



UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA
COMISIÓN ORGANIZADORA

**RESOLUCIÓN DE COMISIÓN ORGANIZADORA
N° 674-2017-UNAM**

Moquegua, 06 de Diciembre de 2017

VISTOS, el Informe N° 291-2017-EPIA/VIPAC/UNAM de 15 de Noviembre 2017, Oficio N° 454-2017-VIPAC-CO/UNAM de 17 de Noviembre 2017, Informe N° 001-2017-RGSV/EPIA/UNAM de 09 de Noviembre 2017, Acuerdo de Sesión Extraordinaria del 17 de Noviembre 2017, y.

CONSIDERANDO:

Que, el párrafo cuarto del artículo 18° de la Constitución Política del Estado, concordante con el artículo 8° de la Ley N° 30220, Ley Universitaria, reconoce la autonomía universitaria, en el marco normativo, de gobierno, académico, administrativo y económico, que guarda concordancia con el Capítulo IV del Estatuto de la UNAM.

Que, el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Nacional de Moquegua, aprobado con Resolución de Comisión Organizadora N° 190-2016-UNAM de 05 de Agosto de 2016, establece en el Artículo 12°, que el proyecto de tesis es un trabajo de investigación individual que presentan los estudiantes del último año académico, egresados o bachilleres al Director de la Escuela Profesional, con la finalidad de resolver un problema objeto de estudio, asimismo, precisa en el Artículo 15° que todo proyecto de tesis debe tener un asesor, quien deberá ser docente ordinario de la Escuela Profesional o en forma facultativa un docente contratado en la especialidad en el área que se investiga. El jurado dictaminador del proyecto, será designado por el Comité Asesor y el Director de la Escuela Profesional, el mismo que estará compuesto por tres miembros elegidos entre los docentes ordinarios y/o contratados, conforme se indica en los artículos 18°, 19° y 20° del precitado Reglamento.

Que, mediante Informe N° 291-2017-EPIA/VIPAC/UNAM de 15 de Noviembre 2017, el Director de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial, solicita a Vicepresidencia Académica la aprobación del proyecto de tesis denominado: "EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE TANINOS DE LA SEMILLA DE PALTA (*Persea americana*) VARIEDAD ZUTANO", presentado por la Bachiller Yajaira Sujey Valdez Manchego, el mismo que fue declarada apta según acta de aprobación de proyecto de tesis para optar el título profesional de Ingeniero Agroindustrial de fecha 09 de Noviembre de 2017, solicitando se emita el acto resolutorio.

Que, con Oficio N° 454-2017-VIPAC-CO/UNAM de 17 de Noviembre 2017, la Dra. María Elena Echevarría Jaime, Vicepresidencia Académica de la Universidad Nacional de Moquegua, solicita al Dr. Washington Zeballos Gámez Presidente de la Comisión Organizadora - UNAM, la emisión de acto resolutorio de reconocimiento de aprobación de proyecto de tesis, así como la designación de asesor y miembros del jurado dictaminador, conforme se precisa en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Nacional de Moquegua.

Que, en Sesión Extraordinaria del 17 de Noviembre 2017, se acordó por UNANIMIDAD, Aprobar el Proyecto de Tesis en referencia presentado por la Bachiller Yajaira Sujey Valdez Manchego, asimismo se acordó designar como Asesor de Tesis al Ing. Lenin Quille Quille, Co asesor Mg. Nilton César León Calvo, Ing. MSc. Nils Leander Huamán Castilla, así como a los miembros del jurado revisor y dictaminador de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la UNAM, encargados de evaluar el trabajo de investigación, conforme a la propuesta remitida.

Por las consideraciones precedentes y en uso de las atribuciones que le concede la Ley Universitaria N° 30220, el Estatuto de la Universidad Nacional de Moquegua y lo acordado en Sesión Extraordinaria del 17 de Noviembre 2017.

SE RESUELVE:

ARTÍCULO PRIMERO.- APROBAR, el Proyecto de Tesis denominado: "EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE TANINOS DE LA SEMILLA DE PALTA (*Persea americana*) VARIEDAD ZUTANO", presentado por la BACHILLER YAJAIRA SUJEY VALDEZ MANCHEGO, conforme a lo expuesto a la parte considerativa de la presente resolución.

ARTÍCULO SEGUNDO.- DESIGNAR, al Ing. Lenin Quille Quille, como Asesor del Proyecto de Tesis y al Mg. Nilton César León Calvo e Ing. MSc. Nils Leander Huamán Castilla, Co Asesores del proyecto de tesis aprobado en el artículo primero de la presente resolución.

ARTÍCULO TERCERO.- DESIGNAR, al Jurado Revisor y Dictaminador del Proyecto de Tesis: "EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE TANINOS DE LA SEMILLA DE PALTA (*Persea americana*) VARIEDAD ZUTANO", presentado por la BACHILLER YAJAIRA SUJEY VALDEZ MANCHEGO, conforme al siguiente detalle:

- | | | |
|--|---|-----------------|
| ➤ Dr. RENE GERMAN SOSA VILCA | : | PRESIDENTE |
| ➤ Ing. MSc. YESICA LUZ VILCANQUI CHURA | : | PRIMER MIEMBRO |
| ➤ Ing. ROMUALDO VILCA CURO | : | SEGUNDO MIEMBRO |





UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA
COMISIÓN ORGANIZADORA

RESOLUCIÓN DE COMISIÓN ORGANIZADORA N° 674-2017-UNAM

ARTÍCULO CUARTO.- ENCARGAR, a los profesionales designados el cumplimiento de lo establecido en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad Nacional de Moquegua, asimismo, Vicepresidencia Académica deberá adoptar las acciones académicas necesarias, para el cumplimiento de la presente resolución.

Regístrese, Comuníquese, Publíquese y Archívese.



Presidencia
VIPAC
VIPI
EPIA
Interesado
Arch. (2)


DR. WASHINGTON ZEBALLOS GÁMEZ
PRESIDENTE




ABOG. GUILLERMO S. KUONG CORNEJO
SECRETARIO GENERAL



PERÚ

UNAM

Universidad Nacional de Moquegua

VIPAC

Vicepresidencia Académica

EPIA

Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial



FOLIO N°

005

"Año del Buen Servicio al Ciudadano"

INFORME N° 291-2017-EPIA/VIPAC/UNAM



A : DRA. MARIA ELENA ECHEVARRIA JAIME
Vicepresidenta Académica - UNAM

DE : Ing. M.Sc. MARIO ROGER COTACALLAPA SUCAPUCA
Director de la Escuela Profesional de INGENIERIA AGROINDUSTRIAL

ASUNTO : Aprobación de Proyecto de Tesis, Ratificación de Asesor, Jurado Dictaminador y Revisor.

REFERENCIA : INFORME N° 001-2017-RGSV/EPIA/UNAM

FECHA : Moquegua, 15 de noviembre del 2017

Es grato dirigirme a usted, con la finalidad de saludarla cordialmente, y a su vez hacer de su conocimiento que en atención al documento de la referencia, presentado por el Dr. Rene German Sosa Vilca tiene a bien informar a esta dirección que con fecha 09 de noviembre del 2017 se declara APTO el Proyecto de Tesis denominado "EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE TANINOS DE LA SEMILLA DE PALTA (*Persea americana*) VARIEDAD ZUTANO", presentado por la Bachiller YAJAIRA SUJEY VALDEZ MANCHEGO; Para lo cual se adjunta un (01) ejemplar del Proyecto de Tesis Aprobado.

En tal sentido y en amparo del Reglamento de Grados y Títulos de la UNAM, según se indica en su art. 30° se inscribe el Proyecto de Tesis en el Registro de Trabajos de Tesis de la Escuela y se notifica al Tesista sobre la aprobación del referido proyecto.

Por lo mismo, solicito a usted que mediante su despacho se realice el trámite correspondiente para la emisión del acto resolutorio según se precisa:

Artículo Primero: Aprobar el Proyecto de Tesis denominado: "EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE TANINOS DE LA SEMILLA DE PALTA (*Persea americana*) VARIEDAD ZUTANO", presentado por la Bachiller YAJAIRA SUJEY VALDEZ MANCHEGO

Artículo Segundo: Ratificación de Asesor y Co Asesores de Proyecto de Tesis:

- Asesor : Ing. Lenin Quille Quille
- Co Asesor : Mg. Niltón Cesar León Calvo
- Co Asesor : Ing. M.Sc. Nils Leander Huamán Castilla

Artículo Tercero: Ratificación de Jurado Dictaminador y Revisor, según el siguiente detalle:

- Presidente : Dr. Rene German Sosa Vilca
- Primer Miembro : Ing. M.Sc. Yesica Luz Vilcanqui Chura
- Segundo Miembro : Ing. Romualdo Vilca Curo

Es todo cuanto informo a usted, para su conocimiento y acciones necesarias.

Atentamente,



UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA
Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial

Ing. M. Sc. MARIO ROGER COTACALLAPA SUCAPUCA
DIRECTOR

MRCs/DEPIA.
SCO/Sec.
C.C.: ARCHIVO

VICEPRESIDENCIA ACADÉMICA

Fecha: Prov. N°: 5234

Folios: Pasa a:

Para:

Firma



2.15



Universidad Nacional de Moquegua
Vicepresidencia Académica

UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA
SECRETARIA GENERAL
RECIBIDO
29 NOV 2017
Hora: N° REG: 1530
Firma: Folios: 67 Anillo

"Año del Buen Servicio al Ciudadano"

Moquegua, 17 de Noviembre del 2017

UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA
COMISION ORGANIZADORA
PRESIDENCIA
RECIBIDO
17 NOV 2017
Hora: 11:47 am N° Reg. 5223
Firma: gy Folio: 6+1 ANILLO

OFICIO N° 454-2017-VIPAC-CO/UNAM

SEÑOR:

Dr. WASHINGTON ZEBALLOS GAMEZ
PRESIDENTE DE LA COMISIÓN ORGANIZADORA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA

Presente.-

ASUNTO : PROYECTO DE TESIS, RATIFICACION DE ASESOR, JURADO DICTAMINADOR Y REVISOR

REFERENCIA : INFORME N° 291-2017-EPIA/VIPAC/UNAM

Mediante el presente es grato dirigirme a usted, para saludarlo cordialmente y a la vez manifestarle que visto el documento de la referencia, presentado por el Ing. MSc. MARIO ROGER COTACALLAPA SUCAPUCA Director de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial, solicita la Aprobación del Proyecto del Tesis denominado "EVALUACION DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE TANINOS DE LA SEMILLA DE PALTA (persea americana) VARIEDAD ZUTANO", del Bachiller YAJAIRA SUJEY VALDEZ MANCHEGO, según detallo:

Ratificación de Asesor y Co Asesores de Proyecto de Tesis:

- Asesor : Ing. Lenin Quille Quille
- Co Asesor : Mg. Nilton Cesar León Calvo
- Co Asesor : Ing. MSc. Nils Leander Huamán Castilla

3.- Ratificar de Jurado Dictaminador y Revisor:

- Presidente : Dr. Rene German Sosa Vilca
- Primer Miembro : Ing. MSc. Yesica Luz Vilcanqui Chura
- Segundo Miembro : Ing. Romualdo Vilca Curo

Por lo expuesto, solicito a través de vuestro despacho la aprobación mediante acto resolutivo del Proyecto de Tesis, Ratificación de Asesores y Ratificación de jurado dictaminador y revisar.

Agradeciendo la atención al presente, hago propicia la ocasión para reiterarle los sentimientos de mi especial consideración y estima personal.

Atentamente,

UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA

M. Echevarría
Dra. MARÍA ELENA ECHEVARRÍA JAIME
VICEPRESIDENTA ACADÉMICA

MEEJ/VIPAC
MASM/Sec.
C.c./Archivo.

PRESIDENCIA - UNAM Prov. 5223 ..
Folios: 6+1 ANILLO Pase a: 56
Fecha: 17 NOV. 2017 Para: SESIÓN DE
COMISIÓN ORGANIZADORA
UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA
PRESIDENTE
Firma

Moquegua, Prolongación Calle Ancash S/N Telefax 053 - 461227 053 - 463514 Anexo (202) 053-461471

www.unam.edu.pe

Vice_presidencia@unam.edu.pe

del buen servicio al ciudadano

INFORME N° 001-2017-RGSV/EPIA/UNAM

UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL	
RECIBIDO	
13 NOV 2017	
Hora: 16:56	N° de Reg: 1025
Firma: [Firma]	Folio: 041-04

M.Sc. MARIO ROGER COTACALLAPA SUCAPUCA
DIRECTOR DE LA ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

DE : **ING. RENE GERMAN SOSA VILCA**
PRESIDENTE DE JURADO DICTAMINADOR

ASUNTO : **APROBACIÓN DE PROYECTO DE TESIS**
PROYECTO : **Evaluación de la capacidad antioxidante de taninos de la semilla de palta (*Persea americana*) variedad Zutano**

FECHA : **Moquegua, 09 de noviembre del 2017**

Es grato dirigirme a usted, con la finalidad de saludarlo cordialmente, y hacerle llegar la aprobación del proyecto de Tesis titulado: "**Evaluación de la capacidad antioxidante de taninos de la semilla de palta (*Persea americana*) variedad Zutano**", siendo uno de los proyectos ganadores del primer concurso de proyecto de investigación de tesis de estudiantes y egresados para la obtención del título profesional con financiamiento de canon minero, sobrecanon y regalías mineras UNAM – 2016; según R.C.O. N° 0437 – 2016 – UNAM.

