensayos antioxidantes, compuestos fenólicos.

ABSTRACT

Objective determine antioxidant capacity and total phenolic content the grape seeds (*Vitis vinifera*) grown and most representative of the Cañete-Lima Valley. In **Methods** seven varieties of grape seeds were used; Quebranta, Italia, Uvina, Borgoña blanca, Moscatel, Red globe and Borgoña negra, all are selected from the grape marc wine after the fermentation process, after drying and grinding, a two-phase seed extraction was carried out (methanol/water 1/1 v/v pH = 2.2 and Acetone/Water 70/30 v/v) and antioxidant capacity was determined by assays DPPH, ABTS+ and FRAP, also total polyphenol content by Folin-Ciocalteu test, with Analysis of Principal Components the association and variability of the trials and varieties of grapes was visualized, by means of the correlation coefficient of Pearson the relation between the antioxidant capacity and content total polyphenols was established, with Tukey test were compared the means of measurements in varieties. In the **Results** all extracts showed inhibitory activity in assays, Quebranta variety showed higher average, although there is no significant difference in the average of Italia and uvina varieties, Borgoña negra variety showed lowest average, in DPPH assay it was tested directly quencher type without extraction and all the seeds showed low antioxidant activities, however in the extracts 181.08-53.46 uMol DPPH Inhibited/g seed was obtained, an Inhibition Capacity Index ranging from 207.49 to 86.11 uMol DPPH sequestered/g seed and IC₅₀ between 0.21 to 0.55 mg seed/mL extract, in the ABTS+ assay gave 1292.94 to 660.4 uMol Equiv. Trolox/g seeds, in the FRAP assay, 451.19 to 225.01 uMol Equiv. Gallic acid/g seed and the quantification of polyphenols the same order Quebranta seeds with higher average and Borgoña negra with the minimum was obtained, values were from 97.26 to 63.23 mg Equiv. Gallic acid/g seed. A good correlation ($\alpha = 0.05$) was found between total polyphenols and FRAP assay ($r = 0.942$), DPPH ($r = 0.919$) and ABTS+ ($r = 0.890$) assays. **Conclusions:** The seeds of grapes from the Cañete Valley are a natural source of phenolic compounds and have an excellent antioxidant activity and are related between both determinations, ensuring that the extracts have a functional value.

Keywords: extract seeds, grapes, antioxidant assay, phenolic compounds.

INTRODUCCIÓN

Los antioxidantes o la capacidad antioxidante contenida en un producto han tomado mucha importancia no solo en la elaboración de alimentos saludables, sino en varias industrias afines. Dentro de los antioxidantes se pueden encontrar a los polifenoles. Estos se encuentran en las diferentes partes de la planta y juegan un rol de protección contra enfermedades, plagas y condiciones ambientales adversas. En muchos frutos se ha encontrado mayor poder antioxidante en su cascara y semillas, más que en la pulpa comestible, y muchas veces estos son desechados o mal utilizados, uno de estos casos es en la vid o uvas (*Vitis Vinifera*), estos frutos son consumidos frescos y empleados en la industria vinícola y es aquí donde se aprecia que se genera residuos orgánicos como el orujo. El orujo es un subproducto de la vinificación y está formado por semillas, hollejos y restos de pulpa de la uva, productos ricos en fenoles, por lo que este subproducto se considera una fuente natural de antioxidantes. Las semillas tienen el mayor contenido fenólico y pueden ser utilizados como componente principal para elaborar suplementos nutricionales debido a la actividad antioxidante de sus componentes, los más destacados son la vitamina E, los carotenoides, los flavonoides, los polifenoles, entre otros.

Por tanto, en este estudio, se trata de revalorar a la semilla de las uvas procedentes del Valle de Cañete, con el fin de conocer que variedades contienen mayor capacidad antioxidante y polifenoles, de este modo incentivar el aprovechamiento de este subproducto de vinificación, rica en antioxidantes, las variedades estudiadas fueron la Quebranta, Italia, Uvina, Borgoña blanca, Moscatel, Red globe y Borgoña negra. El objetivo fue evaluar la capacidad antioxidante de las semillas por los métodos DPPH, ABTS+ y FRAP a fin de conocer el poder reductor de cada reactivo frente a los extractos de las semillas, también se analizó el contenido de polifenoles por el ensayo de Folin-Ciocalteu y finalmente se evaluó el grado de asociación o relación que hay entre el contenido de fenoles y la capacidad antioxidante por cada ensayo mediante el coeficiente de correlación de Pearson.

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la realidad problemática

La industria vitivinícola es una actividad de importancia económica en el Valle de Cañete-Perú, pero por ser la uva (*Vitis Vinifera*) la materia prima principal esta genera residuos orgánicos que muchas veces es considerada como contaminantes al medio ambiente, los residuos son compuestos por el orujo, pulpa de uva, semillas, pieles, tallos y hojas, pero específicamente los residuos del proceso de vinificación son hollejos formados por las semillas, la piel y la pulpa del fruto de la vid, los cuales son obtenidos después del prensado del mosto.

Sin embargo hay un creciente interés en aprovechar estos subproductos de la fabricación del vino que si es manejado adecuadamente puede suponer tanto beneficios económicos como medioambientales, hay investigaciones donde reportan que las uvas y sus semillas contienen importantes vitaminas, minerales, lípidos, proteínas, carbohidratos y un conjunto complejo de compuestos polifenólicos. Las semillas de uva son uno de los residuos generados por la industria vinícola, que actualmente es de gran importancia ya que se emplea como materia prima en la producción de suplementos nutricionales porque contiene sustancias con potencial antioxidante. Según Matthäus (2008), las semillas de uva contienen polifenoles que presentan propiedades antioxidantes al tener la capacidad de inactivar a los radicales libres causantes de enfermedades relacionadas al estrés oxidativo.

Por lo tanto, las semillas de uvas cultivadas en el Valle de Cañete merece una atención y estudiar a sus componentes activos extraídos mediante la cuantificación de los fenoles totales y medir su capacidad antioxidante, con el fin de revalorar la semilla y posibilitar la obtención de sub productos de importancia en la industria alimentaria, farmacéutica, cosmética y otros.

1.2. Problemas de la Investigación

1.2.1. Problema General

¿Cuál es la capacidad antioxidante y contenido de fenoles totales en las semillas de uvas (*Vitis vinifera*) cultivadas en el valle de Cañete?

1.2.2. Problemas Específicos

- ¿Cuál es la capacidad antioxidante de los extractos de las semillas de uvas (*Vitis vinifera*) cultivadas en el valle de Cañete?

- ¿Cuál es el contenido de fenoles totales en los extractos de las semillas de uvas (*Vitis vinifera*) cultivadas en el valle de Cañete?
- ¿Cuál es la diferencia y la relación entre la capacidad antioxidante y el contenido de fenoles totales de las semillas de uvas (*Vitis vinifera*) cultivadas en el valle de Cañete?

1.3. Objetivos de la Investigación

1.3.1. Objetivos General

Evaluar la capacidad antioxidante y contenido de fenoles totales en las semillas de uvas (*Vitis vinifera*) cultivadas en el valle de Cañete.

1.3.2. Objetivos Específicos

- Determinar la capacidad antioxidante de los extractos de las semillas de uvas (*Vitis vinifera*) cultivadas en el valle de Cañete.
- Determinar el contenido de fenoles totales de los extractos de las semillas de uvas (*Vitis vinifera*) cultivadas en el valle de Cañete.
- Comparar y correlacionar la capacidad antioxidante y el contenido de fenoles totales de las semillas de uvas (*Vitis vinifera*) cultivadas en el valle de Cañete.

1.4. Justificación de la Investigación

Los alimentos con alto contenido en polifenoles y antioxidantes han alcanzado gran interés en la actualidad, las personas buscamos mejorar nuestra salud rápidamente y el consumo productos que ayuden a mejorarla, ya sea en alimentos preparados, suplementos, bebidas, tónicos, cremas, etc., lo que buscan es mejorar su salud en vista que cada vez tienen información que estos productos tienen propiedades beneficiosas, que en concentraciones adecuadas potencian los mecanismos importantes de nuestro organismo como lo son los antioxidantes y en ello los polifenoles, el sector de la industria alimentaria busca cada vez más producir alimentos con mayor poder antioxidante y es necesario recurrir a añadir ingredientes naturales ricos en antioxidante, uno de las fuentes más notables es los compuestos bioactivos que están presentes en las semillas de las frutas, que en muchos de los casos son excedentes como las semillas de la vid que amerita seguir estudiando su extracción, calidad y uso.

Debido a que es importante la investigación de la extracción y usos de los compuestos bioactivos obtenidos desde las semillas de la vid y en vista que hay poca información sobre la utilización de los residuos de la vinificación, la presente investigación se enfoca en

evaluar el contenido de polifenoles y la capacidad antioxidante de las semillas de vid que son cultivadas en el Valle de Cañete. Justificando que se dará mayor agregado a un remanente que actualmente no está siendo aprovechado.

1.5. Delimitación del estudio

El trabajo de investigación está limitado a evaluar las semillas de la vid que se obtienen después del proceso de fermentación en las vinícolas del Valle de Cañete.

1.6. Viabilidad del estudio

El estudio es viable porque la materia en estudio está disponible como un excedente, son residuos de la industria vinícola que están ubicadas en el Valle del Rio Cañete, no constituyen dificultades en obtenerlas.

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la Investigación

2.2.1. Antecedentes Nacionales

Lezama (2017), en su tesis titulada Determinación de los compuestos fenólicos y capacidad antioxidante del aceite de uvas (*Vitis vinífera*) obtenido con y sin tratamiento enzimático, Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú. Determino los compuestos fenólicos y capacidad antioxidante del aceite de semilla de uva (*Vitis vinifera*) variedad “Borgoña”, extraído por prensado hidráulico sin y con tratamiento enzimático. A los aceites obtenidos se les analizó sus compuestos fenólicos totales mediante el método Folin & Ciocalteu, donde los aceites sometidos a tratamiento enzimático obtuvieron valores más altos (148,47-279,19 mg AGE/Kg de aceite) con respecto al aceite sin tratamiento (127,53 mg AGE/Kg de aceite); para la identificar y cuantificar compuestos fenólicos, se analizó el aceite tratado enzimáticamente con el más alto contenido en fenoles totales, además fue el que obtuvo los valores más alto de: ácido cafeico (0,13 µg/g aceite), ácido cinámico (0,17 µg/g aceite) y hesperitina (0,03 µg/g aceite); comparado al aceite sin tratamiento enzimático que solo presentó al ácido cafeico (0,12 µg/g aceite) y ácido cinámico (0,11 µg/g aceite).

Respecto a la capacidad antioxidante mediante el método ABTS, el aceite de semilla de uva que obtuvo el valor más alto fueron los que se sometieron al tratamiento con enzimas, logrando valores entre: 1,71-1,81 mmoles TE/Kg y fue mayor a los obtenidos mediante el método DPPH, a causa de las fases y las condiciones de análisis evaluadas mediante los dos métodos donde se obtuvo 0,09-0,13 mmoles TE/Kg de aceite comparado con los aceites sin tratamiento enzimático con 1,59 y 0,05 mmoles TE/Kg de aceite. Los resultados demuestran el efecto positivo del tratamiento enzimático, existe relación entre el incremento del rendimiento de extracción y el incremento de compuestos fenólicos, lo cual le proporciona un valor nutracéutico al aceite de semillas de uvas tratado enzimáticamente. (Lezama, 2017)

Gomero (2014), en su tesis "evaluación de la actividad antielastasa y Antioxidante del fruto de diferentes variedades de Uva (*vitis vinífera*)", Universidad Nacional Del Callao, Lima, Perú. Evaluó la capacidad antielastasa y antioxidante de tres

variedades diferentes de uvas con pepa (negra, Italia y Red Globe), la extracción de la muestra lo realizo mediante un extracto hidroalcohólico del licuado del fruto entero y otro sin pepas. La actividad inhibitoria de la enzima elastasa fue realizada en los tres extractos para medir la capacidad antielastasa, en cuanto a la capacidad antioxidante empleo el método de FRAP. En su resultados para la determinación de la capacidad de inhibición de la enzima elastasa utilizando 100 microlitros del extracto correspondiente, se observa esta actividad en las tres variedades de uva evaluadas pero se destaca lo que se manifiesta en la uva negra y en la uva roja donde se leen menores concentraciones de p-nitroanilina con respecto a lo que se pudo leer para la muestra que solo contiene enzima y sustrato (control o sin extracto de uva) ya sea después de 30 o de 60 minutos de actividad, por lo que llega a la conclusión de que este fruto entero tiene la propiedad de inhibir la actividad de la enzima elastasa.

En la determinación de la capacidad antioxidante de los extractos utilizando diluciones definidas del extracto metanólico concentrado de las tres variedades de uva, habiendo tenido la posibilidad de trabajar con fruto entero y con fruto sin pepa, observamos que la uva negra destaca por su capacidad antioxidante, luego la uva roja y con menor actividad la uva verde pero sobre todo cuando se trata de fruto entero a excepción de lo que se aprecia en la uva roja, sin embargo llegamos a la conclusión de que los extractos de las tres variedades de uva presentan apreciable capacidad antioxidante y mejor aún si se trata de los extractos del fruto entero (que es casi hasta tres veces mayor cuando se trata del fruto entero), lo que nos dice que en las semillas se encuentra importante cantidad de metabolitos con esta propiedad.

Paiva & Sanchez (2013), realizaron la investigación: Capacidad antioxidante del aceite de semilla de uvas "Vitis vinífera", Distrito de Cascas, La Libertad, Universidad César Vallejo, Perú. En la que evaluaron la capacidad antioxidante del aceite de semilla de uva (Vitis vinifera), variedad Gross Colman, proveniente de la industria vinícola del Distrito de Cascas – La Libertad. Para lograr su objetivo emplearon dos métodos de extracción con prensado hidráulico y con solvente hexano. Se determinó el potencial antioxidante, mediante el método DPPH, se evaluó el índice de: refracción, acidez, peróxidos y saponificación. Los resultados indican que el porcentaje de inhibición del aceite de semilla de uva fue de 51.57%, con un IC50 de 582.37 µg/ mL, en cuanto a los parámetros fisicoquímicos se obtuvo

valores de: índice de refracción 1,475, índice de acidez 0,84 % de ácido oleico, índice de peróxido 14,32 meq/kg e índice de saponificación 198,3 mg KOH/g de aceite, para la extracción con hexano; el aceite obtenido por prensado tiene un porcentaje de inhibición de 74,49 % y un IC50 402,85 $\mu\text{g/mL}$, índice de refracción 1,4743, índice de acidez 0,59 %, índice de peróxido 8,42 meq/kg e índice de saponificación 187,33 mg KOH/g de aceite. El aceite con la mejor calidad es el extraído por prensado. Sin embargo el aceite extraído con hexano presenta el más alto rendimiento con 76,52% mientras que el aceite extraído mediante prensa alcanza un rendimiento de 56,51%. La capacidad antioxidante del aceite semilla de uva (*Vitis vinifera*) es alto, por lo que representa un alimento funcional con un proceso de elaboración bastante práctico que debe ser desarrollado.

2.2.2. Antecedentes Internacionales

Taco (2017), en su proyecto de graduación: Evaluación del efecto antioxidante del extracto de semillas de uva y estudio de métodos para determinar el envejecimiento acelerado en vinos tintos, Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras. Evaluó el efecto antioxidante del extracto de semilla de uva Moscatel en el envejecimiento acelerado de vinos tintos. La extracción fue realizada con etanol desde las semillas molidas previamente liofilizadas y este extracto fue añadido al vino tinto para luego evaluar su efecto antioxidante y la evolución de color. El objetivo de esta investigación fue evaluar el contenido de fenoles totales por el método Folin Ciocalteu (33.72 mg ácido gálico/g semilla) y la capacidad antioxidante mediante los métodos ABTS y FRAP (46.56 y 35.29 μmol de Trolox por gramo de semilla, respectivamente). Los resultados obtenidos indican que las semillas de uva son una fuente natural de antioxidantes y compuestos fenólicos. Así mismo, se evaluó el efecto de adicionar el extracto de las semillas de uva en diferentes vinos tintos (tradicional, corto y largo), en la etapa de maceración. Se observó diferencias en la evolución del contenido fenólico entre los vinos con adición de extracto de semillas y los tradicionales. El vino de maceración largo de dos meses, presentó el mayor contenido en fenoles totales (3037.9 mg/L). En cuanto a la capacidad antioxidante, el vino con adición de extracto de semillas obtuvo mejores resultados en el ensayo de FRAP (1094.9, 908.81 y 1182.2 $\mu\text{mol/L}$). En dicho método, la incorporación del extracto de semillas produjo en los vinos un

significativo incremento de la capacidad antioxidante con respecto al vino tradicional y corto.

Berradre, González, Sulbarán, & Fernández (2013), en su investigación Contenido de polifenoles y actividad antioxidante de extractos de semilla de uva (*Vitis vinifera*) variedad Malvasia y Tempranillo, Universidad del Zulia. Maracaíbo. Venezuela. Estudiaron la optimización del tiempo de extracción para la obtención de extractos hidrofílicos y determinar el contenido de compuestos polifenólicos y la actividad antioxidante de semillas de uva de las variedades Malvasía y Tempranillo. La extracción sólido-líquido fue desde las muestras desgrasada en un equipo Soxhlet usando como disolvente una solución de metanol: agua: ácido acético (90,00: 9,50: 0,50% v/v), se evaluó la extracción en tres tiempos (9, 8 y 7 horas) para alcanzar el mejor rendimiento. Se extrajo a una temperatura de $65\pm 2^{\circ}\text{C}$ y con un flujo de 30 gotas del solvente por minuto. El extracto obtenido, se destiló en un evaporador rotatorio a 38°C . Después se disolvió 50 mg del extracto en 10 mL de solución acetona: agua, este preparado fue empleado tanto para la determinación de los contenidos de polifenoles empleando un espectrofotómetro y también en la determinación de la actividad antioxidante de los extractos que se realizó por el método ABTS. Los resultados de rendimiento obtenidos en las dos variedades se encuentran en el rango de 5,07 y 6,02% por cada 100 g.100 y el rendimiento del extracto obtenido con 7 horas presenta diferencia significativa con los rendimientos de los extractos obtenidos con 8 y 9 horas de extracción para la variedad Tempranillo, no exististe diferencias significativas entre estos últimos. Los compuestos polifenólicos totales en los extractos de semillas de uva de la variedad Malvasía y tempranillo fue de 1.534,85 y 1.048,59 mg GAE/100g de muestra respectivamente. Los resultados de la actividad antioxidante para los dos extractos fue $56,5\pm 0,02$ mmol TEAC/100 g de muestra para la variedad Malvasía y $48,06\pm 0,02$ mmol TEAC/100 g de muestra para la variedad Tempranillo. Finalmente los autores concluyen que para el tiempo de 8 horas se obtuvieron los mejores rendimientos de extractos de semillas de uva para ambas variedades. El extracto que presentó mayor contenido de polifenoles y actividad antioxidante fue el de las semillas de uva de la variedad Malvasía.

Paladino (2008), en su tesis titulada Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos contenidos en las semillas de vid (*Vitis vinifera* L.). Universidades

Nacionales de Cuyo, La Rioja, San Juan y San Luis, Argentina. Logro obtener un antioxidante natural a partir de las semillas de uva (*Vitis vinifera* L.), comparo distintos solventes para la extracción de fenoles de las semillas tratando una mínima reducción de su poder antioxidante durante su procesamiento. La concentración de fenoles totales de los extractos lo determinó por el método Folin Ciocalteu. La mejor extracción del antioxidante fue con agua a 90°C, durante 4 horas, y fue una mejor extracción de fenoles comparada con la acetona al 75% a 30°C, se utilizó una proporción 1g de semillas por 10 ml de solvente. Se obtuvo un extracto con una concentración de 12,587 mg de fenoles totales por gramo de semillas de uva y un poder reductor de 1,290 unidades empleando el método de Oyaizu. No todos los fenoles extractados con el agua a 90°C presentan poder reductor. Debido a que el poder reductor de los dos extractos no presentó diferencias significativas.

El extracto se concentró al vacío a 60°C, comprobándose un incremento del poder reductor en el extracto concentrado, verificado sobre jugo de manzanas. Se aplicó como antioxidante el extracto de semillas de uva sobre el jugo de manzana, teniendo en cuenta un tiempo de tratamiento de 24 horas, dicho extracto logro inhibir el progreso de la oxidación en un 31,51%, este desempeño supera al ácido ascórbico, que logro inhibir el progreso de la oxidación solo en un 2.6%, Pero en las condiciones de trabajo, el dióxido de azufre logra inhibir el progreso de oxidación en un 97,40 %, hay que considerar que su utilización podría generar problemas en personas con asma. Existe una correlación entre el poder reductor y los compuestos fenólicos, en los extractos obtenidos con agua a una temperatura de 90°C. (Paladino, 2008)

Kedage, Tilak, Dixit, Devasagayam & Mhatre (2007), en su investigación titulada un estudio de propiedades antioxidantes de algunas variedades de uva (*Vitis vinifera* L.), India, evaluaron la capacidad antioxidante de 11 variedades de uvas de la India y países asiáticos cercanos, se emplearon diferentes métodos correspondientes a diferentes niveles de acción antioxidante, tales como 1) ensayo de potencia antioxidante de reducción férrica (FRAP); 2) Inhibición de la formación de radicales mediante ensayo de ferrilmioglobina / ABTS +; 3) barrido radical mediante el uso de ensayos DPPH y ORAC; y 4) inhibición de la peroxidación de lípidos midiendo TBARS en mitocondrias de hígado de rata. Las actividades en extractos etanólicos se expresan como $\mu\text{g} / \text{ml}$ de capacidad antioxidante equivalente de Trolox (TEAC) por gramo de peso fresco de uvas y las de extractos acuosos se expresan como $\mu\text{g} /$

ml de capacidad antioxidante equivalente de ácido ascórbico (AEAC) por gramo de fresco peso de las uvas. Las uvas seleccionadas fueron; Thompson Seedless, Sonaka, Tas-E-Ganesh, Manikchaman, H5 Hybrid, Sharad Seedless, Flame Seedless, Mango, Kalisahebi, Anab-E-Shahi y Raosahebi, las mismas que fueron recolectados de diferentes campos de Maharashtra (India). Las bayas (10 g, con cascara) de cada variedad fueron trituradas en 50 ml de disolvente y se filtraron. Los extractos se condensaron a 10 ml usando un evaporador rotativo. Los extractos condensados se mantuvieron a -20 ° C y para los ensayos se usaron extractos al 10% (p/v) (diluidos con agua destilada). Para la preparación de extractos etanólicos y acuosos, los disolventes utilizados fueron 70% de etanol y agua doblemente destilada, respectivamente. También se estimaron los contenidos fenólicos y flavonoides totales.

Los resultados de este estudio indican que cv. Mango es el más potente seguido por Sharad Seedless. Los extractos etanólicos fueron más efectivos que los extractos acuosos. CV. Sharad Seedless, Mango y Manikchaman también tenían altos valores de ORAC. Su análisis de HPLC mostró la presencia de varios polifenoles antioxidantes. Es concluyente que entre las diferentes variedades de uvas examinadas, cv. Mango, cv. Sharad (negro) y cv. Manikchaman (verde) tiene las actividades antioxidantes más potentes. Sus actividades antioxidantes, evaluadas a diferentes niveles se correlacionan bien con su composición química en términos de compuestos fenólicos totales y flavonoides. Estas variedades de uva, si se consumen en cantidades adecuadas, pueden conferir beneficios para la salud, especialmente en poblaciones propensas a enfermedades cardiovasculares.

2.2. Bases Teóricas

2.2.1. *Vitis vinifera* “Uva”.

La *Vitis vinifera*, “es una planta leñosa y trepadora, alcanza los 30 m si se deja crecer, altura que se reduce a 1 m a causa de la poda.”(Moya 2017).

Bombardelli (1995), menciona que la vid posee hojas circulares u ovals, delgadas, dentadas, de 5-23 cm de diámetro, glabras, de color verde apagado en la cara superior y gris tomentoso en la cara inferior, tiene de 4 y 5 lóbulos. Presenta muchas flores agrupadas en racimos. (Citado por Chaves & Terranova, 2016, pág. 21).

En la figura 1 se muestra cuáles son las principales partes de la uva (*Vitis Vinifera*).

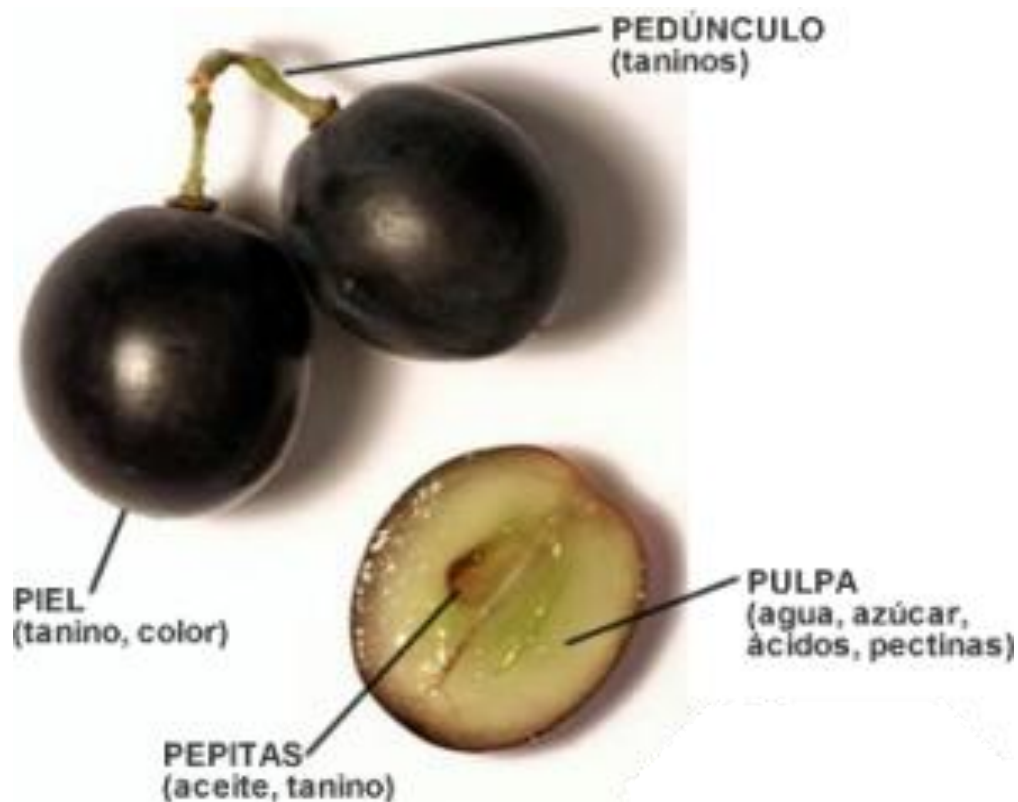


Figura 1. Partes de la uva *Vitis Vinifera* Tomado de Veliz (2011).

Chaves & Terranova (2016), refiere que la uva es una baya comestible, es el fruto de la *Vitis Vinifera*. Esta baya es circular ovalada, mide entre 6 - 22 mm de largo, el color depende de la variedad, va desde amarillo o verde a rojo o morado. Tiene entre 2 a 4 semillas, excepción las especies sin semillas. También menciona que las principales partes de la *Vitis Vinifera* son:

- **Pecíolo:** es el extremo insertado en la rama leñosa de la vid.
- **Hollejo:** piel o película fina que envuelve la uva, constituye entre el 5 y 12% del peso de una uva. Formado por varias capas en donde cada una de ellas almacenan distintos compuestos como los pigmentos de la uva que le dan el color.
- **Pulpa:** parte carnosa del fruto, almacena el líquido presente en ella y que se compone principalmente de agua (75%) azúcar, fructosa y ácidos (tartárico, málico y cítrico).
- **Semillas:** están dentro de la pulpa, su capa externa muy dura y difieren en cada variedad. Constituyen hasta el 3% del peso de la uva, contiene gran cantidad de

agua y materiales leñosos, ácidos, minerales y taninos (los que proporcionan la astringencia al vino). El 8 y 10% es aceite.

2.2.1.1. Clasificación taxonómica.

La *Vitis vinifera* L. forma parte de la familia Vitaceae, la cual esta conformada por 17 géneros, y el único género que produce frutos comestibles es el género *Vitis*. Aproximadamente tiene 60 especies dioicas distribuidas en América y Asia. *Vitis vinifera* L. es la única especie originaria de Eurasia, extendida a nivel mundial (Aguirre, Arana et al. 2013).

