

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



**OPTIMIZACIÓN DEL LIOFILIZADO Y SECADO, PARA LA
EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y
COMPUESTOS FENÓLICOS DE LAS HOJAS NABO SILVESTRE**
(Brassica campestris L.)

TESIS

PRESENTADA POR:

DORIS YANETH COARITA YAPUCHURA

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

INGENIERO AGROINDUSTRIAL

PUNO – PERÚ

2019

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL
 OPTIMIZACIÓN DEL LIOFILIZADO Y SECADO, PARA LA
 EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y
 COMPUESTOS FENÓLICOS DE LAS HOJAS NABO SILVESTRE

(Brassica campestris L.)

TESIS PRESENTADA POR:

DORIS YANETH COARITA YAPUCHURA

PARA OPTAR EL TITULO PROFESIONAL DE:

INGENIERIO AGROINDUSTRIAL

APROBADA POR EL JURADO REVISOR CONFORMADO POR:



PRESIDENTE :

Dr. ALEJANDRO COLOMA PAXI

PRIMER MIEMBRO :

Ing. WHANY QUISPE CHAMBI

SEGUNDO MIEMBRO :

Ing. JUAN QUISPE CCAMA

DIRECTOR / ASESOR :

M.Sc. FLORENTINO VICTOR CHOQUEHUANCA CACERES

ÁREA : Ingeniería Y Tecnología

TEMA : Desarrollo de Procesos y Productos Agroindustriales Sostenibles y Eficientes

FECHA DE SUSTENTACION 19 DE NOVIEMBRE DEL 2019

DEDICATORIA

A Mi Padre Celestial por ser mi guía y mi esperanza e hizo que no perdiera la fe en ningún momento, por enseñarme que sin sacrificios no hay bendiciones, por darme salud, familia, amigos, por ser el principal testigo y permitirme culminar esta etapa tan importante en mi vida que hoy termina en una realidad. Con mucho amor y gratitud, a mi amada madre, Clotilde Yapuchura por su confianza, apoyo, por brindarme la mejor herencia de mi vida, una carrera profesional, basada en principios y valores. De igual manera en memoria de mi amado padre Eleuterio Eloy Coarita Mamani por guiarme desde el cielo y mostrarme del camino a la superación el que siempre decía "Que fracasar no es morir es volver a empezar" y esta vez no empiezo de cero esta vez empiezo desde la experiencia.

A mis amados hermanos María Joaquina y Juan Reynaldo por darme amor, por su apoyo incondicional e incentivarme a seguir adelante para realizarme profesionalmente.

A mi novio Jesús Zarate Mamani por su amor incondicional, por su permanente apoyo e incentivarme siempre a persistir y continuar con este sueño que hoy se hizo realidad, por alentarme en momentos difíciles y jamás soltar mi mano "Eres mi más bonita casualidad".

Doris Y. C. Y.

AGRADECIMIENTOS

- Expreso mi sincero reconocimiento a todas aquellas personas que hicieron posible este proyecto de investigación. Todos y cada uno de ellos dedicaron su tiempo contribuyendo de esta manera con sus aportes al enriquecimiento de la presente investigación.
- En primer lugar quiero agradecer a Mi Padre Celestial por haberme guiado a lo largo de este camino, por brindarme una vida llena de aprendizaje, por haberme acompañado y permitido lograr esta meta tan importante en mi vida.
- A nuestra primera casa de estudios la Universidad Nacional del Altiplano, a la Facultad de Ciencias Agrarias y a los docentes de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial por haber contribuido y aportado con sus valiosas enseñanzas durante mi formación profesional.
- A mis padres y hermanos, quienes me apoyaron incondicionalmente y me dieron ánimo y fortaleza para seguir adelante en todo momento.
- A mi Director de tesis M. Sc. Florentino Víctor Choquehuanca Cáceres por su apoyo incondicional, su acertada dirección, por su disposición de tiempo y asesoramiento en la ejecución del presente trabajo de investigación y por haber confiado en mi persona.
- A los distinguidos miembros del jurado Dr. Alejandro Coloma Paxi, Ing. Whany Quispe Chambi, Ing. Juan Quispe Ccama; por sus valiosos comentarios, su apoyo, acertadas sugerencias y corrección en el presente trabajo de investigación.
- A mis amigos con los cuales compartimos momentos en la universidad y a los que fui conociendo en el camino y demás personas que me motivaron a iniciar, y terminar esta investigación, les agradezco infinitamente, siempre los tendré presente.

ÍNDICE

| | |
|---|-----------|
| RESUMEN | 12 |
| ABSTRACT..... | 13 |
| I. INTRODUCCIÓN..... | 14 |
| II. REVISIÓN DE LITERATURA | 16 |
| 2.1. NABO..... | 16 |
| 2.1.1. Origen | 16 |
| 2.1.2. Habitación..... | 16 |
| 2.1.3. Distribución | 16 |
| 2.1.4. Características..... | 16 |
| 2.1.5. Clasificación taxonómica..... | 17 |
| 2.1.6. Investigaciones..... | 18 |
| 2.2. ANTIOXIDANTES | 19 |
| 2.2.1. Generalidades..... | 19 |
| 2.2.2. Clasificación de los Antioxidantes | 21 |
| 2.3. COMPUESTOS FENÓLICOS | 24 |
| 2.3.1. Generalidades..... | 24 |
| 2.3.2. Clasificación de los compuestos fenólicos | 25 |
| 2.3.3. Capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos..... | 28 |
| 2.4. MÉTODOS UTILIZADOS PARA EVALUAR LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE | 29 |
| 2.5. CUANTIFICACIÓN DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS | 31 |
| 2.6. SECADO..... | 33 |
| 2.6.1. Definición | 33 |
| 2.6.2. Secado en bandeja..... | 34 |
| 2.6.3. Secado por aire caliente | 35 |
| 2.7. SECADO DE PLANTAS AROMÁTICAS Y MEDICINALES | 36 |
| 2.7.1. Factores a tener en cuenta durante el proceso de secado | 37 |
| 2.7.2. Tipos de Secado en plantas medicinales y aromáticas | 38 |
| 2.8. OPTIMIZACION | 39 |
| 2.8.1. Definición | 39 |
| 2.8.2. Diseño factorial de experimentos | 39 |
| 2.9. LIOFILIZACIÓN..... | 40 |
| 2.9.1. Definición | 40 |

| | | |
|-------------|--|-----------|
| 2.9.2. | Características de la liofilización | 41 |
| 2.9.3. | Diferencias entre la deshidratación convencional y la liofilización | 41 |
| 2.9.4. | Fundamento teórico de la liofilización | 43 |
| 2.9.5. | Proceso de liofilización..... | 45 |
| 2.9.6. | Etapas primaria y secundaria de secado | 46 |
| 2.9.7. | Efecto de la liofilización sobre los alimentos | 47 |
| III. | MATERIALES Y MÉTODOS..... | 48 |
| 3.1. | LUGAR DE EJECUCIÓN | 48 |
| 3.2. | MATERIA PRIMA..... | 48 |
| 3.3. | EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS | 49 |
| 3.3.1. | Equipos: | 49 |
| 3.3.2. | Materiales: | 49 |
| 3.3.3. | Reactivos:..... | 50 |
| 3.4. | MÉTODO EXPERIMENTAL..... | 50 |
| 3.4.1. | Descripción del proceso de liofilización y secado de las hojas nabo silvestre..... | 50 |
| 3.4.2. | Descripción del proceso de la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos de las hojas liofilizadas y secas del nabo silvestre..... | 54 |
| 3.5. | METODO DE ANALISIS | 55 |
| 3.5.1. | Determinación de humedad | 55 |
| 3.5.2. | Determinación de compuestos fenólicos | 55 |
| 3.5.3. | Determinación de capacidad antioxidante | 56 |
| 3.6. | DISEÑO EXPERIMENTAL | 57 |
| 3.6.1. | Análisis estadístico | 57 |
| IV. | RESULTADOS Y DISCUSIÓN..... | 59 |
| 4.1. | RESULTADOS DE LA DETERMINACION Y OPTIMIZACION DEL EFECTO DEL TIEMPO Y TEMPERATURA EN LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LAS HOJAS LIOFILIZADAS Y SECADAS DE NABO SILVESTRE..... | 59 |
| 4.1.1. | Capacidad antioxidante de las hojas liofilizadas de nabo silvestre..... | 59 |
| 4.1.2. | Capacidad antioxidante de las hojas secas de nabo silvestre..... | 63 |
| 4.2. | RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN Y OPTIMIZACION DEL EFECTO DE TIEMPO Y TEMPERATURA EN EL CONTENIDO | |

| | |
|---|-----------|
| DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE LAS HOJAS LIOFILIZADAS Y SECADAS DE NABO SILVESTRE..... | 68 |
| 4.2.1. Compuestos fenólicos de las hojas liofilizadas de nabo silvestre..... | 68 |
| 4.2.2. Compuestos fenólicos de las hojas secas de nabo silvestre | 72 |
| 4.3. COMPOSICION DE LAS HOJAS DE NABO SILVESTRE DEL LIOFILIZADO Y SECADO..... | 76 |
| 4.3.1. Capacidad antioxidante (liofilizado y secado)..... | 76 |
| 4.3.2. Compuestos fenólicos (liofilizado y secado) | 79 |
| V. CONCLUSIONES | 82 |
| VI. RECOMENDACIONES | 83 |
| VII. REFERENCIAS | 84 |
| ANEXOS..... | 93 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| FIGURA N° 1. SISTEMAS DE SECADO EN PLANTAS AROMÁTICAS Y MEDICINALES. | 38 |
| FIGURA N° 2. DIAGRAMA DE FASES DEL AGUA | 46 |
| FIGURA N° 3. DIAGRAMA EXPERIMENTAL DE LA OPTIMIZACIÓN DEL LIOFILIZADO Y SECADO DE LAS HOJAS DE NABO SILVESTRE | 52 |
| FIGURA N° 4. DIAGRAMA DE FLUJO DE LA CAP. ANTIOXIDANTE Y COMP. FENÓLICOS DE LAS HOJAS LIOFILIZADAS Y SECAS DEL NABO SILVESTRE..... | 55 |
| FIGURA N° 5. GRÁFICO DE SUPERFICIE DE RESPUESTA DEL CONTENIDO DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE..... | 62 |
| FIGURA N° 6. GRÁFICO DE CONTORNO DEL VALOR DESEABLE DEL CONTENIDO DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE..... | 62 |
| FIGURA N° 7. GRÁFICO DE SUPERFICIE DE RESPUESTA DEL CONTENIDO DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE..... | 66 |
| FIGURA N° 8. GRÁFICO DE CONTORNO DEL VALOR DESEABLE DEL CONTENIDO DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE..... | 67 |
| FIGURA N° 9. GRÁFICO DE SUPERFICIE DE RESPUESTA DEL CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS..... | 70 |
| FIGURA N° 10. GRÁFICO DE CONTORNO DEL VALOR DESEABLE DEL CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS..... | 71 |
| FIGURA N° 11. GRÁFICO DE SUPERFICIE DE RESPUESTA DEL CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS..... | 74 |
| FIGURA N° 12. GRÁFICO DE CONTORNO DEL VALOR DESEABLE DEL CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS..... | 75 |
| FIGURA N° 13. EFECTOS DE LOS PROCESOS DE LIOFILIZADO Y SECADO EN EL CONTENIDO DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE HOJAS DE NABO SILVESTRE..... | 78 |
| FIGURA N° 14. EFECTOS DE LOS PROCESOS DE LIOFILIZADO Y SECADO EN EL CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE HOJAS DE NABO SILVESTRE..... | 80 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|---|----|
| TABLA N° 1. COMPOSICIÓN NUTRICIONAL DE NABO SILVESTRE Y HOJAS DE NABO SILVESTRE. | 18 |
| TABLA N° 2. ANÁLISIS QUÍMICO PROXIMAL DE LA HOJA DE NABO SILVESTRE DESHIDRATADO | 19 |
| TABLA N° 3. CLASIFICACIÓN DE ANTIOXIDANTES | 23 |
| TABLA N° 4. CONTENIDO DE FENOLES EN ALGUNOS ALIMENTOS..... | 25 |
| TABLA N° 5. DIFERENCIAS ENTRE EL SECADO CONVENCIONAL Y EL SECADO POR LIOFILIZACIÓN. | 42 |
| TABLA N° 6. DISEÑO CODIFICADO Y DECODIFICADO PARA LA OPTIMIZACIÓN DEL LIOFILIZADO Y SECADO DE LAS HOJAS DE NABO SILVESTRE. | 53 |
| TABLA N° 7. PRUEBAS DE MÚLTIPLE DE RANGO LSD FISHER AL 95 % PARA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE POR TRATAMIENTO | 59 |
| TABLA N° 8. ANÁLISIS DE LOS MODELOS DEL DCCR PARA LA CONCENTRACIÓN DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LAS HOJAS LIOFILIZADAS DE NABO SILVESTRE. | 60 |
| TABLA N° 9. OPTIMIZACIÓN DEL LIOFILIZADO Y SECADO DE LAS HOJAS DE NABO SILVESTRE | 61 |
| TABLA N° 10. PRUEBAS DE MÚLTIPLE DE RANGO LSD FISHER AL 95 % PARA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE POR TRATAMIENTO | 64 |
| TABLA N° 11. ANÁLISIS DE LOS MODELOS DEL DCCR PARA LA CONCENTRACIÓN DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LAS HOJAS SECAS DE NABO SILVESTRE. | 65 |
| TABLA N° 12. PRUEBAS DE MÚLTIPLE DE RANGO LSD FISHER AL 95 % PARA EL CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS POR TRATAMIENTO..... | 69 |
| TABLA N° 13. ANÁLISIS DE LOS MODELOS DEL DCCR PARA LA CONCENTRACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE LAS HOJAS LIOFILIZADAS DE NABO SILVESTRE. | 70 |
| TABLA N° 14. PRUEBAS DE MÚLTIPLE DE RANGO LSD FISHER AL 95 % PARA EL CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS POR TRATAMIENTO..... | 73 |
| TABLA N° 15. ANÁLISIS DE LOS MODELOS DEL DCCR PARA LA CONCENTRACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE LAS HOJAS SECAS DE NABO SILVESTRE. .. | 74 |
| TABLA N° 16. EFECTO DEL TIPO DE PROCESO DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE HOJAS DE NABO SILVESTRE..... | 78 |



TABLA N° 17. EFECTO DEL TIPO DE PROCESO DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE
HOJAS DE NABO SILVESTRE..... 80

ÍNDICE DE ACRÓNIMOS

- AGE:** Ácido gálico equivalente.
- FT:** Fenólicos totales.
- TE:** Trolox equivalente.
- DE:** Desviación estándar.
- CV:** Coeficiente de variación.
- EQ:** Equivalente.
- AC:** Acido.
- IC:** Coeficiente de inhibición.
- SOD:** Superóxido dismutasa
- GPX:** Glutación peroxidasa
- Abs:** Absorbancia de la muestra medidas a 755nm
- A:** Volumen (mL) de solvente utilizado + peso de la muestra (g.)/peso de la muestra (g.)
- ERO:** Especies reactivas de oxígeno
- ERN:** Especies reactivas de nitrógeno
- DNA:** Ácido nucleico
- RNA:** Ácido ribonucleico

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivos determinar y optimizar el efecto del tiempo y la temperatura en la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos de las hojas de nabo silvestre (*Brassica Campestris L.*) liofilizadas y secadas. Se le realizaron análisis de capacidad antioxidante y compuestos fenólicos. La evaluación de la capacidad antioxidante se realizó empleando el método DPPH y la evaluación de compuestos fenólicos se realizó empleando el método de Folin Ciocalteu que cuantifica el contenido de compuestos fenólicos totales. El nivel óptimo de las variables del proceso de liofilizado y secado de las hoja de nabo silvestre se determinó mediante el método de Optimización por Diseños Experimentales; empleando el Diseño de Superficie de Respuesta para descartar las variables no significativas y localizar la región óptima, de los cuáles se tomó 8 tratamientos, resultando que para el proceso de liofilizado un tiempo de 24 h y una temperatura de $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$, se optimiza el proceso, obteniendo un contenido final de capacidad antioxidante de 1.90 (Trolox IC50 gr/100ml/hojas de nabo silvestre) y un contenido final de compuestos fenólicos de 1915.05 (EQ-AC. Gálico mg/100gr). Para el proceso de secado un tiempo de 14 h y una temperatura $30\text{ }^{\circ}\text{C}$, se optimizo el proceso, obteniendo un contenido final de capacidad antioxidante 4.57 (Trolox IC50 gr/100ml/hojas de nabo silvestre) y un contenido final de compuestos fenólicos 1528.88 (EQ-AC. Gálico mg/100gr). Se concluyó que el proceso de liofilizado fue la más representativa por presentar los mejores resultados.

Palabras Clave: Capacidad antioxidante, compuestos fenólicos, *Brassica campestris L.*, liofilizado, secado.

ABSTRACT

The purpose of this research work was to determine and optimize the effect of time and temperature on the antioxidant capacity and phenolic compounds of wild turnip greens (*Brassica Campestris* L.) lyophilized and dried. He was tested for antioxidant capacity and phenolic compounds. The antioxidant capacity evaluation was performed using the DPPH method and the evaluation of phenolic compounds was performed using the Folin Ciocalteu method that quantifies the total phenolic compound content. The optimum level of the freeze-drying and drying process variables of the turnip greens was determined by the Optimization Method by Experimental Designs; using the Response Surface Design to discard the non-significant variables and locate the optimal region, of which 8 treatments were taken, resulting in a freeze time of 24 h and a temperature of - 40 ° C for the freeze-drying process. process, obtaining a final content of antioxidant capacity of 1.90 (Trolox IC50 gr / 100ml / leaves of wild turnip) and a final content of phenolic compounds of 1915.05 (EQ-AC. Gallic mg / 100gr). For the drying process a time of 14 h and a temperature of 30 ° C, the process was optimized, obtaining a final content of antioxidant capacity 4.57 (Trolox IC50 gr / 100ml / leaves of turnip) and a final content of phenolic compounds 1528.88 (EQ-AC. Gallic mg / 100gr). It was concluded that the lyophilisate process was the most representative because it presented the best results.

Keywords: Antioxidant capacity, phenolic compounds, *Brassica campestris* L., lyophilized, dried.

I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad el antioxidante de los alimentos está captando el interés de la población, debido a que existen evidencias científicas de que los antioxidantes presentes en los alimentos promueven la salud. Los alimentos que presentan mayor actividad antioxidante, son los ricos en vitaminas, compuestos fenólicos y entre ellos principalmente los flavonoides.

Los compuestos fenólicos son comúnmente hallados en plantas comestibles y no comestibles, constituyendo una fracción muy compleja formada por un número muy grande, en los últimos años, un gran número de investigaciones científicas han descrito las propiedades de los fenoles, entre ellas que destacan la capacidad de actuar como conservantes de alimentos, tener un papel importante en la protección contra una serie de alteraciones patológicas, como la arterosclerosis, disfunción cerebral, cáncer y propiedades antioxidantes.

Los antioxidantes son compuestos que protegen a las células de los daños causados por la oxidación de los radicales libres (Zapata, 2007). De forma natural nuestro organismo cuenta con un sistema de defensa antioxidantes representado fundamentalmente por vitaminas, minerales y enzimas, los cuales, según (Avello, 2006), los antioxidantes actúan donando sus electrones, estabilizando moléculas y como cofactores para ayudar a combatir y reducir los daños producidos por los radicales libres; igualmente retardan el proceso de envejecimiento celular.

Actualmente, existe una mayor preocupación por llevar un estilo de vida saludable, lo que se evidencia diariamente a través de los medios de comunicación, donde se promueve el consumo de ciertos alimentos, que contengan nutrientes y sustancias fisiológicamente activas, que cumplan al igual que los nutrientes esenciales una función beneficiosa en la prevención y tratamiento de ciertas enfermedades, como las crónicas y degenerativas (cáncer, diabetes, enfermedades cardíacas, entre otras). Por tal motivo, la comunidad científica a nivel mundial se encuentra investigando sustancias que tengan propiedades antioxidantes, como los compuestos fenólicos, ácido ascórbico o vitamina C, los carotenoides, alfa tocoferol o vitamina E, entre otros (OMS, 2007).

El presente trabajo de investigación fue realizado con el objetivo de contribuir al conocimiento de las propiedades del Nabo Silvestre (*Brassica campestris* L.),

considerándola como un alimento funcional con uso justificado; de tal manera, que las personas puedan consumir este alimento rico en antioxidante y compuestos fenólicos. Se pretende evaluar la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos de las hojas de nabo silvestre.

En vista que hasta la fecha aún no se ha realizado investigaciones de las hojas de nabo silvestre (*Brassica campestris* L.), es que se planteó la siguiente investigación el cual tiene por finalidad revalorar e incentivar su producción y agroindustrialización para conocer su capacidad antioxidante y compuesto fenólico el cual resulta de suma importancia, ya que no constituye únicamente un proyecto de factibilidad, sino que además aspira a aportar de manera positiva a la sociedad, a través de una alternativa de alimentación sana y natural, para posteriormente poder llevar a cabo el desarrollo de nuevos productos para la alimentación humana así dándole un valor agregado a este vegetal, sin embargo en otros países y en el Perú lo consumen como infusión o como un alimento dietético, por la poca información que se tiene no se está utilizando potencialmente en la agroindustria es que la presente investigación tiene como principales objetivos:

General:

- Optimizar el proceso de liofilizado y secado para evaluar la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos de las hojas liofilizadas y hojas secas del Nabo silvestre (*Brassica campestris* L.).

Específicos:

- Determinar y optimizar el efecto de tiempo y temperatura en la capacidad antioxidante de las hojas de nabo silvestre (*Brassica campestris* L.) liofilizadas y secadas.
- Evaluar y optimizar el efecto de tiempo y temperatura en el contenido de compuestos fenólicos de las hojas de nabo silvestre (*Brassica campestris* L.) liofilizadas y secadas.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. NABO

2.1.1. Origen

El nabo es originario de Europa Central y meridional, donde se cultiva desde hace más de 4000 años. Se estima que el área de origen es la que se extiende desde el Mediterráneo Oriental al este de Pakistán y China actualmente se encuentra cultivada en todo el mundo.

El nabo es una planta de la familia de las brasicáceas, la misma familia a la que pertenecen otras verduras alimentarias como la berza, la mostaza, el brócoli o la rúcula, es una hortaliza que se adapta muy bien a los climas fríos, que engloba 380 géneros y unas 3.000 especies propias de regiones templadas o frías del hemisferio norte. La importancia de esta familia de hortalizas, a la que también pertenecen las coles y los berros, reside en que contienen unos compuestos de azufre considerados como potentes antioxidantes que ayudan a prevenir enfermedades (Zambrano, 2015).

2.1.2. Habitud

Especie de interés hortícola, se encuentra cultivada. Puede crecer a altitudes de hasta 3000 m. también en antiguos campos de cultivo.

2.1.3. Distribución

Se encuentra cultivada en todos los continentes. En Asia existen variedades cultivadas, como la col china que tiene gran importancia en la dieta; y Pakchoi, muy apreciada en Japón. En algunos lugares se ha convertido en una planta invasora.

2.1.4. Características

El nabo es una planta de la familia de las Brasicáceas, la misma familia a la que pertenecen otras verduras alimentarias como la mostaza, el brócoli o la rúcula. Se trata de una planta bienal, de altura entre 0,5 m y 1.30 m., cuya raíz napiforme se consume en la alimentación. La raíz napiforme es una estructura carnosa de forma globosa redondeada y axonomorfa que contiene numerosas raíces laterales absorbentes. Esta estructura es un órgano de reserva de la planta, rico en sustancias nutritivas como carbohidratos y

minerales que permiten a la planta soportar las condiciones climáticas adversa de las altitudes donde pueden cultivarse. Las hojas son erizadas, de color verde intenso de 30 - 50 cm. Estas son largamente pecioladas. La inflorescencia es un racimo terminal de flores amarillas, de 10 - 30 cm. de largo. Las hojas dispuestas en el tallo floral son sésiles, abrazadas al tallo, oblongas a lanceoladas y glaucas. Las flores de la planta son características de las crucíferas. Estas presentan 4 sépalos de 4 - 5 mm., 4 pétalos en forma de cruz de 6 – 10 mm., y 6 estambres, 2 de los cuales son más cortos. Son hermafroditas y polinizadas por insectos como abejas. En el interior contiene las semillas de la planta, de color negro, café o rojizo de 1.5 a 2 cm. de diámetro (Espinosa *et al*, 2009)

2.1.5. Clasificación taxonómica

El nabo silvestre (*Brassica campestris* L.) o también conocida como nabo malesa, pertenece a la familia de las Brassicaceae; es decir, posee características similares a la familia del brócoli, el nabo y la col. Constancia (ANEXO C).