PRESENTADO POR LA TESISISTA: Yajaira Sujey Valdez Manchego

ASESOR:

Ing. Lenin Quille Quille

CO ASESORES:

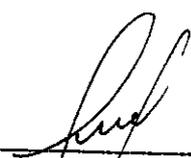
Mg. Nilton Cesar León Calvo

M Sc. Nils Leander Huaman Castilla

Para tal efecto se adjunta 04 ejemplares del proyecto de tesis.

Es cuanto informo a usted para los fines pertinentes.

Atentamente,



ING. RENE GERMAN SOSA VILCA
PRESIDENTE DE JURADO DICTAMINADOR

UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL
Pase a: *Secretaría*
Para: *M.E. VIPAC*
Fecha: *13/11/2017* V°B°


UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL

FICHA DE EVALUACIÓN DEL PROYECTO DE TESIS

Esta ficha deberá se llenada por el jurado dictaminador y revisor del Proyecto de Investigación, en una reunión conjunta con todos sus miembros y después de haber compatibilizado sus sugerencias:

TITULO DEL PROYECTO : "EVOLUCIÓN DE LA CAPACIDAD
ANTI-OXIDANTE DE TANINOS DE LA
SEMILLA DE PALTA (Persea americana
na) VARIEDAD ZUTANO"

AUTOR

DIRECTOR

ASESOR

Jajaira Suarez Valdez Manchego
Ing. Luis Gerardo Guille

1. ¿El título tentativo refleja el problema objeto de estudio? SI (X) NO (.....)
Se sugiere.....
2. ¿El problema de estudio concuerda con las líneas, programas y áreas de investigación de la EPIA? SI (X) NO (.....)
Se sugiere.....
3. ¿El problema de estudio ayuda al conocimiento y/o solución de los problemas que aquejan a la realidad nacional y/o regional? SI (X) NO (.....)
Se sugiere.....
4. ¿El planteamiento del problema objeto de estudio tiene sustento teórico y precisa con claridad lo que se sugiere investigar? SI (X) NO (.....)
Se sugiere..... argumentos más preciso
5. ¿Se expone como antecedentes los resultados o avances de estudios anteriores relacionados con el problema objeto de investigación? SI (X) NO (.....)

Se sugiere.....

6. ¿Los objetivos están elaborados de acuerdo con el problema objeto de estudio?

SI (~~X~~) NO (....)

Se sugiere.....

7. ¿Se precisa en los objetivos los logros que se espera alcanzar? SI (~~X~~) NO (.....)

Se sugiere.....

8. ¿En el marco teórico expone suficientemente las teorías que sirven de sustento y explicación al problema objeto de investigación? SI (~~X~~) NO (.....)

Se sugiere.....

9. ¿Se ha revisado la suficiente bibliografía para la elaboración del marco teórico?

SI (~~X~~) NO (....)

Se debe incluir además los siguientes conceptos

10. ¿Se incluyen todos los conceptos que intervienen en la investigación? SI (~~X~~) NO (.....)

Se debe incluir además los siguientes conceptos

11. ¿Los conceptos están adecuadamente definidos? SI (~~X~~) NO (.....)

Se debe incluir además los siguientes conceptos

12. LAS HIPÓTESIS:

a) ¿Tienen relación y responden al problema formulado)

SI (~~X~~) NO (.....) Se deben de:

13. Método de la Investigación:

a) ¿Cuál es el tipo de investigación a ser desarrollada en el proyecto?

- Investigación Básica o Pura (~~X~~)

- Investigación aplicada (.....)

SEÑOR DIRECTOR DE LA EPIA:

En mérito a la evaluación del proyecto, el jurado lo declara:

A) APTO (X)

Por tanto debe ser inscrito en el Libro de Proyectos de Investigación de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial.

B) NO APTO (.....)

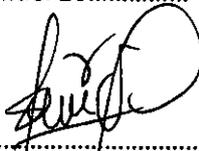
Por tanto, el Tesista debe de corregir las observaciones efectuadas por el Jurado Dictaminador y Revisor en el Presente formato y presentarlo oportunamente para una nueva revisión y evaluación.

Moquegua C.U. a los 09 días del mes de Noviembre del 2017



PRESIDENTE

Ing. Luis Germán Sosa Vilela

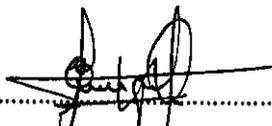


PRIMER MIEMBRO



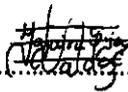
SEGUNDO MIEMBRO

Ing. Romualdo Vilela Curo



DIRECTOR O ASESOR DE TESIS

Ing. Lenin Quille Q.



TESISTA

Bac. Yajaira Valdez Manchego

UNIVERSIDAD NACIONAL DE MOQUEGUA

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA

AGROINDUSTRIAL

**EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE
TANINOS DE LA SEMILLA DE PALTA (*Persea americana*)
VARIEDAD ZUTANO**

PROYECTO DE TESIS

PRESENTADO POR:

YAJAIRA SUJEY VALDEZ MANCHEGO

Para optar el Título Profesional de:

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

MOQUEGUA - PERÚ

2017


Reyes González


Luz Vilca


Ing. Pomvalda Vilca Cerro

CONTENIDO

I. DATOS GENERALES	5
II. EL PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN	6
2.1. Descripción de la Realidad problemática:	6
2.2. Formulación del Problema	7
2.3. Justificación e Importancia de la Investigación.....	8
2.4. Objetivos.....	9
2.5. Hipótesis:	10
III. MARCO TEÓRICO	10
3.1. Antecedentes de Estudio:	10
3.2. Bases teóricas	19
3.3. Definiciones de términos.....	30
IV. Marco metodológico	33
4.1. Lugar de ejecución.....	33
4.2. Tipo y diseño	33
4.3. Nivel de investigación	33
4.4. Operacionalización de variables	34
4.5. Materiales y equipos	35
4.6. Población y/o muestra de estudio	36
4.7. Metodología experimental o técnicas e instrumentos.....	36
4.8. Diseño Experimental o Métodos y técnicas para la presentación y análisis de datos (análisis estadístico)	45
V. ASPECTOS ADMINISTRATIVOS	47
5.1. Cronograma de actividades	47
VI. Referencias bibliográficas	50

CONTENIDO DE TABLAS

Tabla 1: Determinación de variables independientes	30
Tabla 2: Determinación de variables dependientes	30
Tabla 3: Diseño experimental (DBCA)	41
Tabla 4: Cronograma de actividades para realizar el proyecto	42
Tabla 5: Presupuesto Total del Proyecto de tesis	43
Tabla 6: Cronograma de ejecución detallado del proyecto de tesis	45

CONTENIDO DE FIGURAS

Figura 1: Estructura del DPPH antes y después de la reacción	19
Figura 2: (a) Formación del Radical ABTS. (b) Reacción del catión radical	20
Figura 3: Metodología del trabajo de investigación	33
Figura 4: Proceso de obtención de polvo de semilla de palta	34
Figura 5: Proceso de obtención de extractos fenólicos	35
Figura 6: Obtención de taninos expresados en fenoles totales	36
Figura 7: Ejemplo de recta de calibración	37
Figura 8: Determinación de la capacidad antioxidante	38

I. DATOS GENERALES

1.1. Título:

Evaluación de la capacidad antioxidante de taninos de semilla de palta (*Persea Americana*) variedad zutano

1.2. Nombre del autor:

Yajaira Sujey Valdez Manchego

1.3. Localidad donde se realiza la investigación:

La investigación se realizará en los laboratorios de la Escuela profesional de Ingeniería Agroindustrial UNAM – Moquegua.

1.4. Asesor:

Ing. Lenin Quille Quille

1.5. Co-asesor:

Mg. Nilton Cesar León Calvo

Ing. Nils Huaman Castilla

II. EL PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN

2.1. Descripción de la Realidad problemática:

En la ciudad de Moquegua se tiene cinco variedades de palta, las más conocidas y comercializadas son la variedad Hass y Fuerte. Otra de las variedades que se tiene es la Zutano, ésta es una variedad polinizadora y su producción es el 10 % de plantones de variedad Hass, información que se obtuvo de algunos agricultores de la asociación productora de palta "El fundo Hass". En el 2016 se tuvo una producción de 472 toneladas de palta (Cori, 2016), esto tan solo en el valle de Moquegua; estimando un 47.2 toneladas de la producción en variedad Zutano la cual no es comercializada por su sabor un poco astringente, la pulpa es poco consumida por los productores y la cáscara como la semilla son descartadas como desecho.

Existen estudios en antioxidantes presentes en la semilla de uva, de tara, de frutos, semilla de palta en variedad Hass. Sin embargo, en Moquegua no existen estudios relacionados a la capacidad antioxidante de la pulpa, semilla o cáscara de la variedad Zutano. Entonces, al darle un valor agregado a esta variedad se podrían elaborar productos novedosos y competitivos en el mercado, generando así grandes beneficios para los productores y aportando con el desarrollo de la Región.

Con lo expuesto anteriormente, se realizará la presente investigación –tipo experimental- para evaluar la capacidad antioxidante de los taninos de la semilla de palta (*Persea americana*) de la variedad Zutano, con el fin de destinarla como curtiente vegetal en reemplazo

de los cortientes químicos que dañan el medio ambiente. Y así mismo evaluar su capacidad antioxidante para prevenir el deterioro de la calidad de los alimentos y mantener su valor nutracéutico. Los antioxidantes también son de importancia en la salud ya que ayudan a protegerse contra el daño causado por las especies de oxígeno reactivo y las enfermedades degenerativas; de ésta manera contribuir con el mejor aprovechamiento de dicha variedad de palta.

2.2. Formulación del Problema

Considerando que las semillas de palta poseen propiedades aprovechables como los taninos y su capacidad antioxidante el cual se puede utilizar para retrasar los procesos de oxidación, nace la necesidad de estudiar la concentración durante el proceso extracción.

2.2.1. Interrogante general

- ¿Cuál es la capacidad antioxidante del tanino de la semilla de palta (*Persea americana*) variedad Zutano?

2.2.2. Interrogantes específicas

- ¿Cuáles son los parámetros de porcentaje de solvente (etanol) y temperatura de extracción del tanino de semilla de palta (*Persea americana*)?
- ¿Cuál es el contenido de tanino presente en los extractos de la semilla de palta (*Persea americana*) variedad Zutano?

- ¿Cuál es la capacidad antioxidante presente en la semilla de palta (*Persea americana*) variedad Zutano?

2.3. Justificación e Importancia de la Investigación

Los antioxidantes son sustancias naturales o fabricadas por el hombre que pueden prevenir o retrasar algunos tipos de daños a las células. Los antioxidantes se encuentran en muchos alimentos, incluyendo frutas y verduras.

Los antioxidantes naturales se encuentran en prácticamente todas las plantas, microorganismos, hongos e incluso los animales (Robbins, 2003). La mayoría son compuestos fenólicos, entre los cuales los grupos principales son los tocoferoles, los flavonoides y los ácidos fenólicos. Los tocoferoles y los tocotrienoles son el grupo de sustancias antioxidantes mejor conocidas ya ampliamente utilizadas. Los ácidos fenólicos (en particular el ácido gálico) forman parte de los taninos hidrolizables que presentan astringente y sabor amargo; son producidos por las plantas, se encuentran en el tallo, las hojas y las semillas (Chavez, 2011). Los compuestos fenólicos están relacionados con la calidad sensorial de los alimentos de origen vegetal, fresco y procesado (Robbins, 2003).