La especie *V. vinifera* incluye entre 5000 y 10 000 cultivares, pero solo 2000 son comercialmente importantes. Estos cultivares se pueden dividir en dos grupos, rojo y blanco, en función de la presencia o ausencia de antocianinas en la piel de la uva (Tomaz, Štambuk et al. 2017).

La uva se encuentra dentro del reino vegetal y se clasifica de la siguiente manera (CEDEP, 2007, citado por Moya, 2017, pág. 3):

Tipo: fanerógamas

Subtipo: Angiosperma

Clase: Dicotiledóneas

Grupo: Dialipétalas

Orden: Ramnales

Familia: Vitácea

Género: *Vitis*.

Especie: *Vinifera*.

Nombre científico: *Vitis.Vinifera* L.

Nombres comunes: Parra, parral, parrón, vid, vides o videira.

2.2.1.2. Composición.

La composición de la uva es muy compleja y varía de acuerdo al lugar de procedencia, variedad. En la tabla 1 se muestra la composición de la uva cruda, uva con semilla y el mosto.

Tabla 1

Composición de la uva (Vitis Vinifera) cada 100 g

Componentes	Cruda	Uva con semilla	Mosto
Agua	80,5 g	16,57 g	85 g
Energía	71 Kcal	296 Kcal	40 Kcal
Proteína	0,66 g	2,52 g	2,5 g
Hidratos de carbono	177 g	78,47 g	8 g
Potasio	185 mg	825 mg	110 mg
Sodio	2 mg	28 mg	110 mg
Fosforo	13 mg	75 mg	10 mg
Calcio	11 mg	28 mg	10 mg
Magnesio	3 mg	30 mg	12 mg
Hierro	0,26 mg	2,59 mg	0,3 mg
Zinc	0,05 mg	0,18 mg	0,05 mg
Vitamina C	108 mg	5,4 mg	5,4 mg

Nota. Chaves & Terranova, (2016).

La vid posee de cantidades diferentes de glucosa, levulosa, sacarosa y de ácidos tales como: el ácido tánico, tartárico y gálico etc. Las sustancias responsables del sabor, aroma y color del vino son los ácidos frutales, taninos y pigmentos. A pesar de ello los polifenoles son los más importantes para la industria farmacéutica (Chaves and Terranova 2016).

Chaves & Terranova (2016), menciona que en la uva tiene los siguientes componentes en mayor cantidad:

- Ácidos: como el tartárico, el ácido málico, el ácido ascórbico, el ácido aspártico, el ácido cafeico, el ácido el ácido cinámico, el ácido ferúlico, el ácido fumárico, el ácido gentísico, el ácido glutámico, el ácido láctico, el ácido oxálico, el ácido pantoténico y el ácido succínico.
- Flavonoides: tales como las proantocianidinas, la quercetina, las catequinas, las epicatequinas y el kenferol.
- El resveratrol: presente en el fruto y hojas de la vid. (Bombardelli, 1995).

Los compuestos fenólicos presentes en la uva influyen en la calidad, y la forma en dichas sustancias son transformadas durante el proceso de elaboración del vino influye directa o indirectamente sobre la característica de los vinos, proporcionándoles su estructura, su color que lo caracterizan (Aviña, Carranza et al. 2016).

2.2.1.3. Producción.

En los tres primeros meses de este año, el sector agrícola creció un 23.9%, con envíos por US\$1,424 millones, en comparación a los US\$1,149 millones del 2017, manteniendo su ubicación como segundo sector exportador del país. Este incremento se vio impulsado principalmente por el subsector frutas y hortalizas frescas, que aumentó en 38.1%, crecimiento equivalente a US\$772 millones(2018).

En cuanto a los productos que destacaron específicamente dentro del grupo de frutas frescas (+45%) están la uva con envíos por US\$314.8 millones (+30%), seguido por el mango con US\$177 millones (+38%), la palta con US\$49.6 millones (+136%), el arándano con US\$47.7 millones (+234%) y finalmente la granada con US\$25.9 millones (+31%)(2018).

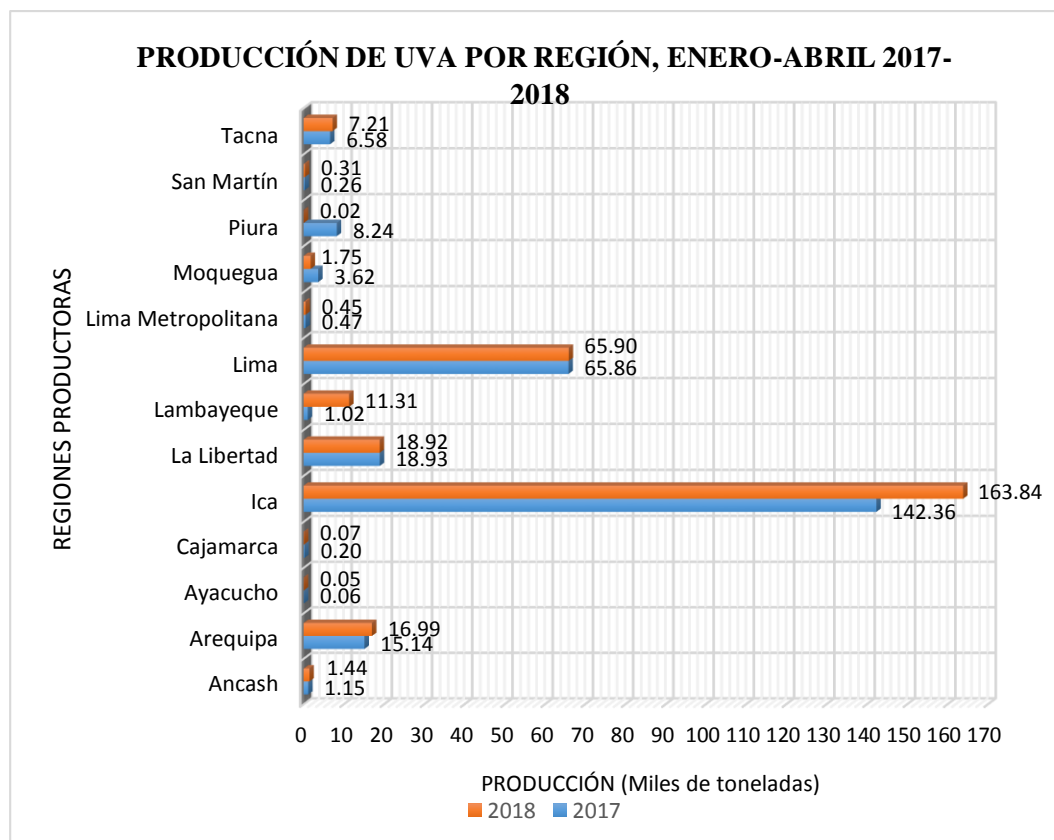


Figura 2. Producción de uva por región, Enero – Abril 2017 – 2018. *Albújar (2018)*.

En el periodo de Enero - Abril de 2018, las regiones que alcanzaron el más alto volumen de producción de uvas, son la región Ica con 163.84 mil toneladas y Lima con 65.90 mil toneladas. Seguida por las regiones: La Libertad y Arequipa que alcanzaron un volumen de producción de 18.92 mil toneladas y 16.99 mil toneladas respectivamente.

En la figura 2, se compara la producción de uva por regiones, durante los meses de Enero – Abril de 2017 y 2018. Se observa que la producción de la región Piura ha disminuido de manera considerable en comparación con el año 2017, por el contrario, la región Lambayeque aumento su volumen de producción en el primer trimestre del año, en comparación al volumen de uva del año pasado

En la figura 3, se observa que en el Perú, la producción de uva en el periodo Enero – Abril, ha ido en aumento gradualmente, en el año 2000 la producción nacional alcanzo los 77.3 mil toneladas, el 2009 aumento a 163.91 mil toneladas y este año alcanzó un volumen de producción de 288.25 mil toneladas.

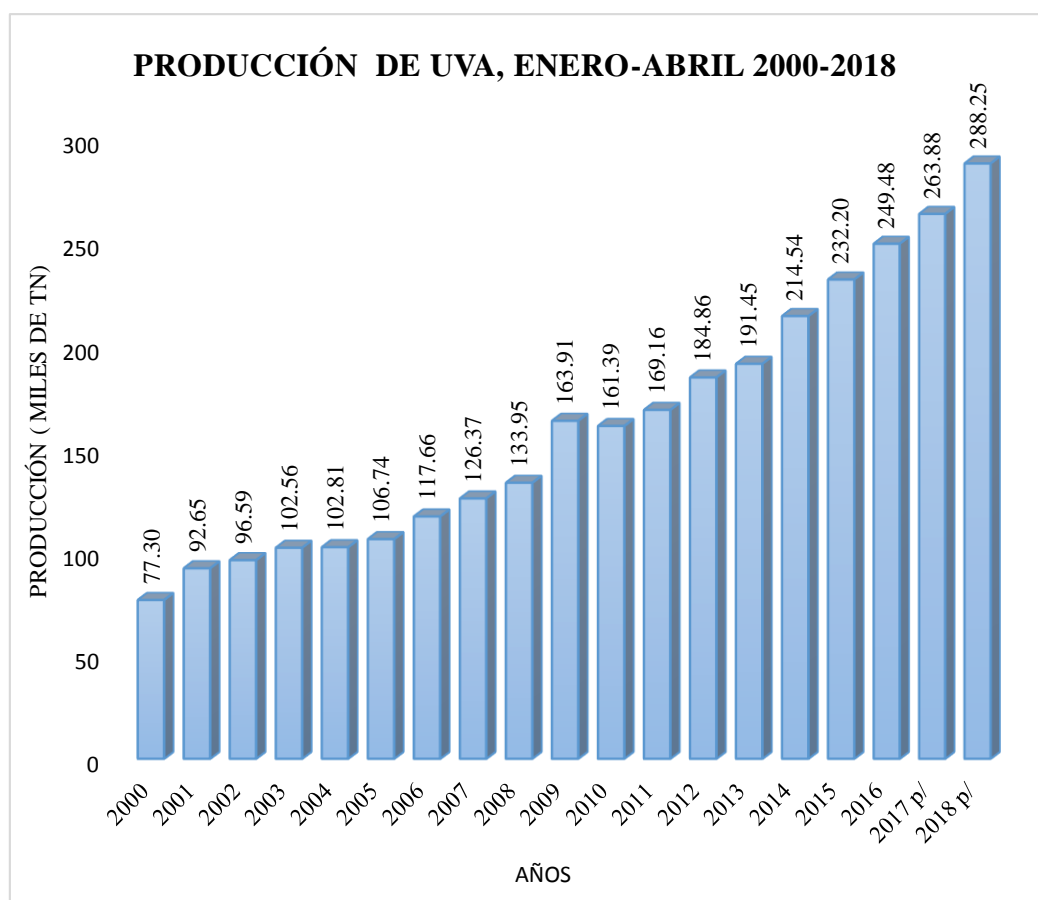


Figura 3. Producción de Uva, Enero – Abril 2000 – 2018. Albújar (2018).

2.2.1.4. *Variedades de uva en Perú.*

La altura y la altitud son límites climáticos, superados en varias regiones del Perú. En estas zonas casi no ocurren heladas invernales o escarchas de primavera, poseen una temperatura más elevada, la vegetación es breve y se incrementa el grado de azúcar. La zona costera posee un clima relativamente seco, y escasas variaciones de temperatura, lo que favorece el cultivo de la vid. Otro factor que favorece la producción de vinos dulce (y pisco), son los elevados índices de radiación solar.

En el Perú, se pueden encontrar 30 variedades de vid (*Vitis vinifera*), a continuación mencionaremos cada una de ellas (Blog del Vino Perú, 2014):

- Albilla B
- Autumn Royal
- Borgoña blanca: variedad de uva también denominada: Isabella blanca.
- Borgoña negra: esta variedad también es denominada: Isabella negra.
- Burdeos
- Cabernet Sauvignon N o también Burdeos tinto, Burdeos.
- Chardonnay B
- Chenin B
- Crimson seedless B
- Flame Seedless Rg: Variedad Uva también llamada: F32-137.
- Italia B o Moscatel de Alejandría.
- Malbec N
- Merlot N
- Mollar o Negra mole.
- Moscatel N: variedad de uva también llamada Pais, Moscatel rosado, Misión.
- Negra Criolla - Esta variedad posee varias denominaciones , entre ellas tenemos las siguientes: Rosa del Perú tipo 1, Negra corriente, Negra común, Moscatel rosado, Moscatel negro de Perú, Moscatel, Listan

Prieto, Italia rosado, Graciana, El Paso, Criolla n°6, Criolla chica, California.

- Petit Verdot N
- Pinot Noir N
- Quebranta
- Red Globe Rs: A esta variedad de uva también se le denomina: Rosito.
- Sauvignon Blanc B
- Sirah N
- Sugaone
- Superior Seedless B
- Tannat N
- Tempranillo N
- Thompson Seedless B: Esta variedad de Uva también es llamada Sultanina, Sultana.
- Torontel B: variedad de uva también se le denomina: Torrontés Riojano.
- Ugni Blanc B
- Uvina N - Esta Uva también se denomina: Jacquez.

Variedades Pisqueras.

Dueñas (2017), menciona que el Pisco tiene que ser elaborado utilizando de manera exclusiva las variedades de uva de la especie *Vitis Vinifera L* denominadas "Uvas Pisqueras" las cuales se clasifican en aromáticas: Italia, Moscatel, Albilla y Torontel; y las no aromáticas son Quebranta, Negra Criolla, Mollar y Uvina (NTP 211.001, 2006). Las cepas de Vid empleadas para la producción de nuestra bebida de bandera (Pisco) son cultivadas en la costa sur del Perú (CuscoMania, 2011):

Italia.

Esta variedad de uva es la más conocida entre las uvas aromáticas, se cultiva en las regiones Pisqueras del Perú. Se producen en grandes cantidades, sus racimos son abundantes, la baya tiene forma ovalada y alargada, como se

muestra en la figura 4. A nivel mundial, esta es una de las pocas variedades de uva que se emplea para la industria vinícola y para el consumo directo. (Cáceres, Quispe, Pignataro, Orjeda, & Lacombe, 2017; CuscoMania, 2011)



Figura 4. Uva Italia. Cáceres, et al., (2017).

Moscatel.

Dentro de las uvas aromáticas, a esta variedad se le conoce porque aporta el Pisco más exquisito. A pesar de ello es poco elaborado a causa de su bajo rendimiento. Su hollejo presenta tonos rojizos-azulados y lacres, su baya tiene forma redondeada, como se observa en la figura 5. (CuscoMania, 2011)



Figura 5. Uva Moscatel. Cáceres, et al., (2017).

En Alemania es conocido como Roter Muskateller y en Italia lo llaman Moscato Rosso. (Cáceres, et al., 2017; CuscoMania, 2011)

Albilla.

Esta variedad es semejante a la Alban española, presenta grandes racimos, los cuales pueden alcanzar hasta 2 Kg. Sus bayas tienen forma redonda, son transparentes, medianas, con un tono entre el verde claro y el amarillo, como se muestra en la figura 6. De la variedad albilla se elabora un Pisco con aromas frescos, con peso, sabor aterciopelado muy delicado. Entre las variedades de uva aromáticas, esta posee menos aroma a compación de las demás, pero le da redondez al pisco, cuando se encuentra en combinación con otras variedades (Cáceres, et al., 2017; CuscoMania, 2011).



Figura 6. Uva Albilla. Cáceres, et al., (2017).

Torontel.

Esta variedad forma parte de la familia de los Moscatos. A nivel mundial se le conoce con diversos nombres, en Alemania se le denomina Gelber Muskateller, en Austria como Gelber Weihrauch, conocido como Moscato Bianco en Italia, en España es denominado como Moscatel Morisco y en Australia lo conocen como White Frontignan. Tiene una coloración verde pálido, como se observa en figura 7. Brinda al Pisco aromas amoscatedados,

más finos que los que ofrece variedad Italia. Sus Piscos son finos, de aromas suaves y bien estructurados. (Cáceres, et al., 2017; CuscoMania, 2011)



Figura 7. Uva Torontel. Cáceres, et al., (2017)

Quebranta.

Cepa noble con el cual se produce el famoso “Pisco Puro de Ica”. Es una variedad no aromática, proporciona aromas sutiles muy elegantes, genera gran dificultad apreciarlos con el olfato, sin embargo en la boca lograr su mayor esplendor. Una de las características de la uva quebranta, es que produce Pisco de alto grado alcohólico. En la figura 8, se aprecia un racimo de uva Quebranta (Cáceres, et al., 2017; CuscoMania, 2011).



Figura 8. Uva Quebranta. Cáceres, et al., (2017)

Negra Criolla.

También llamada negra corriente, no es una variedad aromática de los valles de Moquegua y Tacna. En Argentina es denominada como Criolla Chica y en California la conocen como Misión o Misión`s Grape. De esta variedad se produce un Pisco muy bien estructurado, de sabor muy agradable y en la boca presenta gran persistencia. En el olfato, provocan aromas sutiles a pasto recién cortado. En la figura 9, se observa que las bayas tienen forma esférica achatada y de color roja (Cáceres, et al., 2017; CuscoMania, 2011).



Figura 9. Negra criolla. Cáceres, et al., (2017).

Uvina.

Es de origen desconocido, sin embargo se adaptó correctamente a las condiciones climáticas y a las características de suelo de Lunahuaná, Pacarán y Zúñiga. En dichas localidades se producen piscos a partir de la Uvina, ya que la norma técnica peruana se menciona que se existe un periodo de tiempo para que se le realicen estudios con la finalidad de precisar si es una *Vitis Vinifera*, pura y no híbrida (Cáceres, et al., 2017; CuscoMania, 2011).

En Lunahuaná es una variedad tradicional, empleada en la producción de Pisco hace más de 70 años. Respecto a sus racimos, estos son muy grandes y abundantes. Sus bayas presentan una tonalidad azulada- negra y son pequeñas, como se muestra en la figura 10. No presenta un aroma muy acentuado, sin embargo posee un poco más aroma y astringencia que la uva Quebranta. (Cáceres, et al., 2017; CuscoMania, 2011)



Figura 10. Uvina. Cáceres, et al., (2017).

Mollar.

Lastimosamente su volumen de producción de esta variedad es muy bajo y generalmente la encontramos combinada con los sombríos de quebranta, hasta la actualidad aparentemente que no se ha elaborado un Pisco puro de esta variedad. Las bayas tienen forma elíptica corta y de color rosa, como se aprecia en la figura 11. (CUSCOMania, 2011)



Figura 11. Uva Mollar. Cáceres, et al., (2017).

2.2.1.5. Compuestos fenólicos.

En la uva los compuestos fenólicos se encuentran mayoritariamente en la piel, las semillas y el tejido vascular. La pulpa presenta mayor contenido de ácidos fenólicos, en el hollejo se encuentran los flavonoles y antocianos y en las semillas se localizan los flavan-3-oles que abarca monómeros y algunos oligómeros, como las procianidinas, presentes en la semilla. Los fenoles presente en los vinos blancos proviene de la pulpa, y en los vinos tintos proviene en su mayoría de los hollejos y semillas. (Latorre 2016). La figura 12, muestra la localización de los principales compuestos fenólicos encontrados en la vid de uva *Vitis vinifera*.

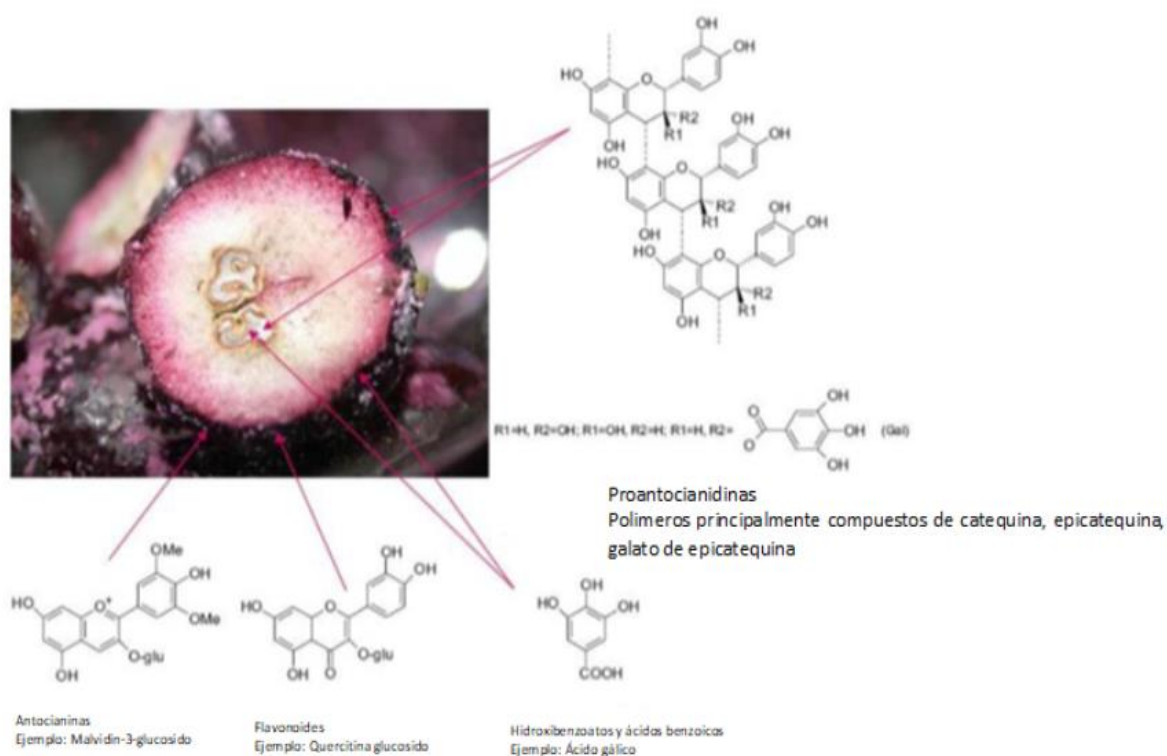


Figura 12. Localización de los principales compuestos fenólicos encontrados en la vid de uva *Vitis vinifera*. Cosme & Jordão (2017).

El perfil fenólico de la uva depende por lo general de la variedad de la misma. Los factores ambientales que influyen en el perfil fenólico incluyen el terreno, el clima, las propiedades del suelo y el agua del suelo. La gran mayoría de estos compuestos están contenidos en células hipodérmicas y epidérmicas. La posición de los fenoles en este tejido depende de su estructura; por lo tanto, podrían localizarse en forma libre (antocianinas, flavonoles, formas monoméricas y diméricas de flavan-3-oles, ácidos

fenólicos) en vacuolas y citoplasma, pero también estar unidos a la pared celular (ácidos fenólicos, flavan-3-oles)(Tomaz, Štambuk et al. 2017).

Latorre (2016), menciona que los compuestos fenólicos no coloreados más abundantes en piel son flavan-3-oles, son las catequinas y las epicatequinas, así como proantocianidinas o taninos condensados. Estos compuestos pueden contener subunidades de ácido gálico, epigallocatequina de galato y de epicatequina.

Los principales responsables de la coloración del vino tinto, son las antocianinas presentes en la piel de las uvas rojas, pigmentos que surgen en la maduración de la uva. Las principales antocianinas que se encuentran en las uvas se derivan de la cianidina, la peonidina, la delphinidina, la petunidina y la malvidina (Xia, Deng, Yan-Jun, & Hua-Bin, 2010).

2.2.2. Semillas de uva.

Las semillas de uva (*Vitis vinifera* L.) eran conocidas son los principales subproductos industriales de las industrias de procesamiento de la uva, como las industrias del jugo de uva y el vino. Forman una fuente barata de antioxidante natural y agentes antimicrobianos debido a su riqueza en contenidos fenólicos(Felhi, Baccouch et al. 2016).

Una baya de uva contiene aproximadamente dos semillas que constituyen el 5 - 6% del peso de la uva. En todo el mundo, más de 3 Mton de semillas de uva fueron descartadas anualmente. Más del 20% en peso de la producción de uva generalmente se convierte en residuo durante la producción de vino(Dávila, Robles et al. 2017).

Las semillas están formadas por el albumen el cual contiene aceite, donde descansa el embrión, y dos capas exteriores: testa y tegmen, las cuales son lechosas y duras, además ricas en taninos(Ramos 2015).

2.2.2.1. Extracto de semillas de uva.

El extracto de semilla de uva es un subproducto derivado de las semillas de uva (del jugo de uva y el procesamiento del vino) que es extraído, secado y purificado para producir un compuesto polifenólico rico extracto(Lau and King 2003).

2.2.2.2. Composición.

Dávila, et al. (2017), refiere que las semillas de uva contienen fibra, proteínas, lípidos (grasas y aceites), carbohidratos, minerales y entre 5% y

8% de compuestos polifenólicos (como los taninos), según la variedad y otros factores, como el clima, suelo y grado de maduración.

También Felhi, et al. (2016), menciona que la semilla de uva es una matriz compleja que consiste en 40% de fibra, 16% de aceite, 11% de proteína, 29.2% de carbohidratos complejos y 7% de fenoles complejos y taninos además de azúcares, sales minerales, etc.

Las semillas de uva también contienen flavonoides (4-5%), incluidos kaempferol-3-Oglucosidos, quercetin-3-Oglucosidos, quercetina y miricetina. La película viscosa que rodea las semillas es rica en compuestos polifenólicos tales como procianidinas y proantocianidinas monoméricas, diméricas, triméricas y tetraméricas, que también conocidas como taninos(Nowshehri, Bhat et al. 2015).

El contenido de proantocianidina en las semillas de uva depende en gran medida de sus variedades y procedimientos de extracción. En general, las procianidinas galloyladas están presentes en concentraciones considerablemente más bajas que las no aleatorizadas y los polímeros de mayor peso molecular constituyen la mayoría de las proantocianidinas en las semillas de uva(Prieur, Rigaud et al. 1994, Fuleki and Ricardo da Silva 1997).

La distribución de compuestos fenólicos en el GSE (extracto de semillas de uva) se muestra en la Tabla 2.

Tabla 2

Contenido fenólico en GSE

Contenido total de fenol (equiv. de ácido gálico (g / 100g))	93.9 ± 0.9
Unidades terminales de galato de epicatequina (%)	0%
Unidades de extensión de galato de epicatequina (%)	5,7 ± 0,6
Monómeros (%) *	9.1 ± 1.2
Oligómeros (%) *	68,7 ± 1,2
Polímeros (%) *	22.3 ± 0.6
Catequina y epicatequina en peso (%)	9.9 ± 0.6

Nota. *Determinado por HPLC de fase inversa usando el área del pico.(Robinson, Lu et al. 2012)

Moya (2017), refiere que las pepitas de uva presentan un porcentaje alto de ácidos grasos poliinsaturados, debido a que presentan entre 13 y 18,4 % de lípidos. Los ácidos grasos poliinsaturados más abundantes son el ácido oleico con 22% y con 67 % el ácido linoleico. El 63% de los fenoles totales de las vides de variedades tintas se concentran en las semillas, seguido por el 34% en la piel y en el jugo se encuentra el 3%.

Berradre, et al. (2013), refiere que las semillas de uva son ricas en compuestos fenólicos como ácido gálico, galocatequina, epicatequina y catequina, y así mismo presenta oligómeros (procianidinas y antocianidinas).

2.2.2.3. Beneficios.

Las semillas de *Vitis vinifera* poseen actividad antiinflamatoria y antihipertensiva. También apreciadas por sus propiedades terapéuticas en tratamiento de desórdenes vasculares, debido a la presencia de procianidinas, ayudan a estabilizar el colágeno de las arterias, inhiben la formación de histamina en arterias y aceleran la eliminación del colesterol. Las procianidinas también inhiben la agregación de las plaquetas (Fuleki and Ricardo da Silva 1997, Saito, Hosoyama et al. 1998, Castillo, Benavente-García et al. 2000).

Los compuestos fenólicos presentes en las semillas de uva son antimutagénicos, antineoplásicos, antivirales y antibacterianos, inhiben con mayor facilidad a las bacterias Gram positivas que a las Gram negativas. También inhiben a la fosfolipasa A, la ciclooxigenasa y la lipoxigenasa (Bagchi, et al., 2000; Jayaprakasha, Selvi, & Sakariah, 2003; Jayaprakasha, Singh, & Sakariah, 2001; Murga, Ruiz, Beltrán, & Cabezas, 2000).