REINO: Vegetal

SUB REINO: Phanerogamae

DIVISIÓN: Angiospermae

CLASE: Dicotyledoneae

SUB CLASE: Archychlamydeae

ORDEN: Papaverales

FAMILIA: Brassicaceae

GÉNERO: *Brassica*

ESPECIE: *Brassica campestris* L.

Tabla N° 1. Composición nutricional de nabo silvestre y hojas de nabo silvestre.

| Nutrientes | Nabo silvestre | Hojas de nabo silvestre |
|-----------------|----------------|-------------------------|
| Energía (Kcal.) | 28 | 28 |
| Proteína | 2 | 4 |
| Grasa total (g) | 0.90 | 4 |
| Colesterol (mg) | - | - |
| Glúcidos | 4.30 | 4.10 |
| Fibra (g) | 1 | 0.80 |
| Calcio (mg) | 205 | 239 |
| Hierro (mg) | 0.40 | 3.10 |
| Yodo (mg) | - | - |
| Vitamina A (mg) | 733.33 | 733.33 |
| Vitamina C (mg) | 91 | 100 |
| Vitamina D (mg) | - | - |
| Vitamina E (mg) | 0 | 0 |
| Vitam. B12 (mg) | - | - |
| Folato (mg.) | 0 | 0 |

Fuente: Espinosa (2009)

2.1.6. Investigaciones

Ccatamayo & Valderrama (2010), realizaron un estudio sobre el aprovechamiento agroindustrial de las hojas de nabo silvestre deshidratando las hojas desde 30 a 45 °C por un tiempo de 3 a 24 horas obteniendo resultados favorables.

Tabla N° 2. Análisis químico proximal de la hoja de nabo silvestre deshidratado

| Análisis (%) | Resultados |
|---------------|------------|
| Humedad | 9.30 |
| Ceniza | 13.98 |
| Proteína | 4.23 |
| Grasa | 5.00 |
| Fibra | 9.50 |
| Carbohidratos | 57.99 |

Fuente: Ccatamayo & Valderrama (2010)

2.2. ANTIOXIDANTES

2.2.1. Generalidades

Los antioxidantes son ingredientes importantes que protegen la calidad de los alimentos retardando la oxidación (Welti & Fellows, 2000)

Según Sayadis (2005), conceptualizó a un antioxidante como una sustancia que encontrándose en pequeñas concentraciones comparada a la de un sustrato oxidable, retrasa o previene significativamente la oxidación de dicho sustrato, el término de sustratos oxidable hace referencia a cualquier compuesto encontrado en el alimento y en tejidos vivos (proteínas, lípidos, carbohidratos y DNA).

Se dice que los alimentos tienen propiedades antioxidantes cuando son capaces de neutralizar la acción oxidante de una entidad molecular inestable, los radicales libres, sin perder su propia estabilidad electroquímica. Los radicales libres son productos naturales intermediarios del metabolismo que dentro del homeostasis metabólica normal son regulados por la acción de una serie de enzimas y vitaminas como la SOD-superóxido dismutasa y la GPX glutatión peroxidasa, aparte del efecto de algunas vitaminas (C y E) y oligoelementos, como el zinc y el selenio. Al radical libre producto de estrés de diferentes

tipos, condiciones anormales de radiación, etc., se les atribuye ser causantes de los procesos de envejecimiento y de varias otras enfermedades (Starke & Reed, 2003).

Los antioxidantes, por lo tanto, son un grupo amplio de compuestos: vitaminas, compuestos fenólicos, minerales, colorantes naturales y enzimas. Muchos de los antioxidantes se encuentran en alimentos vegetales, por lo que se recomienda con efecto beneficioso incluir frutas, legumbres, tubérculos, verduras y hortalizas o cereales integrales en nuestra dieta. (Barbosa, 2008).

Los antioxidantes son una forma de defensa del cuerpo humano contra los radicales libres. Son agentes que inhiben o neutralizan el daño potencial que los radicales libres pueden ocasionarnos. Nuestro organismo no puede fabricar los antioxidantes, por ello necesitamos consumirlos. Los antioxidantes más conocidos son: vitamina C, vitamina E, Beta caroteno (una forma de vitamina A) y Selenium (mineral) (Reardon, 2009).

Los antioxidantes, por lo tanto, son un grupo amplio de compuestos: vitaminas, compuestos fenólicos, minerales, colorantes naturales y enzimas, muchos de los antioxidantes se encuentran en alimentos vegetales, por lo que se recomienda con efecto beneficioso incluir frutas, legumbres, tubérculos, verduras y hortalizas o cereales integrales en nuestra dieta, millones de radicales libres bombardean diariamente nuestras células, el hecho de que necesiten tantos años para causar daños mayores se debe a la eficacia homeostática de los sistemas enzimáticos que para neutralizarlos produce nuestro propio organismo, nuestro sistema de protección inmunitaria está luchando contra los radicales libres en todo momento, el problema para el organismo humano se produce cuando tiene que tolerar de forma continuo un exceso de radicales libres, los cuales -aparte de ser producidos por el metabolismo normal- son generados por varios factores que actúan sobre o penetran en nuestro cuerpo (Avello, 2006). Las tensiones sociales, las presiones políticas y emocionales, la contaminación ambiental, la polución industrial y acústica, el humo del tabaco, los herbicidas, pesticidas, el consumo de ciertas grasas, etc., son algunos de los factores que incrementan excesivamente la generación de radicales libres este exceso supera la resistencia (capacidad de reponer su homeostasis) metabólica y no puede ya ser eliminado por el cuerpo (Flores, 2000).

Los radicales libres no sólo dañan las membranas de las células, sino que llegan a destruir y mutar la información genética de las células (ácidos nucleídos), facilitando así el camino para que se desarrollen diversos tipos de enfermedades. La acción de los radicales

libres está ligada al cáncer, así como al daño causado en las arterias por el colesterol "malo" LDL (Low Density Lipoprotein Cholesterol), lo que relaciona directamente a las especies reactivas con las enfermedades cardiovasculares. Existen cada vez más pruebas de la intervención de los radicales libres y de otras moléculas reactivas en los procesos patológicos. La principal evidencia proviene de estudios epidemiológicos que muestran correlaciones estadísticas entre la incidencia de patologías y la presencia insuficiente por concentraciones bajas de nutrientes antioxidantes en el plasma sanguíneo o alimentos (Mayes, 2000).

Los antioxidantes ceden a los radicales libres sus propios electrones salvando así nuestras células de sufrir daño. Entre los antioxidantes por excelencia encontramos al β -caroteno, la vitamina C, la vitamina E, y el selenio. La vitamina E es un antioxidante importante en el organismo y actúa en la fase lipídica de las membranas en todas las células. A la fecha los estudios aún son insuficientes, ni es bastante la información sobre la predisposición genética responsable de la actividad antioxidante. Tampoco es suficiente la información sobre el aporte y el efecto del aporte de complementos nutricionales de los antioxidantes mencionados. No se ha llegado a complementar los estudios realizados in vitro con estudios in vivo. Sin embargo, se recomienda aumentar el consumo de cereales, nueces, frutas y vegetales, todos ellos ricos en antioxidantes naturales, como los compuestos fenólicos (entre ellos los flavonoides). Se va estableciendo una fuerte corriente de opinión en la comunidad científica que nos indica que el efecto antioxidante está relacionado al consumo integral de estas sustancias con la matriz que los contiene y que tiene una relación directa con hábitos alimentarios apropiados y con un ejercicio físico moderado y apropiado (Venereo, 2012).

Los antioxidantes son sustancias que inhiben o retrasan la oxidación de otras moléculas mediante la inhibición de la propagación de la reacción de oxidación. Estos pueden clasificarse en naturales o sintéticos, estando estos últimos en desuso debido a estudios que les atribuyen efectos carcinógenos (Gamarra, 2003).

2.2.2. Clasificación de los Antioxidantes

a. Antioxidantes Sintéticos

Se han desarrollado una gran cantidad de antioxidantes sintéticos, los más usados son los compuestos fenólicos como el hidroxianisol butilado (BHA), el

hidroxitolueno butilado (BHT), la butilhidroquinona terciaria (TBHQ) y los esteres del ácido gálico.

Los antioxidantes sintéticos contienen sustituciones alquílicas para mejorar su solubilidad en grasas y aceites. Son muy estables al calor y se usan a menudo para estabilizar las grasas de los productos cocinados y fritos. Pero desde el punto de vista de la seguridad alimentaria, están sujetos a constantes cuestionamientos y restricciones, dado a que se ha reportado que serían carcinogénicos (Calsin, 2007). De acuerdo a las normas, el uso de estos cuatro antioxidantes sintéticos están limitadas al 0.02% del contenido de grasa o aceite del alimento para suprimir el desarrollo de peróxidos durante el almacenamiento. La toxicología de los antioxidantes sintéticos se ha estudiado con gran profundidad, aconsejan mantener cierta precaución. En este caso los antioxidantes naturales se presentan como sustancias más saludables.

b. Antioxidantes Naturales

Los antioxidantes naturales son compuestos fenólicos y su eficacia depende de la reacción del hidrógeno fenólico con los radicales libres, de la estabilidad de los radicales antioxidantes formados durante la reacción con los radicales libres y de las sustituciones químicas presentes en su estructura básica, que probablemente es el factor que contribuye la capacidad antioxidante natural estable (Pokorny, 2004).

Entre los antioxidantes naturales por excelencia encontramos al β -caroteno, la vitamina C, la vitamina E, y el selenio (Starke & Reed, 2003). La vitamina E es un antioxidante importante en el organismo y actúa en la fase lipídica de las membranas en todas las células. Donde los antioxidantes ceden a los radicales libres sus propios electrones, salvando así a nuestras células de sufrir daño (Moure, 2001).

Las plantas producen una variedad de antioxidantes contra daño molecular de especies reactivas y ciertos productos naturales pueden desempeñar un papel preventivo debido a sus características antioxidantes. (Assimopoulou, 2004).

La oxidación de las macromoléculas biológicas, lípidos, proteínas, carbohidratos y ADN en diferentes tejidos y órganos pueden generar un daño irreversible que, si es muy extenso, produce enfermedades y lleva incluso a la muerte celular. Esto ocurre por acción de los radicales libres, moléculas altamente reactivas que tienen un electrón desapareado en sus orbitas externas, y que provienen de diversas y numerosas fuentes tanto internas como externas. Los radicales libres oxidan las macromoléculas cuando les quitan un electrón oxidativo que constituye una cadena y que es, en sí mismo dañino (Londoño, 2006).

Los radicales libres han sido implicados por jugar un rol en más de 100 enfermedades incluyendo el cáncer, arterioesclerosis, artritis reumatoide, enfermedades inflamatorias del intestino y cataratas. Frente al daño que produce la oxidación, el organismo despliega sistemas antioxidantes. Estos operan, en parte a través de moléculas que protegen las estructuras biológicas impidiendo que sean oxidativas (OMS, 2007). En la tabla N° 3 se encuentra la clasificación de antioxidantes exógeno, endógeno y cofactores. Son algunas de estas moléculas de bajo peso molecular que entregan sus electrones a los radicales libres, poniendo fin a la cadena de oxidación. Cuando el equilibrio existe entre antioxidantes y oxidantes se pierde a favor de los radicales libres, se cae en un estrés oxidativo y se produce una enfermedad (Ningappa *et al*, 2008)

Tabla N° 3. Clasificación de Antioxidantes

| Exógenos | Endógenos | Cofactores |
|---------------------|--|------------|
| Vitamina E | Glutación | Cobre |
| Vitamina C | Coenzima Q | Zinc |
| Beta caroteno | Ácido tióctico | Manganeso |
| Fenoles Flavonoides | Enzimas: Superóxido dismutasa(SOD) Catalasa Glutación peroxidasa | Hierro |
| licopeno | | Selenio |

Fuente: Ningappa (2008)

2.3. COMPUESTOS FENÓLICOS

2.3.1. Generalidades

Los compuestos fenólicos se caracterizan por ser uno de los grupos de compuestos presentes en el reino vegetal, siendo parte importante de la dieta tanto humana como animal. Constituye un amplio grupo de sustancias químicas, consideradas metabolitos secundarios de las plantas, con diferentes estructuras químicas y actividad, englobando más de 8000 compuestos distintos. Actualmente se ha despertado un gran interés por estos compuestos debido a sus propiedades antioxidantes y sus implicaciones beneficiosas en la salud humana, tales como en el tratamiento y prevención del cáncer, enfermedades cardiovasculares y otras patologías de carácter inflamatorio (Martínez *et al*, 2000).

Los fenoles se encuentran casi en todos los alimentos de origen vegetal. Son alimentos ricos en fenoles: la cebolla, el té, el vino tinto, el cacao, el aceite de oliva virgen, etc. Estas sustancias influyen en la calidad, aceptabilidad y estabilidad de los alimentos, ya que actúan como colorantes, antioxidantes y proporcionan sabor (García, 2005).

Su contribución a la pigmentación de los alimentos está claramente reconocida, a través de las antocianinas, responsables de los colores rojo, azul, violeta, naranja y púrpura de la mayoría de las plantas y de sus productos (Belitz, 2002). Muchos de los compuestos fenólicos son buenos sustratos de pardeamiento y a su vez, buenos antioxidantes (Perez - Leon, 2005). Los diversos compuestos fenólicos pueden ser degradados por sistemas enzimáticos presentes en los tejidos vegetales como las glucosidasas, polifenoloxidasas y peroxidasas (Rios & Lucci, 2004)

Según Avello (2006), menciona que el contenido de compuestos fenólicos varía de acuerdo a la coloración de la cáscara y la cantidad. En la tabla 4 se observa algunos alimentos que tienen contenido de fenoles (mg ácido gálico/ 100 g de muestra).

Tabla N° 4. Contenido de fenoles en algunos alimentos.

| Alimentos | Fenoles (mg. Ácido gálico/ 100 g. de muestra) |
|-------------------------------------|--|
| Cascara de betarraga | 0.43 |
| Hoja de pepino | 0.38 |
| Pulpa de zanahoria | 0.06 |
| Hoja de zanahoria | 0.74 |
| Cascara de zanahoria | 0.66 |
| Arveja | 0.04 |
| Cascara de papa | 0.43 |
| Arándano 1 | 574 |
| Camote morado 1 | 945 |
| Maíz morado 1 | 1756 |
| Cascara de 3 variedades de camote 2 | 1099-1247 |
| Hoja de coca 3 | 234 |
| 10 genotipos de mashua 4 | 91.60 – 331.48 |
| Semillas de ayrampo 5 | 1695.51 |

Fuente: Ojeda (2003)

2.3.2. Clasificación de los compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son un amplia familia que incluye a diferentes sub-familias como: los fenoles simples, ácidos fenólicos (hidroxibenzoicos y

hidroxicinámicos), flavonoides (flavanoles, flavonas, flavanonas, flavonoles, isoflavonas y antocianinas), chalconas, auronas (hispidol), hidroxycumarinas, lignanos, estilbenos y poliflavanos (proantocianidinas y prodeoxiantocianidinas) de entre ellos más de 5 000 polifenoles han sido identificados (Tsao, 2004)

A continuación, se describen algunas de las familias de los compuestos fenólicos más comúnmente hallados en los alimentos.

a. Flavonoides

Los flavonoides, pertenecientes al grupo de los fenoles, son fitonutrientes presentes en diversas plantas que constituyen una parte integrante de la alimentación humana. Poseen características antioxidantes, propiedades quelantes y están asociados a la prevención de patologías crónicas y enfermedades relacionadas con la edad. La actividad más conocida de los flavonoides es su protección contra el estrés oxidativo. Los flavonoides pueden eliminar los radicales peroxilo, ser eficaces inhibidores de la peroxidación lipídica y ser quelantes de los metales redox-activos, evitando la ruptura catalítica del peróxido de hidrógeno (Rahman, 2007).

Los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular que comparten un esqueleto común de difenilpiranos (C6-C3-C6), compuesto por dos anillos de fenilos, ligados a través de un anillo de pirano (heterocíclico). En función de los grados de oxidación e instauración del anillo heterocíclico se pueden diferenciar varias clases de flavonoides y dentro de cada clase se pueden establecer diferencias en base a la naturaleza y número de los sustituyentes unidos a los anillos. La mayoría de los tejidos vegetales pueden sintetizar flavonoides, los cuales se presentan en forma de glucósidos solubles en agua en las hojas y frutas empleadas en la alimentación humana. (Avello, 2006). A continuación, se describen algunos de los flavonoides comúnmente hallados en los alimentos.

- Las flavanonas

El mayor origen de las flavanonas son las frutas y jugos cítricos. Estos compuestos también se encuentran en el garbanzo, comino, bayas de espino,

regaliz y menta. La flavanona hesperidina puede ser encontrada en el comino y la menta; la narirutina y la naringenina glicósidos en las bayas de espino, el eriodictiol en limones y la liquoritigenina en algunas raíces. Las flavanonas contribuyen al sabor de los cítricos. La naringenina encontrada en uvas, es usualmente amarga; la hesperidina encontrada en naranjas, es usualmente insípida (Peterson, 2018)

- Las flavonas

Las flavonas son compuestos derivados de la benzo- γ -pirona; no son encontradas frecuentemente en frutas, pero son halladas en granos y hierbas. Pueden contribuir al color del tejido de las plantas y participan en el gusto (Belitz, 2002)

Las flavonas más comunes son la apigenina y luteolina. El perejil, romero y tomillo contienen flavonas. La apigenina y sus glicósidos son comúnmente hallados en cereales, grano, algunas hierbas y algunos vegetales. La luteolina se presenta en cereales y hierbas. En vegetales y en las hojas de los vegetales, los glicósidos de luteolina y apigenina han sido reportados (Ojeda, 2003).

- Los flavonoles

Los flavonoles son hallados en todos los alimentos y se acumulan en los tejidos exteriores aéreos (epidermis y hojas) porque su síntesis se ve estimulada por la luz; tan solo trazas de flavonoles se encuentran en partes de la planta por debajo de la superficie terrestre con la notable excepción de las cebollas (Aherne, 2002). Los flavonoles están presentes predominantemente como glicósidos que bajo su forma no glicosidada (aglicón) (Wang, 2000).

Los flavonoles más conocidos son la quercitina, el kaempferol y la mirecitina. La quercitina glicosidada predomina en la hoja de varios vegetales. El kaempferol es el más común entre frutas y vegetales frondosos; también es hallado en algunas bayas, hierbas, legumbres y vegetales de raíz. La miricetina se encuentra a menudo en bayas, maíz y té. En las frutas, los flavonoles y sus glicosilados son hallados predominantemente en la piel (Peterson, 2018).

b. Los ácidos fenólicos

Los ácidos fenólicos constituyen un amplio grupo de compuestos orgánicos, distribuidos en la naturaleza y muestran un amplio espectro de actividades farmacológicas; estos han reportado propiedades antioxidantes, antimutagénicas, antitumorales y anticarcinogénicas (Tarnawski, 2006).

Son sintetizados a través de la ruta del ácido sikímico y pueden presentarse de forma conjugada o libre. Se distingue 2 principales grupos de ácidos fenólicos, ambos son derivados hidroxil de ácidos carboxílicos aromáticos, así se tiene a los ácidos benzoicos y a los ácidos cinámicos (Tsao, 2004).

2.3.3. Capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos

Un antioxidante se define como una sustancia que encontrándose en pequeñas concentraciones comparada con un sustrato oxidable inhibe o retarda significativamente la oxidación de dicho sustrato (Martínez *et al*, 2000). Para que un antioxidante tenga actividad antiradical debe cumplir una característica básica que es generar un radical más estable y menos dañino después de reaccionar con la especie radical, esta reacción se basa en una transición redox en la que está implicada la donación de un electrón (o un átomo de hidrógeno) a la especie radical. Como resultado de esta transferencia, se formará un radical derivado del antioxidante que puede tener carácter inerte, estable o presentar cierta reactividad (Cadenas, 2001)

Una reacción de oxidación-reducción (redox) es una reacción de transferencia de electrones. La especie que pierde los electrones se oxida y la que los gana se reduce, en sistemas biológicos (generalmente en las células aerobias) como una consecuencia natural de la reacción de oxidación (redox) durante la respiración celular y productos del metabolismo, se forman especies reactivas de oxígeno y nitrógeno (ERO y ERN) como: Radical hidroxil (OH), anión superóxido (O_2^-), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), entre otros (Dastmalchi *et al*, 2008). A bajas o moderadas concentraciones ellos poseen varios roles fisiológicos así, son esenciales para el suministro de energía, desintoxicación, señalización química y la función inmunológica (Dimitrios, 2006) Sin embargo, durante el estrés oxidativo hay una sobreproducción de ERO y ERN que pueden producir degradación de los componentes celulares, DNA, RNA, carbohidratos, proteínas y lípidos; lo que lleva eventualmente a la disfunción y finalmente a la muerte celular. Estos daños contribuyen a

un mayor riesgo de enfermedades relacionados con el estrés oxidativo tales como: cardiovasculares, cáncer, arteriosclerosis, diabetes mellitus, reumatismo, isquemia, la aceleración de procesos de envejecimiento y otras enfermedades crónicas (Tarnawski *et al*, 2006; Vrchovská, 2006).

Según Tsao (2004), la capacidad antioxidante de un compuesto está determinada por:

- Su reactividad como un agente donador de hidrógeno y electrón (que se refiere a su potencial de reducción).
- El destino resultante del radical derivado antioxidante, que se rige por su capacidad para estabilizar y deslocalizar electrones desapareados.
- Su reactividad con otros antioxidantes.
- Su potencial de quelación de metales de transición.

Los compuestos fenólicos de las plantas pueden reducir los efectos perjudiciales de las ERO de una serie de procesos biológicos y patológicos; la inactivación de los ERO por los fenólicos de las plantas puede ser la base del supuesto beneficio de la salud humana (Alarcón, 2007). La capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos se ve afectada por su estructura química, mostrando una mayor eficiencia antioxidante *in vitro* en comparación con la vitamina E y C. Los compuestos fenólicos poliméricos son antioxidantes más potentes que los monoméricos (Moure, 2001)

La capacidad antioxidante depende no solo de las características estructurales, sino también de muchos otros factores tales como la concentración, temperatura, luz, tipo de sustrato, estado físico del sistema y de la presencia de numerosos micro compuestos que pueden actuar como pre oxidantes o sinergistas (Pokorny, 2004).

2.4. MÉTODOS UTILIZADOS PARA EVALUAR LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

La capacidad antioxidante es ampliamente usada como un parámetro para caracterizar a diferentes materiales (frutas, vegetales, vinos, té, aceites, etc.). Esta capacidad está relacionada con compuestos capaces de proteger a un sistema biológico del potencial efecto dañino de procesos o reacciones que causan excesiva oxidación, donde están involucrados las ERO y ERN (Arnao, 2000)

Para la cuantificación de la capacidad antioxidante de un material biológico existen diferentes métodos, entre los cuales se tienen: la medida de la capacidad antioxidante en función de la especie oxidante (ERO/ERN específicos o radicales estables no biológicos) a evaluar; el mecanismo de actuación del antioxidante (capacidad secuestradora de radicales, capacidad de inhibición de la peroxidación lipídica, capacidad de reducir metales, etc.) o del sustrato oxidable utilizado (químico o biológico).

Los métodos más comúnmente usados por su facilidad, rapidez y sensibilidad son los que emplean radicales cromógenos naturales o radicales que simulan a una ERO o ERN. La presencia del antioxidante conduce a la desaparición de estos radicales cromógenos. Entre los radicales más ampliamente usados están el ABTS (2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonicacid) y el DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). Ambos presentan excelente estabilidad bajo las condiciones de ensayo pero, también muestran diferencias importantes en su respuesta como antioxidante y en su manipulación (Arnao, 2000).

La determinación de la capacidad antioxidante por el método del ABTS utiliza al radical cromógeno ABTS (color azul-verdoso), este presenta un espectro con absorbancias máximas a 414, 752 y 842 nm en medio acuoso y 414, 730 y 873 nm en medio etanólico. El radical ABTS puede ser generado vía enzimática (peroxidasa, mioglobina) o por medio de reacciones químicas (dióxido de manganeso, persulfato de potasio) y puede ser disuelto en un medio acuoso u orgánico (Wojdylo *et al*, 2007) Este método se basa en la actividad de una molécula antioxidante para inhibir al radical ABTS, producto de la reacción se observa un cambio de coloración de azul-verdoso a incoloro. El grado de esta decoloración refleja al radical ABTS que fue atrapado y esto puede ser directamente monitoreado por detección espectrofotométrica (Lima, 2005). Este método es capaz de determinar la capacidad antioxidante hidrofílica (en un medio buffer acuoso) y lipofílica (en medio orgánico) (Alcolea, 2002)

Por otro lado, se conoce el método del DPPH, este radical DPPH es adquirido directamente sin preparación. El DPPH es disuelto en medio orgánico, especialmente en etanol, lo cual es una importante limitación al interpretar el rol de los antioxidantes hidrofílicos (Arnao, 2000) Este radical tiene un electrón desapareado y es de color azul-violeta, decolorándose hacia amarillo pálido por reacción con una sustancia antioxidante;

la absorbancia es medida espectrofotométricamente a 515 nm. La diferencia de absorbancias, permite obtener el porcentaje de captación de radicales libres.