La semilla de palta tiene más antioxidantes que la mayoría de frutas y vegetales (más a un que la mayoría de los tés curativos). Además, tiene un aceite nutritivo, rico en antioxidantes que baja el colesterol alto y ayuda a prevenir derrames y enfermedades cardíacas (Cabrera, 2015), por ende el estudio de la variedad Zutano sería una muy buena alternativa para potenciar el uso de los extractos de semilla

como fuente de antioxidantes y colorantes naturales para el creciente mercado de los alimentos funcionales, industrial alimentaria y textil. Comprender el efecto de la temperatura y el tipo de solvente permitirá optimizar el proceso de extracción de los compuestos fenólicos provenientes de los extractos de semilla de palta variedad Zutano. La capacidad antioxidante está asociada a la concentración de polifenoles totales. Es por ello que se ha propuesto en el presente trabajo de investigación los parámetros del proceso de extracción tales como el % de solvente (etanol) y temperatura de exposición que permitirá obtener la mayor cantidad de polifenoles totales y capacidad antioxidante en la semilla de palta variedad Zutano.

2.4. Objetivos

2.4.1. Objetivo General:

- Evaluar la capacidad antioxidante de taninos de la semilla de palta (*Persea americana*) variedad Zutano.

2.4.2. Objetivos Específicos:

- Determinar los parámetros de porcentaje de solvente (etanol) y temperatura de extracción del tanino de semilla de palta (*Persea americana*).
- Cuantificar el contenido de taninos de los extractos de la semilla de palta (*Persea americana*) variedad Zutano.
- Determinar la capacidad antioxidante de los extractos de la semilla de palta (*Persea americana*) variedad Zutano.

2.5. Hipótesis:

2.5.1. Hipótesis general

- La evaluación de la capacidad antioxidante de taninos de la semilla de palta (*Persea americana*) del fundo Hass valle de Moquegua depende de sus parámetros de control.

2.5.2. Hipótesis específica

- Los parámetros tales como el porcentaje de solvente (etanol) y temperatura influyen significativamente en la extracción de taninos de la semilla de palta (*Persea americana*) variedad Zutano.
- La cantidad de tanino depende de la concentración de solvente y temperatura de la extracción a partir de la semilla de palta.
- La capacidad antioxidante depende de la cantidad de taninos presentes en la semilla de palta (*Persea americana*) variedad Zutano.

III. MARCO TEÓRICO

3.1. Antecedentes de Estudio:

En la Universidad del Valle de Guatemala, Osorio (2013) analizó la capacidad antioxidante y la cantidad polifenoles totales que contiene

la semilla de aguacate criollo. La semilla (aguacate criollo) está compuesta por tres partes (tegumento, endospermo y embrión), se utilizaron el tegumento y el endospermo. Se secaron a 80 °C durante 3 horas (tegumento) y 12 horas (endospermo). Se molieron (molino Tecator). Se tamizaron en mesh 40. La humedad utilizada fue de 13% en promedio. Para medir los polifenoles totales se utilizó el espectrofotómetro. Este análisis se basó en el uso del reactivo Folin Ciocalteu, que se basa en la capacidad reductora de los polifenoles oxidados. Se tomó un gramo de aguacate, se diluyó en 9 mL de agua destilada, se agitó con un sonificador hasta que quedó bien lechoso. Se obtuvo un promedio de 312 mg/100 g de polifenoles totales (mg catecol/100 g de semilla de aguacate) y el valor de la capacidad antioxidante de la semilla varía según la variedad, para hacer este análisis se midió la limpieza de radicales libres, usando el radical Difenil picril-hidracil (DPPH). Además, se evaluó la semilla completa, tegumento y endospermo a niveles de pH de 6.8 y 4.5 y se comparó contra muestras de aguacate sin semilla agregada. Se utilizó el diseño experimental bloques completos al azar (BCA) con medidas repetidas en tiempo con arreglo factorial 2 × 3 correspondiente a acidez (Natural y pH 4.5) y partes de la semilla (tegumento, endospermo, semilla completa y sin semilla). Las variables evaluadas fueron pH, color y polifenoles totales cada dos horas, y viscosidad al inicio y al final del estudio. No hubo diferencias significativas en la cantidad de polifenoles totales a través del tiempo a pesar del cambio de coloración de las muestras. La diferencia de cantidad de polifenoles en los tegumentos y endospermo en este estudio, se debió a que la semilla de aguacate también contiene polifenoles totales en 137.12 µg/mg, ya que la semilla se le incorporó a la pulpa de forma molida. El oscurecimiento se dio en muestras a pH 6.8 mientras que las muestras acidificadas (pH 4.5) mantuvieron su color

durante el tiempo de evaluación. La viscosidad se redujo de forma similar en todos los tratamientos. No se pudo observar efecto antioxidante de las partes de la semilla de aguacate. Se requiere hacer estudios posteriores evaluando extractos de la semilla en esta y otras variedades comerciales de aguacate.

Bressani (2009) realizó una investigación sobre la obtención de datos referente a la composición química proximal, contenido de ácidos grasos, aminoácidos, minerales, polifenoles, capacidad antioxidativa, contenido nutritivo de la semilla de aguacate como un subproducto de potencial agroindustrial. La caracterización química y biológica de la semilla de aguacate se llevó a cabo en el análisis de 5 variedades y 6 muestras criollas de aguacate de diversas regiones productoras, las muestras se adquirieron en lo posible en el mismo estado de maduración. La semilla después de obtenerla del fruto se lavó con agua con cloro al 5 %, y luego con agua destilada antes de secar a 60 °C hasta peso constante. Una vez seca se separó la cáscara de la semilla haciendo fricción en la superficie de la semilla. Todas las fricciones físicas ya secas fueron molidas y sometidas a análisis químico proximal. La caracterización de la capacidad antioxidante se desarrolló en dos partes, la primera fue la cuantificación de contenido de taninos y polifenoles en las muestras de semilla y tegumento; utilizando el método de reactivo de Folin – Ciocalteu. Para la segunda parte se seleccionaron las muestras de semilla y tegumento con alto contenido de polifenoles, evaluando la capacidad antioxidante mediante el método del radical 1,1-Difenil-2-Picrilhidrazil (DPPH). La variabilidad determinada es amplia tanto para los polifenoles y taninos en variedades y muestras criollas. Los niveles de taninos entre variedades y muestras criollas son bastante parecidos, el contenido de polifenoles es mayor para las variedades con una variabilidad

entre 215 a 1028 mg/100 g. Las muestras criollas mostraron mejor capacidad antioxidante que las variedades. Una de las conclusiones que se llegó es que la semilla es fuente de alto contenido de polifenoles y capacidad antioxidante. La semilla de aguacate es sumamente rica en taninos que hace que ésta tome un color rojo al ser cortada. Estos pigmentos podrías ser extraído para evitar el pardeamiento en los alimentos u otros productos.

Chávez (2011) evaluó las propiedades antioxidantes y antimicrobianas en extractos de residuos de aguacate. Para obtener extractos a partir de los residuos de aguacate (cáscara y semilla), estos fueron sometidos a limpieza quitando la pulpa y enjuagando con agua potable. Posteriormente fueron pulverizados por separado en licuadora obteniendo un polvo fino. Se pesaron 10 g de muestra pulverizada (semilla y cáscara) y fueron sometidos a una extracción por maceración constante en 100 ml de metanol y/o acetona utilizando una relación 1:10 p/v por 3 días. Enseguida se realizó una filtración al vacío de la cual se obtuvo un volumen de aproximadamente 50 ml para cada extracto. Cada extracto debidamente identificado fue puesto en refrigeración a 4 °C hasta su concentración al 20 % v/v, la cual fue llevada a un baño maría a 45 °C por 6 horas. Los extractos obtenidos fueron evaluados para determinar su capacidad antioxidante, fenoles, flavonoides, clorofilas y carotenoides totales. se determinó el contenido de fenoles totales en los extractos metanólicos, acetónicos y polifenólicos de la semilla y cáscara de aguacate según la prueba Folin-Ciocalteu, cuyos resultados fueron 0.446 y 0.446, 0.398 y 0.266, 0.163 y 0.153 mg EAG/g en cáscara y semilla, respectivamente.. Se midió la capacidad antioxidante de los extractos metanólicos, acetónicos y polifenólicos de cáscara y semilla de aguacate por el método de DPPH, dando

como resultado 4.921 y 5.392, 11778 y 12.718, 13.562 y 13.914 μM ET/g para cáscara y semilla, respectivamente. Los resultados obtenidos nos muestran que para determinar la capacidad antioxidante resultó más eficiente la extracción polifenólica. En las pruebas fitoquímicas se obtuvo información relevante sobre la composición de los residuos de aguacate y con respecto a la capacidad antimicrobiana se observó mayor actividad en extractos de semilla.

La semilla de variedad Hass tiene una composición fitoquímica: saponinas 19.21, taninos 0.24, flavonoides 1.9, alcaloide 0.72 y fenoles 6.14, todos estos están expresados en mg/100 g de semilla, ya que estos pueden ser los que funcionan como antioxidante al tener interacción entre ellos (Arukwe et al. 2012).

Otro estudio realizado por Urraca (2015) fue establecer la capacidad antioxidantes de residuos (semilla y cáscara) de la agroindustria procesadora de *Persea americana* cultivada en Chile, variedad Hass. Se utilizaron subproductos de paltas de la variedad Hass (semillas y cascara). Las muestras fueron liofilizadas, molida y almacenada al vacío a temperatura ambiente. Las extracciones se realizaron con una razón residuo/solvente 1/20 (Metanol 100%, Metanol/Agua (75/25) y Agua 100%), 1 hora a 45° C. Los extractos recuperados fueron analizados para compuestos fenólicos totales, usando ácido gálico como patrón. Para la medición de antioxidantes se utilizaron 2 métodos: Captación del radical libre (DPPH) y el método de la capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC), usando Trolox como patrón. Los ensayos se realizaron por triplicado. Los resultados muestran que se obtiene mayor valor de Contenido de Fenoles Totales con la mezcla de solvente estudiada, que con el

resto de solventes, además de encontrarse mayores valores en extractos de cascara que en extractos de semilla. Para el caso de la capacidad antioxidante medida por el método ORAC, se observan mejores resultados para extractos desde cáscara. En el caso de la concentración equivalente al 50% de inhibición (EC_{50}), muestran valores entre los 0,072 y los 0,124 g/L equivalentes a ácido gálico según el método analizado DPPH. En conclusión, la cáscara de la palta tiene mejores propiedades antioxidantes con el método ORAC. La mezcla de metanol/agua con una razón 75M/25A, tiene una concentración mayor de compuestos fenólicos totales (CFT) que con otros solventes analizados.

Un estudio realizado por Cabrera (2015) fue determinar la actividad antioxidante y antimicrobiana del extracto etanólico de la semilla de *Persea americana* Miller variedad Hass "palta". Para obtener la semilla se retiró manualmente la cascara y la pulpa. Una vez extraída la semilla de la palta, se retiró la capa externa que la cubre; luego se lavó con agua potable, se enjuagó con agua destilada y se cortó en partes pequeñas. Para la obtención del extracto etanólico se pesaron 100 gr. de la semilla y se adicionó en un matraz Erlenmeyer de 1000 mL, luego se agregó 1000 mL de etanol y se dejó en agitación constante durante 24 horas. Este preparado tuvo una concentración del 10% p/v. Pasado este tiempo se filtró, luego el extracto obtenido se concentró en rotavapor a presión y temperatura reducida hasta sequedad. El extracto concentrado obtenido del rotavapor se colocó en una cápsula, para luego colocar en la estufa a 40 °C por 48 horas, hasta la obtención del extracto seco, se envolvió con papel de aluminio la cápsula y se almacenó en refrigeración hasta su análisis. Para la cuantificación de Polifenoles Totales se realizó por el Método de Folin-Ciocalteu y para la evalúa de la capacidad antioxidante se

usó el ensayo con DPPH. El extracto etanólico de semilla de *Persea americana* Miller var. Hass "palta" 0,1 mg/mL posee $1665,2 \pm 88,3$ mg EAG/gES de polifenoles totales; mientras que en 1 mg/mL posee $2274,2 \pm 58,4$ mg EAG/gES de polifenoles totales; lo que indican que cuanto mayor sea la concentración del extracto, mayor será la concentración de polifenoles totales. El ensayo del 1,1-Difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH), que evalúa la capacidad atrapadora de radicales libres, muestra que el extracto etanólico de 1 mg/mL a una concentración de 20 - 100 μ L de extracto etanólico, presenta su máximo poder antioxidante, siendo incluso semejante a la actividad atrapadora de radicales libres del Trolox, utilizado como estándar.