Según Ma & Zhang (2017), las semillas de uva tiene propiedades como: ***Antidiabética.***

Montagut, et al. (2010), demostraron que las estructuras oligoméricas de los extractos de procianidina de semilla de uva activaron el receptor de insulina al interactuar e inducir la autofosforilación del receptor de insulina para estimular la captación de glucosa.

Antioxidante.

Pastrana-Bonilla, Akoh, Sellappan, & Krewer (2003), demostraron que la capacidad antioxidante fue la más alta en semillas de uva comparadas con

otra partes de la uva, lo que propone que los extractos de pepitas de uva son antioxidantes prometedores para el suplemento dietético. Vinson, Mandarano, Shuta, Bagchi, & Bagchi (2002), informaron que la suplementación de 50 mg / kg y 100 mg / kg de semilla de uva los extractos de proantocianidina en hamsters redujeron la formación de células espumosas (indicador de las etapas iniciales de la aterosclerosis) en un 50% y un 63%, respectivamente.

Anti plaquetaria.

Olas, et al. (2008), informaron que los extractos de semilla de uva mostraron una reducción en la agregación plaquetaria, la adhesión y la generación de anión superóxido. Además, encontraron que el extracto de semilla de uva era más efectivo que la solución de resveratrol puro en la reducción de los procesos plaquetarios.

Anti-colesterol.

Natella, Belelli, Gentili, Ursini, & Scaccini (2002), informaron que los extractos de semilla de uva reducen el estrés oxidativo posprandial al aumentar la concentración de antioxidante en plasma y prevenir el aumento de hidroperóxidos lipídicos. En consecuencia, esto mejora la resistencia a la modificación oxidativa del colesterol LDL.

Antiinflamatorio.

Estudios han revelado que las concentraciones de mediadores proinflamatorios son elevadas en las condiciones tales como los estados de diabetes resistente a la insulina y la obesidad (Dandona 2004).

Pinent, et al., (2004), informaron que las procianidinas de semilla de uva estimularon la captación de glucosa en los miotubos L6E9 y los adipocitos 3T3-L1 de una manera dependiente de la dosis, también estimulan la translocación de glucosa transportada-4 a la membrana plasmática. Además sugirieron que las procianidinas poseen efectos similares a la insulina. Estos hallazgos sugieren que las procianidinas en las semillas de uva disminuyen el riesgo de enfermedades asociadas a la obesidad y las dietas ricas en grasas.

Antimicrobiano.

Jayaprakasha, Selvi, & Sakariah (2003), informaron que los extractos de semilla de uva desgrasada mostraron efecto antibacteriano contra *Bacillus*

cereus, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus coagulans*, *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*.

Un estudio de Ghouila, et al., (2017), demostraron que los extractos de semilla de uva mostraron actividad antimicrobiana a *Micrococcus luteus*, *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Aspergillus niger* y *Fusarium oxysporum*. Además, los autores demostraron que estos extractos inhibieron completamente bacterias Gram (+) y las Gram (-) a 850-1000 ppm y 1250-1500 ppm, respectivamente.

Antitumoral.

Los extractos de semilla de uva también han exhibido propiedades antitumorales. Se han demostrado resultados prometedores en varios estudios realizados en carcinoma colorectal humano, carcinoma escamoso de cabeza y cuello y células de cáncer de próstata. Por lo tanto, se sugiere que la suplementación de extractos de semilla de uva podría ser un agente antitumoral eficaz en entornos clínicos (Kaur, Singh et al. 2006, Park, Lee et al. 2011, Sun and Prasad 2011).

2.2.2.4. Usos.

En el Perú las semillas de uva no se industrializan, generalmente se emplean como alimento balanceado para animales y abono. En países como Alemania, Francia e Italia se extraen el aceite de pepita de uva y es usado como aceite comestible (Moya 2017).

Según Chouchouli, et al. (2013), los subproductos de uva representan una rica fuente de fitoquímicos, su recuperación y reutilización es de importancia económica actualmente, ya que los cargos por eliminación y multas por descargas no autorizadas han aumentado considerablemente. La semilla de uva es un subproducto vinícola, con un flavanoles característico perfil y con un contenido significativo total de polifenoles.

Paladino & Zuritz (2012), informa que hay antecedentes de la utilización de extractos de semillas de uva como antioxidante en algunos alimentos: la carne de vaca, pavo, pescado azul y aceites de algas. Si bien existen precedentes de la acción antioxidante de los ácidos cinámicos sobre el pardeamiento enzimático del jugo de manzanas, se desconoce precedentes en

la actividad antioxidante de un extracto de semillas de uva aplicado a alimentos de origen vegetal.

En el sistema de carne, GSE demuestra el actividad antioxidante al reducir la cantidad de oxidación primaria de lípidos productos y lípidos secundarios productos de oxidación (Perumalla and Hettiarachchy 2011).

La literatura confirma la importancia de GSE en productos farmacéuticos, alimentos, cosméticos y áreas médicas por su efecto contra el deterioro y degeneración de las enfermedades al inhibir la lipoproteína de baja densidad, antioxidante, antiinflamatoria y expresiones antidiabéticas además de tener hepatoprotector, actividades renoprotectoras y cardioprotectoras(Felhi, Baccouch et al. 2016).

Özvural & Vural (2011), estudiaron el efecto de la incorporación de harina de semilla de uva obtenida a partir de subproductos del vino, en las salchichas de Frankfurt. Lo cual condujo a una disminución en el nivel de oxidación de los productos, debido a su contenido de antioxidantes, mejoró la capacidad de retención de proteínas, fibra dietética total y retención de agua. Demostraron que se pueden producir salchichas de Frankfurt más saludables y de alta calidad utilizando harina de semilla de uva.

2.2.2.5. Compuesto fenólicos y antioxidantes.

Varios estudios demuestran que los fenoles en las semillas se acumulan antes de la maduración, alcanzando un máximo en el envero y disminuyendo hacia la cosecha. Por otra parte, se ha informado que poco madurados las bayas tienen una menor capacidad de extracción de fenol de la piel y una mayor extractabilidad de las semillas (Talaverano, Moreno et al. 2016).

Los cambios en el color y la morfología del pelaje de la semilla también han sido relacionado con cambios en el desarrollo de antocianinas de bayas y total fenólicos de la piel, lo que sugiere que la apariencia externa y la semilla el color se puede usar como un indicador adicional de la baya total madurez(Ferrer-Gallego, García-Marino et al. 2010).

Las propiedades antioxidantes de GSE se deben principalmente a los flavonoides que pueden realizar acción de eliminación de radicales libres (superóxido, hidroxilo y 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH)), propiedades quelantes de metales, reducción de la formación de hidroperóxido y sus

efectos sobre la señalización celular vías y expresión génica(Perumalla and Hettiarachchy 2011).

La presencia del grupo funcional "-OH" en la estructura y su posición en el anillo de la molécula flavonoide determine la capacidad antioxidante. La adición de grupos "-OH" al núcleo de flavonoides mejorará la actividad antioxidante, mientras que la sustitución por grupos -OCH₃ disminuye la actividad antioxidante(Arora, Nair et al. 1998, Majo, Guardia et al. 2008).

Spranger, Sun, Mateus, de Freitas, & Ricardo-da-Silva (2008), concluyeron que el grado de polimerización de las procianidinas puede también determinar la actividad antioxidante cuanto mayor sea el grado de polimerización, mayor es la actividad antioxidante. Además, las procianidinas presentaron mayor actividad antioxidante que la vitamina C. Esto indica que las procianidinas de semilla de uva podrían ser utilizadas como alternativa de antioxidante.

Perumalla & Hettiarachchy (2011), refiere que entre las diferentes partes de la planta de uva, las semillas exhiben la mayor actividad antioxidante seguida por la piel y la carne. El potencial antioxidante de GSE es 20 y 50 veces mayor que los de las vitaminas E y C, respectivamente (Shi, Yu et al. 2003).

Perumalla & Hettiarachchy (2011), refiere que la actividad antioxidante sugerida in vivo incluye estimular producción de enzima de óxido nítrico, barrido de radicales de oxígeno e inhibición del estrés nitrositivo. En la carne, GSE reduce la cantidad de oxidación primaria de lípidos productos y lípidos secundarios productos de oxidación, también disminuye el sabor rancio y actividades antioxidantes en diversos productos cárnicos como carne de res cruda, carne cocida, empanadas de cerdo crudas y cocidas, pavo, aceite de pescado, pescado congelado y molida pechuga de pollo y carne de muslo.

Generalmente las semillas con mayor cantidad de compuestos fenólicos son las que pertenecen a variedades de uvas tintas (Fuleki and Ricardo da Silva 1997).

2.2.2.6. Extracción de compuestos fenólicos.

Los métodos eficientes para extraer compuestos fenólicos, especialmente proantocianidinas de semillas de uva, han sido de gran interés para muchos

investigadores, debido a los efectos beneficiosos para la salud (Shi, et al., 2003). Debido a sus variaciones en tamaño y estructura, la mayoría de los métodos de separación actuales están diseñados no solo para extraer un tipo particular de proantocianidina, sino también para extraer tantos tipos diferentes como puedan hacerlo los métodos (Nowshehri, et al., 2015).

Nowshehri, et al. (2015), refiere que tradicionalmente, se usan solventes orgánicos como metanol, acetona, acetonitrilo, acetato de etilo y otros para extraer polifenoles de las semillas de uva. Algunos estudios preliminares mostraron que el etanol y el agua hirviendo son efectivos para la extracción de polifenoles, debido a que estos son compuestos polares. Sin embargo, el agua sola disuelve proteínas no deseadas y polisacáridos, particularmente a alta presión y temperatura. Además, estas técnicas tienen bajos rendimientos y los procesos de extracción son largos.

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

Nowshehri, et al. (2015) Todas las técnicas de extracción líquida / líquida pueden complementarse con microondas, ultrasonidos y termomecánicos (incluida la extrusión) y el pretratamiento enzimático de las semillas de uva antes del proceso de extracción.

Recientemente, la extracción de agua subcrítica (SW), también conocida como extracción de agua a presión o de baja polaridad, ha sido una técnica alternativa para la extracción de compuestos polares y no polares de semillas de calidad (Duba, Casazza et al. 2015).

2.2.3. Antioxidantes.

Los antioxidantes son sustancias sintéticas o naturales que se agregan a los productos para prevenir o retrasar su deterioro por la acción del oxígeno en el aire o las especies reactivas de oxígeno. Por ejemplo, enzimas o sustancias orgánicas como la vitamina E o el β -caroteno (Dontha, 2016, pág. 14).

Los antioxidantes eliminan los oxidantes o ROS, causantes del estrés oxidativo, el cual se define como el desequilibrio entre la producción de radicales libres y metabolitos reactivos. Dicho desequilibrio provoca daño de importantes biomoléculas y células con un posible impacto en todo el organismo (Ďuračková, 2010).

La importancia de los antioxidantes naturales en el organismo es por su capacidad para eliminar o retrasar el daño oxidativo de una molécula. El estrés oxidativo son lesiones producidas por el estrés oxidativo, provocando un daño potencial (Halliwell, 2012).

El antioxidante tiene funciones definidas, tales como que puede reaccionar directamente con los radicales libres o disminuir la formación de estos al inhibir las actividades de las enzimas liberadoras de radicales libres o potenciar las actividades de las enzimas liberadoras de antioxidantes (Shivakumar & Kumar, 2018).

2.2.3.1. Clasificación.

Existen diferentes atributos para clasificar los antioxidantes:

Por su solubilidad, pueden ser compuestos antioxidantes solubles (en agua y en lípidos) y compuestos antioxidantes insolubles. Su solubilidad depende de su ubicación en los alimentos y las macromoléculas con las que están vinculados en la matriz alimentaria. Los antioxidantes en los alimentos se pueden encontrar generalmente en 2 formas: libre (I) y formas ligadas (II, III y IV). Además, el mismo antioxidante puede estar presente en forma libre o ligada en distintos alimentos (Cömert & Gökmen, 2017).

De acuerdo a su función, se clasifican como Antioxidantes primarios y Antioxidantes secundarios. Los antioxidantes primarios son los que rompen la cadena que reaccionan con los radicales lipídicos y los convierten en productos más estables, son principalmente fenólicos, en estructura: minerales antioxidantes, vitaminas antioxidantes y fitoquímicos. Los antioxidantes secundarios son compuestos fenólicos que realizan la función de capturar radicales libres y detener las reacciones en cadena. Los compuestos incluyen: hidroxí anisol butilado, hidroxitolueno butilado y galato de propilo (Moharram & Youssef, 2014).

También se pueden dividir en dos clases: los antioxidantes enzimáticos y los antioxidantes no enzimáticos: Algunos de estos antioxidantes se

producen endógenamente, que incluyen enzimas, moléculas de bajo peso molecular y cofactores enzimáticos. De acuerdo descrito por Ratnam, et al. (2006), citado por (Moharram and Youssef 2014); entre los antioxidantes no enzimáticos, muchos se obtienen de fuentes dietéticas. Los antioxidantes dietéticos se pueden clasificar en varias clases de los cuales los polifenoles presentan la clase más grande. Los polifenoles consisten en ácidos fenólicos y flavonoides. Las otras clases de antioxidantes dietéticos incluyen vitaminas, carotenoides, organosulfural y minerales. La figura 13, ilustra la clasificación de los antioxidantes.

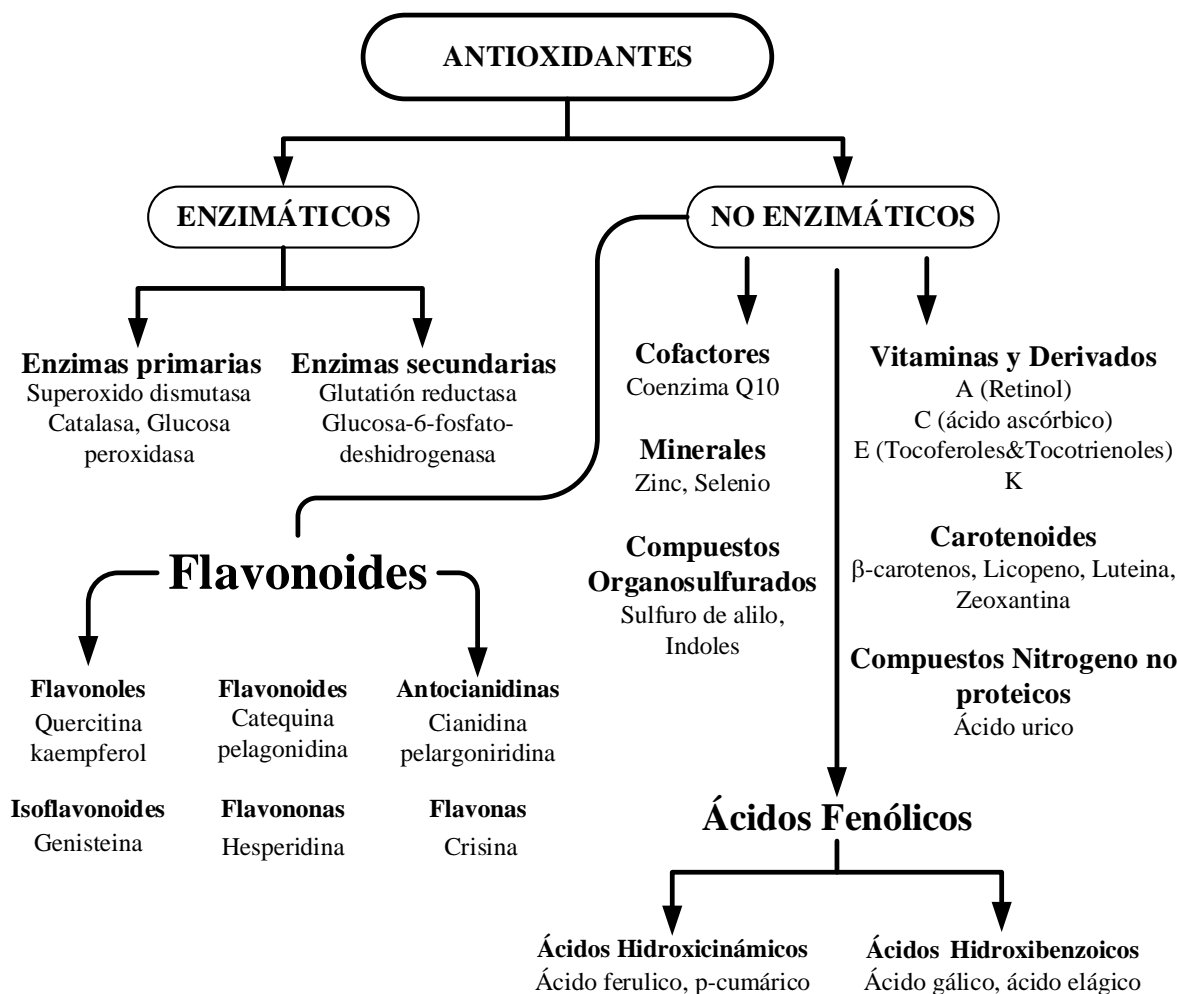


Figura 13. Clasificación de antioxidantes. Moharram & Youssef (2014).

2.2.3.2. Aplicaciones.

Se utilizan para la estabilización de productos poliméricos, petroquímicos, alimenticios, cosméticos y farmacéuticos. Los antioxidantes están involucrados en el mecanismo de defensa del organismo contra las patologías asociadas al ataque de radicales libres (Pisoschi and Negulescu 2011).

2.2.4. Polifenoles.

Los compuestos fenólicos tienen un anillo aromático con al menos un grupo hidroxilo. Son los metabolitos secundarios más ampliamente distribuidos, y están universalmente presentes en el reino vegetal (Cheynier, Comte et al. 2013).

Los compuestos fenólicos se relacionan con el color, sabor, astringencia, valor nutricional y características funcionales de los alimentos de origen vegetal. La reactividad del grupo fenol, es el responsable de la capacidad antioxidante en vegetales (Paladino 2008).

Estos compuestos se derivan del metabolismo secundario de la mayoría de las plantas y se pueden dividir en clases: ácidos hidroxibenzoicos, ácidos hidroxicinámicos, cumarinas, lignanos, chalconas, flavonoides, ligninas y xantonas (figura 14) (Carochoa, et al., 2018).

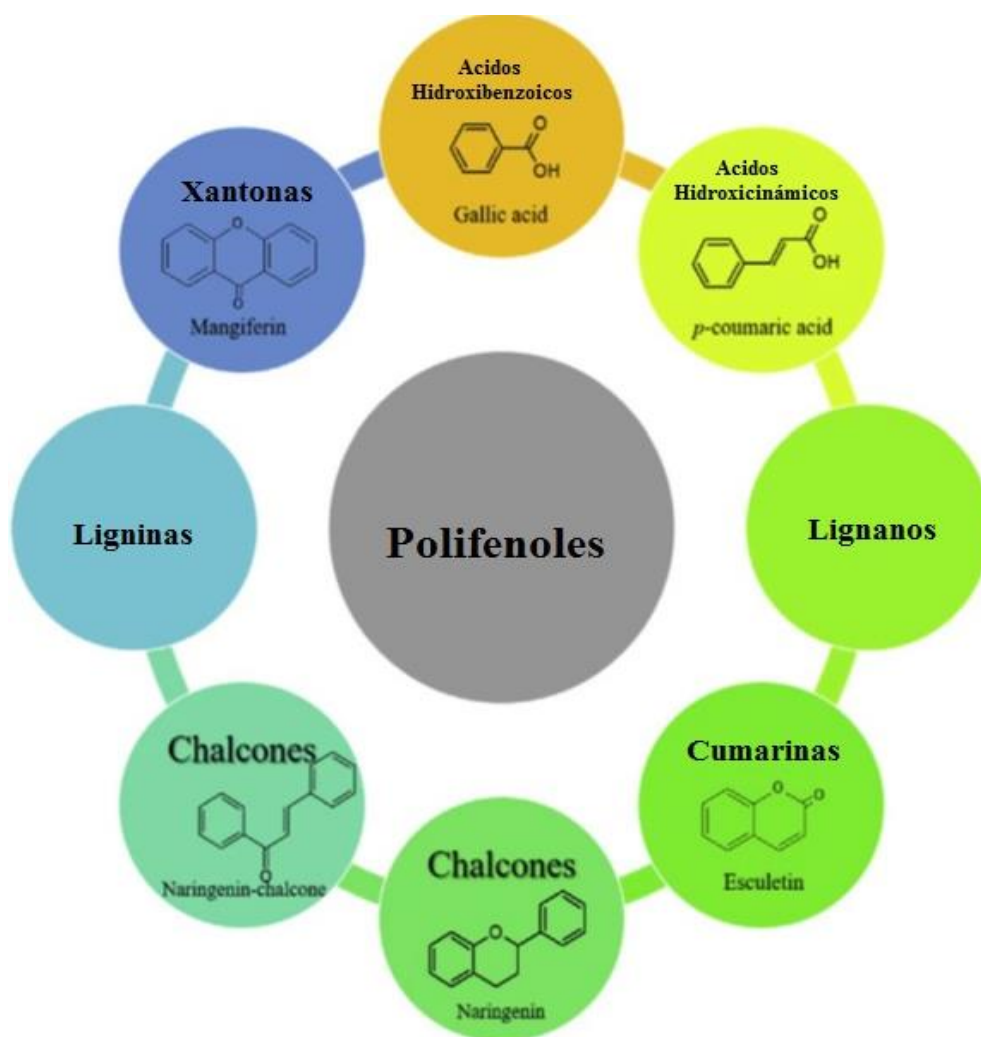


Figura 14. Representación de las clases de polifenoles, su estructura básica y un compuesto de ejemplo. Carochoa, Morales, & Ferreira (2018).

2.2.4.1. Clasificación.

Los compuestos fenólicos se pueden clasificar de cuatro maneras diferentes, comenzando desde lo más general a lo más específico: (1) flavonoides y no flavonoides (2) número de anillos aromáticos; (3) esqueleto de carbono; y (4) estructura química básica, que es una descripción que especifica átomos comunes, grupos funcionales, saturaciones, tipos de enlaces, y cómo están todos vinculados entre sí. (Santana-Gálvez & Jacobo-Velázquez, 2018)

A partir de los métodos de clasificación de compuestos fenólicos descritos anteriormente, el último método (basado en la estructura química básica) es el más utilizado. Se han identificado al menos 20 clases diferentes de compuestos fenólicos: los fenoles simples, las benzoquinonas, los ácidos fenólicos, los aldehídos fenólicos, las acetofenonas, los ácidos fenilacéticos, los ácidos hidroxicinámicos, cumarinas, fenilpropenos, cromonas, las naftoquinonas, xantonas, estilbenos, antraquinonas, flavonoides, biflavonoides, lignanos, ligninas, melaninas de catecol y taninos. (Santana-Gálvez & Jacobo-Velázquez, 2018)

2.2.4.2. Beneficios.

Carochoa, et al. (2018), menciona que la mayoría de los polifenoles tienen algún tipo de actividad biológica, ya sea antiinflamatoria, antimicrobiana, antioxidante o antitumoral.

Chouchouli, et al. (2013), refiere que existen muchos estudios que han demostrado que los polifenoles son importantes agentes preventivos contra varias enfermedades degenerativas, y que ahora hay evidencia emergente de que sus metabolitos en el sistema circulatorio ejercen efectos moduladores en las células, vitales para funciones celulares tales como crecimiento, proliferación y apoptosis.

2.2.5. Actividad antioxidante.

La actividad antioxidante es la capacidad de un compuesto para reducir pro-oxidantes o especies reactivas de importancia patológica. La mayoría de los métodos que se han definido como métodos de inhibición involucran especies reactivas, que generalmente son radicales libres (Somogyi, Rosta, Pusztai, Tulassay, & Nagy, 2007).

2.2.5.1. Métodos.

La capacidad antioxidante, es el número de moles de un radical libre determinado neutralizado por la solución de prueba independientemente por un antioxidante en la mezcla. De hecho, el ensayo de antioxidante individual no es de mucha utilidad en comparación con la capacidad total de ensayo antioxidante (Shivakumar & Kumar, 2018).

La capacidad antioxidante no se concluye en base a un único modelo de prueba antioxidante. Hay varios procedimientos de prueba in vitro para evaluar las actividades antioxidantes con las muestras de interés. Es difícil comparar completamente un método con otro, ya que los modelos de prueba de antioxidantes varían en diferentes aspectos. En general, las pruebas antioxidantes in vitro usando trampas de radicales libres son relativamente sencillas de realizar (Dontha, 2016).

Entre los métodos de eliminación de radicales libres, el método de 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH) es además rápido, simple (es decir, no está implicado con muchos pasos y reactivos) y es económico en comparación con otros modelos de prueba. Por otro lado, el ensayo de decoloración de la sal de diamonio 2, 2-azinobis (3-etil benzotiazolin-6-sulfónico) (ABTS) es aplicable tanto a antioxidantes hidrófilos como lipófilos (Dontha, 2016).

Los métodos y herramientas utilizadas para evaluar la actividad antioxidante han avanzado considerablemente en las últimas décadas. Los primeros métodos miden la eficacia de los antioxidantes contra la formación de especies particulares de productos de oxidación. Hasta la ahora, diversos ensayos químicos junto con tecnologías de detección altamente sensibles y automatizadas se emplean para evaluar la actividad antioxidante a través de mecanismos particulares, por ejemplo, actividad de barrido contra ciertos tipos de radicales libres o ROS, reducción de potencia y quelación de metales, entre otros (Shivakumar & Kumar, 2018).

Determinación in vitro de la capacidad antioxidante, Este enfoque tiene beneficios sobre la simple cuantificación de los componentes antioxidantes, ya que proporciona una medida de su eficacia. Es muy difícil seleccionar un método de ensayo antioxidante adecuado. Los antioxidantes actúan por varios

mecanismos y ningún ensayo puede capturar los diferentes modos de acción del antioxidante (Badarinath, et al., 2010).

Karadag , Ozcelik , & Saner (2009), refieren que la capacidad antioxidante puede medirse por los efectos del antioxidante en el control del grado de oxidación. Estos ensayos también pueden basarse en el barrido de radicales peroxilo como ORAC y TRAP, potencia reductora de metales, como la reducción férrica / poder antioxidante (FRAP) y poder reductor / antioxidante cúprico (CUPRAC), captación de radicales hidroxilo como ensayo de desoxirribosa, barrido orgánico de radicales como ABTS y DPPH o la cuantificación de productos formados durante la peroxidación lipídica. La principal diferencia entre estos ensayos es los enfoques de cuantificación. Por ejemplo, el método ORAC aplica el área bajo el enfoque de la curva cinética; el ensayo TRAP depende del tiempo de retraso.

Sobre la base del modo de acción, los antioxidantes se pueden clasificar en dos grupos principales, a saber, la transferencia de átomos de hidrógeno (HAT) y los ensayos de transferencia de electrones simples (SET). Los antioxidantes pueden eliminar radicales u otras ROS por HAT y ET que conducen a los mismos resultados finales, independientemente del mecanismo involucrado, aunque la cinética y el potencial de reacciones secundarias varían (Moharram & Youssef, 2014; Shahidi & Zhong, 2015).

Los ensayos en SET, en la mayoría de estos ensayos, la acción antioxidante se simula con una sonda de potencial redox adecuada, es decir, los antioxidantes reaccionan con una sonda fluorescente o coloreada (agente oxidante) en lugar de radicales peroxilo. Los ensayos espectrofotométricos basados en SET miden la capacidad que posee un antioxidante para reducir un oxidante, el cual produce una variación en la coloración cuando se reduce. El grado de cambio de coloración esta correlacionado con la concentración de antioxidantes presentes en la muestra. Los métodos ABTS, TEAC y DPPH son ensayos que se caracterizan por la decoloración, mientras que en el ensayo de fenoles totales Folin, FRAP y CUPRAC se produce un aumento en la absorbancia a una longitud de onda pre-especificada cuando el antioxidante reacciona con el reactivo cromogénico. (Moharram and Youssef 2014).