Para evaluar la actividad antioxidante de los radicales de los compuestos o extractos, estos se hacen reaccionar con el radical estable DPPH, la reducción del DPPH es entendida por el monitoreo del decrecimiento en sus características de longitud de onda durante la acción. En su forma radical, el DPPH absorbe a 517 nm. Pero luego de la reducción por efecto de un antioxidante la absorción desaparece.

Desde el punto de vista de la metodología del DPPH, este método es recomendado como fácil y exacto con consideración de medir la actividad antioxidante de jugos o extractos de vegetales y frutas.

El método de DPPH no es usado para medir la actividad antioxidante del plasma, porque la proteína es precipitada en el medio de reacción alcohólica. Sin embargo el método del DPPH fue usado para medición de la capacidad antioxidante de aceites, vegetales y fracciones de aceites según lo reportado por (Espin *et al*, 2000). Este ensayo ha sido aplicado a diferentes alimentos procesados, tales como alimentos de granos procesados.

Posteriormente los valores de la absorbancia serán utilizados para determinar el porcentaje de captación de radicales libres (DPPH) (Brand & Williams 1995) Los resultados se suelen expresar como IC50, es decir, la concentración de antioxidante necesaria para estabilizar un 50% del DPPH. Sin embargo, han surgido otros parámetros como la eficiencia anti-radicalaria (EA) basada en la cinética de la reacción y que involucran, además de la concentración de antioxidante.

2.5. CUANTIFICACIÓN DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS

En la actualidad existe una creciente necesidad de cuantificar a los compuestos fenólicos presentes en la dieta, en diferentes plantas y entre las distintas variedades de la misma planta; debido a su importancia en la contribución al mantenimiento de la salud humana, lo que ha hecho que cada día sean más los datos que se pueden encontrar en la bibliografía científica sobre el perfil fenólicos en diversos alimentos. Además, la gran diversidad de compuestos fenólicos dispersos en los tejidos vegetales, así como sus diferentes estructuras químicas, ha traído consigo la necesidad de desarrollar un gran

número de técnicas analíticas para su cuantificación (Martínez *et al*, 2000 citado por Tsao, 2004)

a. Método espectrofotométrico

Numerosos métodos espectrofotométricos han sido desarrollados para la cuantificación del contenido de compuestos fenólicos en materiales vegetales, los cuales son ensayos simples y rápidos, ya que no son necesarios procedimientos de limpieza de la muestra. Sin embargo, poseen ciertos inconvenientes, ya que algunos de ellos no son específicos para fenoles, por lo tanto presentan mayor interferencia (Parejo *et al*, 2004).

• Ensayo de Folin – Ciocalteu

Los métodos tradicionales para la determinación de fenoles totales se han basado en la medición directa de la absorción de la radiación ultravioleta, o más frecuentemente, mediante métodos colorimétricos como el uso del reactivo Folin-ciocalteu (Antolovich *et al*, 2000). Actualmente, el método de Folin-ciocalteu es el más utilizado para estimar el contenido total de compuestos fenólicos en extractos de plantas, alimentos y bebidas. Se basan en las propiedades óxido – reductoras de los compuestos fenólicos. Los polifenoles actúan como agentes reductores y donadores de hidrógeno o electrones (Stratil *et al*, 2007), y en esta técnica se utiliza un reactivo compuesto por una mezcla de los ácidos fosfowolfrámico y fosfomolibdico en medio básico (Na_2CO_3) el cual se reduce al oxidar los compuesto fenólicos presentes en la muestra analizada, originando compuestos azules de wolframio y molibdeno que son detectados a 755 nm (Naczka, 2004). El color obtenido en el ensayo dependerá en gran medida del potencial redox de los grupos fenólicos. Las reacciones de los fenoles con el reactivo Folin–ciocalteu son estequiométricamente predecibles; sin embargo este no es específico y detecta todos los 26 grupos fenólicos encontrados en los extractos incluyendo aquellos que forman parte de proteínas; otra desventaja de este ensayo es la interferencia de sustancias reductoras tales como ácido ascórbico (Naczka, 2004).

2.6. SECADO

2.6.1. Definición

El secado es la operación por la cual se elimina total o parcialmente el agua en la sustancia que la contiene (Fito, 2001). El secado es una operación compleja que implica la transferencia transitoria de calor y masa junto con varios tipos de procesos (Jangam *et al*, 2010), relacionados a las propiedades físicas, químicas y biológicas del alimento, tales como la actividad enzimática, deterioro microbiano, textura, viscosidad, dureza, aroma, gusto y sabor (Barbosa & Vega, 2000).

La deshidratación o secado de alimentos es una de las operaciones unitarias más utilizadas en la conservación de los mismos, con la que también se logran disminuir los costes de envasado, manejo, almacenado y transporte, ya que se disminuye el peso del alimento y en algunos casos el volumen (Barbosa & Cánovas, 2005). A pesar de que los términos de secado y deshidratación se utilizan como sinónimos, en realidad no debería ser así, porque se considera que un alimento está deshidratado si no contiene más de 2.5 % de agua, mientras que uno seco puede contener más de 2.5 % (Barbosa & Vega, 2000).

El secado de los sólidos, desde el punto de vista teórico o experimental, es la operación unitaria que consiste en retirar el contenido de humedad en un alimento, fluctúa en función de numerosos factores, en tanto que la materia seca permanece constante durante la deshidratación, cuando el aire caliente pasa sobre el alimento húmedo, el vapor de agua se difunde a través de una película que rodea al producto y se deja llevar por el aire en movimiento. Una gradiente de presión de vapor de agua se establece entre el interior húmedo del alimento y el aire seco, la cual proporciona la “fuerza motriz” para la eliminación de agua (Welti & Fellows, 2000).

El secado produce cambios en la estructura del alimento. El efecto más general y evidente, así como también el más difícil de evitar, es la contracción. Por lo general, la matriz sólida tiene una cierta resistencia, y por lo tanto la contracción es menor que el volumen de agua eliminado. Tensiones mecánicas son inducidas y la deformación se produce (Berk & Romero, 2013).

En general, el secado rápido y las altas temperaturas causan mayores cambios en la textura de los alimentos que las que generan las tasas moderadas de secado y temperaturas más bajas. Las altas temperaturas del aire (especialmente con frutas, pescados y carnes),

producen cambios químicos y físicos complejos en los solutos de la superficie, y la formación de una piel impermeable dura. Esto se denomina “caso de endurecimiento” y reduce la velocidad de secado para producir un alimento con una superficie seca y un interior húmedo. Esto se reduce al mínimo mediante el control de las condiciones de secado para evitar gradientes de humedad excesivamente altas entre el interior y la superficie del alimento (Welti & Fellows, 2000).

2.6.2. Secado en bandeja

El secador de bandejas, también llamado secador de anaqueles, de gabinete o de compartimientos (Geankoplis, 2006), consiste en una pila de bandejas o varias pilas de bandejas colocadas en una gran cámara aislada en la que el aire caliente se hace circular con ventiladores apropiadamente diseñados y paletas de guía (Mujumdar, 2011).

El aire es calentado mediante un calentador a la entrada y es forzado a pasar a través del conjunto de bandejas y sobre el producto (Barbosa & Cánovas, 2005). Los calentadores de aire pueden ser quemadores de gas directo, serpentines de vapor, intercambiadores o calentadores eléctricos y la velocidad de aire es de 2 a 5 m/s (Barbosa & Vega, 2000). Más o menos del 10 al 20 por ciento del aire que pasa sobre las bandejas es nuevo y el resto es aire recirculado (Geankoplis, 2006).

El aire caliente y seco se utiliza para suministrar el calor necesario tanto para la evaporación como para eliminar el vapor de agua de la superficie del alimento. Ambos intercambios de calor y masa entre el gas y la partícula son esencialmente transferencias de convección, aunque la conducción y radiación también pueden estar implicadas en cierta medida (Berk & Romero, 2013).

Según (Fito, 2001), el flujo de aire en este tipo de secadores puede ser:

- Horizontal, si el aire circula paralelamente al lecho a secar.
- Transversal, si el aire circula perpendicularmente al lecho a secar.

Los secadores de bandejas son útiles para secar pequeñas cargas de productos valiosos. En general se aplican cuando la capacidad necesaria no excede de 25 a 50 kg/h de producto seco. En ellos se puede secar prácticamente cualquier material, pero a causa de la mano de obra requerida para la carga y descarga, su operación resulta costosa para su baja capacidad de producción. Sin embargo, su versatilidad y la buena calidad comercial

de los productos obtenidos los hace utilizables en la deshidratación de productos agrícolas. Los rendimientos térmicos de este tipo de secador suelen estar comprendidos entre el 20 y el 50 por ciento, pudiendo ser más bajos.

El problema más grande de este tipo de secaderos es obtener un secado uniforme en los diferentes puntos de las bandejas (Barbosa & Cánovas, 2005) Generalmente, el material situado más cerca de la entrada de aire seco tiene el más bajo contenido de humedad. Con el fin de asegurar un secado más uniforme, la dirección del flujo de aire puede ser revertida o las bandejas se pueden rotar periódicamente. Algunos secadores están equipados con deflectores móviles, ajustados de manera que se obtenga una distribución uniforme del aire de secado en todo el gabinete (Berk & Romero, 2013).

Productos como las zanahorias, camotes, papas y cebollas son sensibles a la temperatura. El problema de pardeamiento, pérdida de sabor y disminución de la capacidad de rehidratación del producto seco se producen durante el secado de aire caliente, pero pueden ser resueltos por algunos pre-tratamientos como el escaldado, inmersión química y la deshidratación osmótica (Sutar & Thorat, 2011)

2.6.3. Secado por aire caliente

Este tipo de secado contempla tres periodos, el primero de inducción, en esta etapa se inicia el proceso de secado de manera que el producto se calienta y aumenta la temperatura de la interface, produciéndose una adaptación del material a las condiciones de secado, para fines de cálculos se prescinde de esta etapa ya que en el transcurso de esta tiende a estado estacionario. El segundo es el de velocidad constante, donde se presentan 3 sucesos: Velocidad de eliminación de agua en la superficie del solido es menor que la Velocidad del agua que llega a ella desde el interior, de esta manera la superficie del material se comporta como una masa de líquido, la velocidad de secado es igual a la velocidad de evaporación de agua y velocidad del flujo de calor que llega desde el aire al sólido, en tales condiciones el calor que llega al solido se invierte totalmente en la evaporación del líquido (Barbosa & Cánovas, 2005).

El tiempo transcurre hasta que Velocidad de eliminación de agua en la superficie del solido es mayor que la Velocidad del agua que llega a ella desde el interior, a este punto el calor que llega al solido se invierte en recalentarlo. Finalmente está el periodo de

velocidad constante decreciente, donde la velocidad de secado es lineal con el contenido de humedad (Geankoplis, 2006).

2.7. SECADO DE PLANTAS AROMÁTICAS Y MEDICINALES

Hoy la producción de plantas medicinales con el incremento de combustibles fósiles enfrenta grandes problemas desde el punto de vista energético. Fundamentalmente, después del cultivo y la cosecha se requieren una serie de actividades poscosecha, puntos clave para el desarrollo sustentable, energéticamente, de la producción de estas plantas. La reducción del consumo energético precisamente en dichas actividades posteriores a la producción agrícola va a depender en gran medida del tipo de secado utilizado (Rodríguez, 2012).

El secado es el proceso de transformación por el cual obtenemos planta o partes de ésta secas como pueden ser raíz, hoja, flor, pétalos, estigmas, estambres, frutos, semillas o corteza; su objetivo es estabilizar y conservar en ésta las mismas propiedades y composición en principios activos que contiene la planta fresca, evitar deterioraciones durante la conservación del material y que el aspecto visual del producto final sea aceptable para el mercado. (Moré & Melero, 2011), la parte útil a transformar dependerá de análisis previos o bibliografía donde se haya definido el potencial para la aromática a estudiar. En el caso del estragón, sus principios activos están en las hojas (Situs, 2004). Dentro de las operaciones de transformación, el secado es quien puede marcar la diferencia en el consumo energético, bien sea en la optimización de procesos establecidos, o proponiendo nuevos sistemas de secado, donde sea posible al disminuir la humedad en el material vegetal hasta porcentajes que impiden el desarrollo de los microorganismos y consecuentemente la pérdida de los principios activos (Fito, 2001).

La calidad final depende fundamentalmente del consumidor, es decir, del uso al que se destine (Rodríguez, 2012), y las políticas del país donde se exporte, en términos generales se evaluarán aspectos visuales, si su comercialización se realiza para herboristería, en cuanto a usos industriales de perfumería, industria alimentaria y licorería, su calidad la determina el color, si la venta se realiza para fines cosméticos, farmacéuticos, el determinante serán los principios activos.

2.7.1. Factores a tener en cuenta durante el proceso de secado

- Temperatura de secado: El rango de temperaturas que se utiliza para secar la mayor parte de plantas aromáticas y medicinales se encuentra entre los 30 y 40° C, hay excepciones, que han sido estudiadas en la literatura donde son rangos inferiores para evitar la alteración de los principios activos (Moré & Melero, 2011). En la mayoría de los casos, a partir de los 35° C se empiezan a perder compuestos volátiles o existe el riesgo que el producto pierda color o empiece su pardeamiento y encogimiento (Huisman *et al*, 2007). No obstante, conviene secar a la temperatura máxima que acepte el producto, ya que así el secado es más rápido. Larrasoña (2010) hizo un estudio con una estufa a 40, 50, 60 y 70 °C de temperatura, y observó una correlación lineal entre el aumento de aire de secado en la pérdida de la composición química del producto y el efecto de la altura con 5,75, y 10 cm no fue significativo.
- Tiempo de secado: En general, se prefiere que el secado sea rápido, o sea, que dure entre 22-48 horas. Un secado rápido permite preservar mejor la calidad, porque evita fenómenos de ennegrecimiento del producto, de pérdida de compuestos volátiles o de modificación de los principios activos. (Arabhosseini *et al*, 2007).
- Humedad relativa del aire de secado: El aire ambiental (aire húmedo) es una mezcla de gas (aire seco) y una cierta cantidad de vapor de agua. La humedad relativa expresa el grado de saturación de un aire en vapor de agua a una temperatura dada. En procesos de almacenamiento, se ha determinado que la humedad relativa debe estar por debajo del 60 %, considerado como el umbral para evitar el crecimiento de mohos y temperaturas entre 10 °C y 30 °C (Arabhosseini *et al*, 2007).
- Contenido de agua del material a secar: La humedad inicial de la mayor parte de las plantas se encuentra entre el 70-80%, aunque este valor depende de la especie, del órgano vegetal y de las condiciones de cultivo (Moré & Melero, 2011).
- Composición química del material a secar: Es necesario conocer qué tipo de componentes contiene el material que queremos secar, ya que posterior ha dicho tratamiento esta puede variar. Así pues, la temperatura influye en gran medida en la pérdida de la calidad de los compuestos biológicos como aceites

esenciales, sobre todo a partir de 45°C. También se ven afectados otros principios activos, como los heterósidos, alcaloides, terpenos que pueden descomponerse debido a la alta temperatura. (Huisman *et al*, 2007).

- La estructura física del material a secar, determina el flujo de aire de secado o el vacío a emplear, ya que dicha geometría determina condiciones como el ancho o grosor de la capa a secar. Refiriéndose a calidad de plantas secas, es preferible secar en capa fina (bandejas), que en gruesa (cajones) ya que el resultado obtenido es un secado más homogéneo (Moré & Melero, 2011).

2.7.2. Tipos de Secado en plantas medicinales y aromáticas

El sistema más habitual de secado es por convección de aire, que puede ser natural o forzado, tal como se aprecia en la Figura 1. También existen otros sistemas industriales más sofisticados como el secado a baja temperatura mediante el vacío, secado con rayos infrarrojos, con microondas y la liofilización. El secado natural (bajo el sol o la sombra) es dispendioso en tiempo y no se garantiza calidad en el producto refracciones de la luz o factores climáticos. Con el secado artificial el producto final que se obtiene es de excelente calidad, pero el consumo de energía es extremadamente alto.

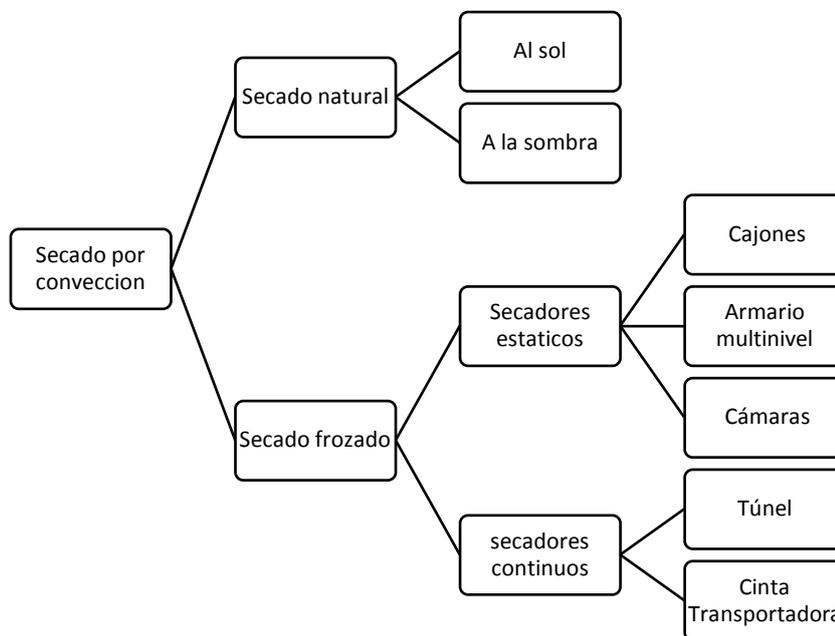


Figura N° 1. Sistemas de secado en plantas aromáticas y medicinales.

Fuente: Moré & Melero (2011).

2.8. OPTIMIZACION

2.8.1. Definición

Método para determinar los valores de las variables que intervienen en un proceso, sistema para que el resultado sea el mejor posible y selección del mejor elemento de un conjunto de elementos disponibles (Huertas, 2013). Optimizar un proceso significa muchas cosas entre las más principales es: hacer algo mejor o conseguir el mejor funcionamiento de un proceso. En nuestro caso será, ajustar las entradas a las características de un dispositivo, proceso matemático o experimento, para encontrar la salida o resultado mínimo o máximo, según lo que se requiera. (Gutiérrez, 2008).

Según Ramírez (*et al*, 2014) se ha optimizado experimentalmente el proceso de liofilización de las hojas de Estragón Ruso (*Artemisia Drancunculus* L.) y comparo estadísticamente el producto liofilizado a la condición óptima, con el obtenido por secado por convección. Se utilizó un liofilizador de bandejas, donde inicialmente el material vegetal fue enfriado desde 25 °C hasta -40 °C. La optimización se realizó con la metodología de superficie de respuesta con un diseño “optimal”, en función de la variable independiente velocidades de calentamiento de la placa (0.03 – 0.06 °C/min) desde -40 °C hasta 35 °C. Y las variables dependientes: humedad, actividad de agua, actividad antioxidante, color y tiempo. El secado por convección, fue realizado a 45 °C, y tiempo 23 a 30 horas.

2.8.2. Diseño factorial de experimentos

El diseño factorial de experimentos es una técnica estadística que permite planificar eficientemente la experimentación, de modo que con un número mínimo de ensayos se logra determinar la significancia de cada una de las variables independientes evaluadas, el efecto de su interacciones y se obtiene un modelo matemático empírico, que constituye la base para un proceso posterior de optimización. (Navidi, 2006).

2.8.3. Determinación de rangos de optimización de tiempo y la temperatura a través del Método Superficie Respuesta

Se utilizó el diseño el método de superficie respuesta, empleando el Diseño Compuesto Central Rotacional (DCCR), el cual se basa en un diseño factorial con puntos centrales y axiales. Este tipo de diseño se utiliza cuando se quiera verificar la existencia de términos cuadráticos en el modelo de regresión (Montgomery, 2002).

Este tipo de planeamiento consiste de una parte referente al planeamiento factorial 2^K (o de planeamiento fraccionario) con n_F corridas, 2^K corridas axiales o estrella y n_C corridas centrales.

2.9. LIOFILIZACIÓN

2.9.1. Definición

La liofilización se desarrolló para superar las pérdidas de los compuestos responsables de los aromas de los alimentos, los cuales se perdían en las operaciones convencionales de secado (Okus, 2000).

El proceso de liofilización consta de tres etapas: Congelación, secado primario y secundario. La congelación debe ser muy rápida con el objeto de obtener un producto con cristales de hielo pequeños, teniendo presente la temperatura eutéctica del alimento para llevarlo a un estado amorfo. La etapa de secado se realiza a presiones bajas para permitir la sublimación del hielo (Orrego & Alzate, 2008).

Llamado también criodesecación, es un método de desecado de alimentos en la que el producto se deshidrata congelándolo primero y sublimando después el hielo desde el estado congelado. El proceso consiste en congelar el alimento, crear un cierto vacío y calentarlo ligeramente para sublimar (Alcazar, 2002).

La liofilización, también llamada criodeshidratación o secado en estado congelado, es otra de las técnicas de conservación de alimentos por reducción de su actividad de agua. Destaca frente a las restantes por respetar en grado sumo las propiedades organolépticas y nutritivas del alimento procesado. Otra ventaja asociada a esta técnica es la porosidad del producto tratado, que le confiere una muy buena rehidratabilidad (Rodríguez, 2002).

La técnica de la liofilización (freeze-drying) consiste en la transformación directa (sublimación) del hielo de un alimento congelado en vapor de agua, la sublimación solo se puede hacer si la temperatura y la presión parcial de vapor del hielo son inferiores a las del punto triple (en torno a 0°C y 4,58 torrs.). La sublimación es de carácter endotérmica y el calor de sublimación es del orden de 680 kcal/kg de agua. Por lo tanto, es necesario aportar calor hasta conseguir la sublimación; pero este aporte debe controlarse con precisión, para evitar la fusión, aunque sea parcial, del alimento congelado (Cheftel *et al*, 2000).

- Etapa de congelación: La temperatura y tiempo de congelación de productos alimentarios es función de los solutos en solución que contiene (Fito, 2001).
- Etapas primaria y secundaria de secado: La primera etapa es la sublimación del hielo bajo vacío. El hielo sublima cuando se suministra la energía correspondiente al calor latente debido a la baja presión en la cámara de secado, el vapor de agua generado en la interface de sublimación es eliminado a través de los poros. La energía para la sublimación del hielo (calor latente) es suministrada por radiación o conducción a través del producto congelado (Hua, 2010).

La segunda etapa comienza cuando se ha agotado el hielo en el producto y la humedad proviene del agua parcialmente ligada en el material que se está secando la liofilización se desarrolló para superar las pérdidas de los compuestos responsables de los aromas en alimentos, los cuales se perdían en las operaciones convencionales de secado y consiste en dos etapas: 1) el producto se congela y 2) el producto se seca por sublimación directa del hielo bajo una presión reducida, este método es considerado como un método efectivo para ampliar la vida media de los alimentos. (Orrego & Alzate, 2008).

2.9.2. Características de la liofilización

Según Barbosa & Cánovas (2005), la liofilización tiene dos características importantes que son:

- virtual ausencia de aire durante el procesado. La ausencia de aire y la baja temperatura previene el deterioro debido a la oxidación o las modificaciones del producto.
- secado a una temperatura inferior al ambiente: los productos que se descomponen o sufren cambios en su estructura, textura, apariencia y/o aromas como consecuencia de temperaturas altas, pueden secarse bajo vacío con un daño mínimo.

2.9.3. Diferencias entre la deshidratación convencional y la liofilización

La liofilización ofrece con una calidad muy superior a la que se obtendría por técnicas de secado convencionales. Por otra parte, un alimento liofilizado envasado a vacío o almacenado en una atmósfera de gases inertes puede conservarse en buenas condiciones

durante al menos un año. En general esta técnica no altera sus propiedades, así las reacciones de pardeamiento no enzimático, que se desarrolla hacia contenidos en agua intermedios, no tiene de una manera apreciable. La velocidad de sublimación del hielo es lo suficientemente rápida como para reducir esta fase de transición evitando la aparición de olores y sabores asociados a estas reacciones y las posibles pérdidas de valor nutritivo del alimento (Rodríguez, 2012).

Los productos liofilizados pueden volver a su forma y estructura original por adición de agua. La estructura esponjosa del producto liofilizado permite una rápida rehidratación del mismo. Las características del producto rehidratado son análogas a las que poseía el producto fresco. La porosidad de los productos liofilizados permite una rehidratación mucho más completa y rápida que la de alimentos secados por aire (Barbosa & Vega 2000), las diferencias básicas que se presentan se pueden apreciar en la siguiente tabla N° 5.