En un estudio realizado por Jurado et al., (2016) se evaluó el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante de los frutos de aguaymanto provenientes de Huánuco, Junín, Ancash y Cajamarca. Los frutos seleccionados fueron lavados con agua destilada y licuados durante cinco minutos, poniendo en maceración 850 g de muestra en 850 ml de etanol al 96% en un frasco de vidrio ámbar y se agitaron durante 15 minutos para luego almacenarlos a temperatura ambiente en la oscuridad durante siete días. Posteriormente, se filtraron con papel filtro Whatman 40 y se concentraron en una estufa a 40 °C por tres días. Para la determinación de los compuestos fenólicos se utilizó la metodología de Folin – Ciocalteu y preparando una curva de calibración de ácido gálico cuyo rango de concentración fue de 1-7.5 μ g/mL. Las absorbancias fueron medidas a 760 nm en un espectrofotómetro y el contenido de compuestos fenólicos totales fueron expresados en mg de ácido gálico/g de extracto etanólico. La evaluación de la capacidad antioxidante se realizó mediante el método de 1,1-difenil-2-picrilhidrazil (DPPH), las mezclas fueron leídas a una absorbancia de

517 nm. Los resultados se expresaron como valores de porcentaje de capacidad antioxidante y de concentración media inhibitoria (IC_{50}). El fruto procedente de Huánuco presentó mayor contenido de compuestos fenólicos expresados como $149,3 \pm 1,62$ mg/Eq de ácido gálico/100 g de fruto. Asimismo, mayor capacidad antioxidante obteniendo como concentración inhibitoria IC_{50} 1,86 mg/mL, comparado con los frutos provenientes de Junín, Ancash y Cajamarca, concluyen que el etanol es un buen solvente para la extracción de compuestos fenólicos.

Una alternativa que se le da a las semillas de diferentes plantas y frutos es la extracción de taninos para la aplicación como curtiente vegetal, Ali (2012) en su investigación extrajo taninos a partir del polvo de vaina de tara, ésta materia prima en su cáscara presenta un alto contenido de taninos, cuyas muestras fueron obtenidas del Cuzco teniendo en cuenta que fueran frutos maduros, para seleccionarlos de acuerdo a la homogeneidad de color y ausencia de defectos superficiales, para deshidratarlos a temperatura ambiente y a la intemperie del sol por un periodo de 5 días. Luego, se procedió al despepado, la cáscara fue molida y tamizada obteniendo así, polvo de tara. Para la extracción de los taninos se utilizó el análisis de ácido gálico, utilizando tres tipos de solventes metanol al 90 %, etanol al 90% y acetona al 85 % en cada lixiviación (90 % de agua y 10 % de solvente), siguiendo las mismas condiciones de 5 g de muestra diluidas en 10 ml de solvente durante 20 minutos a una temperatura de 50 °C. Al evaluar el proceso de lixiviación con tres solventes diferentes como son el metanol/agua, etanol/agua y acetona/agua, se halló que el rendimiento en peso de taninos (ácido gálico) durante el proceso de lixiviación, es mayor utilizando como solvente el

etanol/agua obteniéndose un rendimiento promedio de 62.4% de taninos respecto al peso del material de estudio inicial.

En un estudio realizado por Gutierrez et al., (2008) midieron el contenido de fenoles y determinaron la actividad antioxidante del extracto fenólico de 14 melazas usadas como forraje. Se pesó 10 g de material seco y pulverizado de cada planta y se maceró en metanol acuoso al 80 % en un frasco ámbar a temperatura ambiente durante 24 horas agitándose de vez en cuando, enseguida se filtró y el residuo de esta filtración se extrajo dos veces más de la misma manera. Luego, se reunieron los extractos y se evaporó la mayor parte del disolvente sin calentar más allá de 40 °C. El producto de la evaporación se liofilizó para obtener de esta manera el extracto completamente seco el cual se pesó y se guardó en refrigeración hasta su uso para los siguientes análisis. Para la determinación de la actividad antioxidante, equivalente a la capacidad de capturar radicales libres, de cada planta, se prepararon 6 concentraciones diferentes de cada extracto comprendidas entre 1,50 mmol/L y 6,0 mmol/L de fenoles en una disolución al 80% de metanol en agua. Los fenoles totales se determinan mediante el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu usando el ácido gálico como material de referencia. La capacidad para capturar radicales libres de los extractos fue determinada utilizando como referencia la disolución de 1,1-Difenil-2-picrilhidrazil (DPPH). El contenido de fenoles en las plantas estudiadas en este trabajo varió desde 21,88 mg de ácido gálico/g hasta 125,82 mg de ácido gálico/g. De los resultados obtenidos se observa una clara relación entre el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante de los extractos de las plantas estudiadas, como era de esperarse. En lo general una planta con mayor contenido de compuestos fenólicos totales presenta

una mayor actividad antioxidante, sin embargo se puede observar que algunas plantas presentan una actividad antioxidante superior a lo esperado o por el contrario, una baja actividad que no se relaciona con el contenido de compuestos fenólicos. Esto es indicativo de que la capacidad antioxidante de una planta se debe al efecto combinado de diversos factores, como puede ser la presencia de otro tipo de metabolitos antioxidantes, o bien, una actividad pro-oxidativa que se contrapone al potencial antioxidante.

3.2. Bases teóricas

3.2.1. Capacidad Antioxidante:

A partir del oxígeno molecular (O_2), forman moléculas más reactivas conocidas como Especies Reactivas de Oxígeno (EROs), como el superóxido (O_2^-), el hidroxilo (OH) y el peróxido de hidrógeno, así como los oxiradicales (O_2 singlete y doblete). Debido a su función primordial de producción de energía química, la mitocondria es considerada la mayor productora de EROs (Macedo, 2012).

Un antioxidante es aquella sustancia que presenta bajas concentraciones con respecto a la de un sustrato oxidable (biomolécula) que retarda o previene su oxidación. Los antioxidantes que se encuentran naturalmente en el organismo y en ciertos alimentos pueden bloquear parte de este daño debido a que estabilizan los radicales libres. Son sustancias que tienen la capacidad de inhibir la oxidación causada por los radicales libres, actuando algunos a nivel intracelular y otros en la membrana de las células, siempre en conjunto para proteger a los diferentes órganos y sistemas (Federacioncafe, 2012). Existen diferentes tipos de oxidantes:

- a) **Antioxidantes endógenos:** Mecanismos enzimáticos del organismo (superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa, glutatión y la coenzima Q-). Algunas enzimas necesitan cofactores metálicos como selenio, cobre, zinc y magnesio para poder realizar el mecanismo de protección celular.
- b) **Antioxidantes exógenos:** son introducidos por la dieta y se depositan en las membranas celulares impidiendo la lipoperoxidación (vitaminas E y C y el caroteno).

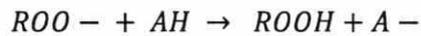
Según Gonzales (2014) que los radicales libres son moléculas inestables y muy reactivas. Para conseguir la estabilidad modifican a moléculas de su alrededor provocando la aparición de nuevos radicales, por lo que se crea una reacción en cadena que puede afectar a muchas células y puede ser indefinida si los antioxidantes no intervienen. Los radicales libres producen daño a diferentes niveles en la célula dentro de los cuales se pueden destacar:

- Atacan a los lípidos y proteínas de la membrana celular por lo que la célula no puede realizar sus funciones vitales (transporte de nutrientes, eliminación de desechos, división celular, entre otros). El radical superóxido, O_2 , que se encuentra normalmente en el metabolismo provoca una reacción en cadena de la lipoperoxidación de los ácidos grasos de los fosfolípidos de la membrana celular.
- Atacan al ADN impidiendo que tenga lugar la replicación celular y contribuyendo al envejecimiento celular).

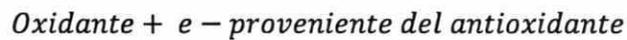
Orjuela (2015) indica que la capacidad antioxidante no puede ser medida directamente, pero puede determinarse por los efectos del compuesto antioxidante en un proceso de oxidación controlado. La

gran mayoría de los ensayos para determinar de capacidad antioxidante pueden ser divididos en dos categorías:

- Ensayos basados en la reacción por transferencia de átomos de hidrógeno (HAT).



- Ensayos basados en la reacción por transferencia de electrones (ET).

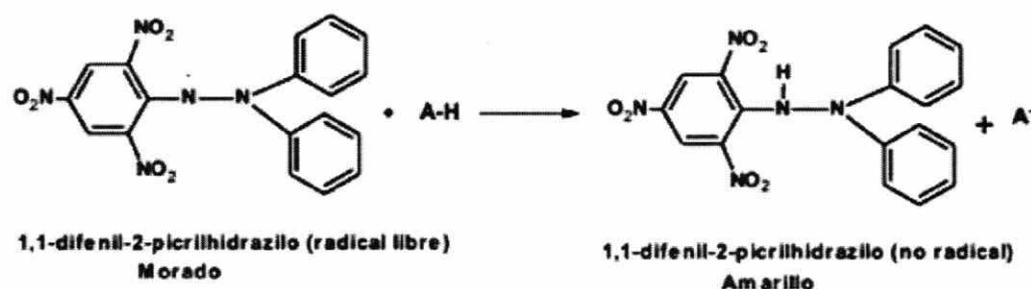


Para determinar los efectos antioxidantes de las fracciones de las especies obtenidas a partir del extracto etanólico se usan diferentes métodos dentro de los que se destacan dos métodos espectrofotométricos los cuales son, DPPH y ABTS+.

A. Ensayo del DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo)

La molécula 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH) es un radical libre estable debido a la deslocalización de un electrón desapareado sobre la molécula, por esto la molécula no se dimeriza. La deslocalización del electrón también intensifica el color violeta intenso típico del radical, el cual absorbe a 517 nm. Cuando la solución de DPPH reacciona con el sustrato antioxidante que puede donar un átomo de hidrógeno, el color violeta se desvanece como se observa en la Figura 1. El cambio de color es monitoreado espectrofotométricamente y es utilizado para la determinación de los parámetros para las propiedades antioxidantes (Tovar del Rio, 2013).

Figura N° 01: Estructura del DPPH antes y después de la reacción con el antioxidante

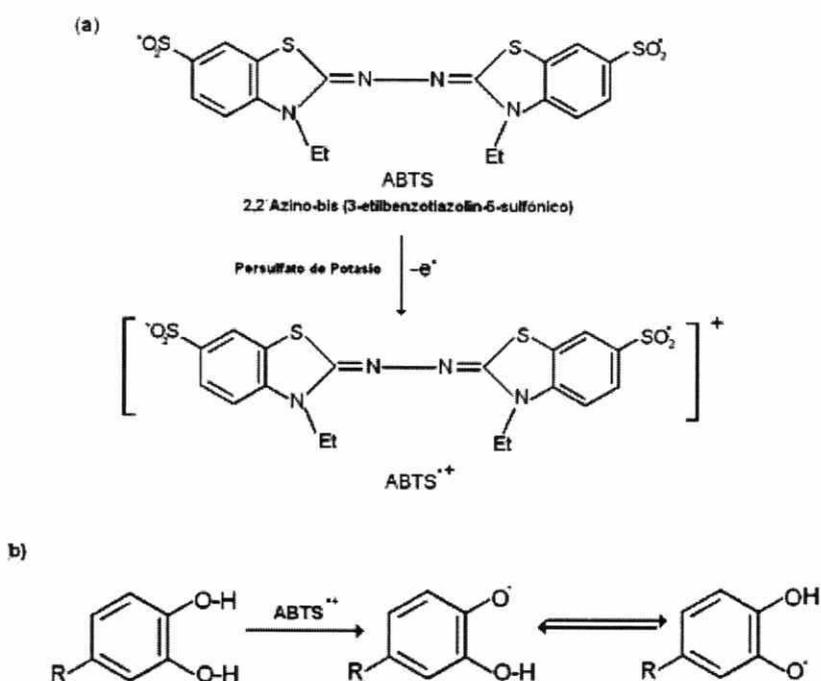


B. Ensayo ABTS+ (ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)

El radical ABTS+ se obtiene tras la reacción de ABTS+ (7 mM) con persulfato potásico (2.45 mM, concentración final) incubados a temperatura ambiente ($\pm 25^\circ \text{C}$) y en la oscuridad durante 16 h. Una vez formado el radical ABTS+ se diluye con etanol hasta obtener un valor de absorbancia comprendido entre 0.70 ($\pm 0,1$) a 754 nm (longitud de onda de máxima absorción). Las muestras filtradas se diluyen con etanol hasta que se produce una inhibición del 20 al 80%, en comparación con la absorbancia del blanco, tras añadir 20 μL de la muestra. A 980 μL de dilución del radical ABTS+ así generado se le determina la A_{754} a 30°C , se añade 20 μL de la muestra y se mide de nuevo la A_{754} pasado 1 minuto. La absorbancia se mide de forma continua transcurridos 7 minutos. El antioxidante sintético de referencia, Trolox, se ensaya a una concentración de 0-15 μM (concentración final) en etanol, en las mismas condiciones, lo que se hace también con ácido ascórbico (0-20 mg/100 mL). Los

resultados se expresan en TEAC (actividad antioxidante equivalente a Trolox). La Figura N° 02 muestra la estructura del ABTS+ antes y después de la reacción con el antioxidante (Pellegrini, 1999).