La tabla 3 muestra los métodos HAT y SET:

Tabla 3

Los métodos HAT y ET utilizados para evaluar la actividad antioxidante

S.	N°	Nombre del Método
I		Método basado Transferencia Átomo de Hidrógeno (HAT)
	1)	Capacidad de Absorbancia de Radicales de Oxígeno (ORAC) (CARO)
	2)	Capacidad de Inhibición Peroxidación Lipídica (LPIC)
	3)	Parámetro Antioxidante Total de Captura de Radicales Peroxilo (TRAP)
	4)	Inhibición del Consumo de Oxígeno (IOC)
	5)	Actividad inhibición por blanqueo de crocina por radicales de óxido nítrico
	6)	Actividad antioxidante del radical hidroxil por p-NDA (p-butrisidunethyl aniline)
	7)	Radicales secuestrados de H ₂ O ₂
	8)	Secuestro de radicales por ABTS
	9)	Secuestro de radicales super óxido por formación alcalina (SASA)
II		Método Transferencia de Electrones (ET)
	1)	Capacidad Antioxidante Trolox Equivalente (TEAC) decolorización
	2)	Poder Antioxidante por Reducción Ferrica (FRAP)
	3)	Capacidad de Reducción del Cobre (II)
	4)	Secuestro de radicales libre por DPPH
	5)	Fenoles Totales por Folin-Ciocalteu
	6)	N, N-dimetil-p-fenil-N-diamina (DMPD)

Nota. Tomado de Moharram & Youssef (2014)

Los ensayos basados en HAT miden la capacidad de un antioxidante para atenuar los radicales libres por donación de átomos de H. Dado que en los ensayos antioxidantes basados en HAT, tanto la sonda fluorescente como los antioxidantes reaccionan con ROO •, la actividad antioxidante puede

determinarse a partir de la cinética de competencia midiendo la curva de decaimiento de fluorescencia de la sonda en ausencia y presencia de antioxidantes, integrando el área bajo estas curvas, y encontrar la diferencia entre ellos (Moharram and Youssef 2014).

2.3. Definiciones conceptuales

- **Capacidad Antioxidante:** actividad biológica responsable de inhibir la oxidación de biomoléculas, promoviendo un efecto preventivo sobre determinadas enfermedades.
- **Antioxidante:** se definen como sustancias capaces de inhibir la tasa de oxidación de radicales libres (bajan las defensas, generan daño celular promueven las enfermedades degenerativas y el envejecimiento).
- **DPPH:** 2,2-difenil-picril-hidracilo, polvo cristalino de color oscuro compuesto por moléculas estables de radicales libres, este compuesto se decolora ante la reacción con un radical oxidante cambiando de color por lo cual es aprovechado en los análisis colorimétricos.
- **In vitro:** se refiere a realizar el cultivo en recipientes de vidrio en condiciones asépticas a nivel laboratorio. Es una técnica que permite la realización de un experimento determinado dentro de un tubo de ensayo, o en un ambiente controlado fuera de un organismo vivo.

2.4. Formulación de Hipótesis

2.4.1. Hipótesis General

Las semillas de uvas (*Vitis vinifera*) cultivadas en el valle de Cañete presentan capacidad antioxidante y están relacionadas con el contenido de fenoles totales.

2.4.2. Hipótesis Específicos

- Los extractos de las semillas de uvas (*Vitis vinifera*) cultivadas en el valle de Cañete presentan capacidad antioxidante.
- Los extractos de las semillas de uvas (*Vitis vinifera*) cultivadas en el valle de Cañete contienen fenoles totales que son cuantificables.
- La capacidad antioxidante de las semillas de uvas (*Vitis vinifera*) cultivadas en el valle de Cañete presentan diferencias significativas y están correlacionadas con el contenido de fenoles totales.

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1. Diseño Metodológico

3.1.1. Tipo de Investigación

El trabajo de investigación es de tipo experimental, transversal y responde al carácter Cuantitativo, explicativo, aplicado y observacional porque se obtienen los datos y se observa todos los sucesos que ocurren durante la ejecución de la investigación.

3.1.2. Nivel de Investigación

Esta investigación es de nivel explicativo y correlacional, ya que se pretende determinar el grado de relación entre las semillas de 7 variedades de uva con su contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante.

3.1.3. Diseño

Debido a la posibilidad del manejo de las variables independientes, la investigación responde al diseño Experimental, transversal y prospectivo. Porque permite recoger la información precisa de las variables a estudiar, como la capacidad antioxidante y el contenido de polifenoles en las semillas de uvas (*Vitis vinífera*) procedentes del Valle de Cañete.

3.1.4. Enfoque

El estudio se realizará con el fin de evaluar la capacidad antioxidante y contenido de fenoles totales en siete semillas de uvas que son residuos de las prácticas vinícolas en el Valle de Cañete-Región Lima-Provincias, se busca revalorar a un remanente que actualmente no está siendo aprovechado ya que por otros estudios se sabe que contienen compuestos bioactivos que luego de extraerlos sirven como aditivos para fortificar muchos alimentos, para productos farmacéuticos y cosméticos. El esquema del procedimiento experimental se muestra en la figura 15.

Para el presente trabajo la parte experimental, las evaluaciones se realizaron en el Laboratorio de Proyecto de Investigación - Modalidad FOCAM “Formulación de bebidas funcionales con capacidad antioxidantes a base de frutas y verduras” en la Escuela Académico Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión - Huacho .

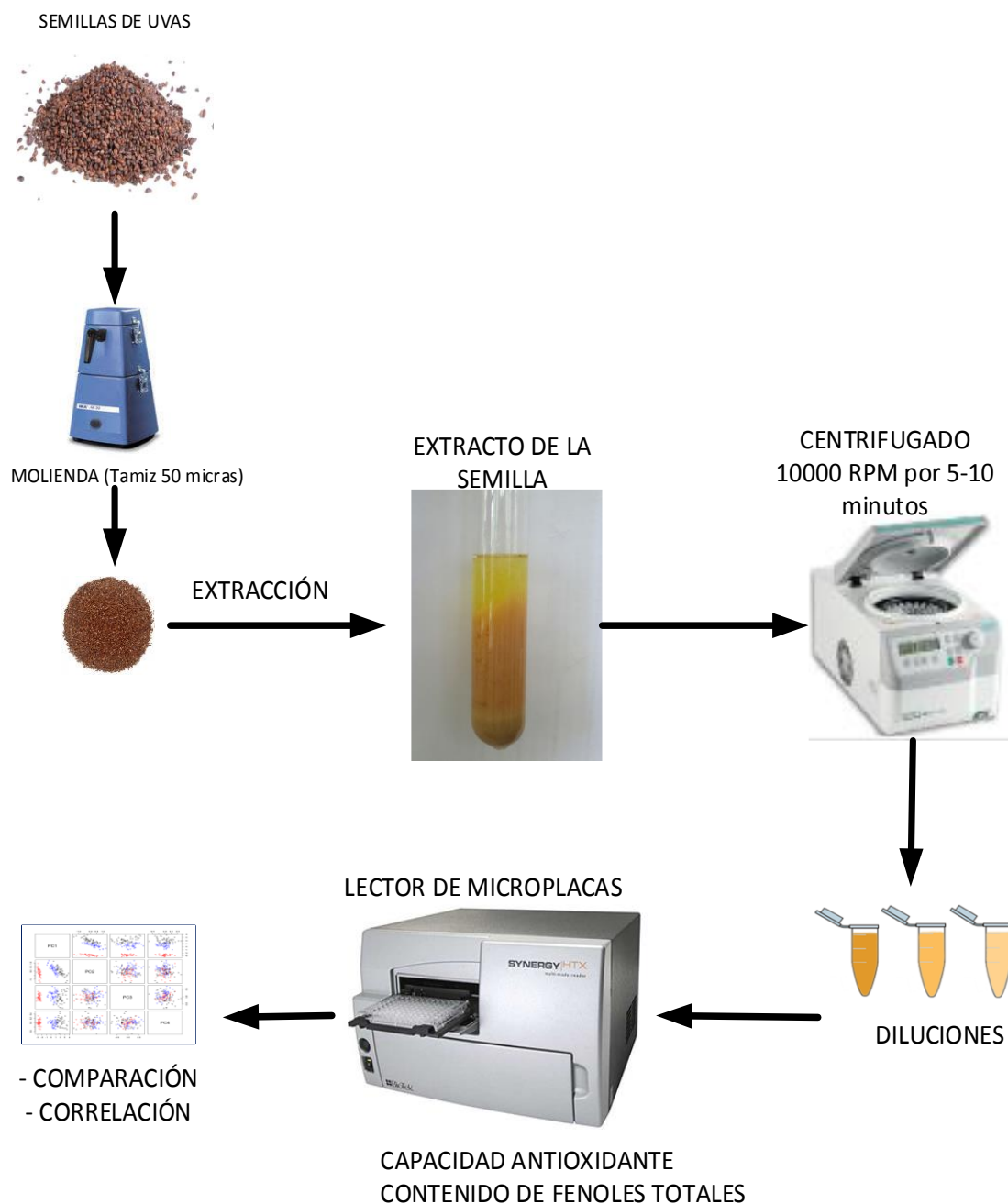


Figura 15. Esquema del proceso experimental de la investigación.

3.2. Población y Muestra

Está conformado por las semillas de las frutas de uvas que son cultivadas en el Valle de Cañete, semillas que generalmente proceden del excedentes de la vinificación, secas, sanas y que fueron sometidas a los procesos de maceración y fermentación alcohólica.

Las muestras son las semillas molidas de 7 variedades de uvas (Borgoña negra, Italia, Moscatel, Borgoña Blanca, Red Globe, Uvina y Quebranta) las mismas que son más cultivadas en el Valle de Cañete.

3.3. Operacionalización de Variables e indicadores

El estudio presento las siguientes variables operacionales:

Tabla 4

Operacionalización de las variables e indicadores del estudio

Variab les	Dimensiones	Indicadores	Instrumentos de medición	Unidad de medida
<u>Independientes:</u> Semilla de Uvas	Estado semilla	Integridad	Visual	
		Limpieza	Visual	
		Calidad	Visual	
	Extracción	Reacción	Coloración Visual	
<u>Dependientes:</u> Capacidad antioxidante	Capacidad anti radical	DPPH-Quencher		uMol/g
		DPPH	Lector Microplacas	uMol/g
		Extractable		IC50
		ABTS+	Lector Microplacas	TEAC
		FRAP	Lector microplacas	uMol AG/g
Fenoles totales	Contenido polifenoles	Folin-Ciocalteu	Lector Microplacas	mg EAG/g

3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

3.4.1. Técnicas a emplear

a) Para recopilación de información teórica:

La recopilación de datos se realizó través de lecturas, anotaciones, análisis, interpretación y fichajes

b) Para recopilación de datos empíricos de laboratorio:

- Lecturas del Lector de placas Multimodal
- Análisis
- Interpretación
- Toma de datos con instrumentos de medición

3.4.1.1. Determinación de la Capacidad antioxidante total.

Método directo DPPH-Quencher.

Para la capacidad antioxidante por el método directo Quencher (QUICK, Easy, New, CHEap y Reproducible) se siguió lo propuesto por Condezo-Hoyos, Abderrahim, Arriba, & González (2015), donde resumidamente se pesa un miligramo de la semilla de uvas previamente molida finamente y se mezcló con 1 mL de DPPH (120 $\mu\text{mol L}^{-1}$ disuelto en metanol 1: 1/10 mmol L⁻¹ Tris-HCl buffer pH 7,5) y se agitó a 200 rpm durante 10 minutos en temperatura ambiente con un agitador orbital TOS-4030FD (Shaker, MRC Laboratory Equipment, Israel) bajo condiciones de oscuridad cubriendo las muestras con papel de aluminio. Posteriormente, las muestras se centrifugaron (HERMLE, Z216 MK, Labortechnik GmbH, Wehingen, Alemania) a 3500 g durante 10 minutos a temperatura ambiente y se transfirieron los sobrenadantes (200 μL) a cada microplaca de 96 pocillos (Nunc TM MicroWell TM de 96 pozos, Thermo Scientific, Madrid, España). La absorbancia se midió a 520 nm empleando un lector de microplacas Synergy HTX Multi-Modal (Biotek, Rochester, VT, USA). La capacidad antioxidante total se calculó como capacidad de secuestro o inhibición y se expresó en mMol DPPH inhibido/ Kg de peso de semilla de uvas.

Método de extracción.

Para las mediciones de la capacidad antioxidante por los métodos tradicionales es necesario una previa extracción, en lo cual todas muestras de semillas son tratadas primero con ácido (HCl)-metanol/agua (50:50, v/v, pH 2) en un agitador orbital (Shaker) TOS-4030FD (MRC Laboratory Equipment, Israel) a velocidad máxima durante 1 h (temperatura ambiente) en condiciones de oscuridad cubriendo las muestras con papel de aluminio, luego este extracto crudo fue centrifugado a 10000 $\times\text{g}$ durante 10 minutos (4°C) (Hermle Labortechnik GmbH, Wehingen, Alemania), se realizó una segunda extracción luego de separar el sobrenadante, se usó Acetona/agua (70:30, v/v) y se procedió con los mismos pasos de la primera extracción, los dos sobrenadantes son mezclados en mismo volumen y se almacenaron a -40°C en un ultra congelador ULUF (Arctiko, Lammefjordsvej, Dinamarca) hasta el análisis. Se utilizó una relación solvente/sólido = 20 para todas las extracciones de las semillas de uvas.

Método DPPH extractable.

El método tradicional para la actividad antioxidante con el DPPH, fue descrito por Brand-William et al. (1995) y tiene muchas modificaciones, entre las que destacan lo descrito por Abderrahim et al., (2015) donde brevemente, las muestras previamente extraídas son diluidas (10 μ L muestra o el blanco control) son colocados en cada pocillo de la micro placa por triplicado y se mezclan con 200 μ L de DPPH (60 μ mol L⁻¹ disuelto en metanol 1: 1/10 mmol L⁻¹ Tris-HCl buffer pH 7,5), después de 10 minutos de incubación a temperatura ambiente, se midió la absorbancia a 520 nm con un lector de microplacas Synergy HTX Multi-Modal (Biotek, Rochester, VT, USA). La capacidad antioxidante extraíble se calculó como índice de capacidad de secuestro (SCI) y se expresó en mMol DPPH inhibido/Kg peso de semillas de uvas.

$$\text{Porcentaje Inhibición} = 100\left(1 - \frac{A_{\text{muestra}}}{A_{\text{control}}}\right)$$

Donde: A_{muestra} = Absorbancia de la muestra a 515 nm

A_{control} = Absorbancia del reactivo DPPH

Se graficó la concentración de cada dilución frente a su respectivo porcentaje de inhibición y obteniéndose los puntos un tendencia lineal de la forma $Y = A + BX$ (donde Y es el porcentaje de inhibición, X es la concentración mg/mL, A es la intercepción y B es la pendiente), el poder reductor se refiere a la pendiente de dicha línea que se estima como ICI (Índice de Capacidad de Inhibición) cuyas unidades son; μ Mol de DPPH inhibido/mL de extracto, también se calcula el valor de IC₅₀ (concentración efectiva media) con la siguiente ecuación:

$$IC_{50} = (50 - \text{pendiente}) / \text{Intercepción}$$

Método de ABTS+.

La capacidad antioxidante por ABTS+ que mide el TEAC fue empleado inicialmente por Re et al. (1999), la cual tiene varias ligeras modificaciones, según Pastrana-Bonilla et al., (2003), pero para un ensayo micrométodo, la formación del radical se logra directamente Pesando 0.0192 g de ABTS más 0.0033 g de persulfato pototásico, se agregar agua ultra pura y se enrasa en una fiola de 5 mL, mantener por 16 horas en la oscuridad y a temperatura

ambiente. Para la solución de trabajo se diluye el ABTS+ (7 mMol) en Buffer fosfato (5 mMol) o en etanol hasta obtener una absorbancia de 0.7 ± 0.2 a 734 nm. Para las mediciones se toman 10 uL de muestra diluida en Buffer Fosfato o etanol, y son colocados en cada pocillo de la microplaca por triplicado y se mezclan con 200 uL de la solución de trabajo de ABTS+, para la obtención de la curva de calibración se tomó como patrón al Trolox en concentraciones seriadas de 500, 375, 250, 187.5, 125, 62.5 y 31.25 μM , todas disueltas en Buffer Fosfato (5 mMol), la lectura se realizan a 734 nm con un lector de microplacas Synergy HTX Multi-Modal (Biotek, Rochester, VT, USA), la capacidad antioxidante es expresado como TEAC en uMol Equivalente Trolox/g de semilla de uvas.

Método de FRAP.

El ensayo FRAP fue desarrollado originalmente por Benzie y Strain (1996) para medir el poder reductor en muestras de plasma, sin embargo, también se ha adaptado y utilizado para el ensayo de antioxidantes en productos botánicos, Según la metodología sugerida por Taco (2017) y modificada para un nivel micrométodo la marcha es empleando las muestras previamente extraídas que son diluidas y se usa 20 μL y son colocados en cada pocillo de la microplaca por triplicado y se mezclan con 150 μL de FRAP previamente preparado (10 mL de Buffer Acetato (300 mMol, pH – 3.6), 1 mL de solución TPTZ (complejo férrico-2,4,6-tripiridil-s-triazina, 10mMol en HCl 40 mMol) y 1 mL de solución de FeCl_3 (20mMol)), después de 8 a 10 minutos de incubación a temperatura ambiente, se midió la absorbancia a 593 nm con un lector de microplacas Synergy HTX Multi-Modal (Biotek, Rochester, VT, USA). La capacidad antioxidante extraíble FRAP se calculó en referencia a equivalente de ácido gálico y se expresó en μMol Equivalente Acido Gálico/g peso de semillas de uvas. Para la obtención de la curva de calibración se prepararon soluciones seriadas de ácido gálico patrón de 0, 25, 50, 75, 100 a 125 μMol .

3.4.1.2. Determinación de Polifenoles Totales.

El análisis se realizara conforme a la reacción colorimétrica de Folin-Ciocalteu (Singleton and Rossi, 1965) pero siguiendo la metodología sugerida por Magalhães et al. (2010) empleando una microplaca de 96

pocillos y lectora multimodal Synergy HTX Multi-Modal (Biotek, Rochester, VT, USA), los resultados en forma triplicada son expresados en mg de Acido gálico equivalentes/Litro, ver el protocolo en anexo IV.

3.4.2. Descripción de instrumentos

Los instrumentos utilizados fueron:

- Textos electrónicos
- Revistas y artículos científicos
- Tesis de pre y post grado
- Análisis de capacidad antioxidante y contenido de polifenoles
- Interpretación de datos
- Correlación de datos

3.5. Técnicas para el procesamiento de la información

Para el proceso de análisis de datos, se utilizó el análisis estadístico Prueba de Tukey, desviación estándar, coeficiente de variabilidad, Análisis de Componentes Principales PCA (por su siglas en ingles) que es un método estadístico multivariado que agrupa la correlación de las variancias de cada variables en componentes identificables (De la Ossa, Hernández y Hernández, 2016), coeficiente de correlación de Pearson, utilizando programas de cálculo Microsoft Excel, el programa Project R y también se empleó el Software del equipo lector de microplaca multimodal, GEN5.

Para la presentación de resultados, se utilizó gráficos lineales, diagramas de resultados por análisis.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

4.1 Muestras de semillas de uva

En la figura 16 se muestran las semillas de uvas recolectadas desde el Valle de Cañete, estas corresponden a las que fueron retiradas luego del proceso de vinificación.

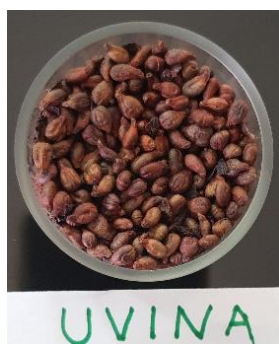
Aspecto visual de las muestras de semillas de uvas



Peso de 100 semillas = 2.3484 g Peso de 100 semillas = 4.4572 g Peso de 100 semillas = 3.1824 g



Peso de 100 semillas = 2.5556 Peso de 100 semillas = 2.6186 g Peso de 100 semillas = 2.4189 g



Diámetro del recipiente = 40.00 mm

Peso de 100 semillas = 3.0389 g

Figura 16. Muestras de las 7 variedades de semillas de uvas procedentes del Valle de Cañete.

4.2 Capacidad antioxidante de las muestras

Para la determinación de la capacidad antioxidante de las semillas de uvas se procedió a emplear los métodos de; DPPH, ABTS+ y FRAP.

4.2.1. Método DPPH

Para la capacidad antioxidante por el método DPPH se realizó de tres formas; la primera mediante el método directo DPPH-Quencher en la cual no necesita de una extracción y es expresado en uMol DPPH inhibido/g de semilla, la segunda fue el DPPH tradicional desde un extracto de dos fases expresado en uMol DPPH inhibido/g de semilla, y la última forma fue calcular el porcentaje de inhibición del DPPH de diluciones seriadas del mismo extracto, esto permitió calcular el valor de IC50 expresado en mg de semilla/mL de extracto y también se calcula el Índice de capacidad Inhibitoria (ICI) que es la pendiente de la función lineal entre el porcentaje de inhibición y la concentración de la muestra diluida y se expresa como uMol de DPPH inhibido/L de extracto. En la tabla 5 se muestra los resultados correspondientes al método directo DPPH-Quencher

Tabla 5

Capacidad antioxidante de semillas de uvas por el método directo DPPH-Quencher

Variedad de Uvas	uMol DPPH Inhibido/g semilla				Promedio	Desv. Estándar
	R1	R2	R3	R4		
Borgoña Blanca	61.28	60.8	60.72	61.92	61.18	0.55
Borgoña Negra	59.36	60	61.2	61.92	60.62	1.15
Italia	57.92	57.76	57.68	58.16	57.88	0.21
Red Globe	60.64	61.92	61.92	61.68	61.54	0.61
Quebranta	63.36	63.76	63.28	63.44	63.46	0.21
Moscatel	61.52	62.56	62.80	62.32	62.30	0.56
Uvina	61.84	60.96	61.76	61.76	61.58	0.42

Los promedios indican que las semillas de la quebranta y moscatel tienen mayor poder antioxidante y no presentan diferencia significativa ($p < 0.05$), las semillas de las borgoñas, Red globe y Uvina agrupan igual y la variedad Italia solitariamente es menor a todos.

La capacidad antioxidante de las semillas procedentes del Valle de Cañete con el método tradicional DPPH mediante una extracción de dos fases se muestra en la

tabla 6, se aprecia mayor promedio en la semilla de uvas Quebranta y un menor promedio en la semilla de la uva Borgoña negra.

Tabla 6

Capacidad antioxidante de la semilla de uvas por el método de DPPH extractable

Variedad de Uvas	uMol DPPH Inhibido/g semilla				Promedio	Desv. Estándar
	R1	R2	R3	R4		
Borgoña Blanca	105.49	114.97	103.76	100.67	106.22	6.16
Borgoña Negra	55.94	56.80	49.72	51.40	53.46	3.44
Italia	125.63	135.11	128.00	140.08	132.21	6.62
Red Globe	77.45	77.45	77.41	84.14	79.11	3.35
Quebranta	170.16	175.90	192.00	186.25	181.08	9.87
Moscatel	83.02	73.29	87.27	98.66	85.56	10.51
Uvina	108.86	116.93	116.35	96.46	109.65	9.53

Los resultados de la capacidad antioxidante mediante el método DPPH extractable si muestra mayor diferencia entre variedades, los promedio forman grupos individuales a excepción de que la Borgoña Blanca y la Uvina no difieren significativamente ($p>0.05$) al igual que Red Globe y Moscatel que sus promedios no difieren significativamente.

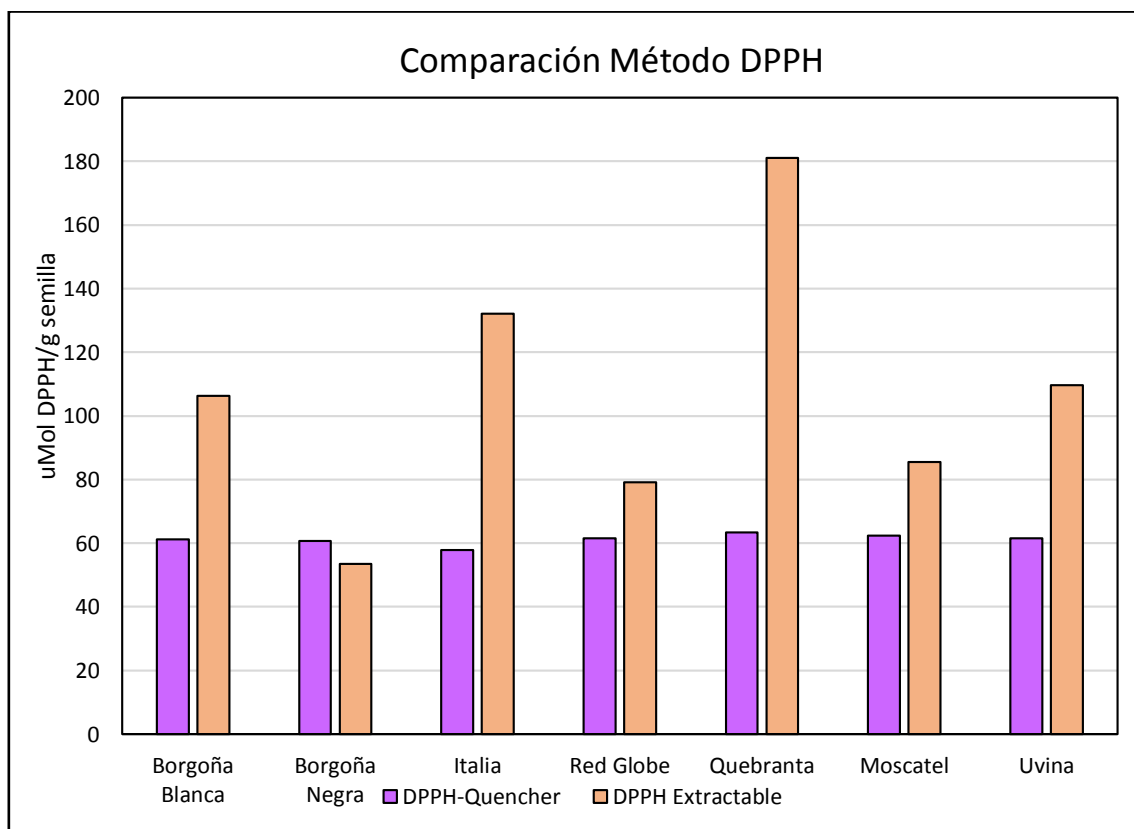


Figura 17. Comparación de la capacidad antioxidante por el método DPPH.

En la figura 17 se aprecia la comparación de los dos métodos de capacidad antioxidante por DPPH primero por la forma directa tipo Quencher sin extracción y la segunda con una extracción de dos fases, los promedios del procedimiento con extracción es mayor que el modo directo solo a excepción de la variedad de semillas de uvas Borgoña Negra donde el método Quencher es ligeramente mayor en su promedio, esto nos estaría indicando que la interacción entre la partícula de la muestra no es eficiente con el reactivo solvente DPPH, según Cömert & Gökmen (2017), hay menor secuestro cuando los antioxidantes son insolubles y se encuentran atrapados en una matriz sólida.

Tabla 7

Calculo del ICI e IC50 en la capacidad antioxidante de la semilla de uvas por el método de DPPH extractable

Concentración mg semilla/mL extracto	Porcentaje de Inhibición (promedio)						
	Borgoña Blanca	Borgoña Negra	Italia	Red Globe	Quebranta	Moscatel	Uvina
0.4183	64.20	39.09	76.56	50.21	89.92	78.02	69.67
0.2092	36.63	19.75	43.62	27.16	59.26	39.92	37.86
0.1046	20.16	12.40	23.46	13.58	30.45	21.40	20.58
0.0523	15.23	7.82	11.11	7.41	16.87	6.58	10.29
0.0261	7.41	4.53	3.70	1.23	8.23	5.35	6.58
ICI (Índice Capacidad Inhibitoria)	140.92	86.11	182.81	121.71	207.49	188.65	161.47
R ²	0.995	0.997	0.991	0.994	0.974	0.996	0.998
IC50 (mg/mL)	0.31	0.55	0.26	0.41	0.21	0.27	0.29

En la tabla 7 se muestra los resultados de los cálculos del ICI (Índice de Capacidad de Inhibición) y del valor de IC50 (concentración efectiva media) en donde se aprecia que la semilla de las uvas Quebranta tienen mayor promedio de capacidad antioxidante por DPPH y la Borgoña Negra tiene el menor promedio de todas las semillas evaluadas. En la figura 18 se visualiza los modelos lineales para la estimación del ICI y del IC50, en este último se valora de forma contraria es decir

la menor requerimiento es realizado por la semilla Quebranta y el mayor valor de IC50 es para la Borgoña negra.