Tabla N° 5. Diferencias entre el secado convencional y el secado por liofilización.

| DESHIDRATACION CONVENCIONAL | LIOFILIZACION |
|--|---|
| Eficaz, si se trata de alimentos Fácilmente deshidratables (verduras y granos) | Es un sistema eficaz para la mayor parte de los alimentos, pero generalmente solo se emplea cuando los otros métodos resultan ineficaces. |
| Inadecuado para la carne | Eficaz con carnes crudas o cocidas |
| Rango de temperatura 37 - 93°C | Temperaturas inferiores a las del punto de congelación. |
| Presión atmosférica | Presiones inferiores a la atmosférica (27-133 Pa) |
| Evaporación del agua desde la superficie del alimento | El agua se sublima desde el frente de hielo |

| | |
|---|--|
| Migración de los solutos y en algunas ocasiones, acorchado o endurecido | Migración de los solutos mínimo |
| El stress que se genera en alimentos sólidos provoca daños estructurales y retracción | Cambios estructurales y retracción mínimos |
| Rehidratación lenta e incompleta | Rápida y completa rehidratación |
| Las partículas sólidas o porosas son a veces más pesadas que el alimento original | Las partículas de material deshidratado poseen menos densidad que el alimento original |
| Frecuentes olores y aromas anormales | Olores y aromas generalmente normales |
| El color generalmente es oscuro | Color generalmente normal |
| Se pierde valor nutritivo | Perdidas de nutrientes mínimos |
| Más barato | Hasta cuatro veces más caro que la deshidratación convencional. |

Fuente: Welti & Fellows (2000)

2.9.4. Fundamento teórico de la liofilización

- Congelación: Es una operación unitaria en la que la temperatura del alimento se reduce por debajo de su punto de congelación, generalmente a -18°C o menos, con lo que una gran parte del agua contenida en el producto cambia de estado formando cristales de hielo. La congelación no solo es un cambio en el calor sensible del alimento, sino que también es necesario eliminar el calor latente asociado al cambio de fase correspondiente a la transformación de una parte de agua líquida en hielo (Alcazar, 2002).

La congelación de los alimentos es un método de conservación, que consiste en reducir la temperatura del producto a niveles por debajo de 0°C que evitara

un descenso significativo en la velocidad de crecimiento de microorganismos y por lo tanto, en el deterioro del producto debido a la actividad microbiana. La misma influencia de la temperatura puede aplicarse a la mayoría de las reacciones que pudieran ocurrir en el producto, tales como las reacciones enzimáticas y de oxidación. Además, la formación de cristales de hielo dentro del producto disminuye la disponibilidad del agua para participar en dichas reacciones. Cuanto menor sea la temperatura y más agua pase al estado sólido, menos agua se encontrara disponible para intervenir en las reacciones que pueda causar el deterioro del producto (Sing, 2001).

La temperatura y tiempo de congelación de productos alimentarios es función de los solutos en solución que contiene. La temperatura de congelación para el agua pura permanece constante en el punto de congelación hasta que el agua se ha congelado. Para alimentos, la temperatura de congelación es más baja que para el agua pura, que los solutos del agua no congelada se van concentrando y la temperatura de congelación va disminuyendo continuamente hasta que la solución queda congelada, convergiéndose al final en una masa rígida (Barbosa & Vega, 200).

- **Sublimación:** Es la transformación directa del sólido a vapor, sin pasar por la fase líquida. Se logra cuando la temperatura y la presión de vapor de la superficie del sólido, por ejemplo hielo, se encuentran por debajo del punto triple (aproximadamente 0°C y 4.5 mm de Hg en el caso del agua), (Alcazar, 2002). La velocidad de eliminación de agua por sublimación, está determinada por las velocidades de transmisión de calor y de transferencia de materia. Cuando la transmisión de calor es por conducción a través de la fracción seca o liofilizada del alimento, caso más habitual. En estas condiciones, la velocidad de propagación del calor hasta el frente de sublimación del hielo está condicionada por el espesor, área de transferencia y conductividad térmica del alimento, así como por el gradiente de temperaturas entre la superficie del mismo y el frente del hielo. Dicha transmisión se ve muy desfavorecida por la conductividad térmica de la capa del alimento liofilizado, muy baja, cuyo espesor aumenta conforme avanza la operación (Rodríguez, 2002).

La resistencia al paso del calor se mitiga disminuyendo el tamaño y grosor de las piezas a tratar, y/o aumentando la diferencia de temperatura antes reseñada. Respecto a este último punto, interesa operar con una temperatura en el frente de hielo lo más alta posible, sin que ello origine su fusión. Así se pretende un buen gradiente térmico se ha de actuar sobre la temperatura de la cámara, cuyo límite superior (40/50 °C) viene dado por la termo sensibilidad del alimento. La temperatura en el frente de hielo se fija a través del valor establecido para la presión en la cámara. Es importante suministrar al hielo su calor de sublimación con una cierta velocidad de lo contrario se produce un descenso en su temperatura, que se traduce en una menor velocidad de deshidratación (Rodríguez, 2002).

2.9.5. Proceso de liofilización

Según Welti & Fellows (2000), la primera fase de la liofilización es la congelación del alimento en una instalación convencional. Los alimentos pequeños se congelan más rápidamente, dando lugar a cristales de hielo muy pequeños que dañan menos su estructura, por el contrario, en alimentos líquidos se procura que la congelación sea lenta, con el objeto que se forme una red cristalina que da a lugar a la formación de unos canales por los que el vapor de agua pueda escapar, en la práctica la presión y temperatura más bajas utilizables, económicamente compatibles, son 13 Pa y -40°C por un tiempo de 24 a 72 horas, respectivamente. Según Lopez & Quiroga (2012), la temperatura para el proceso de liofilización es de mínima -40°C y máxima 20°C .

El proceso de liofilización ocurre cuando la presión de vapor de agua del alimento se mantiene por debajo de 4,58 Torr (610.5 Pa) y el agua se halla congelada, cuando el alimento se calienta el hielo se sublima directamente a vapor sin llegar a fundirse tal como se puede apreciar en la figura 2. Manteniendo la presión en el liofilizador por debajo de la presión de vapor en la superficie del hielo (mediante una bomba de vacío) y condensando el vapor mediante un condensador de serpentín (a baja temperatura) se consigue que la liofilización prosiga hasta completarse. A medida que la liofilización progresa, el frente de la sublimación se traslada hacia el interior del alimento y el calor latente para la sublimación se conduce hasta allí por conducción, o se genera en la masa del alimento por efecto de las microondas. El vapor del agua escapa del alimento a través de los canales formados por la sublimación del hielo.

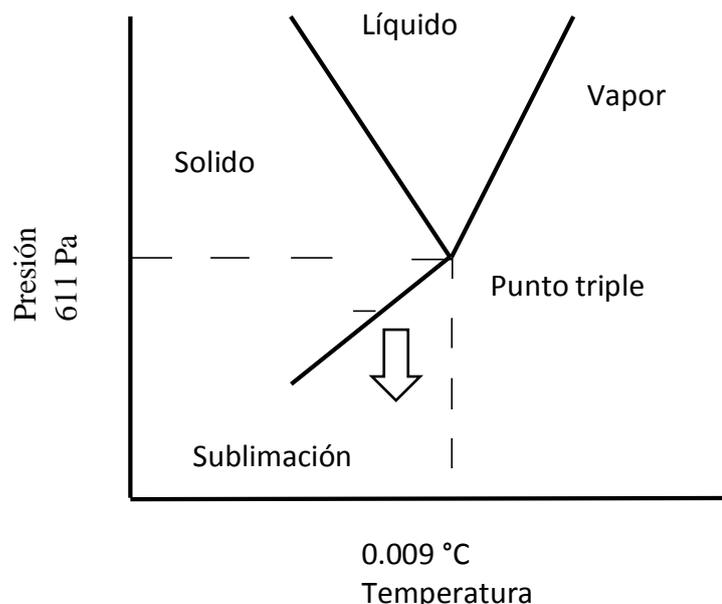


Figura N° 2. Diagrama de fases del agua

Fuente: Welty & Fellows (2000).

La liofilización tiene lugar en dos fases: La primera el producto se sublima hasta un contenido de agua del 15% (sobre peso húmedo). La segunda, que se produce por deshidratación evaporativa (desorción) del agua no congelada, el contenido en agua se reduce hasta un 2% (sobre peso húmedo); la desorción se consigue manteniendo el liofilizador a baja presión y elevando la temperatura hasta un valor próximo al del ambiente.

La velocidad de deshidratación depende principalmente de la resistencia que el alimento ofrece a la transferencia de calor y en menor grado, a la transferencia del vapor (transferencia de masa) desde el frente de sublimación.

De acuerdo a Barbosa & Vega (2000), la liofilización consta de dos etapas: congelación y secado. La congelación debe de ser muy rápida con el objeto de obtener cristales de hielo pequeños y en un estado amorfo. La etapa de secado se realiza a presiones bajas para permitir la sublimación del hielo.

2.9.6. Etapas primaria y secundaria de secado

Durante el proceso de liofilizado se pueden distinguir dos etapas de secado. La primera de ellas es la sublimación del hielo bajo vacío. El hielo se sublima cuando se

suministra la energía correspondiente al calor latente debido a la baja presión en la cámara de secado, el vapor de agua generado en la interface de sublimación es eliminado a través de los poros. El condensador previene el retorno del vapor de agua hacia el producto.

La etapa secundaria de secado comienza cuando se ha agotado el hielo en el producto y la humedad proviene de agua parcialmente ligada en el material que se está secando (Barbosa & Vega, 2000).

2.9.7. Efecto de la liofilización sobre los alimentos

Según Welti & Fellows (2000), Los alimentos liofilizados, correctamente envasados, se conservan más de 12 meses sin modificación de su valor nutritivo y sus características organolépticas. Como los componentes del aroma no se encuentran ni en agua pura, ni en los cristales de hielo, durante la sublimación no son arrastrados por el vapor de agua y quedan, por consiguiente, retenidos en la trama del alimento liofilizado por este sistema se consigue retener un 80% del aroma del alimento.

La liofilización apenas afecta a la textura del alimento, casi no provoca en ellos retracción alguna y no endurece su capa superficial. La estructura porosa de los alimentos liofilizados hace que su rehidratación sea muy rápida. Sin embargo, son alimentos frágiles que deben de protegerse de eventuales daños mecánicos. El efecto de la liofilización sobre las proteínas, almidones y otros carbohidratos es mínimo. Sin embargo, su estructura porosa los hace accesibles al oxígeno, lo que puede provocar alteraciones por oxidación de sus lípidos. Para evitarlas, se envasan en atmósferas de gases inertes.

Los productos liofilizados que han sido adecuadamente empaquetados pueden ser almacenados durante tiempos ilimitados, reteniendo la mayoría de sus propiedades físicas, químicas, biológicas y sensoriales de su estado fresco; además, reduce las pérdidas de calidad debidas a las reacciones de pardeamiento enzimático y no enzimático. El uso de bajas temperaturas también reduce la desnaturalización de proteínas en este tipo de secado (Barbosa & Vega, 2000).

En el tipo de secado, los productos de liofilización presentan mejores propiedades que los productos secados por convección, conservando su geometría inicial, de tono verdoso y con excelente actividad antioxidante (Ramírez *et al.*, 2014)

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN

El presente trabajo de investigación se desarrolló en las instalaciones del laboratorio de la planta piloto de alimentos de la Facultad de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional Agraria la Molina de la ciudad de Lima y en el laboratorio de cromatografía y espectrometría – Pabellón de Control de Calidad de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.

- La prueba de liofilización de las hojas de nabo silvestre (*Brassica Campestris* L.) se desarrolló en el laboratorio planta piloto de alimentos de la Facultad de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional Agraria la Molina de la ciudad de Lima.
- La prueba de secado de las hojas de nabo silvestre (*Brassica Campestris* L.) se desarrolló en el laboratorio de cromatografía y espectrometría – Pabellón de Control de Calidad de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.
- La evaluación de capacidad antioxidante de las hojas liofilizadas y secas del nabo silvestre (*Brassica Campestris* L.) se desarrolló en el laboratorio de cromatografía y espectrometría – Pabellón de Control de Calidad de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.
- La evaluación de compuestos fenólicos de las hojas liofilizadas y secas del nabo silvestre (*Brassica Campestris* L.) se desarrolló en el laboratorio de cromatografía y espectrometría – Pabellón de Control de Calidad de la Facultad de Ciencias de la Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco.

3.2. MATERIA PRIMA

Se empleó las hojas verdes del nabo silvestre (*Brassica Campestris* L.) Proveniente del Departamento de Puno Provincia de Yunguyo Distrito de Unicachi barrio markajja, respectivamente. La planta fue identificada por el Ing. Mario Angel Solano Larico, jefe del laboratorio de taxonomía vegetal de la facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional del Altiplano Puno (UNAP). Las muestras fueron liofilizadas, secas

y almacenadas a 4 °C en bolsas trilaminadas oscuras hasta el momento de su respectivo análisis.

3.3. EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS

3.3.1. Equipos:

- Congeladora marca PHILIPS.
- Estufa de desecado al vacío BS 50
- Espectrofotometro Genesis 20 Thermo ElectronRefrigeradora.
- Agitador eléctrico OVAN.
- Balanza analítica KERN, Capacidad 0.-220g, sensibilidad +-0.001g.
- Centrifuga JANETZKI.
- Cronometro CASIO.
- Espectrofotómetro 4802- UV/VIS DOUBLE BEAM.
- Micropipetas de 10-50 μ L marca TRANSFERPETTE y 100-1000 μ L, maraca LABOPETTE.
- Rotavapor (Laborota 4000 Heidolph).
- Sistema de liofilización (Millrock).

3.3.2. Materiales:

- Fiolas 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500 y 1000 mL
- Filtros (0.22 μ m)
- Micro pipetas de 5-50, 20-200 y 100-1000 μ L
- Pipetas de 1, 2, 5 y 10mL
- Probetas de 25, 50, 100 y 500 mL
- Tubos de ensayo de 5, 10 y 15 mL
- Vasos de precipitados de 25, 50, 100, 250, 500 y 1000 mL
- Bandejas
- Recipientes para lavado
- Cajas para muestra
- Papel craf
- Erlenmeyer de 50,100 y 250 ml
- Pipetas de 1,5,10ml

- Tamiz N° 80 (0.17mm) y N°1000(0.14) de tipo U.S.A.
- Mortero y pilon de porcelana

3.3.3. Reactivos:

- DPPH (2,2-difenil –1-picrylhydrazyl)
- Folin – cicocalteau 0.2N
- Carbonato de Sodio al 20%
- Etanol al 70 % (Sigma –Aldrich)
- Agua destilada
- Persulfato de potasio (implementaciones y reactivos)

3.4. MÉTODO EXPERIMENTAL

3.4.1. Descripción del proceso de liofilización y secado de las hojas nabo silvestre.

3.4.1.1. Descripción general del proceso:

- Selección: Se trabajó con las hojas del nabo silvestre las que presentaron las mejores condiciones (color verde intenso y tamaño de 30 a 50 cm.) para la investigación, de modo que no presenten daños físicos.
- Desinfección y limpieza: se realizó por inmersión en una solución con 50 ppm de hipoclorito de sodio durante 5 minutos, para la desinfección y eliminación de impurezas de la superficie, el proceso fue manual.
- Optimización: El nivel óptimo de las variable del proceso de liofilizado y secado se determinó mediante el método de optimización por diseños experimentales empleando el diseño de superficie de respuesta para descartar las variables no significativas y localizar la región optima, se reportó 10 tratamientos de los cuales se tomó 8 tratamientos, y donde el número de repeticiones obedece al algoritmo matemático que emplea el método para modelar condiciones óptimas, así como economizar dinero, disminuir el tiempo y numero de las mismas. El diseño se realizó en función a las variables de estudio temperatura, tiempo y los factores de respuesta capacidad antioxidante y compuestos fenólicos.
- Liofilizado: En esta operación se realizó una evaporación sólida que consistió en evaporar el agua que se encuentra en el tejido de las hojas del nabo silvestre

mediante desecación al vacío y a muy bajas temperaturas por un determinado tiempo. El proceso de liofilización se realizó en un liofilizador de bandejas (Millrock) equipado con unidad de congelación y secado, y acoplado a una bomba rotatoria de vacío, generando una presión de vacío de 0,13 Pa.

- Secado: En esta operación se procedió a secar las hojas en una estufa a diferentes temperaturas por un determinado tiempo con la finalidad de quitar la humedad de las hojas para el posterior análisis.
- Envasado: se envaso las muestras liofilizadas y secadas en bolsas trilaminadas.

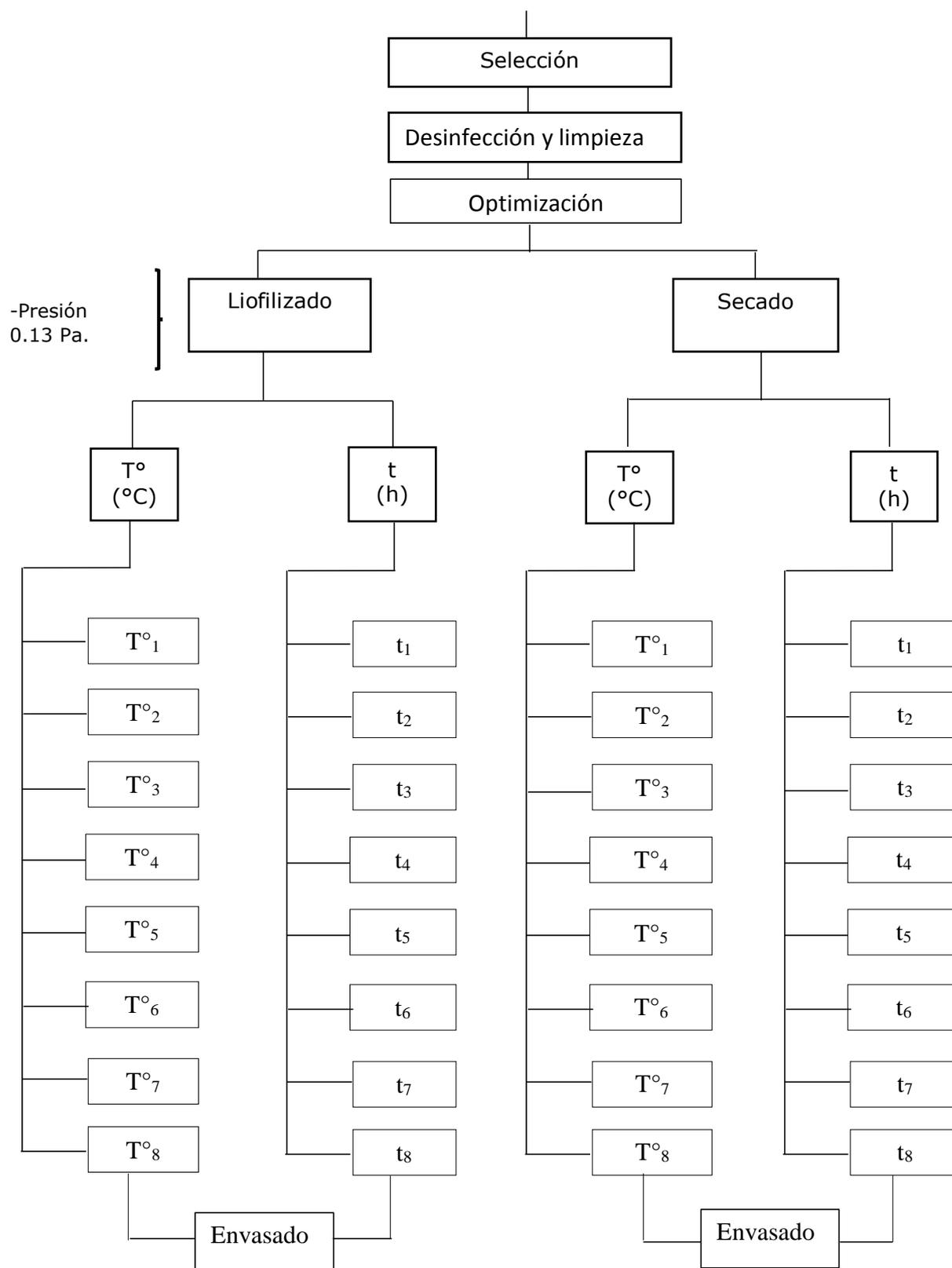


Figura N° 3. Diagrama experimental de la optimización del liofilizado y secado de las hojas de nabo silvestre

Fuente: Elaboración propia (2019)

Donde:

T° = temperatura ($^{\circ}\text{C}$)

t = tiempo (h)

Tabla N° 6. Diseño codificado y decodificado para la optimización del liofilizado y secado de las hojas de nabo silvestre.

| tratamientos | LIOFILIZADO | | | | SECADO | |
|--------------|------------------------------|-----------|---------------------------------------|---------------|---------------------------------------|---------------|
| | X1 ($^{\circ}\text{C}$) | X2 (h) | Temperatura ($^{\circ}\text{C}$) | Tiempo (h) | Temperatura ($^{\circ}\text{C}$) | Tiempo (h) |
| 1 | -1.00 | -1.00 | -40 | 24 | 30 | 3 |
| 2 | -1.00 | +1.00 | -40 | 24 | 30 | 3 |
| 3 | +1.41 | +1.41 | -10 | 36 | 35 | 14 |
| 4 | - 1.41 | 0.00 | -10 | 36 | 35 | 14 |
| 5 | +1.41 | +1.41 | 20 | 48 | 40 | 24 |
| 6 | 0.00 | - 1.41 | 20 | 48 | 40 | 24 |
| 7 | 0.00 | +1.41 | -50 | 36 | 30 | 14 |
| 8 | 0.00 | 0.00 | -50 | 36 | 30 | 14 |
| 9 | 0.00 | 0.00 | 30 | 36 | 40 | 14 |
| 10 | 0.00 | 0.00 | 30 | 36 | 40 | 14 |

Fuente: Software Statistica 10

3.4.2. Descripción del proceso de la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos de las hojas liofilizadas y secas del nabo silvestre

3.4.2.1. Descripción general del proceso:

- Recepción de materia prima: en esta etapa se recepción las hojas liofilizadas y secas del nabo silvestre en bolsas trilaminadas.
- Molienda: Una vez liofilizada y secada la muestra, se procedió a moler el producto con un mortero a fin de reducir el tamaño de partícula de las hojas secas.
- Tamizado: Una vez molida la muestra se procedió a tamizar para que la muestra quede de manera uniforme para el análisis.
- Envasado: Una vez molida la muestra y tamizada se procedió a envasar la muestra en bolsas trilaminadas para sus posteriores análisis.

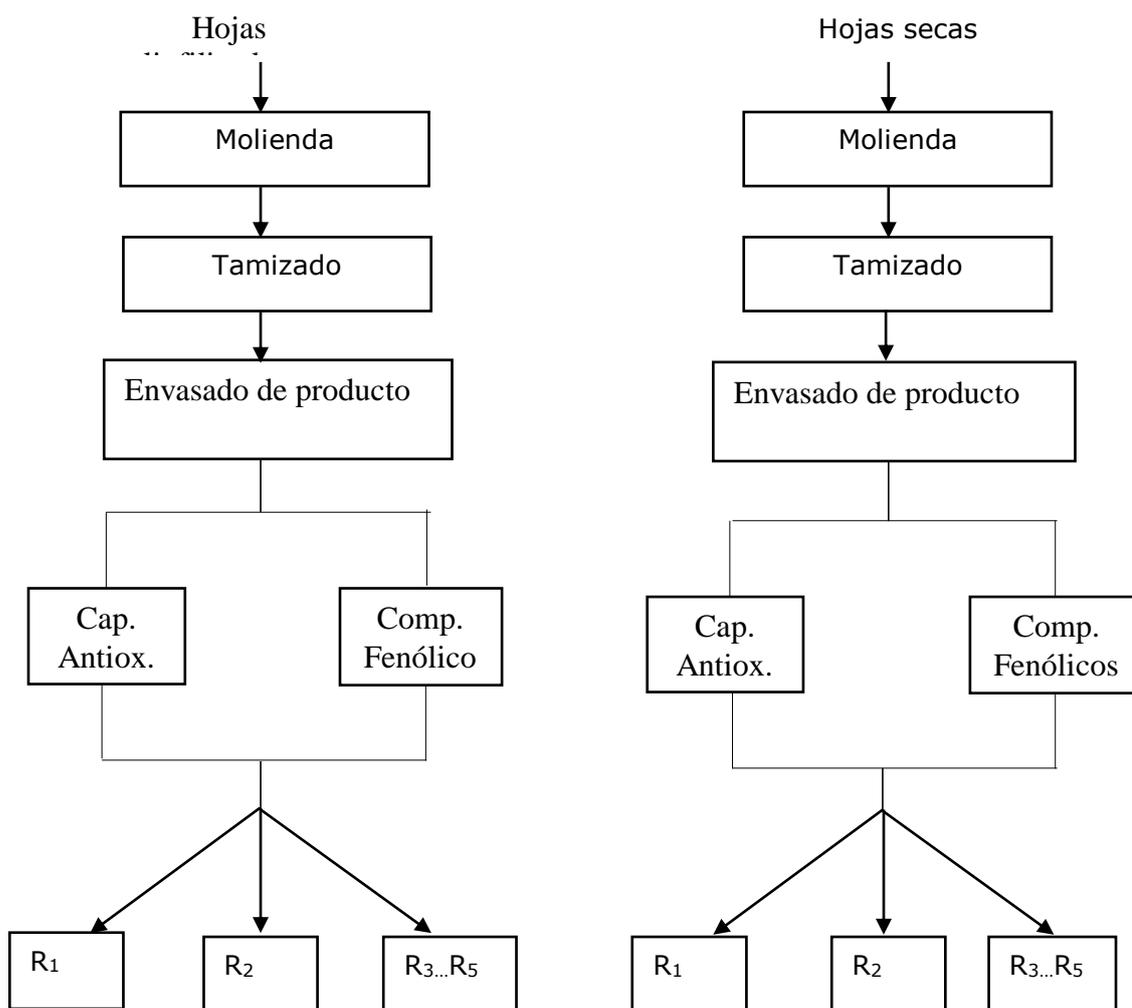


Figura N° 4. Diagrama de flujo de la Cap. Antioxidante y Comp. Fenólicos de las hojas liofilizadas y secas del nabo silvestre.