Figura N° 02: (a) Dormación del radical ABTS (b) reacción del catión radical ABTS con compuestos fenólicos



3.2.2. Compuestos polifenólicos:

Muchos aún prefieren el término taninos vegetales, simplemente debido a su falta de precisión. Sin embargo, terminológica y científicamente, se recomienda el término "polifenoles vegetales" como descriptor para estos metabolitos secundarios de plantas

superiores, si se quieren interpretar seriamente sus diversas características y aplicaciones a nivel molecular (Isaza, 2007).

Hace más de cien años atrás, Trimble comentó: “los taninos ocupan una parte de la línea fronteriza en ciencias entre la botánica y la química”. Aunque la importancia de los taninos vegetales en diversas disciplinas científicas ha sido reconocida, no es fácil dar una definición firme. Probablemente la definición más simple, concisa y aceptable sigue siendo la de Bate-Smith y Swain (1962): “Compuestos fenólicos solubles en agua, con pesos moleculares entre 500 y 3000, que además de dar las reacciones fenólicas usuales, tienen propiedades especiales tales como la habilidad de precipitar alcaloides, gelatina y otras proteínas.”

Dentro de los fenoles, los antocianos son responsables esenciales del color rojo, mientras los taninos se asocian con sensaciones gustativas, unas veces agradables relacionado a su estructura y concentración y otras desagradables como amargo, aspereza, sequedad, astringencia (Muñoz, A et al., 2007). Los taninos que han sido encontrados en una variedad de plantas que se utilizan como alimentos y forraje, incluyendo granos tales como sorgo, frijoles secos, arvejas y otras leguminosas. Frutas como manzanas, bananas, moras, uvas, duraznos, peras y ciruelas también contienen una cantidad apreciable de taninos (Fernandez, 2008). Los taninos son compuestos polifenólicos de estructura química diversa con la propiedad de ser astringentes, es decir precipitan las proteínas y su capacidad antioxidante de curtir la piel.

3.2.2.1. Propiedades estructurales y clasificación

Según Isaza (2007) ahora es posible describir en términos amplios la naturaleza de los polifenoles vegetales. Son metabolitos secundarios ampliamente distribuidos en varios sectores del reino de las plantas superiores. Se distinguen por las siguientes cinco características generales: a) solubilidad en agua, b) masa molecular entre 500 y 3000-5000, c) estructura y carácter polifenólico (12-16 grupos fenólicos y 5-7 anillos aromáticos por cada 1000 unidades de masa molecular relativa), d) complejación intermolecular (astringencia) y e) características estructurales (dos motivos estructurales mayores, proantocianidinas o taninos condensados y taninos hidrolizables, más un tercer grupo minoritario, los florotaninos. Los tres grupos estructurales se producen por tres vías biosintéticas diferentes. Los taninos hidrolizables se producen por una derivación de la vía del ácido shikímico que conduce a la producción de ácido gálico (unidad monomérica fundamental), los florotaninos derivan por la vía de la malonilCoA que produce el bloque de construcción floroglucinol; mientras los taninos condensados derivan por biosíntesis mixta de las dos rutas anteriores que producen flavan-3,4-dioles (unidades monoméricas) que luego polimerizan por condensación.

La naturaleza química de los taninos condensados ha permitido un mayor monitoreo de su presencia en alimentos, puesto que para su determinación todos pueden ser degradados a antocianidinas (flavonoides) de fácil identificación por HPLC. Además existen métodos muy sencillos y de fácil aplicación para la determinación de taninos condensados por espectroscopia, como el método de la vainillina (Naczki y Shahidi, 2004). Sin

embargo, para los taninos hidrolizables la detección y cuantificación es más compleja. La estructura química de estos taninos contiene distintas porciones de glucosa, poliol y esterificaciones cruzadas diversas; es debido a esta complejidad que los métodos de determinación suelen presentar inconvenientes. El método preferente para su determinación es el ensayo de yodato de potasio (KIO_3), aun con ciertos inconvenientes, como la generación de cromóforos únicos con propiedades espectrales distintas durante la reacción, lo que origina una determinación errónea. Además, suele interferir la precipitación de sólidos durante la reacción debido a la presencia de mezclas de taninos (hidrolizables y condensados) en muestras vegetales (Hartzfeld et al., 2002). Es por esto que actualmente no existe un método ampliamente aceptado para cuantificar taninos hidrolizables de manera simple, eficaz y sistemática en un gran número de muestras.

3.2.2.2. Efectos biológicos positivos de taninos condensados e hidrolizables

Ambos tipos de taninos, al ser compuestos polifenólicos, han sido tema de múltiples revisiones científicas, destacando su propiedad antioxidante *in vitro* e *in vivo*. Sin embargo, los taninos hidrolizables, aunque se encuentran distribuidos ampliamente en plantas y son un parámetro muy importante de calidad de frutos, han recibido menos atención en lo que se refiere a su impacto a la salud. Esto posiblemente es debido a las dificultades en su identificación, aislamiento, purificación y cuantificación (Monagas et al., 2010). Debido a esto, es más fácil encontrar referencias que señalan mayor actividad biológica para los taninos condensados (Beecher, 2003).

a) **Taninos hidrolizables:** El más estudiado es pentagalolil glucosa (PGG), al que se le reconoce cierta actividad anti cancerígena, antidiabética y antioxidante en modelos experimentales in vitro. La actividad anti cancerígena in vivo de la PGG se ha probado para cáncer de próstata y pulmón. En ambos padecimientos, el suministro de PGG en dosis de 4 a 25 mg/kg de rata inhibe factores de crecimiento tumoral y vascular. No solo impide el crecimiento de tumores, sino también disminuye su tamaño, impidiendo procesos de angiogénesis (crecimiento vascular muy común en metástasis, y la supresión de la expresión de oncoproteínas. En cuanto a su actividad como antioxidante, en una concentración de 100 µg/mL, la PGG fue capaz de neutralizar in vitro especies altamente reactivas, como el superóxido y radical hidroxilo, así como disminuir la peroxidación de lípidos de membranas celulares (Zhang et al., 2009). Cabe mencionar que a concentraciones mayores, de 200-400 µg/mL, no se observa el mismo efecto. En este contexto, se observa una importante acción biológica del tanino hidrolizable PGG que puede representar una actividad alta a muy bajas concentraciones. Es importante considerar, además, que los efectos fueron observados in vitro, por lo que, aunque estos estudios proporcionan una buena idea de su mecanismo de acción, muchas veces no reflejan del todo su actividad biológica

b) **Taninos condensados:** Los taninos condensados han sido más estudiados respecto a su actividad antioxidante, además de que se ha reportado que poseen beneficios a la

salud por su actividad antibacterial o bacteriostático, anticarcinogénica, inhibidora de la peroxidación lipídica, y de la agregación plaquetaria relacionada a la formación de trombos en sistema circulatorio (Fine, 2000). In vivo se ha observado el efecto bacteriostático del jugo de arándano, atribuido a los taninos condensados presentes. El jugo de arándano no solo mantiene saludable el tracto urinario por la acidificación del medio, sino además las proantocianidinas presentes en el jugo exhiben actividad antibacterial, impidiendo la adhesión de *E. coli* a superficies celulares del tracto urinario (Prior et al., 2005).

El estudio de la actividad antioxidante de taninos condensados in vitro e in vivo, demuestra que son secuestradores efectivos de radicales libres, que inhiben la oxidación de tejidos mejor que la vitamina C, vitamina E y β caroteno. In vitro, se ha demostrado que los taninos condensados tienen una preferencia por neutralizar el radical libre hidroxilo. Así mismo, se demostró que tienen la capacidad de actuar como inhibidores no competitivos de la enzima xantina oxidasa, una de las mayores generadoras de radicales libres en el metabolismo celular. Por último, la actividad antioxidante de taninos condensados tiene la capacidad de evitar la oxidación de lipoproteínas de baja densidad (LDL) y por ello inhibe la formación de trombosis en personas con padecimientos cardiacos como la aterosclerosis. Otros estudios sugieren que la administración de extracto de semilla de uva tiene efecto hipocolesterolemia en modelos animales, específicamente disminuye las concentraciones de LDL en plasma y aumenta las lipoproteínas de alta densidad (HDL) conocidas como «colesterol bueno» (Fine, 2000).

3.2.2.3. Métodos de evaluación de compuestos polifenólicos

El contenido de polifenoles totales (PFT) es determinado a través de un ensayo que emplea el reactivo de Folin-Ciocalteu descrita por Singleton et al. (1965). Todos los métodos hasta ahora publicados que emplean dicho reactivo, miden la capacidad que tienen los polifenoles para reducir el Mo (VI) a Mo (V) presente en el complejo molibdotungstato que caracteriza el reactivo de F-C. Como resultado de tal reducción, el reactivo, de color amarillo, adquiere un intenso color azul, el cual es cuantificado espectrofotométricamente a 765 nm. Para calcular el contenido total de fenoles se utiliza una curva de calibrado con la elección de un determinado compuesto fenólico como estándar. Los resultados son expresados en términos de equivalentes molares del compuesto fenólico (mg EAG/g ms), idealmente éste debiera ser abundante en la muestra analizada. El Ácido Gálico o Ácido 3, 4,5-Trihidroxibenzóico ($C_7H_6O_5$), ha sido extensamente usado como estándar en la determinación de compuestos fenólicos de diversas muestras de origen vegetal.

3.2.3. Del almacenamiento en la estabilidad de polifenoles totales:

Los compuestos polifenólicos poseen la capacidad de unión con proteínas gracias a su alto grado de hidroxilación, esta interacción depende mucho de las características de proteínas y fenoles, y de condiciones de reacción (pH, temperatura y tiempo). Debido a que los fenoles son un excelente donador de hidrógeno posee la habilidad de formar fuertes puentes de

hidrógeno con la proteína a través del grupo hidroxilo. Las proteínas se pueden precipitar por cambios en el pH (Macarulla et al., 1993).

3.3. Definiciones de términos

3.3.1. Capacidad Antioxidante: Los antioxidantes son compuestos los cuales pueden inhibir o retardar la oxidación de otras moléculas inhibiendo la iniciación y/o propagación de las reacciones en cadena de los radicales libres. Los antioxidantes se dividen en dos categorías principalmente que son: sintéticos y naturales. En general los antioxidantes sintéticos son compuestos de estructuras fenólicas con varios grados de sustitución alquílica, mientras que los antioxidantes naturales pueden ser: compuestos fenólicos (tocoferoles, flavonoides y ácidos fenólicos), compuestos nitrogenados (alcaloides, derivados de la clorofila, aminoácidos y aminas) según Velioglu et al., (1998).

3.3.2. Compuestos fenólicos o polifenoles o taninos: Constituyen un amplio grupo de sustancias químicas, con diferentes estructuras y propiedades químicas y actividad biológica, englobando más de 8.000 compuestos distintos. Químicamente, los compuestos fenólicos son sustancias que poseen un anillo aromático, con uno o más grupos hidróxidos. Como antioxidantes, los polifenoles pueden proteger las células contra el daño oxidativo y por lo tanto limitar el riesgo de varias enfermedades degenerativas asociadas al estrés oxidativo causado por los radicales libres. El estrés oxidativo se define comúnmente como el desequilibrio entre las especies

oxidantes y reductoras a nivel celular en un organismo (Muñoz et al., 2007). Es un compuesto que se oxida al contacto con el aire, es inodoro y de sabor agrio, soluble en agua, alcohol y acetona, reacciona con el cloruro férrico y otras sales; es combustible con un punto de inflamación de 199 °C, un temperatura de auto ignición de 528.5 °C; poco tóxico por ingestión o inhalación (Rodríguez, 2010).

3.3.3. **Reactivo Folin-Ciocalteu:** Se basa en la capacidad de los fenoles para reaccionar con agentes oxidantes. El reactivo de Folin-Ciocalteu contiene molibdato y tungstato sódico, que reaccionan con cualquier tipo de fenol, formando complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico. La transferencia de electrones a pH básico reduce los complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico en óxidos, cromógenos de color azul intenso, de tungsteno (W_8O_{23}) y molibdeno (Mo_8O), siendo proporcional este color al número de grupos hidroxilo de la molécula (Gutiérrez et al., 2008).