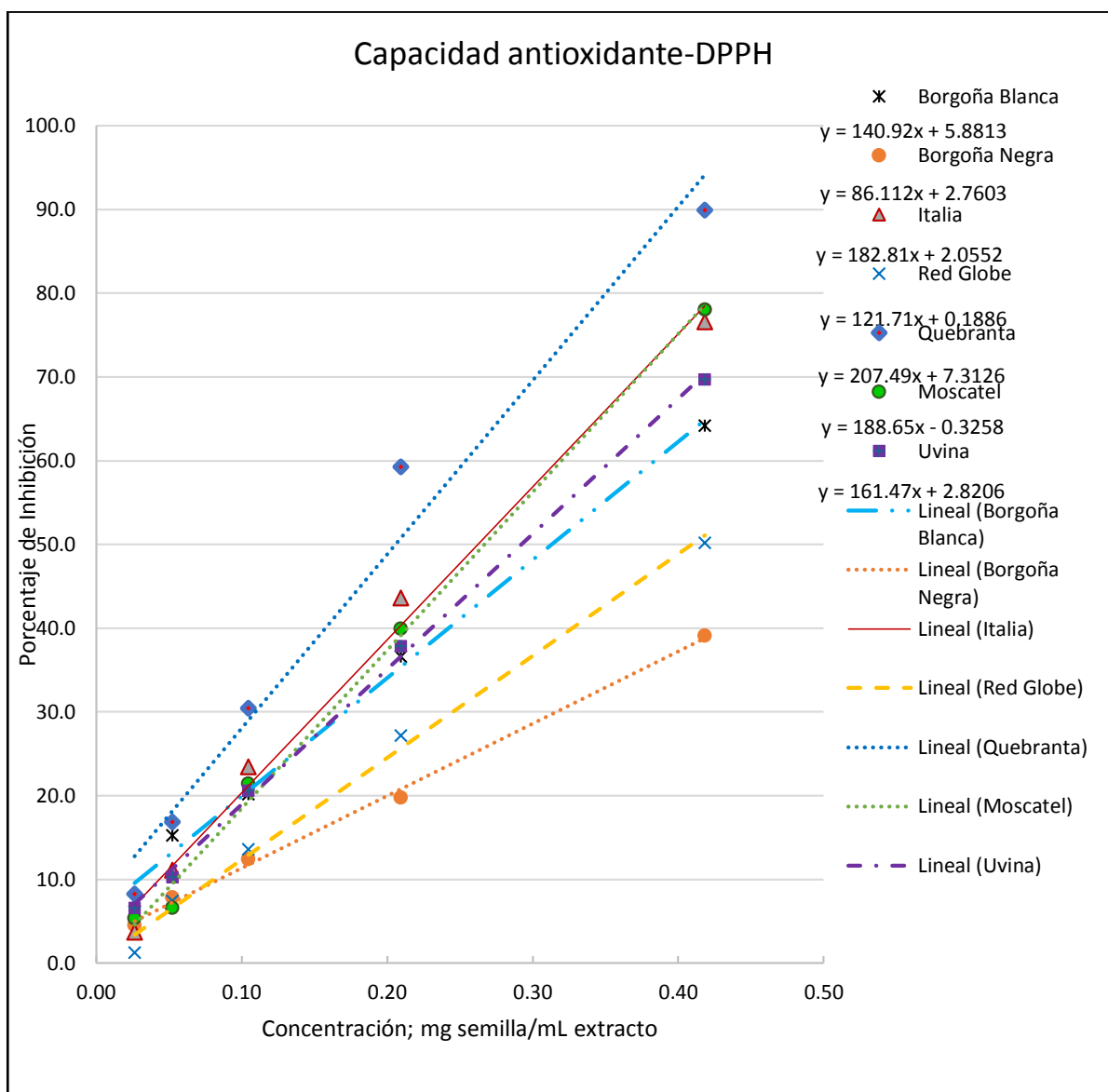


Figura 18. Relación lineal de la capacidad antioxidante por el método DPPH del extracto de semillas de uvas para la estimación de IC50

4.2.2. Método ABTS+

En la tabla 8 se muestran los resultados de la capacidad antioxidante por el método de ABTS+ Calculados en referencia al equivalente Trolox mediante una curva de calibración mostrada en la figura 19, para este método se aprecia que los promedios de la semilla de uvas Quebranta tiene el mayor valor de 1292.94 uMol Equiv. Trolox/g de semillas y en una cantidad de 660.4 uMol Equiv. Trolox/g de semillas para la semilla Borgoña negra que es la que tiene una menor capacidad inhibitoria.

Tabla 8

Capacidad antioxidante de las semillas de uvas por el método ABTS+

Variedad de Uvas	uM Equivalente Trolox/g semilla				Promedio	Desv. Estándar
	R1	R2	R3	R4		
Borgoña Blanca	931.04	888.07	920.53	923.74	915.84	19.03
Borgoña Negra	628.85	626.39	686.85	699.52	660.40	38.22
Italia	997.46	997.34	1068.09	1052.75	1028.91	36.92
Red Globe	854.50	826.82	880.02	915.06	869.10	37.56
Quebranta	1271.59	1322.11	1317.00	1261.07	1292.94	31.10
Moscatel	871.05	914.74	990.88	880.92	914.40	54.31
Uvina	1002.00	972.84	998.98	972.55	986.59	16.09

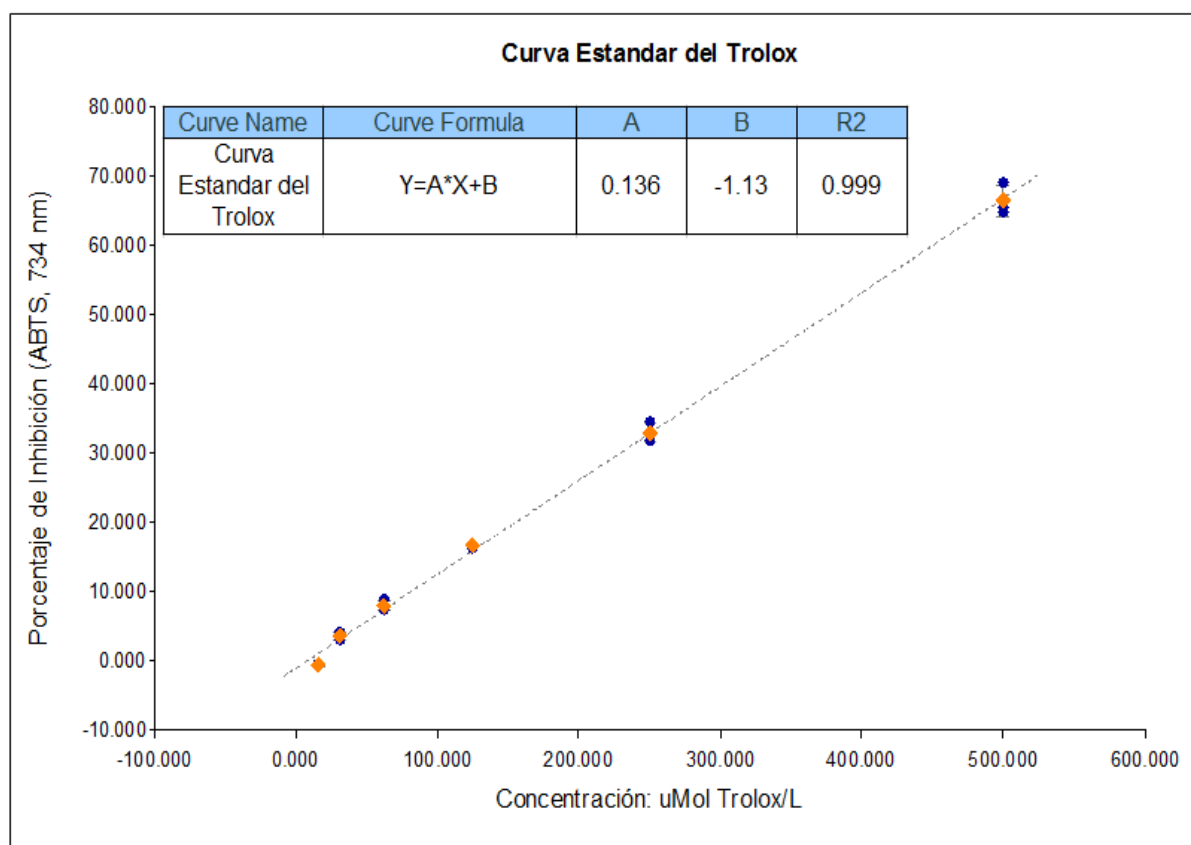


Figura 19. Curva estándar del patrón Trolox para la capacidad antioxidante método ABTS+.

Los resultados de los promedios de la capacidad antioxidante equivalente Trolox (TEAC) mediante el método ABTS+ en las semillas también son mostradas en forma comparativa entre las variedades de uvas en la figura 20, para un nivel de confianza de 95% se encuentra que las

semillas de las uvas Italia y Uvina son significativamente iguales con valores de 1028.91 y 986.59 uMol Equiv. Trolox/g de semilla, y la semillas de las uvas Borgoña blanca, Red globe y Moscatel se agrupan y significativamente son iguales con valores de capacidad antioxidante de 915.84, 869.10 y 914.40 uMol Equiv. Trolox/g de semilla, respectivamente, calculados desde la ecuación:

$$\% \text{ de inhibición} = 0.136 (\text{uMol ET/L}) - 1.13$$

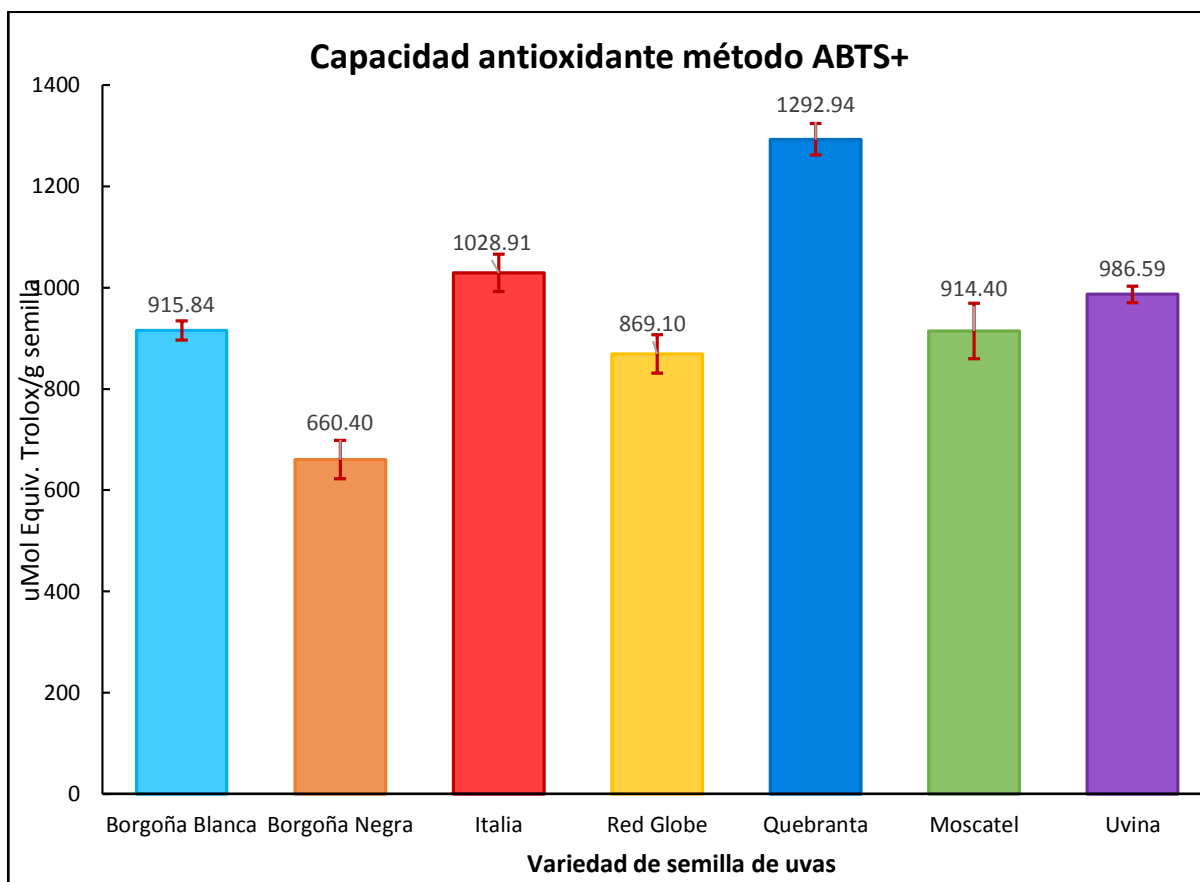


Figura 20. Capacidad antioxidante de las semillas de uvas expresada en TEAC, Equivalente Trolox.

4.1.3. Método FRAP

En la tabla 9 se muestra los resultados de la capacidad antioxidante de las semillas de uvas determinadas mediante el método FRAP expresadas en equivalencia al ácido gálico como patrón tal como se aprecia en la figura 21, los valores de la capacidad inhibitoria expresan que la semilla de uvas Quebranta tiene mayor poder reductor y la semilla de uvas con menor capacidad lo muestra la Borgoña Negra, con 451.19 y 225.01 uMol Equiv. Ácido gálico/g de semilla, respectivamente.

Tabla 9

Capacidad antioxidante de las semillas de uvas por el método FRAP

Variedad de Uvas	uMol Equiv. Ácido Gálico/g semilla			Promedio	Desv. Estándar
	R1	R2	R3		
Borgoña Blanca	363.57	367.12	352.28	360.99	7.75
Borgoña Negra	210.72	218.91	245.41	225.01	18.13
Italia	413.17	438.28	399.05	416.83	19.87
Red Globe	377.68	350.77	315.74	348.06	31.06
Quebranta	445.20	431.79	476.59	451.19	23.00
Moscatel	328.63	389.41	342.61	353.55	31.83
Uvina	400.18	461.36	386.67	416.07	39.80

En la figura 22 se aprecia la comparación de la capacidad antioxidante por el método FRAP realizadas en las 7 semillas de uvas procedentes del Valle de Cañete, la variedad Quebranta tienen mayor promedio y se agrupa con la variedad Italia y Uvina con valores respectivos de 451.19, 416.83 y 416.07 uMol Equiv. Ácido gálico/g de semilla para un nivel de confianza de 95%, un segundo grupo lo forma la Borgoña blanca, Moscatel y Red globe con valores de 360.99, 353.55 y 348.06 uMol Equiv. Ácido gálico/g de semilla respectivamente, y con menor promedio la semilla de la Borgoña negra expone que estadísticamente es diferente a las demás promedio la semilla de la Borgoña negra expone que estadísticamente es diferente a las demás semillas.

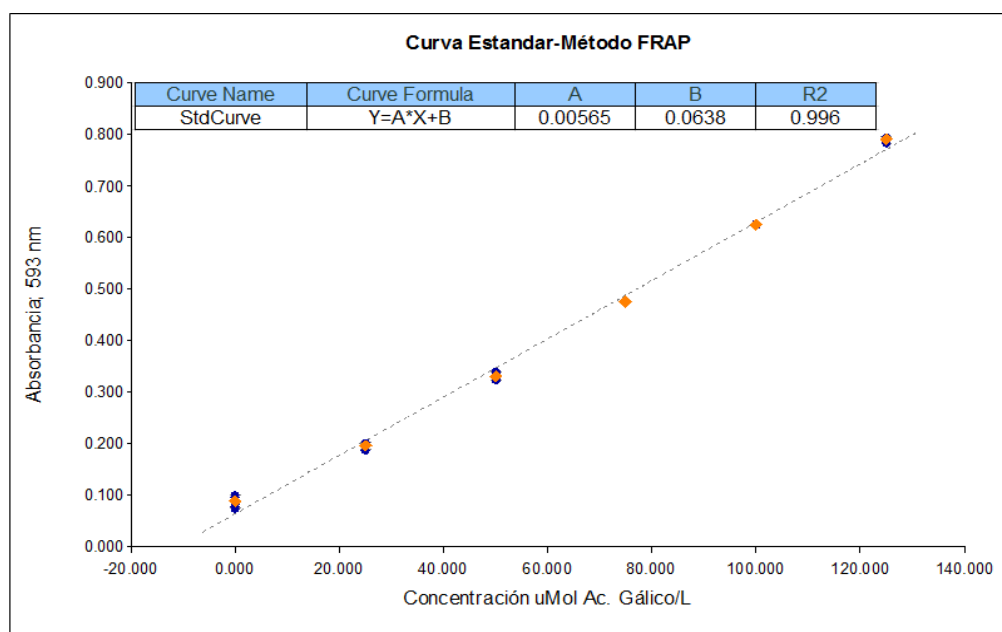


Figura 21. Curva estándar patrón de ácido gálico para la capacidad antioxidante método FRAP.

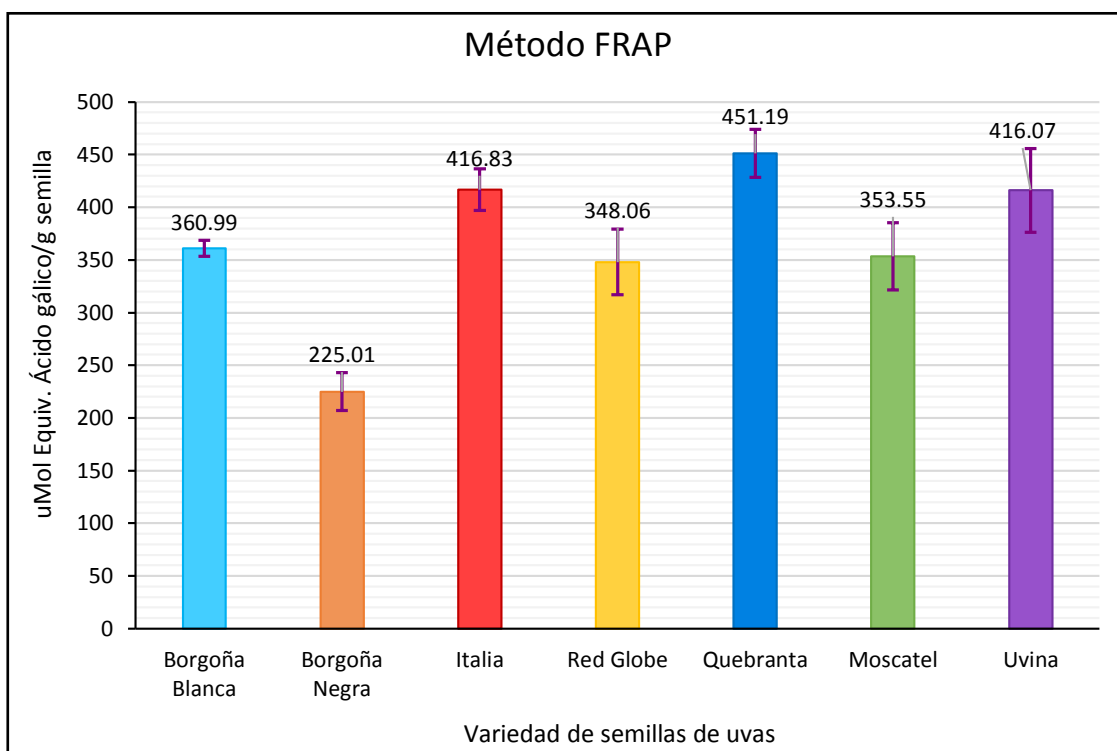


Figura 22. Capacidad antioxidante de las semillas de uvas determinadas por el método FRAP.

4.3 Contenido de Polifenoles

En la tabla 10 se puede apreciar los resultados de la cuantificación del contenido de polifenoles mediante el ensayo de Folin-Ciocalteu, para el cálculo de la cantidad de fenoles totales de las semillas de uvas fue necesario la curva de calibración empleando como patrón al ácido gálico, la gráfica de dicha curva se puede apreciar en la figura 23 donde se obtiene la relación lineal; Absorbancia, 760 nm = 0.0109(mg ÁC. Gálico)+0.0502, y un $r^2=1$.

Tabla 10

Contenido de polifenoles totales en las muestras de semilla de uvas

Variedad de Uvas	mg Equivalente Ácido Gálico/g semilla				Promedio	Desv. Estándar
	R1	R2	R3	R4		
Borgoña Blanca	87.88	78.71	79.52	87.88	83.50	5.07
Borgoña Negra	64.42	59.36	64.32	64.81	63.23	2.59
Italia	99.77	89.74	105.47	91.21	96.55	7.41
Red Globe	75.59	68.90	73.21	79.29	74.25	4.35
Quebranta	96.69	95.11	104.86	92.36	97.26	5.38
Moscatel	70.40	75.85	79.57	74.49	75.08	3.79
Uvina	95.49	92.36	89.40	82.34	89.90	5.62

Los resultados del contenido de Polifenoles en las semillas de las 7 variedades de uvas muestran que entre las semillas de uvas Quebranta, Italia y Uvina no existe diferencia significativa para un nivel de confianza de 95% con valores en promedios de 97.26, 96.55 y 89.90 mg Equiv. Ácido gálico/g de semilla, en un segundo grupo están las semillas de uvas de Borgoña blanca, Moscatel y Red globe con valores de 83.50, 75.08 y 74.25 mg Equiv. Ácido gálico/g de semilla respectivamente, la semilla de uvas de Borgoña negra es baja y diferente a las demás semillas con un promedio de 63.23 mg Equiv. Ácido gálico/g de semilla, en la figura 24 se puede apreciar la comparación de los promedios en contenido de polifenoles totales de las 7 variedades de semillas.

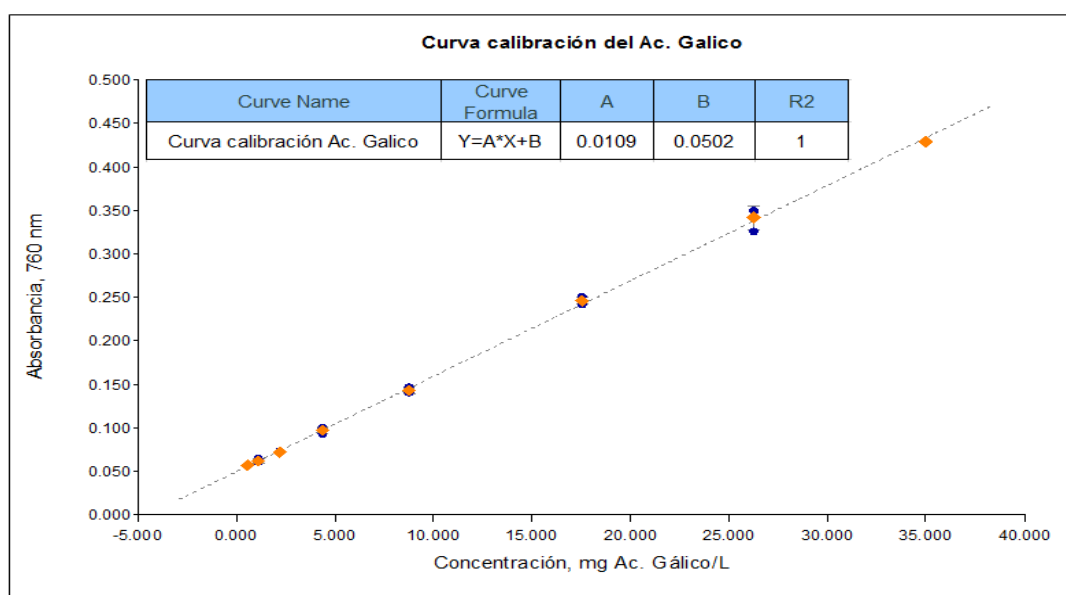


Figura 23. Curva de Calibración del patrón ácido gálico para la cuantificación del contenido de polifenoles totales en las semillas de uvas.

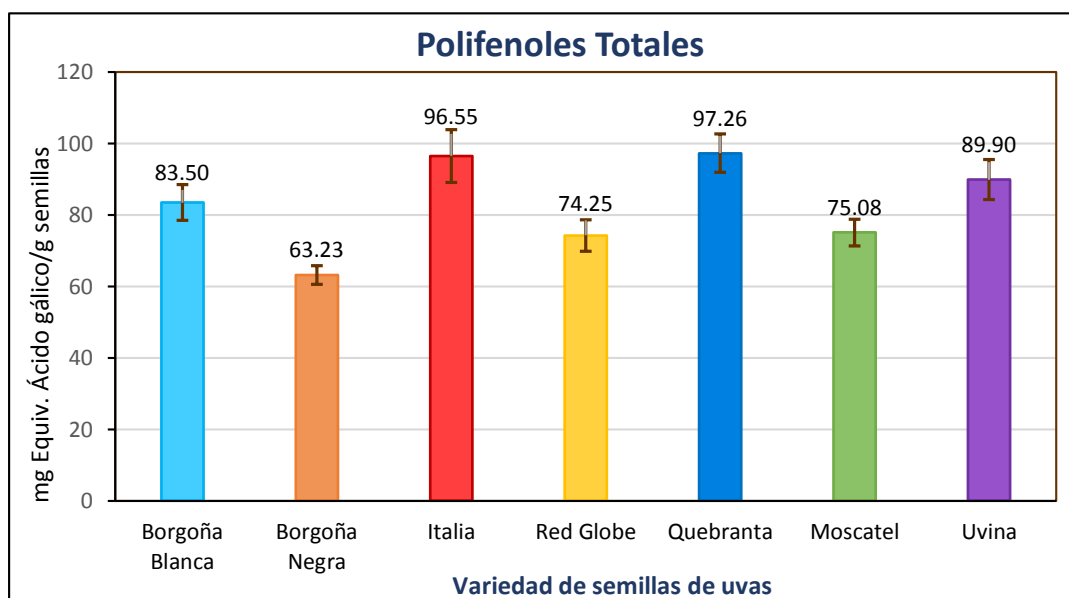


Figura 24. Contenido de Polifenoles totales en las semillas de uvas procedentes del Valle Cañete.

4.4 Relación de la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles

Con la finalidad de establecer cuáles son las relaciones entre todas las mediciones realizadas tanto para la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles en las 7 semillas de variedades de uvas se realizó a modo exploratorio un análisis multivariante mediante un Análisis de Componentes Principales (PCA) la misma que es mostradas en la figura 25 con el propósito de visualizar la variabilidad de las combinaciones lineales entre las muestras y los ensayos.

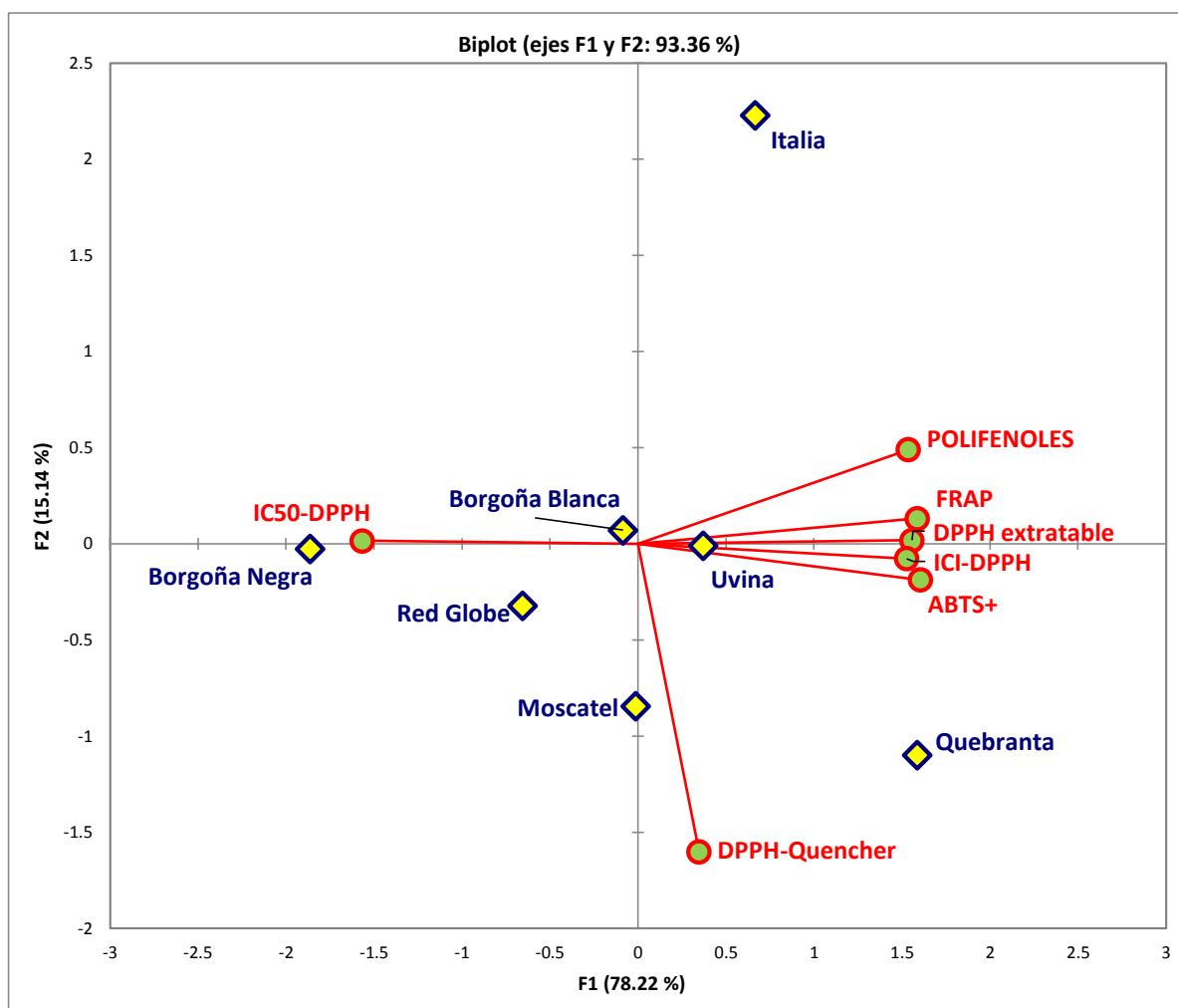


Figura 25. Comportamiento biplot de los ensayos realizados en las semillas de uvas procedentes del Valle de Cañete.