Fuente: Elaboración propia (2019)

3.5. METODO DE ANALISIS

3.5.1. Determinación de humedad

La determinación de humedad se hizo siguiendo el método gravimétrico por la pérdida de peso de la muestra al someterse a calentamiento en estufa en condiciones determinadas, hasta peso constante, método 925.23 de la (AOAC., 1995) (Association of Official Analytical Chemists). Los cálculos se hicieron como sigue:

$$\% \text{ de Humedad} = \frac{(P 1 - P 2) * 100}{P}$$

3.5.2. Determinación de compuestos fenólicos

Se empleó la metodología de Folin–ciocalteu reportada por (Singleton *et al*, 1999). El método se basa en la cuantificación espectrofotométría del complejo coloreado de la muestra formado por la reacción entre los compuestos fenólicos y el reactivo Folin-ciocalteu en medio básico (Na_2CO_3), que será determinada espectrofotométricamente a una absorbancia de 755nm. El procedimiento utilizado fue el siguiente:

Se preparan soluciones de carbonato de sodio y de Folin-ciocalteu 0.2N. Para la cuantificación de los compuestos fenólicos totales se tomó 500 μL de la muestra y se hizo reaccionar con 250 μL del reactivo Folin-ciocalteu 0.2N, a ello se le adicionó 1250 μL de carbonato de sodio. La mezcla total fue agitada y homogenizada en el equipo (agitador eléctrico) y se dejada en reposo por 30 minutos bajo condiciones de oscuridad a temperatura ambiente, luego se hizo la lectura a la longitud de onda de 755 nm., paralelamente se preparó un blanco con agua destilada en lugar de la muestra y se trabajó bajo las mismas condiciones. Este blanco fue utilizado para calibrar el espectrofotómetro.

El contenido de compuestos fenólicos totales se estimó a partir de una curva estándar elaborada con una solución acuosa de ácido gálico como patrón (Anexo I). Los resultados se expresaron como mg de ácido gálico equivalente (AGE) por cada 100g de hojas de nabo silvestre.

La ecuación para la cuantificación de compuestos fenólicos es la siguiente:

$$Y = 0.0403 \times Abs - 0.0051$$

Dónde:

Y = contenido en mg de ácido gálico/ml

Abs = Absorbancia a 755 nm.

El contenido de compuestos fenólicos totales se calculó con la siguiente ecuación:

$$mg.\acute{a}cidog\acute{a}lico/100g. = ((0.0403 \times Abs) - 0.0051) \times Fd \times A \times 100$$

Donde:

Abs = Absorbancia de la muestra medidas a 755nm

Fd = Factor de dilución

A = Volumen (mL) de solvente utilizado + peso de la muestra (gr)/peso de la muestra (gr)

3.5.3. Determinación de capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante se determinó por el método de (Brand -Williams, 1995), donde los compuestos con actividad antioxidante reaccionan con el radical estable 2,2-difenil-1-picrylhidrazil (DPPH) en una solución de etanol. El procedimiento es el siguiente:

Para proceder a la cuantificación de la capacidad antioxidante. Se llevó al espectrofotómetro a cero con etanol; aseguramos una absorbancia inicial a 517 nm de la solución diluida de DPPH alrededor de $1,1 \pm 0,02$; Con una micropipeta se añadió una alícuota de 150 uL de la muestra (en este caso, fase acuosa) con 2850 uL de la solución diluida de DPPH dentro de una probeta limpia y se cerraron ; se corrió un blanco con 150 uL del solvente puro (de acuerdo a la solución de extracción) hasta obtener un factor de corrección (debido a la dilución); Se agita la muestra (agitador eléctrico) y se dejó que la muestra y el DPPH reaccionen en la oscuridad por un tiempo de 30 min. A temperatura ambiente. Repetir las lecturas a través del tiempo hasta que no haya cambios significativos en la absorbancia. Se golpea suavemente la cubeta de vidrio hasta eliminar las burbujas y se procede a tomar la lectura del espectrofotómetro a 517 nm.

El contenido de la capacidad antioxidante se estimó a partir de una curva estándar elaborada con trolox como patrón. Los resultados se expresarán como Trolox IC50 por cada 100 ml. de hojas de nabo silvestre.

La ecuación de la curva estándar para la cuantificación de la capacidad antioxidante en etanol es la siguiente:

$$\text{Trolox} = (a + bX) \left(\frac{\text{ml de extracto total}}{\text{gr de muestra}} \right) \left(\frac{150 \text{ uL de muestra reactante}}{\text{uL extracto de muestra}} \right)$$

$$\text{Curva estándar: } Y = 0.0544 x + 0.0009$$

Donde:

Y = Trolox gr. /ml de muestra

3.6. DISEÑO EXPERIMENTAL

El diseño experimental se desarrolló, teniendo en cuenta, los factores de estudio (temperatura y tiempo), sobre las variables de respuestas (capacidad antioxidante y compuestos fenólicos) de los datos obtenidos se utilizó estadística descriptiva, realizando cálculos de coeficiente de determinación, error estándar. También se realizó el “ANOVA” para observar el efecto significativo de los factores en estudio, para ello se empleó el programa estadístico Software Statistica 10.

3.6.1. Análisis estadístico

El presente trabajo de investigación, es de tipo análisis descriptivo, porque se presentan todos los resultados del estudio; debido al tratamiento matemático planteado que permite un validamiento cuantitativo de los resultados. Este método se aplica con el propósito de establecer las conclusiones y generalizar los resultados de la investigación.

Para encontrar los mejores rangos de optimización del proceso de liofilizado y secado, se procedió a aplicar el Método de Superficie Respuesta (MSR), empleando el Diseño Central Compuesto Rotable (DCCR) de $2^2 + 4$ puntos axiales + 2 repeticiones; para evaluar la influencia del tiempo y la temperatura sobre la capacidad antioxidante y compuesto fenólicos de las hojas de nabo silvestre.

Para definir el nivel de significancia de cada uno de los tratamientos se armó la tabla ANOVA, la cual nos permitió evaluar que tratamiento tiene influencia en la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos de las hojas de nabo silvestre, observándose para un nivel de significancia del 95% y 7 grados de libertad. Se obtendrán gráficos de superficie de respuesta, los cuales nos ayudarán a seleccionar los rangos de tiempo y temperatura óptimos de liofilizado y secado en el contenido de la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos.

- Determinar y optimizar el efecto de tiempo y temperatura en la capacidad antioxidante de las hojas de nabo silvestre liofilizadas y secadas.

Diseño experimental

VARIABLES EN ESTUDIO

- Hojas liofilizadas de nabo silvestre
- Hojas secas de nabo silvestre

VARIABLES DE RESPUESTA

- capacidad antioxidante
- Evaluar y optimizar el efecto de tiempo y temperaturas en el contenido de compuestos fenólicos de las hojas de nabo silvestre liofilizadas y secadas.

Diseño experimental

VARIABLES EN ESTUDIO

- Hojas liofilizadas de nabo silvestre
- Hojas secas de nabo silvestre

VARIABLE DE RESPUESTA

- Contenido de compuestos fenólicos

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. RESULTADOS DE LA DETERMINACION Y OPTIMIZACION DEL EFECTO DEL TIEMPO Y TEMPERATURA EN LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LAS HOJAS LIOFILIZADAS Y SECADAS DE NABO SILVESTRE.

4.1.1. Capacidad antioxidante de las hojas liofilizadas de nabo silvestre

En la tabla N° 7 se muestran las concentraciones de capacidad antioxidante en las hojas de nabo silvestre, el cual fue sometido a diferentes tratamientos de temperatura y tiempo de liofilización. Los tratamientos de mayor temperatura presentó menor contenido de capacidad antioxidante entre 3.22 a 3.25 (Trolox IC 50 gr/100ml/hojas de nabo).

Tabla N° 7. Pruebas de múltiple de rango LSD Fisher al 95 % para capacidad antioxidante por tratamiento

| Orden de merito | t (h) | T (°C) | Concentración de capacidad antioxidante (Trolox IC 50 gr/100ml/hoja de nabo) | DS. | Sig. ≤ 0.05 |
|-----------------|-------|--------|--|--------|-------------|
| Patrón | | | 1.09 | ± 0.02 | |
| ML ₁ | 24 | -40 | 1.90 | ± 0.01 | a |
| ML ₂ | 24 | -40 | 2.70 | ± 0.23 | b |
| ML ₃ | 36 | -10 | 2.76 | ± 0.04 | b |
| ML ₄ | 36 | -10 | 3.17 | ± 0.38 | c |
| ML ₅ | 36 | -50 | 3.20 | ± 0.03 | c |
| ML ₆ | 48 | -50 | 3.22 | ± 0.14 | c |
| ML ₇ | 48 | 20 | 3.24 | ± 0.03 | c |
| ML ₈ | 36 | 30 | 3.25 | ± 0.05 | c |

Promedio de resultados obtenidos. ML= muestra liofilizada. DS= desviación estándar

En la tabla N° 7 Se presenta la prueba múltiple de rango LSD Fisher al 95 % para capacidad antioxidante por tratamiento ($P \leq 0.05$), en el cual se observa que existe diferencia estadística significativa entre las muestras liofilizadas, siendo mayor el ML₁ con 1.90 (Trolox IC 50 gr/100ml/hojas de nabo).

Utilizando Statistica 10 y con los datos de la tabla N° 7 se obtuvo los valores del R² y suma de cuadrados del error que permitieron elegir el modelo adecuado para predecir la concentración de capacidad antioxidante (Trolox IC 50 gr/100ml/hojas de nabo) de las hojas liofilizadas de nabo silvestre.

Donde se obtuvo que el mejor modelo que correlaciona los datos experimentales de concentración de capacidad antioxidante (Trolox IC 50 gr/100ml/hojas de nabo) fue el modelo de primer orden “Modelo de términos lineales de los efectos principales.”, ya que no existe mucha diferencia con modelos más complejos.

Tabla N° 8. Análisis de los modelos del DCCR para la concentración de capacidad antioxidante de las hojas liofilizadas de nabo silvestre.

| | Modelos de análisis del DCCR | | | |
|-----------------------------|------------------------------|----------|----------|----------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 |
| R ² | 0.825 | 0.824 | 0.823 | 0.822 |
| Suma de cuadrados del Error | 0.193050 | 0.182010 | 0.193540 | 0.189250 |

El elevado valor del coeficientes de determinación (R²) del modelo seleccionado para predecir la concentración de capacidad antioxidante de las hojas liofilizadas de nabo silvestre (R²=0.825) permite interpretar los resultados mediante gráficos de superficies de respuesta figura N° 5 y como de contorno Figura N° 6.

En la Tabla N° 9 se muestra la optimización del liofilizado y secado (tiempo y temperatura) de las hojas de nabo silvestre. Para encontrar los mejores rangos de optimización, se procedió a aplicar el Método de Superficie Respuesta (MSR), empleando el Diseño Central Compuesto Rotable de 2²+ 4 puntos axiales + 2 repeticiones en el punto central empleando el Software Statistica 10.

Tabla N° 9. Optimización del liofilizado y secado de las hojas de nabo silvestre

| VARIABLE | Liofilizado Óptimo | DS. | Secado Óptimo | DS. |
|------------------|-----------------------|-------|------------------|--------|
| Tiempo (h) | 24 | ± 1.5 | 14 | ± 2.43 |
| Temperatura (C°) | - 40 | ± 1.8 | 30 | ± 1.97 |

Fuente: Software Statistica 10

El tiempo óptimo para el proceso de liofilizado es de 24 horas respectivamente, podemos observar que se encuentra dentro el rango hallado por (Welti & Fellows, 2000), quien indica que el liofilizado sea rápido, que dure entre 24 a 72 horas, un liofilizado rápido permite preservar mejor la calidad del producto, porque evita fenómenos de ennegrecimiento del producto, de pérdida de compuestos volátiles o de modificación de los principios activos. Según Ramírez (2014) el tiempo de liofilización que presentan mejores propiedades físicas del producto es de 23 a 30 horas, esta diferencia que existe del tiempo del liofilizado con la bibliografía y el estudio realizado se debe al tipo de producto a liofilizar y sus características físicas.

De los resultados obtenidos en la tabla N° 9 podemos observar que la temperatura óptima de liofilización se encuentra dentro el rango hallado por Cheftel (2000) y Yapuchura (2010) quienes indican que la temperatura de liofilización más baja es de 0°C a - 50 °C , no obstante según Ramírez (2014) indican que la temperatura más bajas utilizables económicamente compatible es de - 40°C respectivamente ya que a esta temperatura los productos conservan su geometría inicial, de tono verdoso y con excelente actividad antioxidante, la diferencia que existe en la temperatura puede ser debido al tipo de liofilizador y producto utilizado en el proceso.

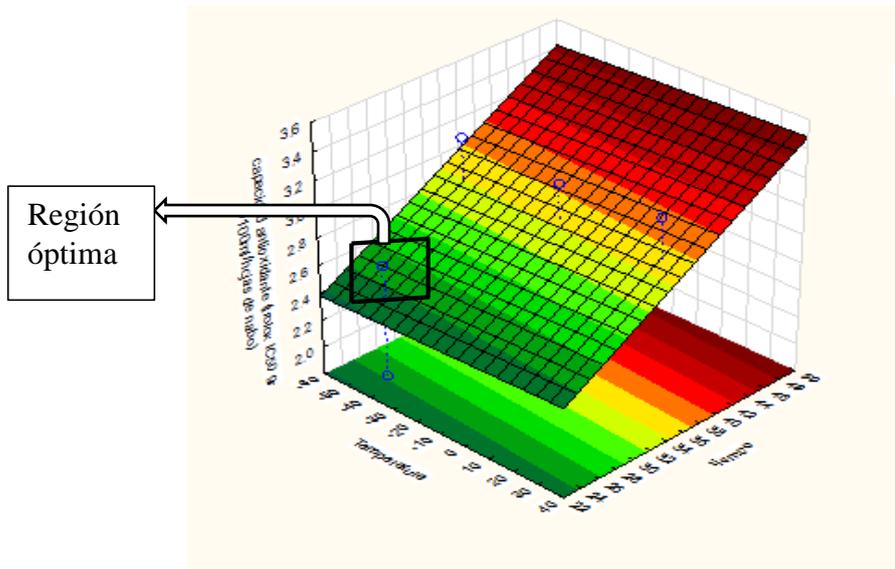


Figura N° 5. Gráfico de superficie de respuesta del contenido de capacidad antioxidante

Fuente: Statistica 10

Esta figura N° 5 indica que en la región verde se encuentra la mayor concentración de capacidad antioxidante; el valor máximo de capacidad antioxidante se encuentra en un tiempo de 24 horas y con una temperatura de - 40 C°, la región verde representan los rangos óptimos ayudándonos a encontrar la mayor concentración de capacidad antioxidante.

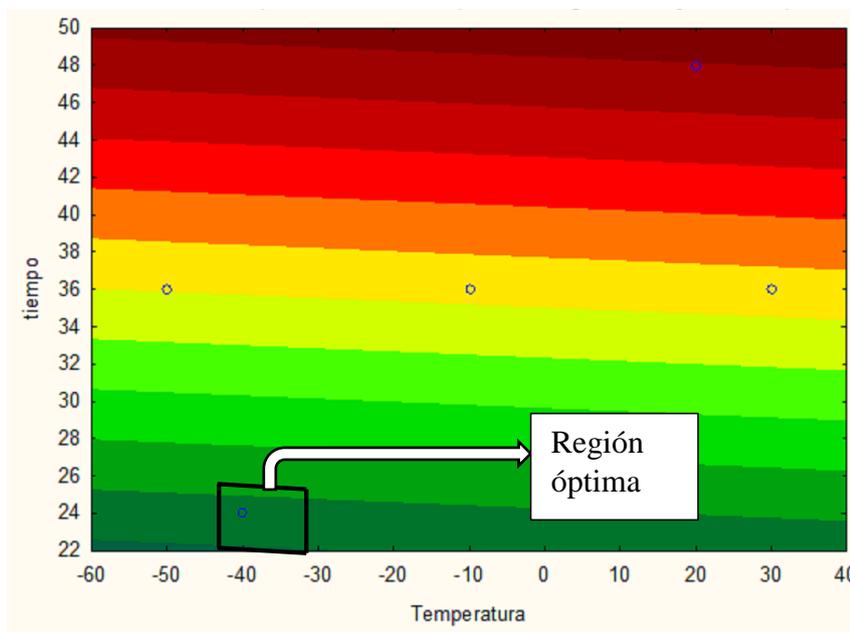


Figura N° 6. Gráfico de contorno del valor deseable del contenido de capacidad antioxidante

Fuente: Statistica 10

Esta figura N° 6 permite seleccionar la región óptima e indica que en la región verde se encuentra la mayor concentración de capacidad antioxidante, que representan los rangos óptimos y los puntos azules representan a los datos experimentales.

El valor de la capacidad antioxidante de las hojas liofilizadas de nabo silvestre hallado en la ML₁ fue de (1.90), ML₂ (2.70), ML₃ (2.76), ML₄ (3.17), ML₅ (3.20), ML₆ (3.22), ML₇ (3.24) y en la ML₈ 3.25 (Trolox IC50 gr/100ml/hojas de nabo). según Armesto (2011) indica que cuanto menor es el IC50 mejor es la capacidad antioxidante, Chua (2013) indica que un valor bajo del IC50 significa una mayor capacidad antioxidante y (Xiaodan *et al*, 2018), indica que un valor más pequeño de IC50 corresponde a una fuerte capacidad de eliminación de radicales libres de DPPH, en consecuencia una mayor actividad antioxidante, por lo que la muestra liofilizada 1 (ML₁) de las hojas de nabo silvestre presentan una actividad antioxidante significativamente más alta que las de más muestras en estudio tal como se muestra en la figura N° 5 y 6. Los resultados obtenidos en este estudio no coinciden con los observados en la bibliografía en otras *Brassicas* spp. Martínez (2010) Observo en las hojas de la berza gallega valores de IC50 de 4.42 y 8.1 gr/ml y Podsedek (2005) reporto un valor de IC50 entre 3.9 y 8.9 gr/ml. Se puede observar que los resultados obtenidos en el estudio realizado de las hojas liofilizadas de nabo silvestre son superiores a lo mencionado en la bibliografía esta diferencia se debe al medio en que se cultiva la planta, el tipo de suelo, la temperatura, el clima y otros factores.

Realizando el análisis de varianza (ANVA), (Anexo B.1) para la variable de la capacidad antioxidante de las hojas liofilizadas de nabo silvestre, se obtuvo que los efectos principales (Temperatura y Tiempo) fueron significativos ($p \leq 0.05$), lo cual nos da a entender que la temperatura y el tiempo de liofilización influyen en el contenido de la capacidad antioxidante de las hojas liofilizadas de nabo silvestre ya que presentaron diferencias significativas para los análisis realizados, lo cual nos da a entender que existe una diferencia significativa entre los tratamientos.

4.1.2. Capacidad antioxidante de las hojas secas de nabo silvestre

Se trabajó con ocho muestras de hojas secas de nabo silvestre, los resultados de dichas muestras se presentan en la tabla N°10 donde se muestran las concentraciones de capacidad antioxidante en las hojas de nabo silvestre, el cual fue sometido a diferentes tratamientos de temperatura y tiempo de secado.

Los tratamientos de mayor temperatura presentó menor contenido de capacidad antioxidante entre 5.09 y 5.17 (Trolox IC 50 gr/100ml/hojas de nabo).

Tabla N° 10. Pruebas de múltiple de rango LSD Fisher al 95 % para capacidad antioxidante por tratamiento

| Orden de merito | t (h) | T (°C) | Concentración de capacidad antioxidante (Trolox IC 50 gr/100ml/hoja de nabo) | DS. | Sig. ≤ 0.05 |
|-----------------|----------|-----------|---|------------|------------------|
| Patrón | | | 1.09 | ± 0.02 | |
| MS ₁ | 14 | 30 | 4.57 | ± 0.06 | a |
| MS ₂ | 14 | 30 | 4.62 | ± 0.09 | a |
| MS ₃ | 14 | 35 | 4.81 | ± 0.10 | a |
| MS ₄ | 14 | 35 | 5.07 | ± 0.44 | b |
| MS ₅ | 3 | 30 | 5.08 | ± 0.15 | b |
| MS ₆ | 3 | 30 | 5.08 | ± 0.28 | b |
| MS ₇ | 24 | 40 | 5.09 | ± 0.30 | b |
| MS ₈ | 24 | 40 | 5.17 | ± 0.08 | c |

Promedio de resultados obtenidos. MS= muestra seca. DS= desviación estándar

En la tabla N° 10 se presenta la prueba múltiple de rango LSD Fisher al 95 % para capacidad antioxidante por tratamiento ($P \leq 0.05$), en el cual se observa que existe diferencia estadística significativa entre las muestras secas, siendo mayor el MS₁ con 4.57 (Trolox IC 50 gr/100ml/hojas de nabo).

Utilizando Statistica 10 y con los datos de la tabla N°10 se obtuvo los valores del R² y suma de cuadrados del error que permitieron elegir el modelo adecuado para predecir

la concentración de capacidad antioxidante (Trolox IC 50 gr/100ml/hojas de nabo) de las hojas secas de nabo silvestre.

Donde se obtuvo que el mejor modelo que correlaciona los datos experimentales de concentración de capacidad antioxidante (Trolox IC 50 gr/100ml/hojas de nabo) fue el modelo de primer orden “Modelo de términos lineales de los efectos principales.”, ya que no existe mucha diferencia con modelos más complejos.

Tabla N° 11. Análisis de los modelos del DCCR para la concentración de capacidad antioxidante de las hojas secas de nabo silvestre.

| | Modelos de análisis del DCCR | | | |
|-----------------------------|------------------------------|----------|----------|----------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 |
| R ² | 0.915 | 0.913 | 0.910 | 0.912 |
| Suma de cuadrados del Error | 0.066270 | 0.064334 | 0.052348 | 0.052872 |

El elevado valor del coeficientes de determinación (R²) del modelo seleccionado para predecir la concentración de capacidad antioxidante de las hojas secas de nabo silvestre (R²=0.915) permite interpretar los resultados mediante gráficos de superficies de respuesta figura N° 7 y como de contorno Figura N° 8.

El tiempo óptimo para el proceso de secado de las hojas de nabo silvestre es de 14 horas respectivamente, podemos observar que en la tabla N° 9 se encuentra dentro del rango hallado por (Ccatamayo & Valderrama, 2010) quienes hicieron un estudio sobre el aprovechamiento agroindustrial de las hojas de nabo silvestre mediante el proceso de deshidratado por un tiempo de 3 a 24 horas los cuales mostraron resultados favorables, pero no se encuentra dentro el rango hallado por (Huisman *et al*, 2007), quienes indica que el secado sea rápido que dure entre 22 a 48 horas, esta diferencia que existe en el tiempo de secado de la bibliografía con la investigación se debe al tipo de producto, tamaño y volumen ya que un secado rápido del producto permite preservar mejor la calidad, porque evita fenómenos de ennegrecimiento del producto, de pérdida de compuestos volátiles o de modificación de los principios activos y al aumentar la temperatura el tiempo de secado reduce.