3.3.4. **Ácido gálico:** Es un ácido orgánico que se encuentra en alimentos como los arándanos (blueberries), manzanas, semillas de lino, hojas de té, corteza de roble, nueces y berros (watercress). Es un ácido fenólico natural que en virtud de su alta solubilidad en agua, bajo costo y amplia disponibilidad comercial, permite su empleo como estándar en (las curvas de comparación de) del ensayo de Polifenoles totales (PFT). El contenido de PFT se expresa como mg de Equivalentes de Acido Gálico (EAG) por por unidad de peso o de volumen de la muestra analizada (generalmente, por 100 g de peso fresco o 100 mL) (Soto, 2012).

3.3.5. **Reactivo 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH):** Se caracteriza por poseer un electrón desapareado que es un radical libre, estabilizado por resonancia (Gutiérrez et al., 2008). El radical DPPH tiene un electrón desapareado lo que le otorga una coloración violeta y cuando entra en contacto con una sustancia que puede donar un átomo de hidrógeno u otra especie de radical, se reduce a DPPH-H con la consiguiente pérdida de color, y disminución de la absorbancia (Brand-Williams y cols., 1995).

3.3.6. **Radical libre:** Un radical libre es cualesquier especie (átomo, molécula o ión) que contenga a lo menos un electrón desapareado en su orbital más externo, y que sea a su vez capaz de existir en forma independiente (Galleano et al., 2010).

IV. Marco metodológico

4.1. Lugar de ejecución

El proyecto se ejecutará en la ciudad de Moquegua, en las instalaciones de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional de Moquegua.

4.2. Tipo y diseño

El siguiente trabajo tiene como finalidad ser de investigación experimental porque se confrontará la teoría con la realidad, el método de manipulación de datos es cuantitativo por las pruebas estadísticas que se realizarán. El diseño que se aplica en este trabajo es experimental, ya que la manipulación de una o más variables nos describirá de qué modo o por qué causa se produce tal acontecimiento.

4.3. Nivel de investigación

El nivel de investigación será explicativo y comparativo para la Evaluación de la capacidad antioxidante de los taninos la semilla de palta (*persea americana*) variedad Zutano.

4.4. Operacionalización de variables

4.4.1. Variables independientes

Tabla 1: Variables Independientes

VARIABLES INDEPENDIENTES	DEFINICIÓN DE VARIABLES	
	FACTOR A MEDIR	INDICADORES
Temperatura	Temperatura	50, 70 °C
Porcentaje de solvente (etanol)	P/P	30, 60, 90 %
Contenido de taninos	Cantidad de polifenoles totales	mg de ácido gálico/g de materia seca

4.4.2. Variables dependientes:

Tabla 2: Variables dependientes

VARIABLES DEPENDIENTES	DEFINICIÓN DE VARIABLES	
	FACTOR A MEDIR	INDICADORES
Capacidad Antioxidante	Concentración de capacidad antioxidante	mg/Eq de ácido gálico/100 g de materia seca

4.5. Materiales y equipos

4.5.1. Materia prima

- Semilla de palta variedad Zutano

4.5.2. Materiales

- 02 Varillas de vidrio marca PIREX de 30 cm
- 03 Vaso precipitado de vidrio 250 ml marca PIREX
- 02 Vaso precipitado de vidrio 100 ml marca PIREX
- 04 Vaso precipitado de vidrio 50 ml marca Pirex
- 03 Vaso precipitado de vidrio 25 ml marca Pirex
- 02 Vaso precipitado de vidrio 10 ml marca Pirex
- 01 Gradilla para tubos de 50 ml
- 01 Piceta de 500 ml
- 04 Frascos de vidrio boca ancha con tapa rosca 1 L marca Pirex
- 01 Pera de goma
- 01 Pipeta graduada de vidrio 1 ml
- 01 Pipeta graduada de vidrio 5 ml
- 16 Tubos de centrifuga 50 ml
- Jeringas descartables
- Papel aluminio
- Mesa Acero inoxidable

4.5.3. Insumos y reactivos

- Alcohol etílico absoluto 99.8%
- Agua destilada
- Reactivo Folin – Ciocalteu al 1 N
- Carbonato de sodio al 10 %
- Reactivo ácido gálico
- Reactivo DPPH
- Metanol
- Reactivo Trolox

4.5.4. Equipos

- Centrífuga de mesa digital marca Centurion, modelo C 2004
- Agitador magnético marca Dragonlab, modelo M5-PB
- Barra magnética
- Termómetro digital marca BOECO, capacidad de medición de -10 a 150 °C
- Balanza analítica marca Radwag WTC 2000, capacidad de 2000 g/0.01 g, con 4 dígitos de lectura.
- Refrigeradora marca Indurama
- Molino de granos casero
- Rayador casero
- Espectrofotómetro UV/VIS marca PerkinElmer, modelo Lambda 650

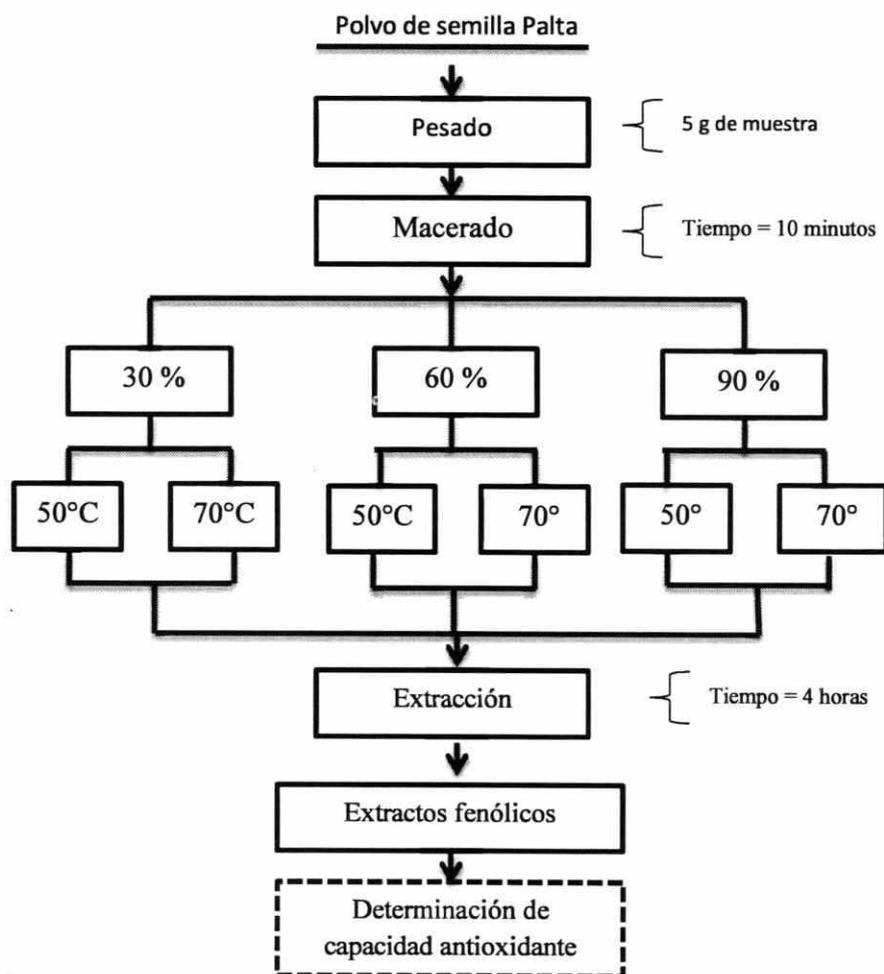
4.6. Población y/o muestra de estudio

La población en estudio será 2 asociaciones que agrupan 35 productores de palta que conforman el "Fundo Hass" del valle de Moquegua. Región de Moquegua.

4.7. Metodología experimental o técnicas e instrumentos

El siguiente flujograma detalla el proceso del presente trabajo de investigación:

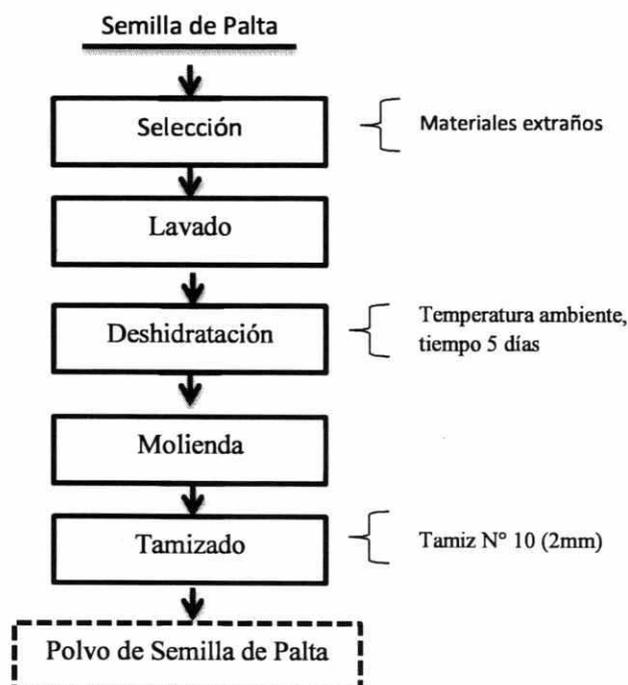
Figura N° 03: Metodología experimental del trabajo de investigación



a) Obtención de polvo de semilla de palta

Para realizar la obtención la harina de semilla de palta, la muestra será sometida a limpieza, se quitará los restos de pulpa y se enjuagará con agua potable, se deshidratará a temperatura ambiente para molerla y obtener así un polvo fino, tal como se muestra en la figura N° 04.

Figura N° 04: Proceso de obtención de polvo de semilla de palta



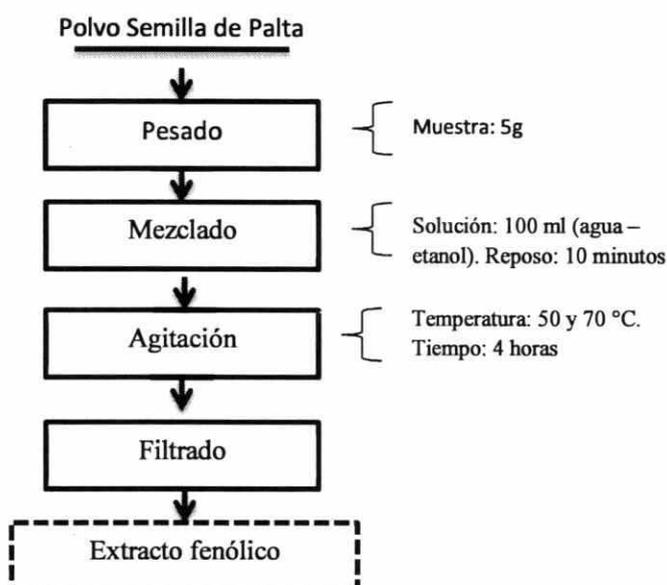
- **Selecccionado.-** Se separarán las semillas del fruto entero y de los materiales extraños y defectuosos.
- **Lavado:** Con abundante agua limpia quitando los restos de pulpa impregnados en la semilla.
- **Deshidratado.-** Se tenderá sobre taburetes cubiertos con yute, sobre este se extenderá una cama con el fruto. El deshidratado se realizará a temperatura ambiente, por un periodo de 5 días.
- **Molienda.-** Las semillas se rayaran con el objetivo de disminuir su tamaño, dejándolo secar por 3 días. Luego, se utilizará un molino de granos reduciendo el tamaño a polvo, se recolectará en bolsas transparentes de polipropileno de alta densidad de 1 kg.

- **Tamizado.**- Con ayuda de un tamiz de malla N° 10 (2 mm) se tomará el producto que pasará por éste tamiz. El almacenamiento se realizará en bolsas de polipropileno de 50 g en un ambiente seco, temperatura ambiente y alejada de la luz solar.

b) Obtención de extractos fenólicos

Para la obtención de extractos de fenoles se realizará una extracción por agitación siguiendo el flujograma de la Figura N° 05.