El análisis de componentes principales realizado muestra que el primer componente F1 representa el 78.22% y separa hacia la derecha a todos los ensayos determinados a excepción del método IC50-DPPH por ser valores contrarios por su misma naturaleza, también se encuentran la semillas de uvas de Quebranta, Italia y Uvina, lo que se estaría relacionando es que estas variedades tienen mayor promedio en estas determinaciones y de derecha a izquierda categoriza de modo global los promedios de todas las semillas de

uvas, en el segundo componente F2 que expone el 15.14% estaría relacionando la variabilidad de los métodos ya que el ensayo DPPH-Quencher dota de promedios menores, es separado y no se agrupa con los otros métodos.

En la tabla 11 se muestra las correlaciones de Pearson para todas las combinaciones de los ensayos en capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales en las 7 muestras, en lo que se aprecia que el ensayo DPPH-Quencher no muestra ninguna correlación con los otros ensayos.

Tabla 11

Coefficientes de correlación de los ensayos de capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales en 7 semillas de uvas

		DPPH- Quencher	DPPH extractable	IC50- DPPH	ICI- DPPH	ABTS	FRAP	FENOLES
DPPH- Quencher	Correlación	1	0.193	-0.200	0.215	0.318	0.137	-0.079
	Significancia		0.678	0.667	0.643	0.487	0.770	0.867
DPPH extractable	Correlación	0.193	1	-,824*	,812*	,975**	,877**	,919**
	Significancia	0.678		0.022	0.027	0.000	0.010	0.003
IC50- DPPH	Correlación	-0.200	-,824*	1	-,964**	-,881**	-,925**	-,852*
	Significancia	0.667	0.022		0.000	0.009	0.003	0.015
ICI-DPPH	Correlación	0.215	,812*	-,964**	1	,875**	,862*	,792*
	Significancia	0.643	0.027	0.000		0.010	0.013	0.034
ABTS+	Correlación	0.318	,975**	-,881**	,875**	1	,923**	,890**
	Significancia	0.487	0.000	0.009	0.010		0.003	0.007
FRAP	Correlación	0.137	,877**	-,925**	,862*	,923**	1	,942**
	Significancia	0.770	0.010	0.003	0.013	0.003		0.002
FENOLES	Correlación	-0.079	,919**	-,852*	,792*	,890**	,942**	1
	Significancia	0.867	0.003	0.015	0.034	0.007	0.0015	

Nota.*. La correlación es significativa al nivel 0,05 (bilateral).

**.. La correlación es significativa al nivel 0,01 (bilateral).

Estos resultados establecen que hay una buena correlación positiva y significativa entre la capacidad antioxidante y el contenido de polifenoles, sobre todo en los ensayos FRAP presentando un r de 0.942, en DPPH extractable un r de 0.919, el ensayo ABTS+ con un r de 0.890 y en menor relación el ensayo ICI-DPPH con un r de 0.792, incluso hay una buena correlación negativa entre el contenido de polifenoles de las semillas de uvas con el

IC50 en un valor de r de -0.852 , lo que ratifica la relación directa que poseen ambas determinaciones y que ha sido reportada por muchos investigadores. En la figura 26 se puede apreciar de modo gráfico la relación que presentan los ensayos para las determinaciones en las semillas de uvas.

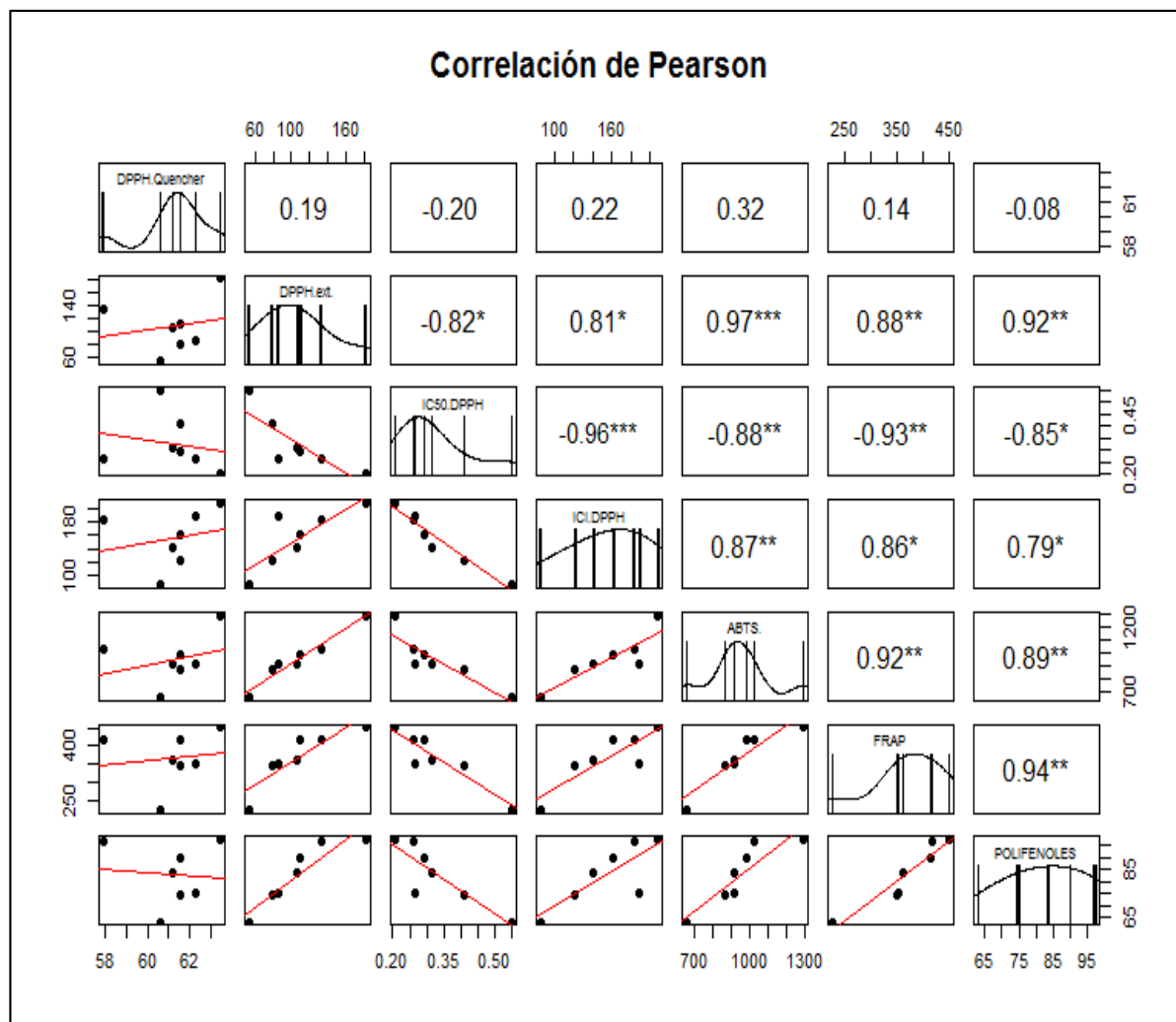


Figura 26. Matriz de correlación de Pearson para los ensayos realizados en las 7 semillas de uvas procedentes del Valle de Cañete.

CAPÍTULO V: DISCUSIÓN, CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1. Discusión

5.1.1. De la capacidad antioxidante

En la tabla 5, 6, 7, 8 y 9 se muestran la capacidad antioxidante realizadas en las siete semillas de uvas procedentes del Valle de Cañete, mediante los ensayos de DPPH-Quencher, DPPH-Extractable, DPPH-ICI, DPPH-IC₅₀, ABTS+ y FRAP, en todas ellas se encontro que las semilla de uvas si demuestran poder antirradical, lo que indirectamente dan cuenta que hay compuestos bioactivos presentes en este sub producto, especificamente en este estudio se encontro que las semillas de la variedad Quebranta tiene mayor promedio en todos los ensayos evaluados, para comparar en cada uno de ellos no se encontro reportes para el ensayo directo DPPH-Quencher y estos resultados fueron los mas bajos que otros metodos, al respecto Cömert & Gökmen (2017) indican que en algunas matrices los compuestos antioxidante se encuentran atrapados y son más insolubles de modo que no interactúan con el reactivo más aún si tienen alto contenido en lípidos, Ma & Zhang (2017) citan cantidades de 7 a 20% de lípidos extractables en las semillas de uvas y posiblemente esto sería la causa que el método directo no arroje valores comparables. Con respecto a los resultados de DPPH extractables en este estudio, todos los extractos mostraron una excelente actividad inhibidora a este radical, los resultados dieron 181.08 a 53.46 uMol DPPH Inhibido/g semilla (90.54 a 26.73 uMol ET/g), esto es comparable con lo reportado por Chouchouli, et al. (2013) con valores de 58.9 a 94.8 uMol ET/g en semillas de uvas variedades Moschofilero y Agiorgitiko, Xia, et al. (2010), coinciden con Ma & Zhang (2017) en citar que en general las semillas de uvas reportan que sus extractos van entre 17 a 92 uMol ET/g, con respecto al IC₅₀ Felhi, et al. (2016) reporta 0.14±0.12 mg/mL que es una concentración más eficiente del que se encontró en esta investigación de 0.21 mg/mL en la variedad quebranta.

Con respecto a la capacidad antioxidante por el método ABTS+ los resultados mostraron que la semillas de uvas Quebranta tiene el mayor valor de 1292.94 uMol Equiv. Trolox/g de semillas y más baja la semilla de uvas Borgoña negra con valor de 660.4 uMol Equiv. Trolox/g de semillas, estos valores superan a lo reportado por Berradre et al. (2013) donde en semillas de uvas Malvasía obtuvieron 565 uMol ET/g y en la variedad Tempranillo 480.6 uMol ET/g, así mismo Pastrana-Bonilla et al.

(2003), demostraron que la parte con mayor capacidad antioxidante de las uvas es la semilla y para la variedad Muscadina reportaron un TEAC de 281 uMol TE/g de semilla. Taco (2017) reporta que en la semilla de uvas variedad Moscatel obtuvo 46.56 uMol TE/g semilla seca, en esta investigación esta misma variedad arrojó un valor de 914.40 uMol TE/g semilla lo que indica que esta semilla procedente del Valle de Cañete tiene alta capacidad antioxidante. Jara-Palacios, Hernanz, Escudero-Gilete y Heredia (2016) reportaron que la variedad de uvas Pedro Ximénez arrojó un valor de 482.4 uMol TE/g de semilla en este mismo método de actividad antioxidante, lo que confirma que todas las semillas evaluadas contienen alta capacidad antioxidante por el método ABTS+.

Para el ensayo de capacidad antioxidante FRAP, las semillas de uvas presentaron valores que van desde 451.19 a 225.01 uMol Equiv. Ácido gálico/g de semilla correspondiendo a la variedad Quebranta y Borgoña negra, pero estadísticamente los promedios de las semillas de uvas de Quebranta, Italia (416.83) y Uvina (416.07) son similares a un nivel de confianza de 95%, un segundo grupo estadísticamente igual está formado por la Borgoña blanca, Moscatel y Red globe con valores de 360.99, 353.55 y 348.06 uMol Equiv. Ácido gálico/g de semilla respectivamente. En este mismo ensayo Taco (2017) reporta que en la semilla de uvas variedad Moscatel se obtuvo un valor de 35.29 uMol Trolox Equivalente/g semilla, Chouchouli et al (2013) indica que en las semillas de uvas de variedades Moschofilero y Agiorgitiko los valores FRAP fueron 143.9 y 202.5 mg Equivalente Ácido Ascorbico/g semilla respectivamente, Jara-Palacios et al (2016) reporta que la semillas de uvas variedad Pedro Ximénez tiene un valor de 249.83 uMol TE/g de semilla, todos estos reportes están expresados en unidades diferentes al realizado en este estudio que es Equivalente al ácido gálico (EAG) y no es posible una comparación directa pero si se evidencia el alto poder reductor de los extractos de semillas de uvas provenientes del Valle de Cañete.

5.1.2. Del contenido de fenoles totales

Los resultados expuestos en la tabla 10 y figura 24, dan cuenta del contenido de polifenoles en las 7 semillas de uvas de las variedades más representativas del Valle de Cañete, donde se obtuvieron lo siguiente: Quebranta (97.26), Italia (96.55), Uvina (89.90), Borgoña blanca (83.50), Moscatel (75.08), Red globe (74.25) y Borgoña negra (63.23), valores expresados en mg Equivalente Ácido gálico/g de semilla.

Valores similares y más altos fueron reportados por Chouchouli et al (2013) en las semillas de uvas de variedades Moschofilero y Agiorgitiko con 76.1 y 151.6 mg EAG/g de semilla, pero uno de los valores más altos fue reportado por Felhi et al (2016) donde da cuenta que en las semillas de vid hay 392.58 mg EAG/g de semilla en un extracto de etanol, pero esto se debería a que las semillas fueron extraídas desde el fruto, en la mayoría de los estudios las muestras son recolectadas después del proceso de vinificación. Paladino & Zuritz (2012), en su estudio con la variedad de vid Cabernet Sauvignon hallaron contenidos de fenoles en 12.59 mg EAG/g de semilla, que es menor a lo encontrado en este estudio. Por otro lado Berradre et al (2013), encontraron que en extractos de semillas de uva de la variedad Malvasía y Tempranillo valores de fenoles en 15.35 y 10.48 mg GAE/g de semilla respectivamente, Ma y Zhang (2017) citan cantidades de polifenoles en las semillas de uvas rojas en valor promedio de 85.8 mg GAE/g de semilla, Taco (2017) reporta que en la semilla de uvas variedad Moscatel se obtuvo un valor de fenoles de 33.72 mg GAE/g de semilla el mismo que es menor al promedio estimado en este estudio, del cual en general las semillas de las uvas contienen cantidades apreciables de fenoles totales aun después del proceso de vinificación y exponen que es una fuente rica en compuestos bioactivos que muy bien se puede aprovechar este excedente de las practicas vitivinícolas del valle de Cañete.

5.1.3. De la relación de la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles

En la figura 25 se muestra el análisis de componentes principales (PCA) de todos los ensayos evaluados en las siete semillas de las variedades de uvas más representativas del Valle de Cañete, por el primer componente F1 (78.22%) separa hacia la derecha a los ensayos DPPH extractable, ABTS+, FRAP y Polifenoles Totales que están agrupados dando cuenta su alta correlación, de modo inverso está el ensayo IC₅₀-DPPH y esto es razonable porque un valor más inferior del IC₅₀ indica una mayor actividad antioxidante lo que indicaría una buena correlación pero negativa con el grupo de ensayos, de un modo diferente se muestra el ensayo directo DPPH-Quencher pero que no expone una asociación directa o es muy débil con los demás ensayos exponiendo en el segundo componente F2 con 15.14% de variabilidad, también se aprecia que las muestras de semillas de uvas Quebranta, Italia y Uvina están desplazadas a la derecha y se diferencian de las otras variedades indicando que son las muestras con mayor valor funcional.

En la tabla 11 y figura 26 se aprecia la matriz de correlación según el coeficiente de Pearson para todos los ensayos a un nivel de confianza de 95% de la cual se puede establecer que los polifenoles de las semillas de uvas tienen una fuerte correlación ($r=0.942$, $p=0.001$) con el ensayo FRAP en la medición de la capacidad antioxidante ya que ambos están expresados en Equivalente Ácido gálico/g de semillas indicando que la actividad antioxidante estaría muy asociado al contenido de sustancias fenólicas de la semilla de uvas, el ensayo DPPH extractable también mostro una correlación alta y positiva ($r=0.919$, $p=0.003$) con los contenido de polifenoles al igual que el ensayo ABTS+ mostrando una buena correlación positiva ($r=0.890$, $p=0.007$) y en menor relación el ensayo ICI-DPPH con un r de 0.792 ($p=0.034 < 0.05$), en cambio el ensayo DPPH-IC₅₀ mostro una buena correlación negativa ($r=-0.852$, $p=0.015$) indicando que a mayor contenido de polifenoles hay menor valor de IC₅₀ ya que este valor es cada vez menor cuando se tienen una mayor actividad antioxidante, también se puede observar que hay una alta correlación ($r=0.975$, $p=0$) entre los ensayos DPPH Extractable y ABTS+, esto nos indicaría que ambos métodos son proporcionalmente similares durante la forma y capacidad de secuestrar radicales libres del extracto de semillas de uvas.

5.2. Conclusiones

Luego de los resultados obtenidos en la presente investigación se puede llegar a las siguientes conclusiones:

- Las semillas de las siete variedades de uvas mostraron tener poder antirradical mediante los métodos DPPH extractable (IC_{50} e ICI), ABTS+ y FRAP, la variedad de uvas que mostro mayor capacidad antioxidante fue la variedad Quebranta y en el orden de mayor a menor coincidiendo en todas los ensayos extractables, se tiene; Quebranta, Italia, Uvina, Borgoña blanca, Moscatel, Red globe y Borgoña negra.
- La capacidad antioxidante de la semilla de uvas quebranta resulto en 63.46 μ Mol DPPH inhibido/g semilla para el ensayo DPPH-Quencher; 181.08 μ Mol DPPH secuestrado/g de semilla para el ensayo DPPH extractable; un Índice de Capacidad Inhibitoria (ICI) de 207.49 μ Mol DPPH/mL extracto de semilla, una Concentración Efectiva Media IC_{50} de 0.21 mg Semilla/mL extracto; para el ensayo de ABTS+ resulto en 1292.94 μ Mol Equiv. Trolox/g de semillas; y para el ensayo FRAP fue de 451.19 μ Mol Equiv. Ácido gálico/g de semilla.
- Todas las semillas de las siete variedades de uvas presentan contenido de compuestos fenólicos totales mediante el ensayo del reactivo Folin- Ciocalteu, los extractos con valores en el orden de mayor a menor son: Quebranta (97.26), Italia (96.55), Uvina (89.90), Borgoña blanca (83.50), Moscatel (75.08), Red globe (74.25) y Borgoña negra (63.23), valores expresados en mg Equivalente Ácido gálico/g de semilla.
- El comportamiento antioxidante de las semillas de uvas presento una correlación lineal y significativa con el contenido de compuestos fenólicos según el coeficiente de Pearson a un nivel de confianza de 95%, el ensayo FRAP dio un r de 0.942, en DPPH extractable un r de 0.919, el ensayo ABTS+ un r de 0.890 y en menor relación el ensayo ICI-DPPH con un r de 0.792, hay una correlación negativa entre el contenido de polifenoles (método de Folin-Ciocalteau) de las semillas de uvas con el IC_{50} en un valor de r de -0.852. Esto indica que los compuestos fenólicos son los fitoquimicos que contribuyen directamente en la actividad antioxidante de las semillas de uvas procedentes del Valle de Cañete.

5.3. Recomendaciones

- Aprovechar las semillas de uvas que son un excedente de las prácticas vitivinícolas en el Valle de Cañete por medio de obtención de extractos y su posterior aplicación en la industria alimentarias, cosmética, farmacéutica y otros como aditivos o suplementos de valor agregado.
- Con respecto al proceso de obtención del extracto, pueden evaluarse diferentes tipos de solventes, tiempos de contacto con las semillas, temperaturas de tratamiento y relaciones entre el sólido y los líquidos, así como el grado de molienda de las semillas y empleo de asistentes de extracción como microondas, ultrasonidos, fluidos supercríticos y otros.
- Aprovechar otros compuestos que son considerados residuos orgánicos de la industria vitivinícola, compuestos por el orujo, pulpa de uva, semillas, pieles, tallos y otros que pueden dar valor agregado y no ser considerados un contaminante al medio ambiente..
- Realizar trabajos de investigación similares al actual, debido a al cambio climático y calidad de agua.
- Concientizar a los agricultores la siembra dela variedad quebranta ya que presenta el mayor potencial antioxidante.

CAPÍTULO VI: FUENTES DE INFORMACIÓN

6.1. Fuentes Bibliográficas

- Abderrahim, F., Huanatico, E., Segura, R., Arribas, S., Gonzalez, M. C., & Condezo-Hoyos, L. (2015). Physical features, phenolic compounds, betalains and total antioxidant capacity of coloured quinoa seeds (*Chenopodium quinoa* Willd.) from Peruvian Altiplano. *Food Chemistry*, 183, 83 - 90. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.03.029>
- AGRONEGOCIOSPERÚ. (09 de Mayo de 2018). Recuperado el 19 de Julio de 2018, de Uvas lideraron exportaciones entre frutas frescas en primer trimestre 2018: <https://agronegociosperu.org/2018/05/09/uvas-lideraron-exportaciones-entre-frutas-frescas-en-primer-trimestre-2018/>
- Aguirre, R., Arana, C., Monteza, R., Patiño, C., Reque, A., & Vera, L. (2013). *Diseño de la línea de producción de jugo concentrado de uva de mesa*. Piura, Perú: Universidad de Piura.
- Albújar, E. (Julio de 2018). *Boletín Estadístico Mensual "El Agro en Cifras" Abril 2018*. Obtenido de Ministerio de Agricultura y Riego: http://siea.minag.gob.pe/siea/sites/default/files/boletin-estadistico-mensual-el-agro-en-cifras-abr2018_110718.pdf
- Arora, A., Nair, M. G., & Strasburg, G. M. (1998). Antioxidant Activities of Isoflavones and Their Biological Metabolites in a Liposomal System. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 356(2), 133 - 141. doi:10.1006/abbi.1998.0783
- Aviña, D., Carranza, J., Vásquez, B., & Carranza, J. (2016). Capacidad antioxidante y contenido fenólico de uva blanca (*Vitis vinifera* L.) sin semilla. *Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 1(1), 801- 805.
- Badarinath, A. V., Rao, K. M., Chetty, C. M., Ramkanth, S., Rajan, T. V., & Gnanaprakash, K. (2010). A review on in-vitro antioxidant methods: comparisions, correlations and considerations. *International Journal of PharmTech Research*, 2(2), 1276-1285.
- Bagchi, D., Bagchi, M., Stohs, S. J., Das, D., Ray, S. D., Kuszynski, C. A., . . . Pruess, H. G. (2000). Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: importance

in human health and disease prevention. *Toxicology*, 148, 187 - 197.
doi:10.1016/S0300-483X(00)00210-9

Benzie, I. F., & Strain, J. J. (1996). The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70 - 76. doi:10.1006/abio.1996.0292

Berradre, M., González, C., Sulbarán, B., & Fernández, V. (2013). Contenido de polifenoles y actividad antioxidante de extractos de semilla de uva (*Vitis vinifera*) variedad Malvasia y Tempranillo. *Revista de la Facultad de Agronomía*, 30(4), 619-631.

Blog del Vino Perú. (12 de 12 de 2014). Obtenido de Cata del vino:
<http://wwwhttp://www.catadelvino.com/blog-cata-vino/vinos-de-peru/p1/>

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 28(1), 25-30. doi:10.1016/s0023-6438(95)80008-5

Carochoa, M., Morales, P., & Ferreira, I. C. (2018). Antioxidants: Reviewing the chemistry, food applications, legislation and role as preservatives. *Trends in Food Science & Technology*, 71, 107-120.

Castillo, J., Benavente-García, O., Lorente, J., Alcaraz, M., Redondo, A., Ortuño, A., & Del-Río, J. (2000). Antioxidant activity and radioprotective effects against chromosomal damage induced in vivo by X-rays of Flavan-3-ols (Procyanidins) from grape seeds (*Vitis vinifera*): comparative study versus other phenolic and organic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(5), 1738 - 1745. doi:10.1021/jf990665o

Chaves , D. M., & Terranova, S. A. (2016). *Evaluación del extracto de la uva Vitis Vinifera como antioxidante en papa pastusa suprema mínimamente procesada*. Trabajo de grado para optar al título de Ingeniero de Alimentos. Universidad de La Salle, Bogotá D.C., Colombia.

Cheyrier, V., Comte, G., Davies, K. M., Lattanzio, V., & Martens, S. (2013). Plant phenolics: Recent advances on their biosynthesis, genetics and ecophysiology. *Plant Physiology and Biochemistry*, 1 -20.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2013.05.009>

- Chouchouli, V., Kalogeropoulos, N., Konteles, S. J., Karvela, E., Makris, D. P., & Karathanos, V. T. (2013). Fortification of yoghurts with grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. *LWT - Food Science and Technology*, 53, 522 - 529. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2013.03.008>
- Cömert, E. D., & Gökmen, V. (2017). Antioxidants Bound to an Insoluble Food Matrix: Their Analysis, Regeneration Behavior, and Physiological Importance. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. doi:10.1111/1541-4337.12263
- Condezo-Hoyos, L., Abderrahim, F., Arriba, S. M., & González, M. C. (2015). A novel, micro, rapid and direct assay to assess total antioxidant capacity of solid foods. *Talanta*, 138, 108–116. doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2015.01.043>
- Cosme, F., & Jordão, A. M. (2017). Antioxidant capacity of different Grape bunch fractions: a review. En S. Thomas (Ed.), *Grapes: Polyphenolic composition, antioxidant characteristics and health benefits* (págs. 119 - 158). New York: Nova Science Publishers.
- CuscoMania. (28 de Abril de 2011). Obtenido de <https://www.cuscomania.com/contributors/variedades-de-uvas-pisqueras-y-elaboracion-del-pisco.html>
- Dandona, P. (2004). Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes. *Trends in Immunology*, 25 (1), 4 - 7. doi:10.1016/j.it.2003.10.013
- Dávila, I., Robles, E., Egues, I., Labidi, J., & Gullon, P. (2017). The Biorefinery Concept for the Industrial Valorization of Grape Processing By-Products. En C. M. Galanakis (Ed.), *Handbook of Grape Processing By-Products* (págs. 29 - 54). Kidlington, Reino Unido: Academic Press.
- De la Ossa, G., Hernández, T., & Hernández, R. (2016). Análisis multivariado del Top of Mind en la industria de bebidas estimulantes naturales en Colombia. *Agronomía Colombiana*, 34(1 Supl.), S23-S26. doi:10.15446/agron.colomb.v34n1supl.57987
- Dontha, S. (2016). A review on Antioxidant Methods. *Asian Journal Pharmaceutical and Clinical Research*, 9(2), 14 - 32.