En la tabla N° 9 se observa que la temperatura óptima para el proceso de secado se encuentra dentro del rango hallado por (Moré & Melero, 2011) quienes indican que el rango de temperatura que se utiliza para secar plantas aromáticas y medicinales se encuentra entre los 30 y 40 °C para evitar la alteración de los principios activos, según (Huisman *et al*, 2007) indican que a partir de los 35 °C se empiezan a perder compuestos volátiles o existe el riesgo de que el producto pierda color o empiece su pardeamiento y encogimiento, pero no obstante indica que conviene secar a la temperatura máxima que acepte el producto, ya que así el secado es más rápido, también es necesario conocer que tipos de componentes contiene el producto que queremos secar, ya que posterior a dicho tratamiento esta puede variar. Así pues la temperatura influye en gran medida en la pérdida de la calidad de los compuestos biológicos, (Arabhosseini *et al*, 2007) indica que a partir de 45 °C también se ven afectados otros principios activos que pueden descomponerse debido a las altas temperaturas es por ello que comparando con la bibliografía la temperatura optima de secado para las hojas de nabo silvestre se encuentra dentro del rango hallado ya que a esa temperatura no pierde sus propiedades por completo.

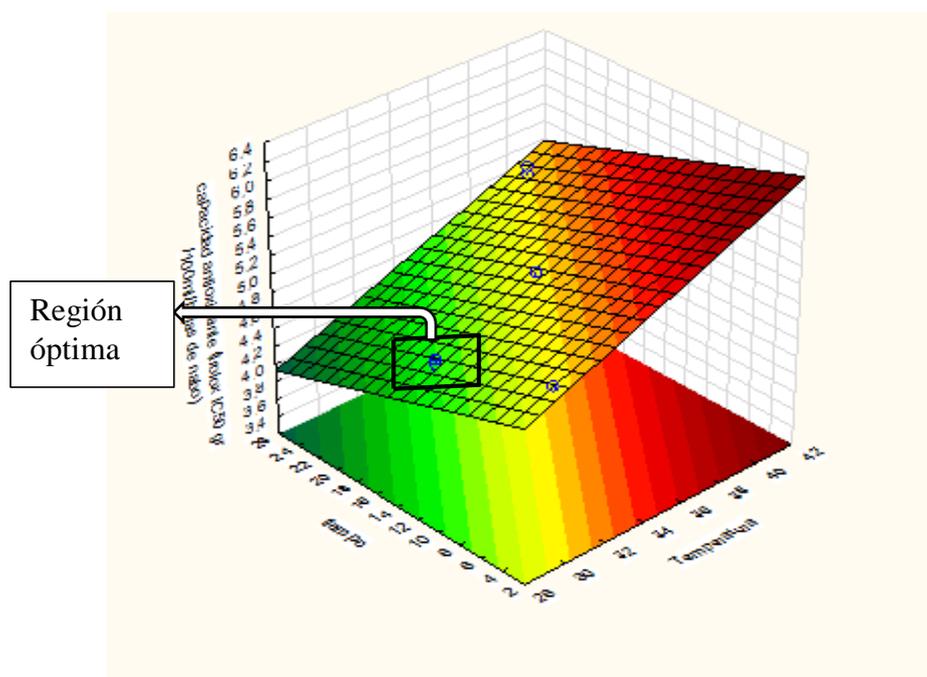


Figura N° 7. Gráfico de superficie de respuesta del contenido de capacidad antioxidante

Fuente: Statistica 10

Esta figura N° 7 indica que en la región verde se encuentra la mayor concentración de capacidad antioxidante; el valor máximo de capacidad antioxidante se encuentra en un tiempo de 14 horas y con una temperatura de 30 C°, la región verde representan los rangos óptimos ayudándonos a encontrar la mayor concentración de capacidad antioxidante.

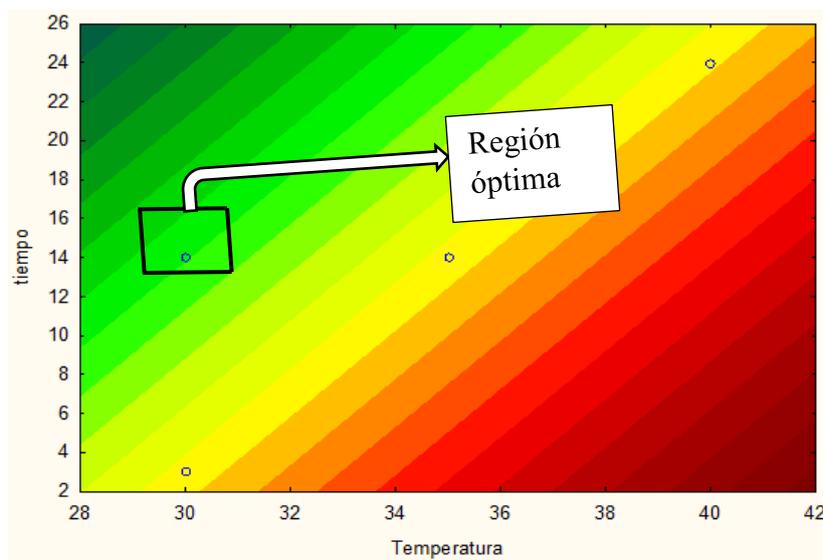


Figura N° 8. Gráfico de contorno del valor deseable del contenido de capacidad antioxidante

Fuente: Statistica 10

Esta figura N° 8 permite seleccionar la región óptima e indica que en la región verde se encuentra la mayor concentración de capacidad antioxidante, que representan los rangos óptimos y los puntos azules representan a los experimentales.

El valor de la capacidad antioxidante de las hojas secas de nabo silvestre hallado en la MS₁ fue de (4.57), MS₂ (4.62), MS₃ (4.81), MS₄ (5.07), MS₅ (5.08), MS₆ (5.08), MS₇ (5.09) y en la MS₈ (5.17) Trolox IC₅₀ gr/100ml/hojas de nabo, la MS₁ mostro una alta actividad antioxidante comparada con respecto a la MS₈ la cual presento la más baja capacidad antioxidante. Según Mckenney (2012), indica que un valor bajo de IC₅₀ tiene una mayor capacidad antioxidante, (Xiaodan *et al*, 2018) menciona que un valor pequeño de IC₅₀ significa una mayor eliminación de radicales libres de DPPH, en consecuencia una mayor actividad antioxidante (Gutiérrez *et al*, 2008), menciona que una menor concentración inhibitoria IC 50 es capaz de inhibir el 50% del radical DPPH tiene una fuerte capacidad antioxidante. Por lo que la MS₁ de las hojas secas de nabo silvestre presenta una actividad antioxidante significativamente más alta que las de más muestras en estudio. Los resultados obtenidos en este estudio coinciden con los observados en la bibliografía en otras *Brassicac* spp. Ahmed (2012) Observo en *Brassica oleracea* var. Capitata valores de IC₅₀ de 4,2 y 8,6 gr/ml y Cedeño (2016) reportó para el brócoli un valor de IC₅₀ entre 39.56 y 55.90 gr/ml. Se puede observar que los resultados obtenidos en el estudio realizado de las hojas secas de nabo silvestre son superiores a lo mencionado

en la bibliografía esta diferencia se debe al medio en que se cultiva la planta, el tipo de suelo, la temperatura, el clima y otros factores.

Realizando el análisis de varianza (ANVA), (Anexo B.2) para la variable de la capacidad antioxidante de las hojas secas de nabo silvestre, se obtuvo que los efectos principales (Temperatura y Tiempo) fueron significativos ($p \leq 0.05$), lo cual nos da entender que la temperatura y el tiempo de secado influye en el contenido de la capacidad antioxidante de las hojas secas de nabo silvestre ya que presentaron diferencias significativas para los análisis realizados, lo cual nos da a entender que existe una diferencia significativa entre los tratamientos.

4.2. RESULTADOS DE LA EVALUACIÓN Y OPTIMIZACIÓN DEL EFECTO DE TIEMPO Y TEMPERATURA EN EL CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE LAS HOJAS LIOFILIZADAS Y SECADAS DE NABO SILVESTRE.

4.2.1. Compuestos fenólicos de las hojas liofilizadas de nabo silvestre

En la tabla N° 12 se muestran los resultados de los análisis espectrofotométricos realizados, el contenido de compuestos fenólicos totales (EQ-Ac. Gálico mg/100g) de las hojas de nabo silvestre, el cual fue sometido a diferentes tratamientos de temperatura y tiempo de liofilización.

Los tratamientos de mayor temperatura presentó menor contenido de compuestos fenólicos entre 1472.62 a 1492.90 (EQ-Ac. Gálico mg/100g).

Tabla N° 12. Pruebas de múltiple de rango LSD Fisher al 95 % para el contenido de compuestos fenólicos por tratamiento.

| Orden de merito | T (°C) | t (h) | Concentración de compuestos fenólicos (EQ-Ac. Gálico mg/100g) | DS. | Sig. ≤ 0.05 |
|-----------------|--------|-------|---|------------|------------------|
| Patrón | | | 4924.87 | ± 3.59 | |
| ML ₁ | -40 | 24 | 1915.05 | ± 0.66 | a |
| ML ₂ | -40 | 24 | 1861.70 | ± 2.30 | a |
| ML ₃ | -10 | 36 | 1687.11 | ± 4.55 | b |
| ML ₄ | -10 | 36 | 1597.68 | ± 5.71 | b |
| ML ₅ | -50 | 36 | 1492.90 | ± 8.35 | c |
| ML ₆ | -50 | 48 | 1472.62 | ± 1.39 | c |
| ML ₇ | 20 | 48 | 1473.49 | ± 0.58 | c |
| ML ₈ | 30 | 36 | 1457.50 | ± 0.83 | c |

Promedio de resultados obtenidos. ML= muestra liofilizada. DS= desviación estándar

En la tabla N° 12 se presenta la prueba múltiple de rango LSD Fisher al 95 % para compuestos fenólicos por tratamiento ($P \leq 0.05$), en el cual se observa que existe diferencia estadística significativa entre las muestras liofilizadas, siendo mayor el ML₁ con 1915.05 (EQ-Ac. Gálico mg/100g).

Utilizando Statistica 10 y con los datos de la tabla N° 12 se obtuvo los valores del R^2 y suma de cuadrados del error que permitieron elegir el modelo adecuado para predecir la concentración de compuesto fenólicos (EQ-Ac. Gálico mg/100g) de las hojas liofilizadas de nabo silvestre.

Donde se obtuvo que el mejor modelo que correlaciona los datos experimentales de concentración de compuestos fenólicos (EQ-Ac. Gálico mg/100g) fue el modelo de primer

orden “Modelo de términos lineales de los efectos principales.”, ya que no existe mucha diferencia con modelos más complejos.

Tabla N° 13. Análisis de los modelos del DCCR para la concentración de compuestos fenólicos de las hojas liofilizadas de nabo silvestre.

| | Modelos de análisis del DCCR | | | |
|-----------------------------|------------------------------|--------|--------|--------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 |
| R ² | 0.811 | 0.815 | 0.813 | 0.810 |
| Suma de cuadrados del Error | 5.4224 | 5.3476 | 5.5498 | 5.4178 |

El elevado valor del coeficientes de determinación (R²) del modelo seleccionado para predecir la concentración de compuestos fenólicos de las hojas liofilizadas de nabo silvestre (R²=0.811) permite interpretar los resultados mediante gráficos de superficies de respuesta figura N° 9 y como de contorno Figura N° 10.

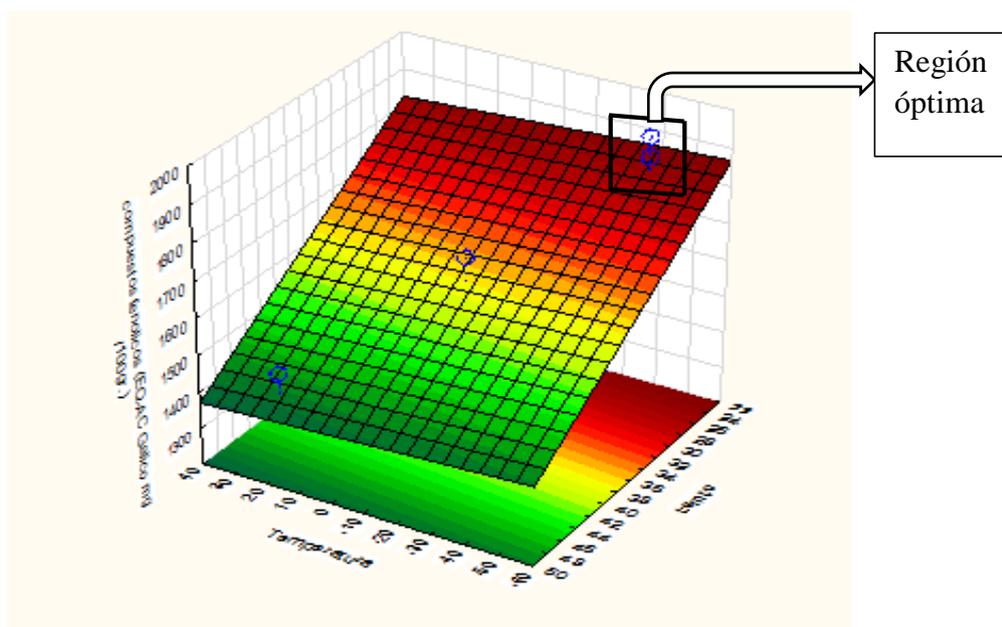


Figura N° 9. Gráfico de superficie de respuesta del contenido de compuestos fenólicos

Fuente: Statistica 10

Esta figura N° 9 indica que en la región roja se encuentra la mayor concentración de compuestos fenólicos; el valor máximo de compuestos fenólicos se encuentra en un

tiempo de 24 horas y con una temperatura de -40 C° . La región roja representan los rangos óptimos ayudándonos a encontrar la mayor concentración de compuestos fenólicos.

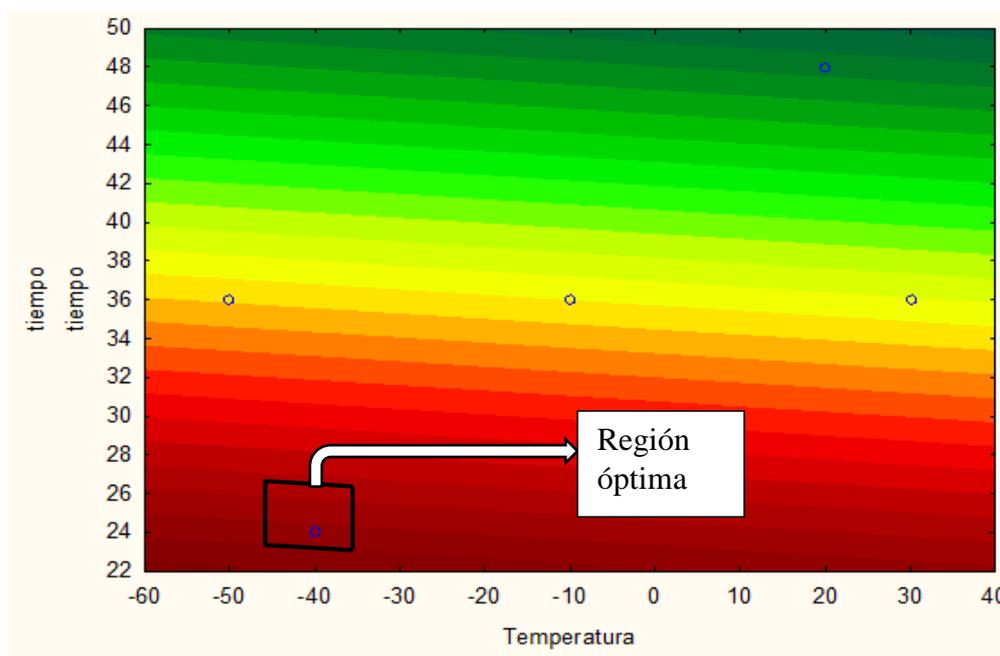


Figura N° 10. Gráfico de contorno del valor deseable del contenido de compuestos fenólicos.

Fuente: Statistica 10

Esta figura N° 10 permite seleccionar la región óptima e indica que en la región roja se encuentra la mayor concentración de compuestos fenólicos, que representan los rangos óptimos y los puntos azules representan a los experimentales.

De los resultados obtenidos podemos observar que comparando el contenido de compuestos fenólicos totales con la literatura observaron en la coliflor contenidos en fenoles totales de entre 404,1 y 649,2 mg. AGE /100 g., respectivamente (Scalzo *et al.*, 2007); de igual manera Tamer (2012) halló en coliflor, valores de 768.6 mg de ácido gálico/100 g. Como se puede observar todas las cifras presentadas son menores a los obtenidos en este estudio.

En función a los valores presentados se observa que las hojas liofilizadas de nabo silvestre mostraron grandes diferencias con respecto a lo encontrado en la literatura, estos resultados se deben a la diferencia entre las especies, las condiciones de medio ambiente donde se desarrolló la planta (clima, localización, temperatura, enfermedades y exposiciones a plagas), al tiempo de toma de muestra, los métodos de determinación empleados para la evaluación de compuestos fenólicos, entre otros (Wojdylo, 2007). Así

mismo se observa que en la figura 9, 10 la muestra liofilizada 1 (ML₁) (1915.05 EQ-Ac. Gálico mg/100g) presento mayor contenido de compuestos fenólicos con respecto a las demás muestras lo que indicaría que el tiempo y la temperatura influyen en el contenido de compuestos fenólicos, la ML₁ tiene mejores resultados con respecto a las demás muestras.

Realizando el análisis de varianza (ANVA), (Anexo B.3) para la variable del compuesto fenólico de las hojas liofilizadas de nabo silvestre, se obtuvo que los efectos principales (Temperatura y Tiempo) fueron significativos ($p \leq 0.05$), lo cual nos da entender que la temperatura y el tiempo de liofilización influye en el contenido de compuestos fenólicos totales de las hojas liofilizadas de nabo silvestre ya que presentaron diferencias significativas para los análisis realizados, lo cual nos da a entender que existe una diferencia significativa entre los tratamientos.

4.2.2. Compuestos fenólicos de las hojas secas de nabo silvestre

En la tabla N° 14 se muestran los resultados de los análisis espectrofotométricos realizados, en el contenido de compuestos fenólicos totales (EQ-Ac. Gálico mg/100g) de las hojas de nabo silvestre, el cual fue sometido a diferentes tratamientos de temperatura y tiempo de secado.

Los tratamientos de mayor temperatura presentó menor contenido de compuestos fenólicos entre 1479.52 y 1496.00 (EQ-Ac. Gálico mg/100g).

Tabla N° 14. Pruebas de múltiple de rango LSD Fisher al 95 % para el contenido de compuestos fenólicos por tratamiento.

| Orden de merito | T (°C) | t (h) | Concentración de compuestos fenólicos (EQ-AC. Gálico mg/100g) | DS. | Sig. ≤ 0.05 |
|-----------------|--------|-------|---|------------|------------------|
| Patrón | | | 4924.87 | ± 3.59 | |
| MS ₁ | 30 | 14 | 1528.88 | ± 7.39 | a |
| MS ₂ | 30 | 14 | 1525.63 | ± 8.42 | a |
| MS ₃ | 35 | 14 | 1517.97 | ± 1.99 | b |
| MS ₄ | 35 | 14 | 1524.08 | ± 5.04 | b |
| MS ₅ | 30 | 3 | 1522.78 | ± 1.86 | b |
| MS ₆ | 30 | 3 | 1487.27 | ± 8.16 | c |
| MS ₇ | 40 | 24 | 1479.52 | ± 2.98 | c |
| MS ₈ | 40 | 24 | 1496.00 | ± 8.62 | c |

Promedio de resultados obtenidos. MS= muestra seca. DS= desviación estándar

En la tabla N° 14 se presenta la prueba múltiple de rango LSD Fisher al 95 % para compuestos fenólicos por tratamiento ($P \leq 0.05$), en el cual se observa que existe diferencia estadística significativa entre las muestras secas, siendo mayor el MS₁ con 1528.88 (EQ-Ac. Gálico mg/100g).

Utilizando Statistica 10 y con los datos de la tabla N° 14 se obtuvo los valores del R^2 y suma de cuadrados del error que permitieron elegir el modelo adecuado para predecir la concentración de compuesto fenólicos (EQ-Ac. Gálico mg/100g) de las hojas secas de nabo silvestre.

Donde se obtuvo que el mejor modelo que correlaciona los datos experimentales de concentración de compuestos fenólicos (EQ-Ac. Gálico mg/100g) fue el modelo de primer

orden “Modelo de términos lineales de los efectos principales.”, ya que no existe mucha diferencia con modelos más complejos.

Tabla N° 15. Análisis de los modelos del DCCR para la concentración de compuestos fenólicos de las hojas secas de nabo silvestre.

| | Modelos de análisis del DCCR | | | |
|-----------------------------|------------------------------|--------|--------|--------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 |
| R ² | 0.845 | 0.824 | 0.832 | 0.815 |
| Suma de cuadrados del Error | 4.4570 | 4.6710 | 4.8254 | 4.9352 |

El elevado valor del coeficientes de determinación (R²) del modelo seleccionado para predecir la concentración de compuestos fenólicos de las hojas secas de nabo silvestre (R²=0.845) permite interpretar los resultados mediante gráficos de superficies de respuesta figura N° 11 y como de contorno Figura N° 12.

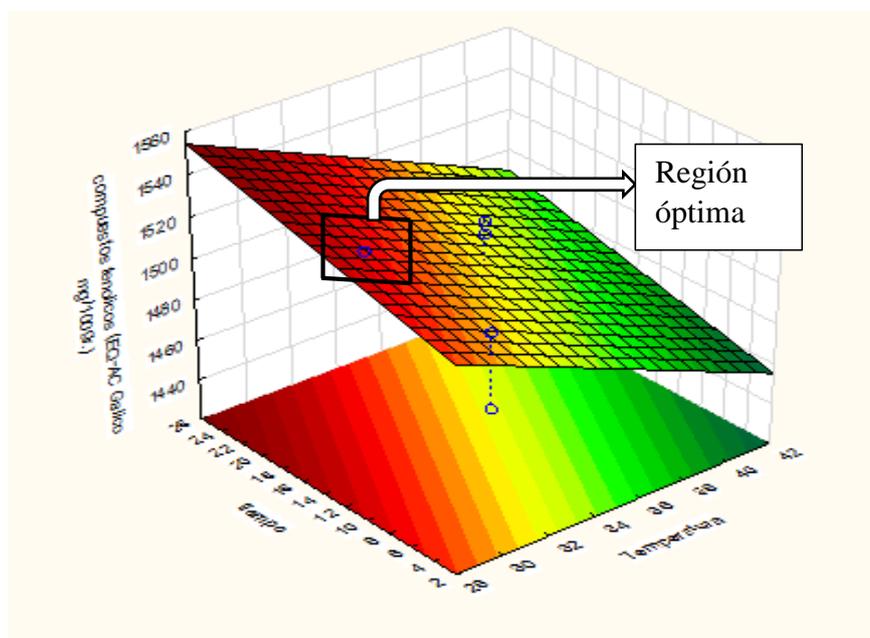


Figura N° 11. Gráfico de superficie de respuesta del contenido de compuestos fenólicos.

Fuente: Statistica 10

Esta figura N° 11 indica que en la región roja se encuentra la mayor concentración de compuestos fenólicos totales; y se encuentra en un tiempo de 14 horas y con una

temperatura de 30 C°, la región roja representan los rangos óptimos ayudándonos a encontrar la mayor concentración de compuestos fenólicos.

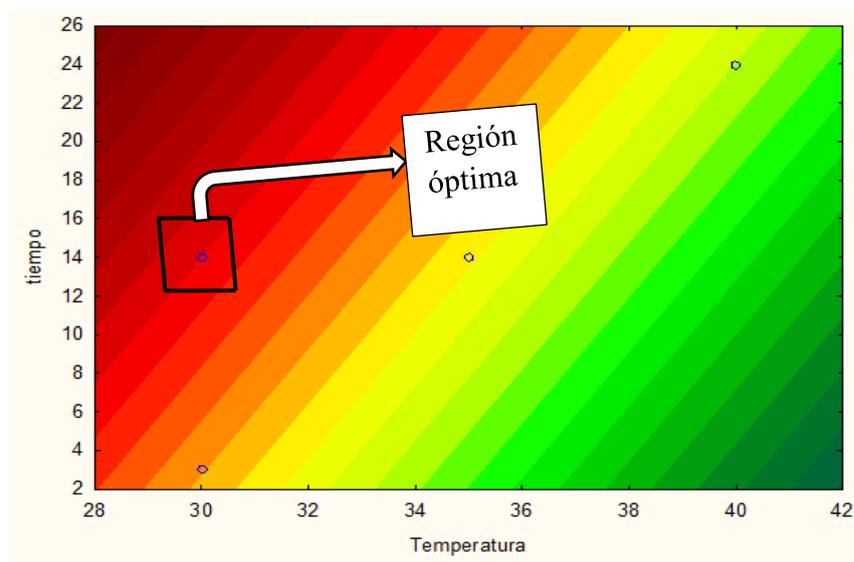


Figura N° 12. Gráfico de contorno del valor deseable del contenido de compuestos fenólicos.

Fuente: Statistica 10

Esta figura N° 12 permite seleccionar la región óptima e indica que en la región roja se encuentra la mayor concentración de compuestos fenólicos, que representan los rangos óptimos y los puntos azules representan a los experimentales.