Figura N° 05: proceso de obtención de extracto fenólicos



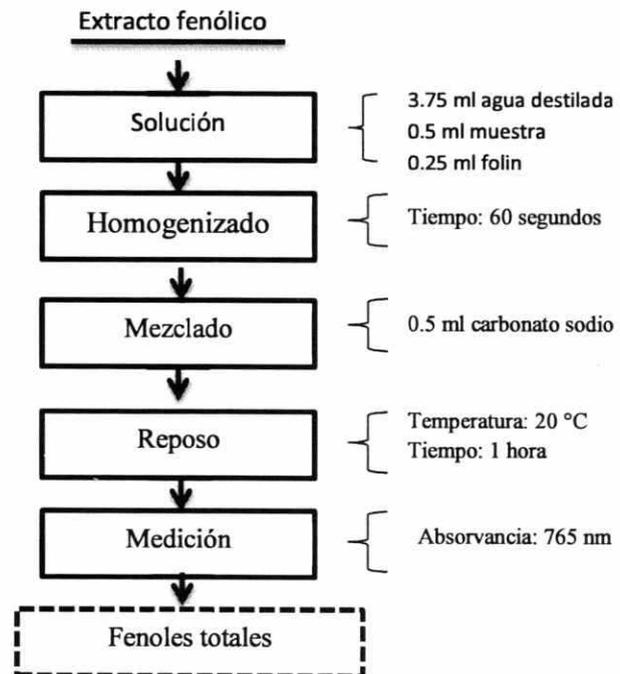
- **Pesado:** En un vaso precipitado de 250 mL se pesará 5 g de muestra de semilla molida.
- **Mezclado:** Se adicionará 100 ml de solución (agua – etanol) en distintas concentraciones de solvente (30, 60 y 90 % de etanol), la mezcla se dejará reposar por 10 minutos.

- **Agitación:** Se realizará durante 4 horas a dos temperaturas de 50 y 70 °C en un agitador magnético con control de temperatura.
- **Filtrado:** Se realizará una filtración para cada extracto y deberá ser debidamente rotulado y almacenado en frascos de color ámbar; almacenado en refrigeración a una temperatura de 4 °C para concentrar su volumen.

c) Cuantificación de obtención de taninos expresados en fenoles totales

Para el presente proyecto se aplicará la metodología de Folin - Ciocalteu descrito por Singleton y Rossi (1965), que se basa en la oxidación en medio básico de los grupos hidroxilos de los fenoles por el reactivo de Folin -Ciocalteu; siguiendo el flujograma de la Figura N° 06.

Figura N° 06: Obtención de taninos expresados en fenoles totales

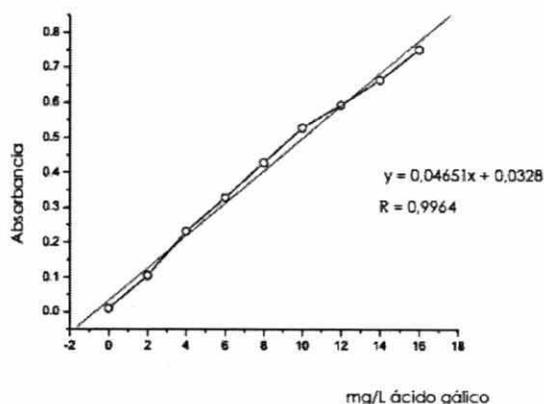


- **Solución:** En un tubo de ensayo de vidrio con tapa, previamente envuelto en papel aluminio y rotulado, se añadirá 3.75 mL de agua destilada, luego se adicionará 0.5 mL de la muestra que contiene el compuesto fenólico (estándar o extracto), después se agregará 0.25 mL de reactivo F-C diluido con agua destilada en proporción 1/1 p/p (reactivo/agua).
- **Homogenizado:** Posteriormente se tapan los tubos, se homogenizarán en agitador.
- **Mezclado:** Luego se adicionará 0.5 mL de una solución de carbonato de sodio al 10 % p/v. Se agitará nuevamente.
- **Reposo:** Una vez finalizado se dejará reaccionar a temperatura ambiente (20 °C) durante 1 hora, (se realizará el blanco mediante el mismo procedimiento, reemplazando la

muestra por el solvente, en este caso agua destilada), transcurrido el tiempo requerido.

- **Medición:** La absorbancia de las muestras serán medida a 765 nm. Los resultados para el contenido de polifenoles totales se expresan como equivalentes de ácido gálico (mg GAE)/kg frente a una curva de calibración de ácido gálico, la cual se prepara diluyendo esta solución con agua destilada, en concentraciones entre 0.1 y 0.01 mg/ml. Para el cálculo se utilizará la ecuación lineal $y = mx + b$ como se indica en la figura N° 07.

Figura N° 07: Ejemplo de recta de calibración de ácido gálico

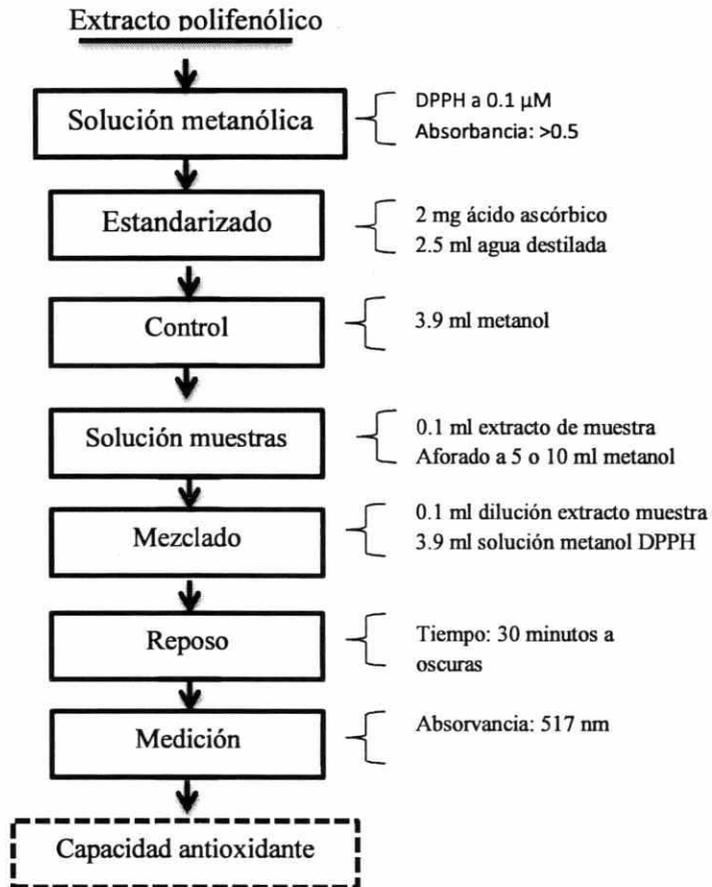


Para ello hay que sustituir el valor de la absorbancia obtenida para la muestra de extracto en la ecuación de la recta de calibrado (valor de la ordenada, "y") y despejar "x" que corresponde a la concentración de ácido gálico en el extracto.

d) Determinación de capacidad antioxidante

Para la evaluación de la capacidad antioxidante se aplicará el protocolo de DPPH descrito por Brand-Williams et al. (1995), la cual deberá expresarse como mol de antioxidante/mol de DPPH. Siguiendo el flujograma de la figura N° 08:

Figura N° 08: Determinación de capacidad antioxidante



- **Solución metanólica de DPPH:** Preparar una solución de DPPH a 0.1 μ M, aforando con metanol y proteger de la luz. Esta solución deberá ser fresca, pudiendo utilizar sólo si su Absorbancia es mayor a 0.5.
- **Estandarizado:** Pesar 2 mg de ácido ascórbico que serán disueltos en 2.5 mL de agua destilada. Entonces la concentración de la solución será 800 μ g/mL. Luego estas diluciones serán llevadas a varias concentraciones de 25, 50, 100, 200 y 400 μ g/mL.

- **Control:** En un tubo agregar una alícuota 3,9 mL de metanol (blanco de la dilución). En un tubo de ensayo, agregar 3,9 ml de la solución metanólica de DPPH (control negativo) (por triplicado)
- **Soluciones de muestras:** Preparar 5 diluciones metanólicas de la muestra (extracto de polifenoles) a distintas concentraciones, en matraz volumétrico de 5 o 10 ml, aforando con metanol.
- **Mezclado:**
 - Tomar una alícuota de 0.1 ml de cada dilución de los extractos de la muestra y agregarla a un tubo de ensayo (en triplicado) (15 tubos en total)
 - Agregar 3.9 ml de la solución metanólica de DPPH a cada tubo.
 - Agitar cada uno de los tubos y esperar 30 minutos en condiciones protegidas de la luz para completar la reacción.
- **Medición:** Medir la absorbancia en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 517 nm.

Cálculos

El porcentaje de inhibición (capacidad secuestradora de radicales libres) para cada concentración de muestra, se determina empleando la siguiente formula:

$$\% \text{Inhibición} = \left(1 - \frac{A_c}{A_b}\right) \times 100$$

Donde:

A_c = Absorbancia de las muestras (promedio del triplicado) a 517 nm

A_b = Absorbancia del control a 517 nm

Con el porcentaje de inhibición obtenida para cada concentración de muestra se debe realizar una regresión lineal, donde la

variable independiente es la concentración de muestra y la dependiente el % de inhibición de DPPH, obteniendo la siguiente ecuación:

$$\% \text{ inhibición} = mC + n$$

Donde el % de inhibición a la concentración C de muestra, y m y n son los coeficientes determinados en la regresión lineal.

Con la ecuación anterior, se determina el factor EC50, cantidad de antioxidante necesario para disminuir en un 50% la cantidad inicial del radical DPPH; reemplazando el % de decoloración por 50%:

$$IC_{50} = \frac{50 - n}{m}$$

La actividad antiradical se define como la cantidad de antioxidante necesario para reducir la concentración inicial de DPPH en un 50%.

4.8. Diseño Experimental o Métodos y técnicas para la presentación y análisis de datos (análisis estadístico)

Diseño experimental

Para el presente proyecto se aplicará el Diseño Experimental factorial bajo el DBCA (3x2), la cual ayudará a interpretar los datos obtenidos según Ibañez (2009).

Tabla 3: Diseño Experimental factorial bajo el DBCA (3x2)

NIVEL A	NIVEL B	REPETICIONES		
Concentración	Temperatura	I	II	III
30	50	R1	R2	R3
	70	R4	R5	R6
60	50	R7	R8	R9
	70	R10	R11	R12
90	50	R13	R14	R15
	70	R16	R17	R18

Fuente: ELABORACIÓN PROPIA.

- Modelo matemático:

$$Y_{ijk} = u + \rho_k + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

- Y_{ijk} = Es la variable respuesta del k-ésimo bloque bajo el j-ésimo nivel del factor Temperatura, sujeto a i-ésimo nivel del porcentaje de etanol
- u = Constante, media de la población a la cual pertenecen las observaciones
- ρ_k = Efecto del k-ésimo bloque
- α_i = Efecto del i-ésimo nivel del factor porcentaje de etanol
- β_j = Efecto del j-ésimo nivel del factor temperatura de extracción
- $(\alpha\beta)_{ij}$ = Efecto de la interacción del i-ésimo nivel del factor porcentaje de etanol, en el j-ésimo nivel del factor temperatura de extracción
- ε_{ijk} = Efecto del error experimental

V. ASPECTOS ADMINISTRATIVOS

5.1. Cronograma de actividades

Tabla 3: Cronograma de Actividades para realizar el proyecto de investigación

Actividades	2016		2017											
	Nov	Dic	Ene	Feb	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Ago	Set	Oct	Nov	Dic
Redacción y aprobación del proyecto	X	X	X											
Elaboración y pruebas del proyecto				X	X	X								
Recolección de resultados						X	X	X	X	X				
Evaluación de resultados							X	X	X	X	X			
Redacción del tesis									X	X	X			
Redacción de correcciones de tesis											X	X		
Presentación y sustentación de tesis													X	X