- Duba, K. S., Casazza, A. A., Mohamed, H., Perego, P., & Fiori, L. (2015). Extraction of polyphenols from grape skins and defatted grape seeds using subcritical water: Experiments and modeling. *Food and Bioproducts Processing*, 94, 29 - 38. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fbp.2015.01.001>
- Dueñas, J. A. (2017). *Optimización de las condiciones de extracción de compuestos Fenólicos a partir de cáscara de uva variedad quebranta (ica, Perú) empleando técnicas convencionales y extracción Asistida por ultrasonido*. Tesis para optar el grado de Magíster en Química. Pontificia Universidad Católica Del Perú, Lima, Perú.
- Đuračková, Z. (2010). Some Current Insights into Oxidative Stress. *Physiological Research*, 59, 459 - 469.
- Felhi, S., Baccouch, N., Ben Salah, H., Smaoui, S., Allouche, N., Gharsallah, N., & Kadri, A. (2016). Nutritional constituents, phytochemical profiles, in vitro antioxidant and antimicrobial properties, and gas chromatography–mass spectrometry analysis of various solvent extracts from grape seeds (*Vitis vinifera* L.). *Food Science and Biotechnology*, 1537 - 1544.
- Ferrer-Gallego, R., García-Marino, M., Hernández-Hierro, J., Rivas-Gonzalo, J., & Escribano-Bailón, M. (2010). Statistical correlation between flavanolic composition, colour and sensorial parameters in grape seed during ripening. *Analytica Chimica Acta*, 660, 22 -28. doi:<https://doi.org/10.1016/j.aca.2009.09.039>
- Fuleki, T., & Ricardo da Silva, J. M. (1997). Catechin and Procyanidin composition of seed from grape cultivars grown in Ontario. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45(4), 1156 - 1160. doi:10.1021/jf960493k
- Ghouila, Z., Laurent, S., Boutry, S., Vander Elst, L., Nateche, F., Muller, R. N., & Baaliouamer, A. (2017). Antioxidant, antibacterial and cell toxicity effects of polyphenols Fromahmeur bouamer grape seed extracts. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 9(1), 392. doi:10.4314/jfas.v9i1.24
- Gomero, O. N. (2014). *Evaluación de la actividad antielastasa y antioxidante del fruto de diferentes variedades de uva (vitis vinifera)*. Informe de Investigación. Universidad Nacional del Callao. Vice Rectorado de Investigación, Lima, Perú.

- Halliwell, B. (2012). Free radicals and antioxidants. *Nutrition Reviews*, 70(5), 257 - 265. doi:10.1111/j.1753-4887.2012.00476.x
- Jara-Palacios, M., Hernanz, D., Escudero-Gilete, M., & Heredia, F. (2016). The Use of Grape Seed Byproducts Rich in Flavonoids to Improve the Antioxidant Potential of Red Wines. *Molecules*, 21(11). doi:10.3390/molecules21111526
- Jayaprakasha, G. K., Selvi, T., & Sakariah, K. K. (2003). Antibacterial and antioxidant activities of grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. *Food Research International*, 36(2), 117 - 122. doi:https://doi.org/10.1016/S0963-9969(02)00116-3
- Jayaprakasha, G. K., Singh, R. P., & Sakariah, K. K. (2001). Antioxidant activity of grape seed (*Vitis vinifera*) extracts on peroxidation models in vitro. *Food Chemistry*, 73(3), 285 - 290.
- Karadag , A., Ozcelik , B., & Saner, S. (2009). Review of Methods to Determine Antioxidant Capacities. *Food Analytical Methods*, 2, 41 - 60. doi:10.1007/s12161-008-9067-7
- Kaur, M., Singh, R. P., Gu, M., Agarwal, R., & Agarwal, C. (2006). Grape seed extract inhibits in vitro and in vivo growth of human colorectal carcinoma cells. *Clinical Cancer Research*, 12(20), 6194–6202. doi:10.1158/1078-0432.ccr-06-1465
- Latorre, M. (2016). *Polifenoles de la uva*. Trabajo de fin de grado de la Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid, Madrid, España.
- Lau, D. W., & King, A. J. (2003). Pre and post-mortem use of grape seed extract in dark poultry meat to inhibit development of thiobarbituric acid reactive substances. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 1602 - 1607. doi:10.1021/jf020740m
- Lezama, G. K. (2017). *Determinación de los compuestos fenólicos y capacidad antioxidante del aceite de uvas (Vitis vinífera) obtenido con y sin tratamiento enzimático*. Tesis para optar el título de Ingeniero en Industrias Alimentarias. Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú.
- Ma, Z. F., & Zhang, H. (2017). Phytochemical constituents, health benefits, and industrial applications of grape seeds: A mini-review. *Antioxidants*, 6(3), 71. doi:10.3390/antiox6030071

- Magalhães, L. M., Santos, F., Segundo, M. A., Reis, S., & Lima, J. L. (2010). Rapid microplate high-throughput methodology for assessment of Folin-Ciocalteu reducing capacity. *Talanta*, *83*(2), 441 - 447. doi:10.1016/j.talanta.2010.09.042
- Majo, D. D., Guardia, M. L., Giammanco, S., Neve, L. L., & Giammanco, M. (2008). The antioxidant capacity of red wine in relationship with its polyphenolic constituents. *Food Chemistry*, *111*, 45 - 49.
- Matthäus, B. (2008). Virgin grape seed oil: Is it really a nutritional highlight? *European Journal of Lipid Science and Technology*, *110*(7), 645–650. doi:10.1002/ejlt.200700276
- Moharram , H. A., & Youssef, M. M. (2014). Methods for Determining the Antioxidant Activity: A Review. *Food Science and Technology*, *11*(1), 31-42.
- Montagut, G., Onnockx, S., Vaqué, M., Bladé, C., Blay, M., Fernández-Larrea, J., . . . Pinent, M. (2010). Oligomers of grape-seed procyanidin extract activate the insulin receptor and key targets of the insulin signaling pathway differently from insulin. *Journal of Nutritional Biochemistry*, *21*(6), 476-481. doi:10.1016/j.jnutbio.2009.02.003
- Moya, C. R. (2017). *Extracción y caracterización de aceite vegetal de las semillas de uva borgoña (vitis vinífera) utilizando enzimas*. Tesis para optar el Título de Ingeniero en Industrias Alimentarias. Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, Perú.
- Murga, R., Ruiz, R., Beltrán, S., & Cabezas, J. (2000). Extraction of natural complex phenols and tannins from grape seeds by using supercritical mixtures of carbon di-oxide and alcohol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *48*(8), 3408 - 3412. doi:10.1021/jf9912506
- Natella, F., Belelli, F., Gentili, V., Ursini, F., & Scaccini, C. (2002). Grape seed proanthocyanidins prevent plasma postprandial oxidative stress in humans. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*(26), 7720 - 7725. doi:10.1021/jf020346o
- Nawaz, H., Shi, J., Mittal, G. S., & Kakuda, Y. (2006). Extraction of polyphenols from grape seeds and concentration by ultrafiltration. *Separation and Purification Technology*, *48*, 176 - 181. doi:10.1016/j.seppur.2005.07.006

- Nowshetri, J. A., Bhat, Z. A., & Shah, M. Y. (2015). Blessings in disguise: Bio-functional benefits of grape seed extracts. *Food Research International*. doi:10.1016/j.foodres.2015.08.026
- Olas, B., Wachowicz, B., Tomczak, A., Erler, J., Stochmal, A., & Oleszek, W. (2008). Comparative anti-platelet and antioxidant properties of polyphenol-rich extracts from: berries of *Aronia melanocarpa*, seeds of grape and bark of *Yucca schidigerain* vitro. *Platelets*, 19(1), 70 - 77. doi:10.1080/09537100701708506
- Özvural, E. B., & Vural, H. (2011). Grape seed flour is a viable ingredient to improve the nutritional profile and reduce lipid oxidation of frankfurters. *Meat Science*, 179 - 183. doi:10.1016/j.meatsci.2010.12.022
- Paiva, B., & Sanchez, J. (2013). Capacidad antioxidante del aceite de semilla de uvas “*Vitis vinifera*”, Distrito de Cascas, La Libertad. *CIENTIFI-K / Revista científica de estudiantes, Universidad César Vallejo*, 1(2), 45 - 54.
- Paladino, S. (2008). *Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos contenidos en las semillas de vid (Vitis vinifera L.)*. Tesis para acceder al grado de Magister en Alimentos con Mención en ciencias. Universidad Nacional de Cuyo. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Nacional de San Juan, Universidad Nacional de La Rioja, Universidad Nacional de San Luis., Mendoza, Argentina. Recuperado el 2018 de Julio de 19, de <http://bdigital.uncu.edu.ar/2627>
- Paladino, S. C., & Zuritz, C. A. (2012). Extracto de semillas de vid con actividad antioxidante: concentración, deshidratación y comparación con antioxidantes de uso comercial. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias*, 44(2), 131-143.
- Park, S. Y., Lee, Y. H., Choi, K. C., Seong, A. R., Choi, H. K., Lee, O. H., . . . Yoon, H. G. (2011). Grape seed extract regulates androgen receptor-mediated transcription in prostate cancer cells through potent anti-histone acetyltransferase activity. *Journal of Medicinal Food*, 14, 9 - 12. doi:10.1089/jmf.2010.1264
- Pastrana-Bonilla, E., Akoh, C. C., Sellappan, S., & Krewer, G. (2003). Phenolic Content and Antioxidant Capacity of Muscadine Grapes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(18), 5497–5503. doi:10.1021/jf030113c

- Perumalla, A., & Hettiarachchy, N. S. (2011). Green tea and grape seed extracts — Potential applications in food safety and quality. *Food Research International*, *44*, 827–839. doi:10.1016/j.foodres.2011.01.022
- Pinent, M., Blay, M., Bladé, M. C., Salvadó, M. J., Arola, L., & Ardévol, A. (2004). Grape seed-derived procyanidins have an antihyperglycemic effect in streptozotocin-induced diabetic rats and insulinomimetic activity in insulin-sensitive cell lines. *Endocrinology*, *145*(11), 4985 – 4990. doi:10.1210/en.2004-0764
- Pisoschi, A. M., & Negulescu, G. P. (2011). Methods for Total Antioxidant Activity Determination: A Review. *Biochemistry and Analytical Biochemistry*, *1*(106). doi:10.4172/2161-1009.1000106
- Prieur, C., Rigaud, J., Cheynier, V., & Moutounet, M. (1994). Oligomeric and polymeric procyanidins from grape seeds. *Phytochemistry*, *36*, 781 - 784. doi:https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)89817-9
- Ramos, R. J. (2015). *Estudio de pre factibilidad para el desarrollo industrial de productos alternativos en base a subproductos derivados de la industria vitivinícola en la región de Ica*. Tesis para optar el título de ingeniero industrial. Pontificia Universidad Católica del Perú, Lima, Perú.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, *26*(9-10), 1231–1237. doi:10.1016/s0891-5849(98)00315-3
- Robinson, M., Lu, B., Edirisinghe, I., & Kappagoda, C. (2012). Effect of Grape Seed Extract on Blood Pressure in Subjects with Pre-Hypertension. *Journal of Pharmacy and Nutrition Sciences*, *2*(2), 155 - 159.
- Saito, M., Hosoyama, H., Ariga, T., Kataoka, S., & Yamaji, N. (1998). Antiulcer activity of grape seed Extract and procyanidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *46*(4), 1460 - 1464. doi:10.1021/jf9709156
- Santana-Gálvez, J., & Jacobo-Velázquez, D. A. (2018). Classification of Phenolic Compounds. In L. M. Nollet, & J. A. Gutierrez-Urbe (Eds.), *Phenolic*

- Compounds in Food: Characterization and Analysis* (pp. 3 - 20). New York: Taylor & Francis Group.
- Shahidi & Zhong. (2015). Measurement of antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*. doi:10.1016/j.jff.2015.01.047
- Shi, J., Yu, J., Pohorly, J. E., & Kakuda, Y. (2003). Polyphenolics in Grape Seeds - Biochemistry and Functionality. *Journal of Medicinal Food*, 6(4), 291 - 299.
- Shivakumar, A., & Kumar, M. Y. (2018). Critical Review on the Analytical Mechanistic Steps in the Evaluation of Antioxidant Activity. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*. doi:10.1080/10408347.2017.1400423
- Singleton, V., & Rossi, J. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144 - 158.
- Somogyi, A., Rosta, K., Pusztai, P., Tulassay, Z., & Nagy, G. (2007). Antioxidant measurements. *Physiological Measurement*, R41 - R55. doi:10.1088/0967-3334/28/4/R01
- Spranger, I., Sun, B., Mateus, A. M., de Freitas, V., & Ricardo-da-Silva, J. M. (2008). Chemical characterization and antioxidant activities of oligomeric and polymeric procyanidin fractions from grape seeds. *Food Chemistry*, 108, 519 - 532. doi:10.1016/j.foodchem.2007.11.004
- Sun, Q., & Prasad, R. R. (2011). Grape seed proanthocyanidins inhibit the invasive potential of head and neck cutaneous squamous cell carcinoma cells by targeting EGFR expression and epithelial-to-mesenchymal transition. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 11(1). doi:10.1186/1472-6882-11-134
- Taco, S. R. (2017). *Evaluación del efecto antioxidante del extracto de semillas de uva y estudio de métodos para determinar el envejecimiento acelerado en vinos tintos*. Proyecto especial de graduación para optar al título de Ingeniera en Agroindustria Alimentaria. Escuela Agrícola Panamericana, Zamorano, Honduras.
- Talaverano, M. I., Moreno, D., Rodríguez-Pulido, F. J., Valdés, M. E., Gamero, E., Jara-Palacios, M. J., & Heredia, F. J. (2016). Effect of early leaf removal on *Vitis Vinifera* L. cv. Tempranillo seeds during ripening based on chemical and image

analysis. *Scientia Horticulturae*, 209, 148 – 155.
doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.scienta.2016.06.013>

Tomaz, I., Štambuk, P., Andabaka, Ž., Preiner, D., Stupić, D., Maletic, E., . . . Ašperger, D. (2017). The polyphenolic profile of grapes. In a. c. Grapes: Polyphenolic composition, & S. Thomas (Ed.). New York: Nova Science Publishers.

Veliz, V. (15 de Marzo de 2011). *El grano de Uva: El Inicio del placer del Vino Chileno*. Obtenido de Vinos Chilenos: <https://vinoschilenos.wordpress.com/2011/03/15/el-grano-de-uva-el-inicio-del-placer/>

Vinson, J. A., Mandarano, M. A., Shuta, D. L., Bagchi, M., & Bagchi, D. (2002). Beneficial effects of a novel IH636 grape seed proanthocyanidin extract and a niacin-bound chromium in a hamster atherosclerosis model. *Molecular and Cellular Biochemistry*, 240, 99 - 103. doi:10.1023/A:1020611925819

Xia, E.-Q., Deng, G.-F., Guo, Y.-J., & Li, H.-B. (2010). Biological Activities of Polyphenols from Grapes. *International Journal of Molecular Sciences*, 11, 622 - 646. doi:<https://doi.org/10.3390/ijms11020622>

ANEXOS

Anexo I

PROTOCOLO PARA LA DETERMINACIÓN DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE: MÉTODO DPPH EXTRACTABLE

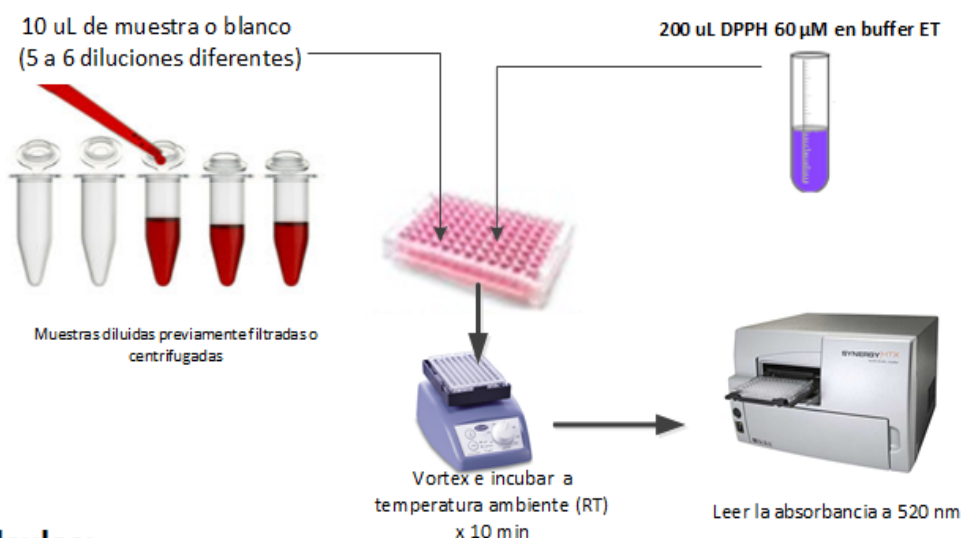


UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ FAUSTINO SANCHEZ CARRIÓN –
HUACHO

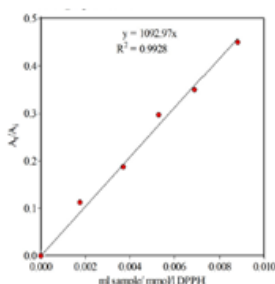
PROYECTO DE INVESTIGACIÓN MODALIDAD FOCAM:

FORMULACIÓN DE BEBIDAS FUNCIONALES CON CAPACIDAD ANTIOXIDANTE A
BASE DE FRUTAS Y VERDURAS

Protocolo Capacidad Antioxidante – SCI



Cálculos:



Eje X= concentración (dilución) muestras
Eje Y= porcentaje de inhibición
Control= 10 uL Buffer ET + 200 uL DPPH 60 μ M

Pendiente = SCI (ICI)
ICI=Índice de Capacidad de Inhibición
(mMol DPPH/ml muestra)

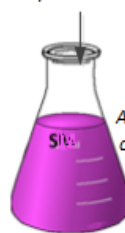
Preparación de reactivos

Buffer Tris-HCl (10 mM pH = 7.5):
W g Tris base = 0.0303 g ---- disolver en 20 mL de agua --- ajustar el pH a 7.5 con HCl --- ajustar el volumen a 25 mL en una fiola

Buffer ET: Mezclar buffer Tris-HCl (10 mM pH = 7.5) con Etanol (1:1 v/v)

DPPH stock 10 mM: 0.0039 g ---- disolver en etanol --- ajustar el volumen a 1 mL en una fiola

60 μ L DPPH stock



Ajustar el volumen a 10 mL con buffer ET en una fiola aforada

DPPH 60 μ M

Referencia

Fatima Abderrahim, Silvia M. Arribas, M. Carmen Gonzalez, Luis Condezo-Hoyos. Food Chemistry, Volume 141, Issue 2, 15 November 2013, Pages 788-794

Anexo II

PROTOCOLO PARA LA DETERMINACIÓN DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE: MÉTODO DPPH- QUENCHER



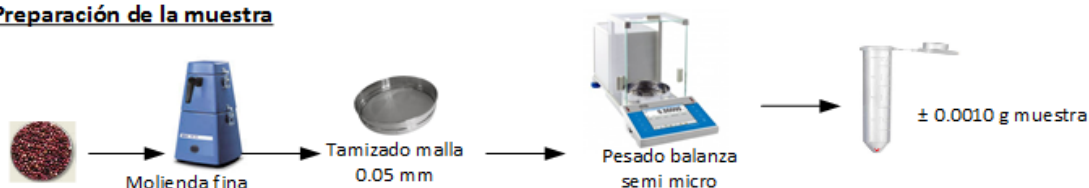
UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ FAUSTINO SANCHEZ CARRIÓN
-HUACHO-

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN MODALIDAD FOCAM:

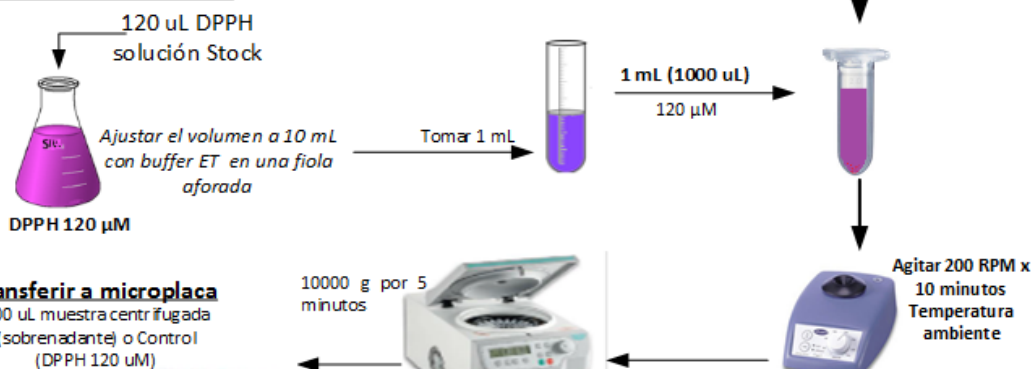
FORMULACIÓN DE BEBIDAS FUNCIONALES CON CAPACIDAD
ANTIOXIDANTE A BASE DE FRUTAS Y VERDURAS

Protocolo Capacidad Antioxidante DPPH-QUENCHER

Preparación de la muestra



Adición directa del DPPH



Transferir a microplaca



Cálculos:

$$\frac{\mu\text{Mol}}{\text{g}} = \frac{\text{FI} \times \text{Concentración DPPH} \times \text{Volumen DPPH}}{\text{Peso Muestra}}$$

FI= Fracción de Inhibición

$$\text{FI} = \frac{\text{Acontrol} - \text{Amuestra}}{\text{Acontrol}}$$

Preparación de reactivos

Buffer Tris-HCl (10 mM pH = 7.5):

W g Tris base = 0.0303 g ---- disolver en 20 mL de agua --- ajustar el pH a 7.5 con HCl ---

ajustar el volumen a 25 mL en una fiola



DPPH stock 10 mM: 0.0039 g ---- disolver en etanol ---
ajustar el volumen a 1 mL en una fiola

Referencia

Condezo-Hoyos L. A., Abderrahim F., Arriba S. M., González M.C. (2015). A novel, micro, rapid and direct assay to assess total antioxidant capacity of solid foods. *Talanta* 138 (2015)108–116. Elsevier B.V. <http://dx.doi.org/10.1016/j.talanta.2015.01.043>

Anexo IV

PROTOCOLO PARA DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES

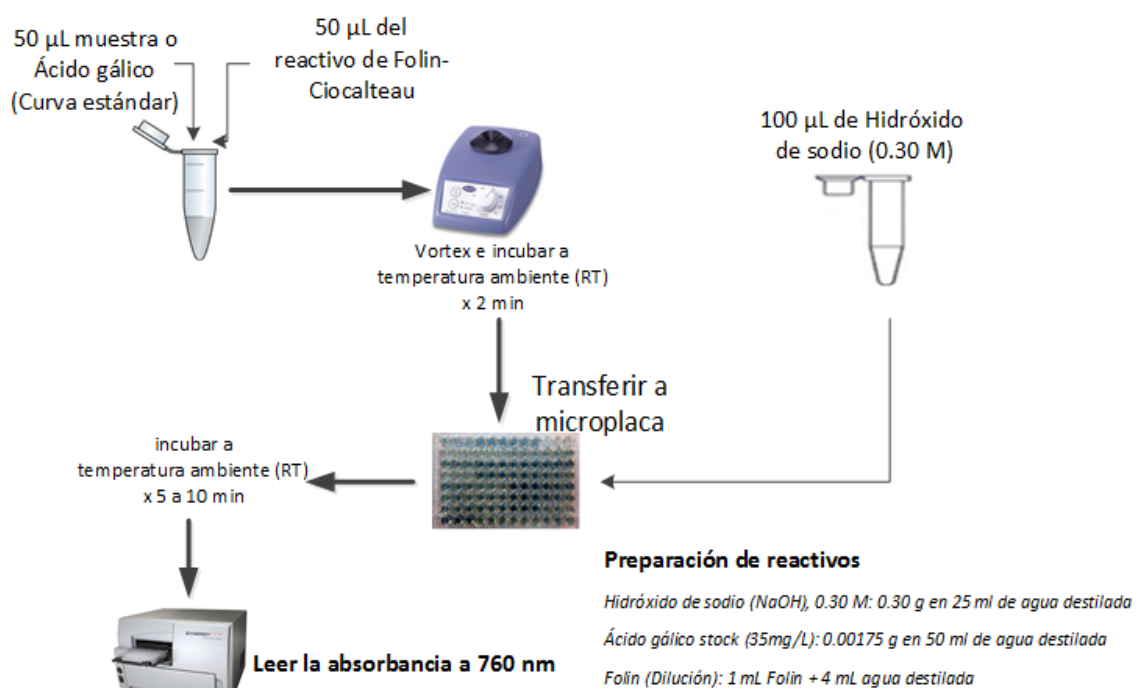


UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ FAUSTINO SANCHEZ CARRIÓN -
HUACHO

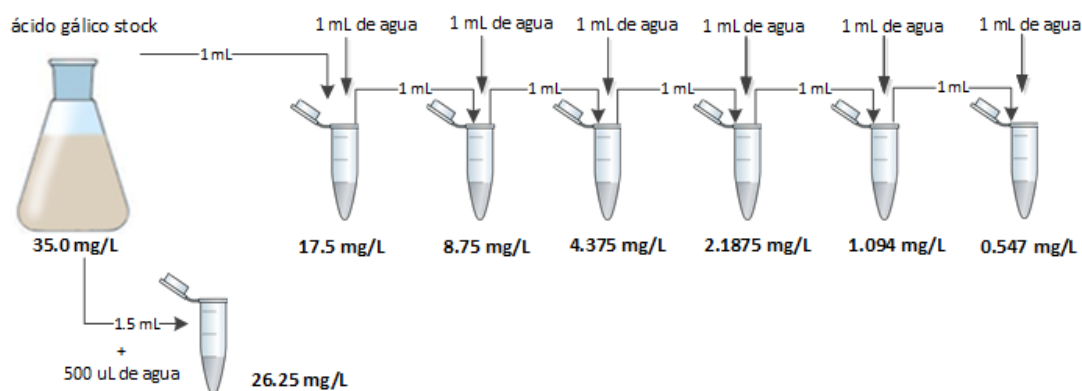
PROYECTO DE INVESTIGACIÓN MODALIDAD FOCAM:

FORMULACIÓN DE BEBIDAS FUNCIONALES CON CAPACIDAD ANTIOXIDANTE A
BASE DE FRUTAS Y VERDURAS

Protocolo Polifenoles totales



Dilución seriada: Curva estándar



Referencia

Magalhães, L.M.; Santos, F.; Segundo, M.A.; Reis, S.; Lima, J.L.F.C. (2010). Rapid microplate high-throughput methodology for assessment of Folin-Ciocalteu reducing capacity. *Talanta* 83(2), 441-447.



Anexo V

PROTOCOLO PARA LA DETERMINACIÓN DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE: MÉTODO FRAP

Preparación de reactivos:

A. Acetato Buffer: (300 mM, pH – 3.6): Ácido Acético Glacial (1,6176 ml.) + Acetato de Sodio anhidro (0,1627 g.) + H₂O Desionizada ajustar a un pH de 3,6 (con dilución de HCl) ----→ Ajustar a un Volumen de **100 ml.** (en una Fiola)

B. TPTZ (10mM en HCl 40 mM):

(2,4,6 Tris (2-pyridyll)

0,00312 g. TPTZ -----→ Ajustar a un volumen de **1ml** con HCl 40 mM (en una Fiola).

(La coloración a la Rx es ligeramente azul)

C. FeCl₃ (20mM):

0,0054 g. FeCl₃ -----→ Ajustar a un volumen de **1ml** con Agua desionizada (en una Fiola).

D. Ácido Gálico 5878,2 μM : (MW= 170.12)

Ac. Gálico a una CC. de 5878,2 μM, (Stock GA. --→ 1 mg/ml = 1g/L --→ 5878,2 μM)

E. HCl (40 mM):

Puro: $V_{HCL} = (0.073 \text{ g}) / (1,1591 \text{ gr/ml})$

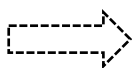
= 0,069 ml.

$V_{HCL} = 0,069 \times (100/36,03)$

→ Ajustar a 50 ml.

$V_{HCL} = 174,6 \mu\text{L}.$

174,6μL de HCl QP



con H₂O Desionizada. (En una Fiola)

- **Solución de trabajo FRAP:**

10 ml. Buffer Acetato

+ 1ml. de solución TPTZ

+ 1 ml. de solución de FeCl₃

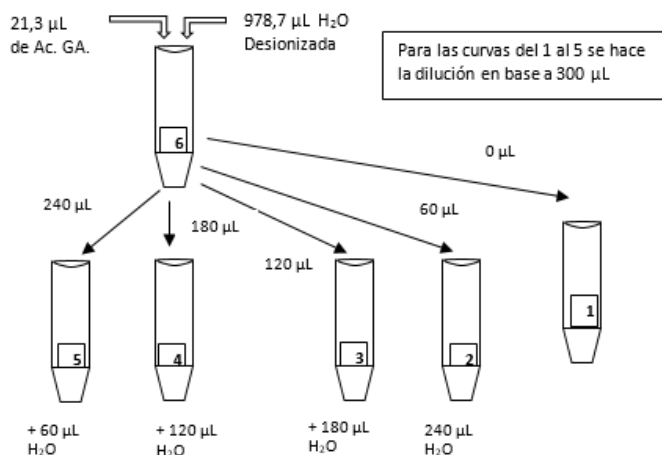


Mezclar en un frasco oscuro. Esta Solución de trabajo se deberá preparar para el día.
(Total 12 ml); 12 ml => 60 muestras en microplaca.