De los resultados obtenidos podemos observar el contenido de compuestos fenólicos totales de las hojas secas de nabo silvestre fueron entre 1528.88 a 1479.52 (EQ-Ac. Gálico mg/100g). Estos valores fueron un poco superiores a los observados en un estudio previo realizado con este vegetal como la berza gallega donde se encontró valores entre 273.4 y 352.3 mg equivalentes de ácido gálico/100 g de muestra (Martínez, 2010), aunque similares a los observados en la bibliografía en otras *Brassica spp.* Murtaza (2005) determino en diferentes genotipos de *Brassica oleracea* var. *Acephala* contenidos de fenoles totales de entre 145 y 284 mg de ácido gálico/100 g de muestra. Amin (2005) obtuvo en *Brassica oleracea* var. *Capitata* un contenido medio de fenoles de 679 mg/ 100 g. Romani (2006) observó en *Brassica rapa* L. valores de fenoles totales entre 221.5 y 250.7 mg ácido gálico/100 g de muestra. Como se puede observar todas las cifras presentadas son menores a los obtenidos en este estudio.

En función a los valores presentados se observa que las hojas secas de nabo silvestre mostraron grandes diferencias con respecto a otras especies de *Brassica spp.*, las variaciones observadas pueden estar relacionadas con el genotipo, pero también con el tipo y las condiciones de cultivo, el estado de maduración, las condiciones de almacenamiento postcosecha, la parte de la planta en estudio, etc. (Aires, 2011; Fernandes, 2007) estos resultados se deben a la diferencia entre las especies, las condiciones de medio ambiente donde se desarrolló la planta (clima, localización, temperatura, enfermedades y exposiciones a plagas), al tiempo de toma de muestra, los métodos de determinación empleados para la evaluación de compuestos fenólicos, entre otros (Wojdylo *et al.*, 2007). Así mismo se observa que la muestra seca 1 (MS₁) (1528.88 EQ-Ac. Gálico mg/100g) presentó mayor contenido de compuestos fenólicos con respecto a las demás muestras lo que indicaría que el tiempo y la temperatura influyen en el contenido de compuestos fenólicos. Indicando que la MS₁ tiene mejores resultados con respecto a la muestra patrón.

Realizando el análisis de varianza (ANVA), (Anexo B.4) para la variable de los compuestos fenólicos de las hojas secas de nabo silvestre, se obtuvo que los efectos principales (Temperatura y Tiempo) fueron significativos ($p \leq 0.05$), lo cual nos da a entender que la temperatura el tiempo de secado influye en el contenido de compuestos fenólicos totales de las hojas secas de nabo silvestre ya que presentaron diferencias significativas para los análisis realizados, lo cual nos da a entender que existe una diferencia significativa entre los tratamientos.

4.3. COMPOSICION DE LAS HOJAS DE NABO SILVESTRE DEL LIOFILIZADO Y SECADO

La evaluación del contenido de capacidad antioxidante y compuestos fenólicos del liofilizado y secado.

4.3.1. Capacidad antioxidante (liofilizado y secado)

En la Tabla N° 16 se muestra el efecto del tipo de proceso (liofilizado y secado) en el contenido de capacidad antioxidante de las hojas de nabo silvestre, donde se puede observar que las muestras tienen diferentes contenidos de capacidad antioxidante y su comportamiento al ser sometida a diferentes procesos varia. Los valores iniciales para la capacidad antioxidante de las hojas liofilizadas (1.90 a 3.25 Trolox IC 50 gr/100 g/Hojas

de Nabo) en las hojas secas los valores están entre (4.57 a 5.17 Trolox IC 50 gr/100 g/Hojas de Nabo) esto disminuye al ser sometido al proceso de secado.

Xiaodan Zhang (2018), menciona que un valor pequeño de IC50 significa una mayor eliminación de radicales libres de DPPH, en consecuencia una mayor actividad antioxidante Gutiérrez (2008) menciona que una menor concentración inhibitoria IC 50 es capaz de inhibir el 50% del radical DPPH tiene una fuerte capacidad antioxidante.

Tabla N° 16. Efecto del tipo de proceso de la capacidad antioxidante de hojas de nabo silvestre.

| Tipo de proceso | Capacidad Antioxidante (Trolox IC 50 gr/100 g/Hojas de Nabo) ($\bar{X} \pm S$) | | | | | | | | |
|-----------------|--|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|-------------|
| | Patrón | M1 | M2 | M3 | M4 | M5 | M6 | M7 | M8 |
| Liofilizado | 1.09 ± 0.02 | 1.90 ± 0.01 | 2.70 ± 0.23 | 2.76 ± 0.04 | 3.17 ± 0.38 | 3.20 ± 0.03 | 3.22 ± 0.14 | 3.24 ± 0.03 | 3.25 ± 0.05 |
| Secado | 1.09 ± 0.02 | 4.57 ± 0.06 | 4.62 ± 0.09 | 4.81 ± 0.10 | 5.07 ± 0.44 | 5.08 ± 0.15 | 5.08 ± 0.28 | 5.09 ± 0.30 | 5.17 ± 0.08 |

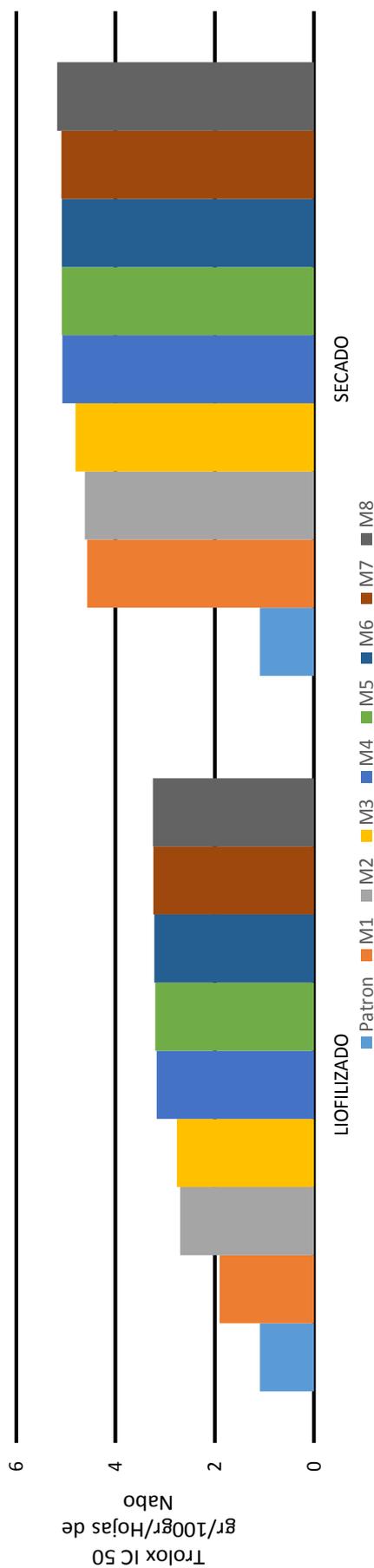


Figura N° 13. Efectos de los procesos de liofilizado y secado en el contenido de la capacidad antioxidante de hojas de nabo silvestre.

De los resultados obtenidos se tiene que la capacidad antioxidante del proceso de liofilización tiene mejores resultados que el proceso de secado tal como se muestra en la figura N° 13.

Los resultados obtenidos en este estudio coinciden con los observados en la bibliografía en otras *Brassicas* spp. Martínez (2010) observo en las hojas de la berza gallega valores de IC50 de 4.2 y 8.1 gr/ml y Podsedek (2005) reporto un valor de IC50 entre 3.9 y 8.9 gr/ml. Se puede observar que los resultados obtenidos en el estudio realizado del contenido de capacidad antioxidante, las hojas liofilizadas presentaron mejores resultados que las hojas secas de nabo silvestre esta diferencia se debe a los diferentes procesos (liofilizado y secado) a los que fueron sometidos las hojas de nabo silvestre los resultados primarios se encuentran en el Anexo A.

Realizando el análisis de varianza (ANVA), (Anexo B.5) para la variable de la capacidad antioxidante de las hojas liofilizadas y secas de nabo silvestre, se obtuvo que los procesos principales (Liofilizado y Secado) fueron significativos ($p \leq 0.05$), lo cual nos da entender que el tiempo y la temperatura del proceso de liofilizado y secado influye en el contenido de capacidad antioxidante de las hojas de nabo silvestre ya que presentaron diferencias significativas para los análisis realizados, lo cual nos da a entender que existe una diferencia significativa entre los procesos.

4.3.2. Compuestos fenólicos (liofilizado y secado)

En la tabla 17 donde se muestra los resultados y el efecto del tipo de proceso (liofilizado y secado), en el contenido de compuestos fenólicos totales de las hojas de nabo silvestre, el cual es el promedio de cinco repeticiones y la desviación estándar; en la figura N° 14 se observa que las hojas liofilizadas de nabo silvestre presentaron mejores resultados en el contenido de compuestos fenólicos con respecto a las hojas secas.

Tabla N° 17. Efecto del tipo de proceso de compuestos fenólicos de hojas de nabo silvestre.

| Tipo de proceso | Compuestos Fenólicos (EQ-AC. Gálico mg/100 g) ($\bar{X} \pm S$) | | | | | | | | |
|-----------------|---|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| | Patrón | M1 | M2 | M3 | M4 | M5 | M6 | M7 | M8 |
| Liofilizado | 4924.87 ± 3.59 | 1915.05 ± 0.66 | 1861.70 ± 2.30 | 1687.11 ± 4.55 | 1597.68 ± 5.71 | 1492.90 ± 8.35 | 1472.62 ± 1.39 | 1473.49 ± 0.58 | 1457.50 ± 0.83 |
| Secado | 4924.87 ± 3.59 | 1528.88 ± 7.39 | 1525.63 ± 8.42 | 1517.97 ± 1.99 | 1524.08 ± 5.04 | 1522.78 ± 1.86 | 1487.27 ± 8.16 | 1479.52 ± 2.98 | 1496.00 ± 8.62 |

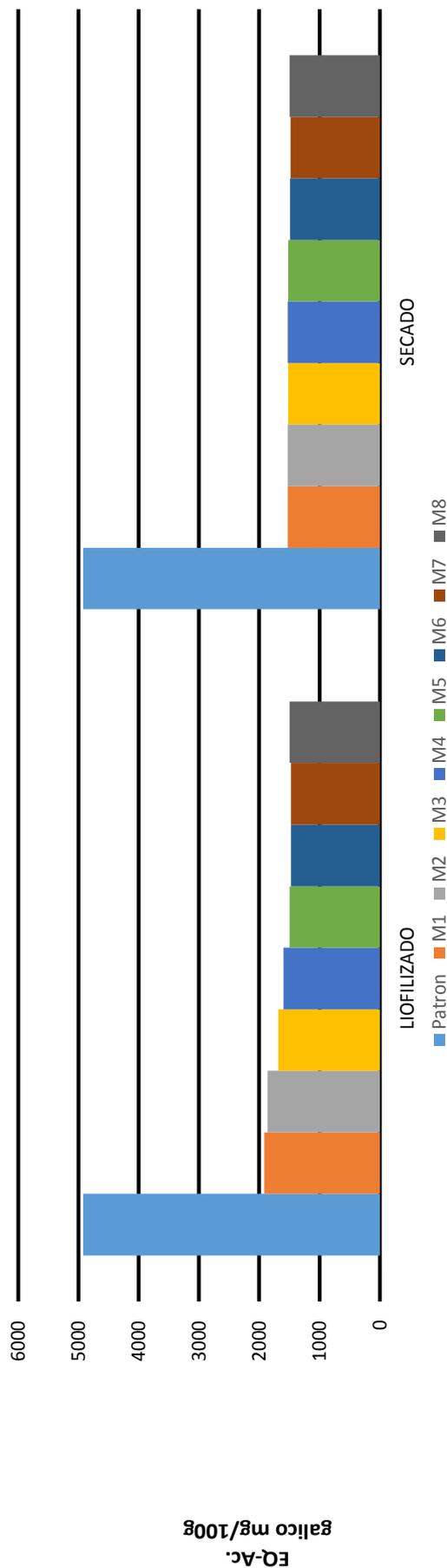


Figura N° 14. Efectos de los procesos de liofilizado y secado en el contenido de compuestos fenólicos de hojas de nabo silvestre.

De los resultados obtenidos se tiene que los compuestos fenólicos de las hojas liofilizadas de nabo silvestre los valores se encuentran entre 1915.05 a 1472.62 (EQ-Ac. Gálico mg/100g) mientras que las hojas secas de nabo silvestre los valores fueron de 1528.88 a 1479.52 (EQ-Ac. Gálico mg/100g), por lo tanto, se sostiene que los compuestos fenólicos de las hojas de nabo silvestre ante un proceso de liofilizado presentaron mejores resultados que en el proceso de secado lo que indica que la liofilización y el secado influyen en el contenido de compuestos fenólicos.

Podemos observar que existe una diferencia entre los procesos de liofilizado y secado. Por lo tanto, el mejor tratamiento en cuanto al contenido de compuestos fenólicos fue el proceso de liofilización, tal como se muestra en la Figura N° 14. Todos los resultados primarios se encuentran en el Anexo A.

Por su parte Ramírez (2014), obtuvo como resultado del proceso de liofilización de las hojas de Estragón Ruso el incremento de compuestos fenólicos totales 293.3 a 309.6 (mg. de AGE/g) (b.s) y según Romani (2006) hallaron en *Brassica rapa* L. subs. *sylvestrys* valores de fenoles totales entre 221.5 y 250.7 mg ácido gálico/100 g de muestra respectivamente; el proceso de liofilización influye positivamente en el contenido de compuestos fenólicos totales de las hojas de nabo silvestre, esto debido a que las hojas de nabo silvestre fueron sometidos a bajas temperaturas por un determinado tiempo. La reducción de compuestos fenólicos en el proceso de secado puede atribuirse a la descomposición de compuestos fenólicos en virtud de la alta temperatura de secado.

Realizando el análisis de varianza (ANVA), (Anexo B.6) para la variable de los compuestos fenólicos de las hojas liofilizadas y secas de nabo silvestre, se obtuvo que los procesos principales (Liofilizado y Secado) fueron significativos ($p \leq 0.05$), lo cual nos da entender que el liofilizado y secado influye en el contenido de los compuestos fenólicos de las hojas de nabo silvestre ya que presentaron diferencias significativas para los análisis realizados, lo cual nos da entender que existe una diferencia significativa entre los procesos.

V. CONCLUSIONES

Se determinó capacidad antioxidante de las hojas liofilizadas y secas de nabo silvestre donde se observa que los mejores resultados obtenidos son de las hojas liofilizadas (1.90 a 3.25 Trolox IC50 gr/100ml/hojas de nabo) con respecto a las hojas secas (4.57 a 5.17 Trolox IC50 gr/100ml/hojas de nabo), el tiempo y la temperatura influyen en el contenido de la capacidad antioxidante. El tiempo y la temperatura óptima para el proceso de liofilizado de las hojas de nabo silvestre fue de 24 horas a $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$, el tiempo y la temperatura óptima para el proceso de secado de las hojas de nabo silvestre es de 14 horas a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Las hojas liofilizadas de nabo silvestre presento mayor contenido de compuestos fenólicos totales (1915.05 a 1492.90 EQ-AC mg/100gr) con respecto a las hojas secas de nabo silvestre (1528.88 a 1496.00 EQ-AC mg/100gr), donde se observa que el tiempo y la temperatura influyen en el contenido de compuestos fenólicos. El tiempo y la temperatura óptima para el proceso de liofilizado de las hojas de nabo silvestre fue de 24 horas a $-40\text{ }^{\circ}\text{C}$, el tiempo y la temperatura óptima para el proceso de secado de las hojas de nabo silvestre es de 14 horas a $30\text{ }^{\circ}\text{C}$.

VI. RECOMENDACIONES

Evaluar la viabilidad de los procesos de secado y liofilizado que son alternativas a la preservación de la vida útil de los productos.

Si bien la liofilización, permitió obtener mejores cualidades de las hojas de nabo silvestre analizar además de las características fisicoquímicas y color y otras con relevancia comercial como lo son las organolépticas, composición biológica, así mismo considerar el estudio del almacenamiento y empaque.

Evaluar el uso potencial de los compuestos fenólicos de las hojas de nabo silvestre como producto funcional o nutraceutico, por medio de investigaciones in vivo, incluyendo estudios de absorción y el metabolismo en el tracto gastrointestinal.

VII. REFERENCIAS

- Aherne, N. A. (2002). Dietary flavonols food content, and metabolism. *Nutrition. Chemistry*, 18, 75 - 81.
- Aires, A. F. (2011). Seasonal effects on bioactive compounds and antioxidant capacity of six economically. *Molecules*, 16, 6816 - 6832.
- Ahmed, M. F. (2012). Phytochemical studies and antioxidant activities of *brassica oleracea* l.var.capitata. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4, 374 - 378.
- Alcazar del Castillo, J. (2002). *Diccionario Técnico de Industrias Alimentarias* 2da. Ed. Cusco-Perú.
- Alcolea, J. C. (2002). Hydrophilic and lipophilic antioxidant activities of grapes. *Molecular Nutrition & Food Research*, 46, 353-356.
- Amin, I. (2005). Effect of different blanching times on antioxidant properties in selected cruciferous vegetables. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85, 2314 – 2320.
- Antolovich, M., Prenzler, P., Robards, K., & Ryan, D. (2000). Sample preparation in the determination of phenolic compounds in fruits. *The Analyst Critical Review*, 125, 989 - 1009.
- AOAC. (1995). *Oficial Methods of Analysis* . Association of Oficial Analytical Chemistry, Arlington, Va, U.S.A.
- Arabhosseini, A., Huisman, W., Boxtel, A. V., & M`uller, J. (2005). Modeling of the equilibrium moisture content (EMC) of Tarragon (*Artemisia Dracunculus* L.). *International journal of food engineering*, Art. 7.
- Armesto, J. C. (2011). capacidad antioxidante y contenido en fenoles totales de la berza gallega (*Brassica oleracea* var *acephala* cv Galega). *SciELO*, 16, 60 - 68.

- Arnao, M. B. (2000). Some methodological problems in the determination of antioxidant activity using chromogen radicals: a practical case. *Trends in Food Science & Technology*,11, 419 - 421.
- Assimopoulou. (2004). Antioxidant activites of alkannin, shikonin and alkanna tintoria Art. extract in oil substrates. *Food chemistry*, 87, 433 - 438.
- Avello, M. (2006). Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Redalyc.Org*, 6, 479 - 486.
- Barbosa & Vega, H. (2000). Capitulo 7 Liofilización. En Deshidratacion de alimentos (págs. 203- 219). Acribia S. A.
- Barbosa, K. (2008). Influence of dietary intake on plasma biomarkers of oxidative stress in humans. *An Sist Sanit Navar*,3, 59 - 80.
- Barbosa & Cánovas, G. (2005). Dehydration of Foods. Chapman & Hall. *Redalyc.Org*,12, 265 - 288.
- Belitz, H. (2002). Química de los Alimentos Segunda edición, editorial Acribia, Zaragoza, España. Pag.198 - 205.
- Berk, Z., & Romero, L. (2013). Dehydration Food Process Engineering and Technology. Second Edition. Academic Press. Pag. 255 - 278.
- Brand & Williams, W. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT. Food Science and Technology*,28, 25 - 30.
- Cadenas, E. (2001). Obtenido de Sustancias flavonoides. [Accesado el 18 de Marzo de 2019]: Disponible en: www.antioxidants.com.ar/12/Art020.htm.
- Calsin, M. (2007). Obtención extracto Antioxidantes de Mashua (*Tropaeolum tuberosum Ruiz & Pavón*) y la evaluación de su eficacia en la oxidación de aceite de soya refinada. Tesis para obtener el grado de Ingeniero Agroindustrial. Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial, Universidad Nacional del Altiplano, Puno, Perú.

- Ccatamayo, R., & Valderrama, V. (2010). Aprovechamiento agroindustrial de las hojas de nabo silvestre mediante el proceso de deshidratado para la seguridad alimentaria. Proyecto " Fortalecimiento de Organizaciones Indigenas y Apoyo al Rescate de Productos Tradicionales" Escuela de Académico Profesional de Agroindustrias, Universidad Nacional de Huancavelica - Perú.
- Cheftel, J. C., Cheftel, H. & Besacon, P. (2000). Introducción a la Bioquímica y Tecnológica de los Alimentos. Zaragoza-España.: Vol. II. Editorial Acribia.
- Cedeño, P. (2016). Efecto del almacenamiento y envasado sobre las características de calidad funcional del brócoli (*Brassica oleracea*, L.). Trabajo de fin de grado. Escuela Politécnica Superior de Orihuela, Universidad Miguel Hernández de Elche.
- Chua, L. S. (2013). Antioxidant Activity of Three Honey Samples in relation with. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 45, 230 - 245.
- Dastmalchi, K., Dormana, J. D., Oinonena, P. P., Darwisd, Y., Laaksoa, I., & Hiltunena, R. (2008). Chemical composition and in vitro antioxidative activity of a lemon balm (*Melissa officinalis* L.) extract. *LWT. Food Science and Technology*, 41, 391 - 400.
- Dimitrios, B. (2006). Sources of natural phenolic antioxidants Trends in . *Food Science & Technology*, 17, 505 - 512.
- Espin, J., Soler-Rivas, C. & Wichers, H. .J. (2000). Charactertization of total free Radical Scavenger Capacity of vegetable Oils Fraccións Using 2,2 – diphenyl-1-picrylhydrazil Radical. *Journal Agric. Food Chemistry*, 48, 65 - 80.
- Espinosa, Heike Vibrans, & Sarukhán, J. (2009). Manual de Malezas del Valle de México. Claves, descripciones e ilustraciones. Mexico, D. F. Fondo de Cultura Económica: Editorial Continental.
- Fernandes, F. V. (2007). Chemical and antioxidative assessment of dietary turnip (*Brassica rapa* var. *rapa* L.). *Food Chemistry*, 105, 1003 - 1010.
- Fito M., P. A. (2001). Introducción al secado de alimentos por aire caliente. Medellín: Editorial de la UPV. Pag. 165 - 189.

- Flores, J. (2000). *Farmacología humana*. España: Masson.: 3rd Barcelona. *Fundacion universitaria iberoamericana - Funiber Brasil - Italia-USA Copyright* . (2005-2017). Obtenido de <http://www.composicionnutricional.com>.
- Gamarra, E. (2003). Extracción de betaninas de las semillas de Ayrampo(*Opuntia Sochrensi Brinton & Rose*), evaluación de la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos de los extractos. Tesis para optar el título de Ingeniero en Industrias Alimentaria UNALM. Lima-Perú .Pag.115.
- Garcia. (2005). Absorción in vivo de oligómeros de epicatequina Tesis Niversitat Rovira Ivirgili. Tarragona.
- Geankoplis, C. (2006). *Procesos de transporte y principios de procesos de separación* . México: Editorial Continental.Pag. 376 - 398.
- Gutierrez, Avella, D.M., Ortiz Garcia, A., & Mendoza Cisneros A. (2008). Medicion de Fenoles y Actividad Antioxidante en malezas usadas para alimentacion animal. *redalyc.org*,45,98 - 123.
- Gutiérrez, H. (2008). "*Análisis de Diseño de Experimentos*", México: Ediciones Me Graw Hill- Segunda Edición.
- Hua, T. C. (2010). *Freeze- drying of pharmaceutical and food products*. New York: CRC Press.
- Huertas, R. G. (2013). Using response surface methodology to optimise factors in conjoint experiments. *International Journal of Market Research*, 6, 234 - 278.
- Huisman, W., Boxtel A. V., Mu, J., & Arabhosseini, A. (2007). Long-term effects of drying conditions on the essential oil and color of tarragon leaves during storage. *Journal of Food Engineering*, 79 , 561 - 566.
- Jangam, S V., Law,C L., & Mujumdar, A. S. (2010). Basic Concepts and Definitions. Drying of Foods, Vegetables and Fruits. *Food Science and Technology*,28, 517-522.
- Larrasoña, I. O. (2010). Influencia de la temperatura y tiempo de secado en la calidad de hojas de *Cymbopogon Citratus* D.C. STAF.Pag. 1 - 22.