Fuente: ELABORACIÓN PROPIA

Tabla 4: Presupuesto Total del Proyecto Tesis

EXTRACCIÓN DE TANINOS Y DETERMINACIÓN DE SU CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE SEMILLA DE PALTA (<i>Persea Americana</i>) VARIEDAD DE ZUTANO DEL FUNDO HASS VALLE DE MOQUEGUA						
COD.	ÍTEM	Unidad	Cantidad	Valor Unitario (Soles)	Valor Total (Soles)	Subtotal (Soles)
1	PASAJES Y VIÁTICOS					
1.1	Pasaje	Unidad	3	200	600	3000.0
1.2	Alojamiento, alimentación y movilidad local	Unidad	3	320	960	
1.3	Entrenamiento o adiestramiento de investigadores	Unidad	3	180	540	
1.4	Pasantías	Unidad	3	250	750	
1.5	Declaración jurada	Unidad	3	50	150	
2	CONTRATOS					
2.1	Servicios de análisis de muestras respecto a taninos	Unidad	10	262.5	2625	3975.0
2.2	Servicios de análisis de muestras respecto a antioxidantes	Unidad	3	450	1350	
3	EQUIPOS					
3.1	Equipos y materiales duraderos					9700.0
3.1.1	Centrífuga marca Centurión	Unidad	1	8000	8000	
3.1.2	Agitador magnético de 1 L (completo)	Unidad	1	1700	1700	
3	MATERIALES FUNGIBLES					
3.1	Accesorios					
3.1.1	Papel bond	Paquete	1	20	20	1981.5
3.1.2	Correctores	Unidad	3	4.5	13.5	
3.1.3	Marcadores	Unidad	6	3	18	
3.1.4	Lapiceros	Caja	6	1	6	
3.2	Insumos y reactivos					
3.2.1	Etanol al 99%	Litros	25	220	220	1981.5
3.2.2	Agua destilada	Litros	4	200	200	
3.2.3	Cloruro férrico	Kilogramo	1	250	250	
3.2.4	Ácido clorhídrico 0.5 M al 5%	Kilogramo	1	280	280	
3.3	Materiales					
3.3.1	Varillas de vidrio	Unidad	2	10	20	485.0
3.3.2	Tubos de ensayo	Unidad	10	35	350	
3.3.3	Vaso precipitado	Unidad	4	50	200	
3.3.4	Papel filtro	Unidad	2	2	4	
3.3.5	Termómetro	Unidad	1	350	350	
3.3.6	Gradilla	Unidad	1	25	25	
3.3.7	Piceta	Unidad	1	25	25	
4	PROGRAMAS INFORMÁTICOS O BIBLIOGRAFÍA					
4.1	Libros	Unidad	3	128.33	385	485.0
4.2	Suscripción a redes	Unidad	2	50	100	
5	GASTOS GENERALES					
5.1	Encomendas	Unidad	1	70	70	850.0
5.2	Sustentación de tesis	Unidad	1	100	100	
5.3	Publicación de tesis	Unidad	1	200	200	
5.4	Obtención de título	Unidad	1	250	250	
5.5	Útiles de oficina	Unidad global	1	50	50	
5.6	Fotocopias	cientos	3	60	180	
TOTAL						S/. 19991.50

CRONOGRAMA DE EJECUCIÓN DETALLADO PRESUPUESTAL DEL PROYECTO DE TESIS

N°	NOMBRE ACTIVIDAD A REALIZAR	ENERO	FEBRERO	MARZO	ABRIL	MAYO	JUNIO	JULIO	AGOSTO	SEPTIEMBRE	TOTAL
		S/.	S/.	S/.	S/.	S/.	S/.	S/.	S/.	S/.	S/.
PASAJES Y VIÁTICOS											
1	Pasaje			600					S/.	3000.00	600
2	Alojamiento, alimentación y movilidad local			960							960
3	Entrenamiento o adiestramiento de investigadores			540							540
4	Pasantías			750							750
5	Declaración jurada			150							150
CONTRATOS											
6	Servicios de análisis de muestras respecto a taninos					2625					2625
7	Servicios de análisis de muestras respecto a antioxidantes					1350					1350
EQUIPOS											
8	Equipos y materiales duraderos										
8	Centrifuga marca MPW Instruments			8000							8000
9	Agitador magnético de 1 L (completo)			1700							1700
MATERIALES FUNGIBLES											
Accesorios											
10	Papel bond			20							20
11	Correctores			13.5							13.5
12	Marcadores			18							18
13	Lapiceros			6							6
Insumos y reactivos											
14	Etanol al 99%			220							220
15	Agua destilada			200							200
16	Cloruro férrico			250							250
17	Ácido clorhídrico 0.5 M al 5%			280							280
Materiales											
18	Varillas de vidrio			20							20
19	Tubos de ensayo pyrex			350							350
20	Vaso precipitado pyrex			200							200
21	Papel filtro			4							4
22	Termómetro laser			350							350
23	Gradilla inox.			25							25
24	Piceta			25							25
PROGRAMAS INFORMÁTICOS O BIBLIOGRAFÍA											
25	Libros					385					385
26	Suscripción a redes					100					100
GASTOS GENERALES											
27	Encomendas					70					70
28	Sustentación de tesis							100			100
29	Publicación de tesis							200			200
30	Obtención de título								250		250
31	Útiles de oficina					50					50
32	Fotocopias					180					180
TOTAL COSTOS DEL PROYECTO S/.											19991.5

Tabla 5: CRONOGRAMA DE EJECUCIÓN DETALLADO PRESUPUESTAL DEL PROYECTO DE TESIS

Referencias bibliográficas

- Ali, D. (2012). Extracción de taninos (ácido gálico) a partir del polvo de vaina de tara (Caesalpinia spinosa). Tesis (Ingeniero Agroindustrial). Puno, Perú. Universidad Nacional del Altiplano. Facultad de Ciencias Agrarias. 23 p.
- Arukwe, V., Amadi, B. A., Dun, M., Agomuo, E. N., Adindu, E. A., Odika, P. C., Lele, K. C., Egejuru, L. and Anukike, J. (2012). Chemical composition of Persea Americana leaf, fruit and seed. 11(?): 346-349. Nigeria.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. and Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Sci Technol*. 20(?): 25-30.
- Bressani, R. (2009). La composición química, capacidad antioxidativa y valor nutritivo de la semilla de variedades de Aguacate. Proyecto FODECYT No. 02-2006. Guatemala. Universidad del Valle de Guatemala. 23 p.
- Cabrera, J., Dilas, L. D. y Minchán, L. I. (2015). Determinación de la actividad antioxidante y antimicrobiana del extracto etanólico de la semilla de Persea americana Miller Var. Hass "Palta". *Revista Perspectiva*. 16(18): 209-219.
- Chavez, P. (2011). Evaluación antioxidante y antimicrobiana en extractos de residuos de aguacate. Tesis (Maestro en Ciencias en Recursos Naturales). Obregón, Sonora. Instituto Tecnológico de Sonora. 34p.
- Clifford, M. (1992). Sensory and dictary prooperties of phenoles. Proceeding of the 16th international conference of grafe polyphenol. 16(11): 18-23.
- Cori, J. (2016). Moquegua: productores envían 10 toneladas de palta has a China. *Diario Correo*. Moquegua, Perú, 04 de mayo del 2016. D-1.
- Galleano M, Verstraeten S.V., Oteiza P.I. and Fraga C. G. (2010). Antioxidant actions of flavonoids: thermodynamic and kinetic analysis. *Arch Biochem Biophys*. 501(1):23-30.
- Gonzales, J. (2014). Radicales libres en el deporte [En línea] <<http://med.setodo.com/biolog/18980/index.html>> [Consulta: 10 octubre 2017]

- Gutierrez, D. M., Ortiz, C. y Cisneros, A. (2008). Medición de fenoles y Actividades antioxidante en Melazas usadas para alimentación animal. Centro Nacional de Metrología. México.
- Ibañez, V. (2009). Análisis y diseño de experimentos. Puno, Perú; Editorial Universitaria. 269 p.
- Isaza J. (2007). Taninos o polifenoles. Scientia et technica año XIII. Universidad Tecnológica del Perú. ISSN 0122-1701. N° 33.
- Jurado, B., Aparcana, I. M. y Villareal, L. S. (2016). Evaluación del contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante de los extractos etanólicos de los frutos de aguaymanto (*Physalis peruviana* L.) de diferentes lugares del Perú. *Revista de la sociedad Química del Perú*. 82 (3): 272-279. Lima.
- Macarrulla, J. M. y Goñil, F. M. (1993). Biomoléculas: lecciones de bioquímica estructura. Barcelona, España, Editorial Reverte. 294 p.
- Macedo Márquez, A. (2012). La producción de especies reactivas de oxígeno (EROs) en las mitocondrias de *Saccharomyces cerevisiae*. Coyoacán: Scielo.
- Muñoz, A. A., Fernández, A., Ramos, F. y Ortiz, C. A. (2007). Evaluación de la capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en vinos producidos en Perú. *Revista Sociedad Química del Perú*. 73(1): 30-40. Perú.
- Muñoz, M. A. y Gutierrez, D. M. (2008). Determinación de actividad antioxidante de diversas partes del árbol *Nicotiana Glauca*. Facultad de Química. Universidad Autónoma de Queretano. 3p.
- Naczk, M. and Shahidi, F. (2006). Phenolics in cereals, fruit and vegetables: occurrence, extraction and analysis. *J. Pharm. Biomed. Anal.* 41(¿): 1523-1542.
- Orjuela, A. (2015). Determinación de actividad antioxidante de extractos y fracciones de hojas de *Chromolaena perglabra* (b. l. robinson) R.M. King & h. Robinson. BOGOTÁ D. C.
- Osorio, G. (2013). Evaluación del defecto de dos niveles de pH en la capacidad antioxidante de la semilla de aguacate criollo (*Persea americana* Mill.). Tesis (Ingeniero en Agroindustria Alimentaria). Zamorano, Honduras. Carrera de Agroindustria Alimentaria.

- Robbins, R. (2003). Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology. *J. Agric. Food Chem.* Vol. 51, 2866-2887.
- Singleton, V. and Rossi, J. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungtic acid reagents. *Am J. Enol Vitc.* 16(?):144-158)
- Soto, M. (2012). Portal Antioxidantes.com. [En línea] <http://www.portalantioxidantes.com/?qa_faqs=%C2%BFque-es-el-acido-galico>. [Consultado: 06 agosto 2017]
- Tovar del Rio, J. (2013). Determinación de la actividad antioxidante por DPPH y ABTS de 30 plantas recolectadas en la ecorregión cafetera. PEREIRA.
- Urraca, C., Soto, C. y Zúñiga, M. (2015). Propiedades antioxidantes de residuos (semilla y cáscara) de la agroindustria de palta (*Persea americana* Mill, Avocado) en Chile. GORE VALPARAISO-CONICYT Programa Regional R12C1001. Valparaíso, Chile. XVI Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería.
- Velioglu, G., Mazza G., Gao, L., y Oomah, B. (1998). Actividad antioxidante y fenoles totales y frutas selectas vegetales y productos de grano. *Journal Agric Food Chem.*

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	HIPÓTESIS	OBJETIVOS	VARIABLES	INDICADOR (ES)	MÉTODOS	ESTADÍSTICA
<p>Pregunta general</p> <p>¿Cuál es la capacidad antioxidante del tanino de semilla de palta (<i>Persea americana</i>) variedad Zútano?</p>	<p>Hipótesis general</p> <p>La evaluación de la capacidad antioxidante del tanino de la semilla de palta (<i>Persea americana</i>) del fundo Hass valle de Moquegua depende de sus parámetros de control.</p>	<p>Objetivo general</p> <p>Evaluar la capacidad antioxidante del tanino de la semilla de palta (<i>Persea americana</i>) variedad zutano.</p>	<p>Variables independientes</p> <p>Temperatura</p> <p>Porcentaje de solvente</p> <p>Contenido de polifenoles totales</p>	<p>Indicadores de las variables independientes</p> <p>(50,70) °C</p> <p>(30, 60, 90) %</p> <p>mg de ácido gálico/g de materia seca</p>	<p>Experimental</p>	<p>DBCA (3x2)</p>
<p>Preguntas específicas</p> <p>a) ¿Cuáles son los parámetros de porcentaje de solvente y temperatura de extracción del tanino de semilla de palta (<i>Persea americana</i>)?</p> <p>b) ¿Cuál es el contenido de tanino en los extractos de la semilla de palta (<i>Persea americana</i>) variedad Zútano?</p> <p>c) ¿Cuál es la capacidad antioxidante presente en los extractos de tanino de la semilla de palta (<i>Persea americana</i>) variedad Zútano?</p>	<p>Hipótesis específica</p> <p>a) Los parámetros tales como el porcentaje de solvente (etanol) y temperatura influyen significativamente en la extracción de tanino de la semilla de palta (<i>Persea americana</i>).</p> <p>b) La concentración de tanino depende de los parámetros de control para su extracción a partir de la semilla de palta.</p> <p>c) La capacidad antioxidante depende de la cantidad de tanino presentes en la semilla de palta (<i>Persea americana</i>) variedad Zútano</p>	<p>Objetivos específicos</p> <p>a) Determinar los parámetros de porcentaje de solvente (etanol) y temperatura de extracción de tanino de semilla de palta (<i>Persea americana</i>).</p> <p>b) Cuantificar el contenido de tanino de los extractos de la semilla de palta (<i>Persea americana</i>) variedad zutano.</p> <p>c) Evaluar la capacidad antioxidante de los extractos de la semilla de palta (<i>Persea americana</i>) variedad zutano con alto contenido de polifenoles</p>	<p>Variables dependientes</p> <p>Cantidad de capacidad antioxidante</p>	<p>Indicadores de las variables dependientes</p> <p>mg/Eq de ácido gálico/100 g de fruto</p>	<p>Experimental</p> <p>Cualitativo</p>	<p>Superficie de respuesta y ANOVA</p>

ANEXO 1: MATRIZ DE CONSISTENCIA