- Tener en cuenta que para la purga del equipo se necesita 1200 μL de solución de trabajo.

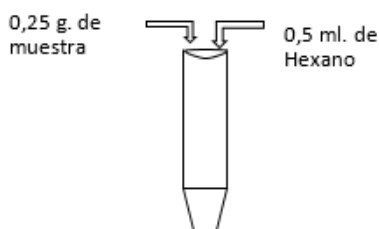
- **Preparación de la curva:**

- Ac. Gálico a una concentración de 5878,2 μM , (Stock GA. \rightarrow 1 mg/ml = 1g/L \rightarrow 5878,2 μM) a partir de esta solución se hacen diluciones para la curva estándar a las concentraciones siguientes:



- **Extracción de la muestra:**

La extracción se adapta dependiendo del tipo de muestra



- **Aplicación en microplacas y lectura:**

- Para la Curva Estándar:

Se aplica las diluciones de diferentes concentraciones en la microplaca 20 μL de STD, desde la menor concentración hasta la mayor concentración y luego el equipo inyectará 150 μL de FRAP (Solución de Trabajo).

- Para las muestras:

Se aplica las diluciones de las muestras (extraídas previamente) en la microplaca 20 μL en cada pocillo, (20 μL x 3 repeticiones, 3 pocillos por muestra). Luego el equipo inyectará 150 μL de FRAP.

- Leer la Absorbancia a 593 nm en la Lectora de microplacas.

- $T^\circ = 37^\circ\text{C}$
- Inyección de solución de trabajo = 150 μL .
- Shaker = 3 seg.
- Leer a los 8 minutos.

Anexo VI

PRUEBA DE TUKEY

Simultaneous Tests for General Linear Hypotheses

Multiple Comparisons of Means: Tukey Contrasts - DPPH Quencher

Fit: aov(formula = DPPHQ ~ uvas, data = Dato)

Linear Hypotheses:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)
1. Borgoña Negra - 1.Borgoña Blanca == 0	-0.5600	0.4293	-1.304	0.84232
1. Italia - 1.Borgoña Blanca == 0	-3.3000	0.4293	-7.687	< 0.001 ***
1. Moscatel - 1.Borgoña Blanca == 0	1.1200	0.4293	2.609	0.17311
1. Quebranta - 1.Borgoña Blanca == 0	2.2800	0.4293	5.311	< 0.001 ***
1. Red Globe - 1.Borgoña Blanca == 0	0.3600	0.4293	0.839	0.97771
1. Uvina - 1.Borgoña Blanca == 0	0.4000	0.4293	0.932	0.96285
1. Italia - 1.Borgoña Negra == 0	-2.7400	0.4293	-6.382	< 0.001 ***
1. Moscatel - 1.Borgoña Negra == 0	1.6800	0.4293	3.913	0.01176 *
1. Quebranta - 1.Borgoña Negra == 0	2.8400	0.4293	6.615	< 0.001 ***
1. Red Globe - 1.Borgoña Negra == 0	0.9200	0.4293	2.143	0.36533
1. Uvina - 1.Borgoña Negra == 0	0.9600	0.4293	2.236	0.31875
1. Moscatel - 1.Italia == 0	4.4200	0.4293	10.296	< 0.001 ***
1. Quebranta - 1.Italia == 0	5.5800	0.4293	12.998	< 0.001 ***
1. Red Globe - 1.Italia == 0	3.6600	0.4293	8.525	< 0.001 ***
1. Uvina - 1.Italia == 0	3.7000	0.4293	8.619	< 0.001 ***
1. Quebranta - 1.Moscatel == 0	1.1600	0.4293	2.702	0.14584
1. Red Globe - 1.Moscatel == 0	-0.7600	0.4293	-1.770	0.58021
1. Uvina - 1.Moscatel == 0	0.7200	0.4293	-1.677	0.63745
1. Red Globe - 1.Quebranta == 0	-1.9200	0.4293	-4.472	0.00334 **
1. Uvina - 1.Quebranta == 0	-1.8800	0.4293	-4.379	0.00426 **
1. Uvina - 1.Red Globe == 0	0.0400	0.4293	0.093	1.00000

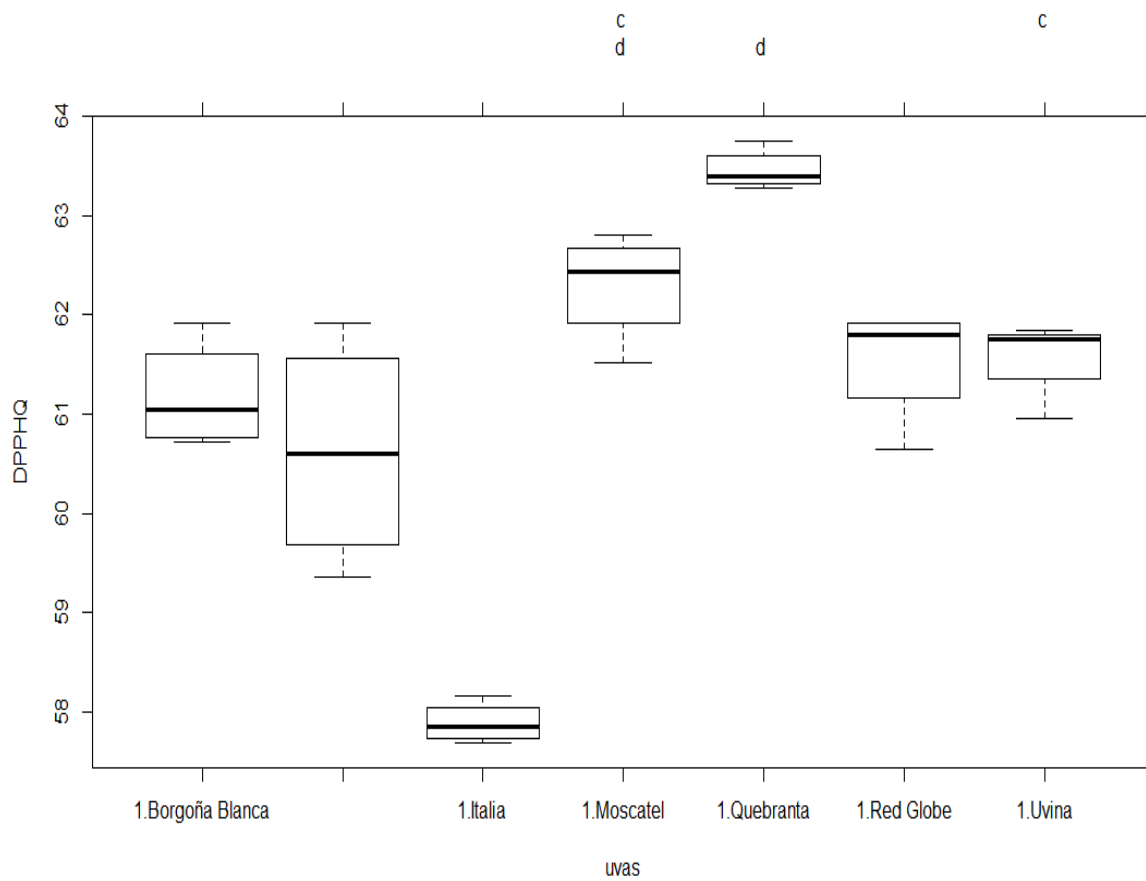
Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

(Adjusted p values reported -- single-step method)

groups

	DPPHQ	groups
1. Quebranta	63.46	a
1. Moscatel	62.30	ab
1. Uvina	61.58	bc
1. Red Globe	61.54	bc
1. Borgoña Blanca	61.18	bc
1. Borgoña Negra	60.62	c
1. Italia	57.88	d

Prueba de Tukey - Dpph Quencher



Simultaneous Tests for General Linear Hypotheses

Multiple Comparisons of Means: Tukey Contrasts – DPPH Extractable

Fit: aov(formula = DPPH.Ext ~ uvas, data = Dato)

Linear Hypotheses:

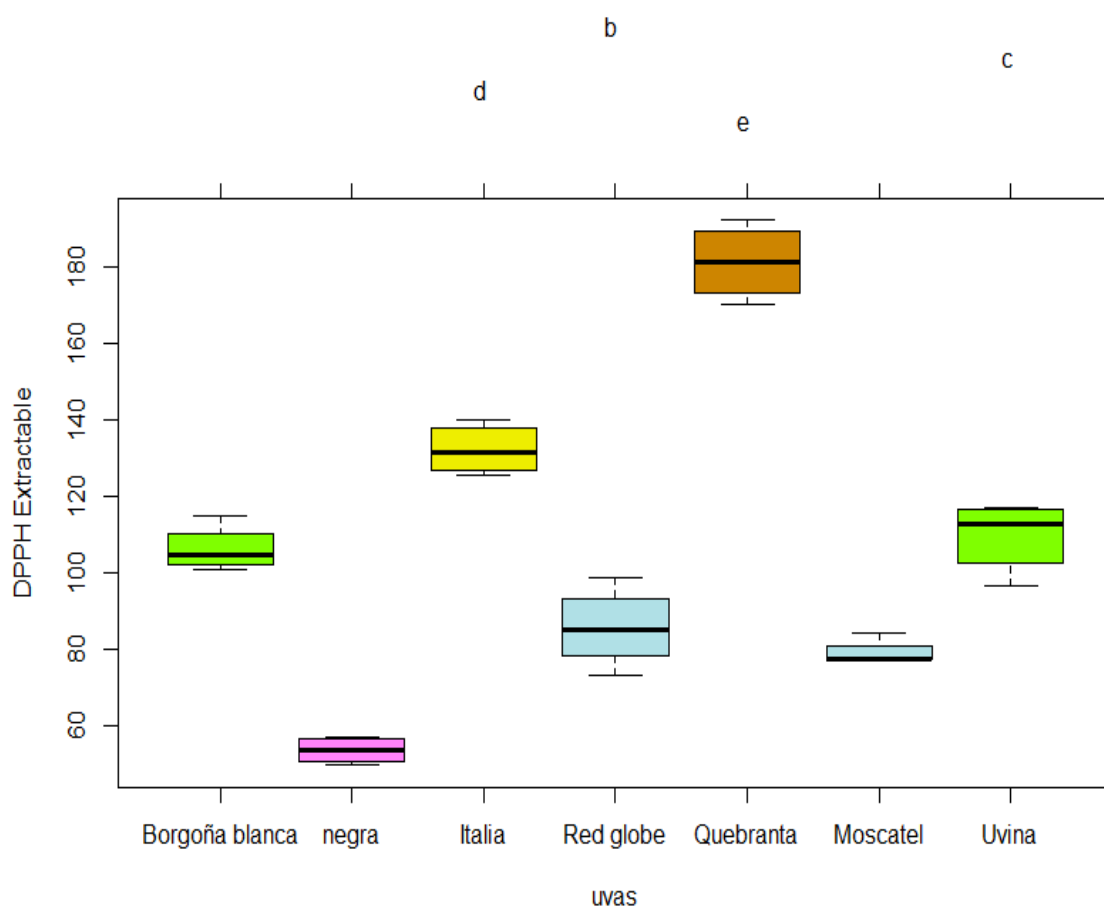
	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)
1. Borgoña Negra - 1.Borgoña Blanca == 0	-52.756	5.369	-9.826	< 0.001 ***
1. Italia - 1.Borgoña Blanca == 0	25.986	5.369	4.840	0.00138 **
1. Moscatel - 1.Borgoña Blanca == 0	-20.661	5.369	-3.848	0.01370 *
1. Quebranta - 1.Borgoña Blanca == 0	74.857	5.369	13.943	< 0.001 ***
1. Red Globe - 1.Borgoña Blanca == 0	-27.106	5.369	-5.049	< 0.001 ***
1. Uvina - 1.Borgoña Blanca == 0	3.431	5.369	0.639	0.99454
1. Italia - 1.Borgoña Negra == 0	78.741	5.369	14.666	< 0.001 ***
1. Moscatel - 1.Borgoña Negra == 0	32.095	5.369	5.978	< 0.001 ***
1. Quebranta - 1.Borgoña Negra == 0	127.613	5.369	23.769	< 0.001 ***
1. Red Globe - 1.Borgoña Negra == 0	25.649	5.369	4.777	0.00173 **
1. Uvina - 1.Borgoña Negra == 0	56.187	5.369	10.465	< 0.001 ***
1. Moscatel - 1.Italia == 0	-46.646	5.369	-8.688	< 0.001 ***
1. Quebranta - 1.Italia == 0	48.872	5.369	9.103	< 0.001 ***
1. Red Globe - 1.Italia == 0	-53.092	5.369	-9.889	< 0.001 ***
1. Uvina - 1.Italia == 0	-22.555	5.369	-4.201	0.00626 **
1. Quebranta - 1.Moscatel == 0	95.518	5.369	17.791	< 0.001 ***
1. Red Globe - 1.Moscatel == 0	-6.446	5.369	-1.201	0.88622
1. Uvina - 1.Moscatel == 0	24.091	5.369	4.487	0.00312 **
1. Red Globe - 1.Quebranta == 0	-101.964	5.369	-18.991	< 0.001 ***
1. Uvina - 1.Quebranta == 0	-71.427	5.369	-13.304	< 0.001 ***
1. Uvina - 1.Red Globe == 0	30.537	5.369	5.688	< 0.001 ***

Signif. Codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

(Adjusted p values reported -- single-step method)

	DPPH.Ext	groups
1. Quebranta	181.07784	a
1. Italia	132.20598	b
1. Uvina	109.65120	c
1. Borgoña Blanca	106.22043	c
1. Moscatel	85.55975	d
1. Red Globe	79.11395	d
1. Borgoña Negra	53.46454	e

Prueba de Tukey - DPPH Extractable



Simultaneous Tests for General Linear Hypotheses

Multiple Comparisons of Means: Tukey Contrasts – ABTS+

Fit: aov(formula = ABTS ~ uvas, data = Dato)

Linear Hypotheses:

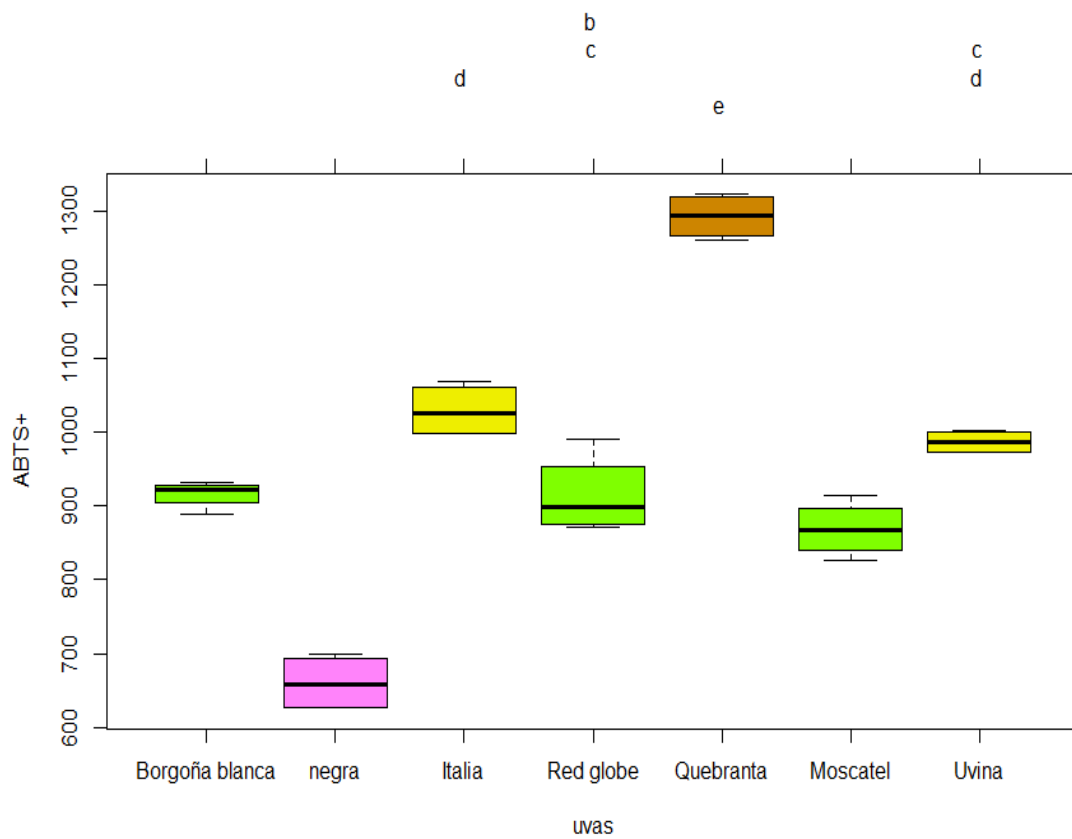
	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)
1. Borgoña Negra - 1.Borgoña Blanca == 0	-255.440	25.032	-10.205	< 0.001 ***
1. Italia - 1.Borgoña Blanca == 0	113.067	25.032	4.517	0.00303 **
1. Moscatel - 1.Borgoña Blanca == 0	-1.444	25.032	-0.058	1.00000
1. Quebranta - 1.Borgoña Blanca == 0	377.098	25.032	15.065	< 0.001 ***
1. Red Globe - 1.Borgoña Blanca == 0	-46.741	25.032	-1.867	0.52132
1. Uvina - 1.Borgoña Blanca == 0	70.750	25.032	2.826	0.11629
1. Italia - 1.Borgoña Negra == 0	368.507	25.032	14.722	< 0.001 ***
1. Moscatel - 1.Borgoña Negra == 0	253.996	25.032	10.147	< 0.001 ***
1. Quebranta - 1.Borgoña Negra == 0	632.538	25.032	25.269	< 0.001 ***
1. Red Globe - 1.Borgoña Negra == 0	208.699	25.032	8.337	< 0.001 ***
1. Uvina - 1.Borgoña Negra == 0	326.190	25.032	13.031	< 0.001 ***
1. Moscatel - 1.Italia == 0	-114.511	25.032	-4.575	0.00273 **
1. Quebranta - 1.Italia == 0	264.030	25.032	10.548	< 0.001 ***
1. Red Globe - 1.Italia == 0	-159.808	25.032	-6.384	< 0.001 ***
1. Uvina - 1.Italia == 0	-42.318	25.032	-1.691	0.62912
1. Quebranta - 1.Moscatel == 0	378.542	25.032	15.122	< 0.001 ***
1. Red Globe - 1.Moscatel == 0	-45.297	25.032	-1.810	0.55622
1. Uvina - 1.Moscatel == 0	72.194	25.032	2.884	0.10408
1. Red Globe - 1.Quebranta == 0	-423.838	25.032	-16.932	< 0.001 ***
1. Uvina - 1.Quebranta == 0	-306.348	25.032	-12.238	< 0.001 ***
1. Uvina - 1.Red Globe == 0	117.490	25.032	4.694	0.00201 **

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

(Adjusted p values reported -- single-step method)

	ABTS	groups
1. Quebranta	1292.9410	a
1. Italia	1028.9106	b
1. Uvina	986.5930	bc
1. Borgoña Blanca	915.8434	cd
1. Moscatel	914.3992	cd
1. Red Globe	869.1026	d
1. Borgoña Negra	660.4034	e

Prueba de Tukey – ABTS+



Simultaneous Tests for General Linear Hypotheses

Multiple Comparisons of Means: Tukey Contrasts - FRAP

Fit: aov(formula = FRAP ~ uvas, data = Dato)

Linear Hypotheses:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)	
1. Borgoña Negra - 1.Borgoña Blanca == 0	-135.9793	21.5453	-6.311	< 0.001	***
1. Italia - 1.Borgoña Blanca == 0	55.8403	21.5453	2.592	0.20056	
1. Moscatel - 1.Borgoña Blanca == 0	-7.4430	21.5453	-0.345	0.99981	
1. Quebranta - 1.Borgoña Blanca == 0	90.2016	21.5453	4.187	0.01214	*
1. Red Globe - 1.Borgoña Blanca == 0	-12.9307	21.5453	-0.600	0.99573	
1. Uvina - 1.Borgoña Blanca == 0	55.0749	21.5453	2.556	0.21129	
1. Italia - 1.Borgoña Negra == 0	191.8196	21.5453	8.903	< 0.001	***
1. Moscatel - 1.Borgoña Negra == 0	128.5363	21.5453	5.966	< 0.001	***
1. Quebranta - 1.Borgoña Negra == 0	226.1809	21.5453	10.498	< 0.001	***
1. Red Globe - 1.Borgoña Negra == 0	123.0486	21.5453	5.711	< 0.001	***
1. Uvina - 1.Borgoña Negra == 0	91.0541	21.5453	8.868	< 0.001	***
1. Moscatel - 1.Italia == 0	-63.2832	21.5453	-2.937	0.11450	
1. Quebranta - 1.Italia == 0	34.3613	21.5453	1.595	0.68772	
1. Red Globe - 1.Italia == 0	-68.7710	21.5453	-3.192	0.07385	.
1. Uvina - 1.Italia == 0	-0.7654	21.5453	-0.036	1.00000	
1. Quebranta - 1.Moscatel == 0	97.6446	21.5453	4.532	0.00667	**
1. Red Globe - 1.Moscatel == 0	-5.4877	21.5453	-0.255	0.99997	
1. Uvina - 1.Moscatel == 0	62.5178	21.5453	2.902	0.12146	
1. Red Globe - 1.Quebranta == 0	-103.1323	21.5453	-4.787	0.00409	**
1. Uvina - 1.Quebranta == 0	-35.1267	21.5453	-1.630	0.66732	
1. Uvina - 1.Red Globe == 0	68.0056	21.5453	3.156	0.07862	.

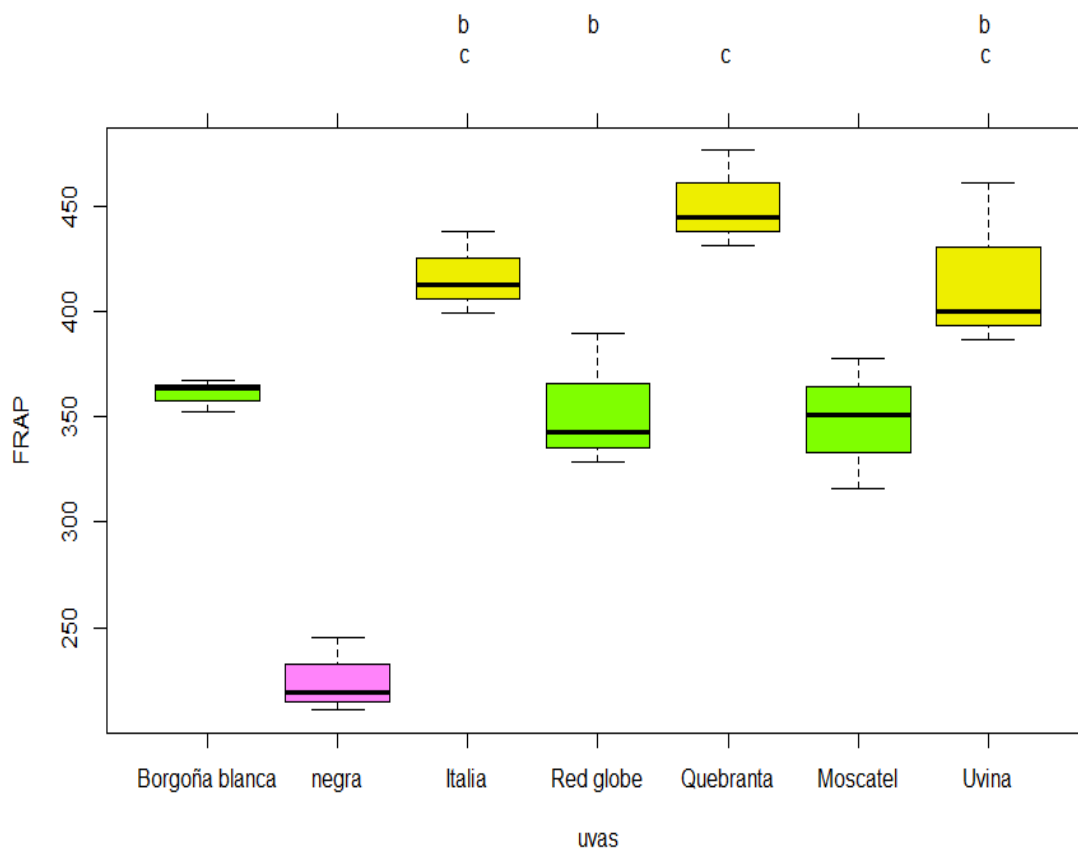
Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

(Adjusted p values reported -- single-step method)

groups

	FRAP	groups
1. Quebranta	451.1937	a
1. Italia	416.8323	ab
1. Uvina	416.0669	ab
1. Borgoña Blanca	360.9920	b
1. Moscatel	353.5491	b
1. Red Globe	348.0614	b
1. Borgoña Negra	225.0128	c

Prueba de Tukey - DPPH Extractable FRAP



Simultaneous Tests for General Linear Hypotheses

Multiple Comparisons of Means: Tukey Contrasts - Polifenoles totales

Fit: aov(formula = FENOLES ~ uvas, data = Dato)

Linear Hypotheses:

	Estimate	Std. Error	t value	Pr(> t)
1. Borgoña Negra - 1.Borgoña Blanca == 0	-20.2716	3.5969	-5.636	< 0.001 ***
1. Italia - 1.Borgoña Blanca == 0	13.0497	3.5969	3.628	0.02234 *
1. Moscatel - 1.Borgoña Blanca == 0	-8.4205	3.5969	-2.341	0.27140
1. Quebranta - 1.Borgoña Blanca == 0	13.7586	3.5969	3.825	0.01449 *
1. Red Globe - 1.Borgoña Blanca == 0	-9.2488	3.5969	-2.571	0.18513
1. Uvina - 1.Borgoña Blanca == 0	6.3992	3.5969	1.779	0.57487
1. Italia - 1.Borgoña Negra == 0	33.3212	3.5969	9.264	< 0.001 ***
1. Moscatel - 1.Borgoña Negra == 0	11.8510	3.5969	3.295	0.04555 *
1. Quebranta - 1.Borgoña Negra == 0	34.0301	3.5969	9.461	< 0.001 ***
1. Red Globe - 1.Borgoña Negra == 0	11.0227	3.5969	3.065	0.07304.
1. Uvina - 1.Borgoña Negra == 0	26.6707	3.5969	7.415	< 0.001 ***
1. Moscatel - 1.Italia == 0	-21.4702	3.5969	-5.969	< 0.001 ***
1. Quebranta - 1.Italia == 0	0.7089	3.5969	0.197	0.99999
1. Red Globe - 1.Italia == 0	-22.2985	3.5969	-6.199	< 0.001 ***
1. Uvina - 1.Italia == 0	-6.6505	3.5969	-1.849	0.53233
1. Quebranta - 1.Moscatel == 0	22.1791	3.5969	6.166	< 0.001 ***
1. Red Globe - 1.Moscatel == 0	-0.8283	3.5969	-0.230	0.99998
1. Uvina - 1.Moscatel == 0	14.8197	3.5969	4.120	0.00751 **
1. Red Globe - 1.Quebranta == 0	-23.0074	3.5969	-6.397	< 0.001 ***
1. Uvina - 1.Quebranta == 0	-7.3594	3.5969	-2.046	0.41747
1. Uvina - 1.Red Globe == 0	15.6480	3.5969	4.350	0.00433 **

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

(Adjusted p values reported -- single-step method)

groups

	FENOLES	groups
1. Quebranta	97.25606	a
1. Italia	96.54715	a
1. Uvina	89.89665	ab
1. Borgoña Blanca	83.49749	bc
1. Moscatel	75.07694	c
1. Red Globe	74.24865	cd
1. Borgoña Negra	63.22591	d

Prueba de Tukey – Polifenoles Totales