- Lima M.,. (2005). A new approach for the sequential injection spectrophotometric determination of the total antioxidant activity. *Talanta*, 68, 207 - 213.
- Londoño, J. (2006). Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad. Programa de ingeniería de alimentos, Facultad de Ingenierías, Corporación Universitaria Grial-España.
- Lopez & Quiroga, E. A. (2012). Time-scale modeling and optimal control of freeze-drying. *Journal of Food Engineering*, 23, 655 – 666.
- Martínez, S. O. (2010). Quality parameters of Brassica spp. grown in northwest Spain. *International Journal of Food Science and Technology*, 45, 776 - 783.
- Martínez., Periago, M., & Ros, G. (2000). Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta . *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 50, 5 - 18.
- Mayes, M. R. (2000). Bioquímica de harper. manual moderno. Mexico,D.F: 14th ed.
- McKenney, Y. (2012). Determination of antioxidant activities of berries and resveratrol. *Green Chemistry Letters and Reviews*, 56, 456-478.
- Moré, E., & Melero, R. (2011). *Transformacion de plantas aromaticas y medicinales. Obtenido de Centre Tecnològic Forestal de Catalunya*. Obtenido de <http://apsb.ctfc.cat/docs/ficha%20TRANSFORMACION%20PAM.pdf>.
- Montgomery, D. C. (2002). Diseño y Análisis de Experimentos. 2ª ed. México: Mc Graw Hill Interamericana Editores; 2000.
- Moure, A. C. (2001). Natural antioxidants from residual sources. *Food Chemistry*, 72, 145 - 171.
- Mujumdar, A. (2011). Obtenido de Classification and Selection Dryers. Industrial Transfer Processes (en línea). Consultado 25 mar. 2019. Disponible en: http://serve.me.nus.edu.sg/arun/file/Publications/books/ME5202_2011_Mujumdar.pd.
- Murtaza, I. B. (2005). Antioxidant activity and total phenolic content of kale genotypes grown in Kashmir valley. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 14, 215-217.

- Naczka, M. Y. (2004). Review extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054, 95 - 111.
- Navidi, W. (2006), "*Estadística Para Ingenieros*", México: Ediciones MC Graw Hill.
- Ningappa, B., Dinesha, R., & Srinivas, L. (2008). Antioxidant and free radical scavenging activities of polyphenol-enriched curry leaf (*Murraya koenigii* L.) extracts. *Food Chemistry*, 106, 720 - 728.
- Ojeda, D. (2003). Antocianinas totales, fenolitos totales y actividad antioxidante de la cáscaras de tres variedades de camote morado (*Ipomoea Batatas* (L.) Lam). Tesis para optar el título de Ingeniero En Industrias Alimentarias. UNALM. Perú.
- Okus, M. (2000). Food deshydration. En D. Herman, & L. D.B. En *Handbook of food engineering*.Pág. 257. New York.
- OMS. (2007). Control del Cáncer: aplicación de los conocimientos; Guia para desarrollar programas eficaces; módulo 6. Ginebra.
- Orrego, & Alzate, C. E. (2008). Congelacion y Liofilizacion de Alimentos. Manizales: Universidad Nacional de Colombia.
- Parejo, I., Caprai, E., Bastida, J., Viladomat, F., Jáuregui, O., & Codina, C. (2004). Investigation of *Lepechinia graveolens* for its antioxidant activity and phenolic composition. *Journal of Ethnopharmacology*, 94, 175 - 184.
- Perez & Leon, M. (2005). Evaluación de las características funcionales de 10 cultivares de mashua en 6 estados de crecimiento y diferentes periodos de secados. Tesis. Perú: UNALM.
- Peterson, J. Y. (2018). Flavonoids: dietary occurrence and biochemical activity.
- Podsdek, A. (2005). Natural antioxidants and antioxidant capacity of Brassica vegetables: A review. *Biotechnology and Food Sciences*, 23, 345 - 367.
- Pokorny, J. (2004). Antioxidantes de los alimentos. España: Acribia Zaragoza.

- Rahman, K. (2007). Studies on free radicals, antioxidants, and co-factors. *Journal of Clinical Interventions in Aging*.
- Ramírez M., Juliana T., & María. A., (2014). Optimización experimental del proceso de liofilización de estragón ruso (*Artemisia drancunculus* L.). *Biotechnology and Food Sciences*, 45, 432 - 457.
- Reardon W., J. (2009). Importancia de los Antioxidantes en nuestra Alimentacion. Food and Drug Protection Division. North Carolina Department of Agriculture and Consumer Services.
- Rios & Lucci, P. (2004). Contribución al estudio de algunos compuestos bioactivos y de la capacidad antioxidante presente en 10 genotipos de mashua y a la evaluación de su estabilidad. Perú: Tesis UNALM.
- Rodriguez, F. A. (2002). Ingeniería de la Industria Alimentaria . Vol. III. Editorial Síntesis, S. A.
- Romani, A., Vignolini, P., Isolani, L., Ieri, F. & Heimler, D. (2006). HPLC–DAD/MS characterization of flavonoids and hydroxycinnamic derivatives in turnip tops (*Brassica rapa* L. subsp. *sylvestris* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 1342–1346.
- Rodríguez, Y. S. C. (2012). Caracterización fisicoquímica y evaluación de la capacidad antioxidante de propoleos recolectados en el departamento de Atlántico Colombia. *Revista de actualidad y divulgación científica*, 303, 20 - 31.
- Sayadis, S. (2005). The use of polyphenolic extract, purified hydroxytyrosol and 3,4 dihydroxyphenyl acetic acid from olive mill wastewater for the stabilization of refined oils: a potential alternative to synthetic antioxidants. *Food Chemistry*, 23, 197 - 204.
- Sing, P. Y. (2001). Introducción a la Ingeniería de los Alimentos. Zaragoza –España: 2da. Ed.
- Singleton V. L., Orthofer R., Lamuela & Raventos R.M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of the Folin-Ciocalteu reagent. *Meth. Enzym.* P. 299, 152 - 178.

- Situs. (2004). *Herbotecnia*. Recuperado el 02 de 03 de 2019, de. Obtenido de <http://www.herbotecnia.com.ar/exotica-estragon.html>
- Starke & Reed, P. (2003). Antioxidantes. nutrición del instituto nacional de estudios sobre el envejecimiento- Estados Unidos: Maryland.
- Stratil, P., Klejdus, B., & Kubán, V. (2007). Determination of phenolic compounds and their antioxidant activity in fruits and cereals. *Talanta*, 71, 1741-1751.
- Scalzo, R., Bianchi, G., Genna, A. y Summa C. (2007). Antioxidant properties and lipidic profile as quality indexes of cauliflower (*Brassica oleracea* L. var. botrytis) in relation to harvest time. *Food Chemistry*, 100, 1049 - 1025.
- Sutar, P., & Thorat, B. (2011). Drying of Roots. *Drying of Foods, Vegetables and Fruits*. Jangam, SV, Law, CL; Mujumdar, AS. eds. v. 2, p. 43 - 74.
- Tamer, C.E. (2012). Quality evaluation of canned cauliflower pickles prepared with different ingredients. *African Journal of Agricultural Research*, 7, 1550 - 1555.
- Tarnawski, M., Depta, K., Grejciun D., & Szelepin, B. (2006). HPLC determination of phenolic acids and antioxidant activity in concentrated peat extract a natural immunomodulator. En *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41, 182 - 188.
- Tsao, R. D. (2004). Review: Separation procedures for naturally occurring antioxidant phytochemicals. *Journal of Chromatography* , 812, 85 - 99.
- Venereo G. (2012). Daño Oxidativo, Radicales Libres y Antioxidantes. cuba: Instituto Superior de Medicina Militar.
- Vrchovská, V. S. (2006). Antioxidative properties of tronchuda cabbage (*Brassica oleracea* L. var. *costata* DC) external leaves against DPPH, superoxide radical, hydroxyl radical and hypochlorous acid. *Food Chemistry*, 98, 416 - 425.
- Wang, S. Y. (2000). Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry and strawberry varies with cultivar and developmental stage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* , 48, 140 - 146.

- Welti, J., & Fellows, P. (2000). Tecnología del procesado de los alimentos: principios y practicas. España: 2 da ed.Zaragoza.
- Wojdylo A., Oszmianski, J., & Czemerys, R. (2007). Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chemistry*, 105, 940 - 949.
- Xiaodan Zhang.,Yange Yu., Yesheng Cen., Dongfeng Yang., Zhechen Qi., Zhuoni Hou., Shuanglai Han., Zengxuan Cai., & Kuancheng Liu. (2018). Bivariate Correlation Analysis of the Chemometric Profiles of Chinese Wild Salvia miltiorrhiza Based on UPLC-Qqq-MS and Antioxidant Activities. *molecules*,12, 5 - 11.
- Yapuchura., M. R. (2010). Estudio de los compóentes antioxidantes de las hojas de muña e inca muña. Tesis para optar el grado de: Magister Scientiae en Tecnología de Alimentos. Universidad Nacional Agraria La Molina,Lima, Peru.
- Zambrano, J. P. (2015). Determinar el efecto de la fibra del nabo silvestre sobre el peso y grasa corporal.Pag. 17 - 18.
- Zapata, L. (2007). Estudio de los componentes antioxidantes y actividad antioxidante en tomates. Argentina, 35,173 - 193.

ANEXOS

ANEXO A.

ANEXO A.1. Resultados de capacidad antioxidante para hojas liofilizadas de nabo
silvestre

| | | Capacidad Antioxidante |
|--------|----------|---------------------------|
| PATRON | R1 | 1.1117 |
| | R2 | 1.1167 |
| | R3 | 1.0466 |
| | R4 | 1.0971 |
| | R5 | 1.0923 |
| | PROMEDIO | 1.09 |
| | DS | 0.02 |
| M1 | R1 | 1.9078 |
| | R2 | 1.8976 |
| | R3 | 1.8992 |
| | R4 | 1.9187 |
| | R5 | 1.8845 |
| | PROMEDIO | 1.90 |
| | DS | 0.01 |
| M2 | R1 | 2.8025 |
| | R2 | 2.7729 |
| | R3 | 2.7845 |
| | R4 | 2.8845 |
| | R5 | 2.2386 |
| | PROMEDIO | 2.70 |
| | DS | 0.23 |
| M3 | R1 | 2.7541 |
| | R2 | 2.7388 |
| | R3 | 2.7388 |
| | R4 | 2.7327 |
| | R5 | 2.8480 |
| | PROMEDIO | 2.76 |

| | | |
|----|----------|--------|
| | DS | 0.04 |
| M4 | R1 | 2.9065 |
| | R2 | 2.8514 |
| | R3 | 2.9987 |
| | R4 | 3.2085 |
| | R5 | 3.8924 |
| | PROMEDIO | 3.17 |
| | DS | 0.38 |
| M5 | R1 | 3.2053 |
| | R2 | 3.1487 |
| | R3 | 3.2122 |
| | R4 | 3.2198 |
| | R5 | 3.2145 |
| | PROMEDIO | 3.20 |
| | DS | 0.03 |
| M6 | R1 | 3.3256 |
| | R2 | 2.9978 |
| | R3 | 3.2728 |
| | R4 | 3.1413 |
| | R5 | 3.3765 |
| | PROMEDIO | 3.22 |
| | DS | 0.14 |
| M7 | R1 | 3.2550 |
| | R2 | 3.2436 |
| | R3 | 3.1814 |
| | R4 | 3.2287 |
| | R5 | 3.2745 |
| | PROMEDIO | 3.24 |
| | DS | 0.03 |
| M8 | R1 | 3.3156 |
| | R2 | 3.1662 |
| | R3 | 3.2328 |
| | R4 | 3.2413 |
| | R5 | 3.2765 |

| | |
|----------|------|
| PROMEDIO | 3.25 |
| DS | 0.05 |

ANEXO A.2. Resultados de capacidad antioxidante para hojas secas de nabo silvestre

| | | Capacidad Antioxidante |
|--------|----------|---------------------------|
| PATRON | R1 | 1.1117 |
| | R2 | 1.1167 |
| | R3 | 1.0466 |
| | R4 | 1.0971 |
| | R5 | 1.0923 |
| | PROMEDIO | 1.09 |
| | DS | 0.02 |
| M1 | R1 | 4.5012 |
| | R2 | 4.5351 |
| | R3 | 4.5761 |
| | R4 | 4.6865 |
| | R5 | 4.5596 |
| | PROMEDIO | 4.57 |
| | DS | 0.06 |
| M2 | R1 | 4.7571 |
| | R2 | 4.5250 |
| | R3 | 4.5361 |
| | R4 | 4.7058 |
| | R5 | 4.5978 |
| | PROMEDIO | 4.62 |
| | DS | 0.09 |
| M3 | R1 | 4.7864 |
| | R2 | 4.6475 |
| | R3 | 4.8312 |
| | R4 | 4.9662 |

| | | |
|-------|----------|--------|
| | R5 | 4.8306 |
| | PROMEDIO | 4.81 |
| | DS | 0.10 |
| <hr/> | | |
| | R1 | 4.8067 |
| | R2 | 4.7760 |
| | R3 | 4.8514 |
| M4 | R4 | 4.9756 |
| | R5 | 5.9445 |
| | PROMEDIO | 5.07 |
| | DS | 0.44 |
| <hr/> | | |
| | R1 | 4.7854 |
| | R2 | 5.1034 |
| | R3 | 5.1456 |
| M5 | R4 | 5.1576 |
| | R5 | 5.2033 |
| | PROMEDIO | 5.08 |
| | DS | 0.15 |
| <hr/> | | |
| | R1 | 5.5436 |
| | R2 | 5.2467 |
| | R3 | 4.8212 |
| M6 | R4 | 4.9662 |
| | R5 | 4.8306 |
| | PROMEDIO | 5.08 |
| | DS | 0.28 |
| <hr/> | | |
| | R1 | 5.3293 |
| | R2 | 5.1520 |
| | R3 | 5.4536 |
| M7 | R4 | 4.9065 |
| | R5 | 4.6058 |
| | PROMEDIO | 5.09 |
| | DS | 0.30 |
| <hr/> | | |
| | R1 | 5.3220 |
| M8 | R2 | 5.0874 |
| | R3 | 5.1389 |

| | |
|----------|--------|
| R4 | 5.1285 |
| R5 | 5.1914 |
| PROMEDIO | 5.17 |
| DS | 0.08 |

ANEXO A.3. Resultados de compuestos fenólicos para hojas liofilizadas de nabo silvestre

| | | Compuestos Fenólicos |
|--------|----------|-------------------------|
| PATRON | R1 | 4690.52 |
| | R2 | 4828.37 |
| | R3 | 5000.69 |
| | R4 | 5035.15 |
| | R5 | 5069.62 |
| | PROMEDIO | 4924.87 |
| | DS | 3.59 |
| M1 | R1 | 1978.23 |
| | R2 | 1820.78 |
| | R3 | 1840.56 |
| | R4 | 1945.90 |
| | R5 | 1989.78 |
| | PROMEDIO | 1915.05 |
| | DS | 0.66 |
| M2 | R1 | 1786.79 |
| | R2 | 1810.80 |
| | R3 | 1892.43 |
| | R4 | 1906.84 |
| | R5 | 1911.64 |
| | PROMEDIO | 1861.70 |
| | DS | 2.30 |
| M3 | R1 | 1724.74 |
| | R2 | 1632.98 |

| | | |
|-------|----------|---------|
| | R3 | 1723.24 |
| | R4 | 1722.45 |
| | R5 | 1632.12 |
| | PROMEDIO | 1687.11 |
| | DS | 4.55 |
| <hr/> | | |
| | R1 | 1643.54 |
| | R2 | 1517.92 |
| | R3 | 1620.68 |
| M4 | R4 | 1682.30 |
| | R5 | 1523.98 |
| | PROMEDIO | 1597.68 |
| | DS | 5.71 |
| <hr/> | | |
| | R1 | 1629.35 |
| | R2 | 1522.56 |
| | R3 | 1429.41 |
| M5 | R4 | 1410.78 |
| | R5 | 1472.39 |
| | PROMEDIO | 1492.90 |
| | DS | 8.35 |
| <hr/> | | |
| | R1 | 1389.28 |
| | R2 | 1430.27 |
| | R3 | 1432.78 |
| M6 | R4 | 1582.34 |
| | R5 | 1528.43 |
| | PROMEDIO | 1472.62 |
| | DS | 1.39 |
| <hr/> | | |
| | R1 | 1472.11 |
| | R2 | 1587.52 |
| | R3 | 1420.83 |
| M7 | R4 | 1423.85 |
| | R5 | 1463.14 |
| | PROMEDIO | 1473.49 |
| | DS | 0.58 |
| <hr/> | | |
| M8 | R1 | 1462.35 |

| | |
|----------|---------|
| R2 | 1522.56 |
| R3 | 1419.41 |
| R4 | 1410.78 |
| R5 | 1472.39 |
| PROMEDIO | 1457.50 |
| DS | 0.83 |

ANEXO A.4. Resultados de compuestos fenólicos para hojas secas de nabo silvestre

| | | Compuestos Fenólicos |
|--------|----------|-------------------------|
| PATRON | R1 | 4690.52 |
| | R2 | 4828.37 |
| | R3 | 5000.69 |
| | R4 | 5035.15 |
| | R5 | 5069.62 |
| | PROMEDIO | 4924.87 |
| | DS | 3.59 |
| M1 | R1 | 1585.04 |
| | R2 | 1506.70 |
| | R3 | 1558.32 |
| | R4 | 1567.67 |
| | R5 | 1426.65 |
| | PROMEDIO | 1528.88 |
| | DS | 7.39 |
| M2 | R1 | 1583.02 |
| | R2 | 1500.60 |
| | R3 | 1556.30 |
| | R4 | 1565.59 |
| | R5 | 1422.64 |
| | PROMEDIO | 1525.63 |
| | DS | 8.42 |
| M3 | R1 | 1583.00 |

| | | |
|-------|----------|---------|
| | R2 | 1501.59 |
| | R3 | 1546.33 |
| | R4 | 1530.70 |
| | R5 | 1428.23 |
| | PROMEDIO | 1517.97 |
| | DS | 1.99 |
| <hr/> | | |
| M4 | R1 | 1576.45 |
| | R2 | 1589.23 |
| | R3 | 1434.54 |
| | R4 | 1456.45 |
| | R5 | 1563.75 |
| | PROMEDIO | 1524.08 |
| | DS | 5.04 |
| <hr/> | | |
| M5 | R1 | 1490.56 |
| | R2 | 1567.90 |
| | R3 | 1554.34 |
| | R4 | 1435.78 |
| | R5 | 1565.32 |
| | PROMEDIO | 1522.78 |
| | DS | 1.86 |
| <hr/> | | |
| M6 | R1 | 1489.68 |
| | R2 | 1490.67 |
| | R3 | 1554.84 |
| | R4 | 1448.94 |
| | R5 | 1452.20 |
| | PROMEDIO | 1487.27 |
| | DS | 8.16 |
| <hr/> | | |
| M7 | R1 | 1492.21 |
| | R2 | 1487.39 |
| | R3 | 1530.83 |
| | R4 | 1443.25 |
| | R5 | 1443.94 |
| | PROMEDIO | 1479.52 |
| | DS | 2.98 |
| <hr/> | | |

| | | |
|----|----------|---------|
| | R1 | 1498.97 |
| | R2 | 1489.08 |
| | R3 | 1484.14 |
| M8 | R4 | 1498.97 |
| | R5 | 1508.86 |
| | PROMEDIO | 1496.00 |
| | DS | 8.62 |

ANEXO B

Tabla B.1. Análisis de varianza (ANVA) para la variable de la capacidad antioxidante de las hojas liofilizadas de nabo silvestre.

| Factor | Suma de cuadrados | GL | Cuadrado medio | Razón- F | Valor -P |
|---------------------|-------------------|----|----------------|----------|----------|
| (1) Temperatura (L) | 0.224825 | 1 | 0.224825 | 2.329189 | 0.026650 |
| (2) Tiempo (L) | 0.455625 | 1 | 0.455625 | 4.720280 | 0.016191 |
| Error exp. | 0.193050 | 5 | 0.03861 | | |
| Total | 0.8735 | 7 | | | |

Tabla B.2. Análisis de varianza (ANVA) para la variable de la capacidad antioxidante de las hojas secas de nabo silvestre.

| Factor | Suma de cuadrados | GL | Cuadrado medio | Razón- F | Valor -P |
|---------------------|-------------------|----|----------------|----------|----------|
| (1) Temperatura (L) | 0.320168 | 1 | 0.320168 | 24.15635 | 0.004417 |
| (2) Tiempo (L) | 0.209989 | 1 | 0.209989 | 15.84348 | 0.010527 |
| Error exp. | 0.066270 | 5 | 0.013254 | | |
| Total | 0.596427 | 7 | | | |

Tabla B.3. Análisis de varianza (ANVA) para la variable de los compuestos fenólicos de las hojas liofilizadas de nabo silvestre.

| Factor | Suma de cuadrados | GL | Cuadrado medio | Razón- F | Valor -P |
|---------------------|-------------------|----|----------------|----------|----------|
| (1) Temperatura (S) | 27.9542 | 1 | 27.9542 | 15.46607 | 0.029278 |
| (2) Tiempo (S) | 71.1257 | 1 | 71.1257 | 39.35139 | 0.008178 |
| Error exp. | 5.4224 | 5 | 1.08448 | | |
| Total | 104.5023 | 7 | | | |

Tabla B.4. Análisis de varianza (ANVA) para la variable de los compuestos fenólicos de las hojas secas de nabo silvestre.

| Factor | Suma de cuadrados | GL | Cuadrado medio | Razón- F | Valor -P |
|--------------------|--------------------------|-----------|-----------------------|-----------------|-----------------|
| (1)Temperatura (S) | 16.41708 | 1 | 16.41708 | 2.329189 | 0.001838 |
| (2) Tiempo (S) | 25.4833 | 1 | 25.4833 | 4.720280 | 0.025561 |
| Error exp. | 4.4570 | 5 | 0.8914 | | |
| Total | 46.3581 | 7 | | | |

Tabla B.5. Análisis de varianza (ANVA) para la variable de la capacidad antioxidante de las hojas liofilizadas y secas de nabo silvestre.

| Factor | Suma de cuadrados | GL | Cuadrado medio | Razón- F | Valor -P |
|-----------------|--------------------------|-----------|-----------------------|-----------------|-----------------|
| (1) Liofilizado | 13.71281 | 1 | 13.71281 | 2.957142 | 0.019431 |
| (2) Secado | 23.9847 | 1 | 23.9847 | 3.729651 | 0.029384 |
| Error exp. | 0.115470 | 5 | 0.23094 | | |
| Total | 37.81298 | 7 | | | |

Tabla B.6. Análisis de varianza (ANVA) para la variable de los compuestos fenólicos de las hojas liofilizadas y secas de nabo silvestre.

| Factor | Suma de cuadrados | GL | Cuadrado medio | Razón- F | Valor -P |
|-----------------|--------------------------|-----------|-----------------------|-----------------|-----------------|
| (1) Liofilizado | 15.46193 | 1 | 15.46193 | 2.736509 | 0.017630 |
| (2) Secado | 22.7401 | 1 | 22.7401 | 4.500164 | 0.026522 |
| Error exp. | 0.174020 | 5 | 0.034804 | | |
| Total | 38.37605 | 7 | | | |

ANEXO C

ANEXO C.1 .Certificados de investigación



Datos del documento
Tipo de documento: BOLETA DE VENTA ELECTRONICA
Serie y correlativo: B116-00000438
Fecha: 07-01-2019
Forma pago: EFECTIVO

| Datos del emisor | | | | Adquiriente | | | |
|---|--------|--------|----------------|--|----------------|-----------|--|
| RUC: 20101259014 Nombre: FUNDACION PARA EL DESARROLLO AGRARIO Dirección: JR. CAMILO CARRILLO NRO. 325, - JESUS MARIA, LIMA, DEPARTAMENTO LIMA | | | | Identificación: DNI - DOCUMENTO DE NACIONAL DE IDENTIDAD Número de identificación: 45464519 Nombre: DORIS YANETH COARITA YAPUCHURA Dirección: JR JOSE MARIA ARGUEDAS 716 PUNO-YUNGUYO-YUNGUYO | | | |
| Cantidad | Unidad | Código | Cód. PLU SUNAT | Descripción | Valor unitario | Importe | |
| 1.00 | NIU | 5669 | 0 | PPA-LIOFILIZADOR Cód. GST:0 | S/ 635.590 | S/ 635.59 | |

Información adicional

| Totales impuestos |
|-------------------------------------|
| Total IGV 18%: S/114.41 |
| Totales del documento |
| Total Gravadas: S/635.59 |
| Importe total de la venta: S/750.00 |

Monto en letra: SETECIENTOS CINCUENTA Y 00/100 SOLES



Representación impresa de una boleta de venta electrónica
 Autorizado mediante resolución N 0320050000973/SUNAT
 Documento generado por DFACTURE - Tel. (511) 729 - 9045 - <https://dfacture.com.pe>
 Puede descargar su comprobante desde el sitio: <https://factura.dfacture.com.pe/consultadocumentos>

Página 1 de 1



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

FACULTAD DE CIENCIAS

LABORATORIO DE CROMATOGRAFIA Y ESPECTROMETRIA – Pabellón de Control de Calidad
 AV. De la Cultura 733 CUSCO – PERÚ Contacto 973868855

RESULTADOS

Cusco 16 de Enero 2019

Solicitantes : Doris Yaneth Coarita Yapuchura
Tipo de Análisis : Actividad Antioxidante
Metodo : DPPH.
Tipo de Muestras : Hojas de Nabo Silvestre liofilizado a diferentes temperaturas
Cantidad de Muestra : 9 muestras con 10 gr aproximadamente de cada uno
Almacenamiento : 4 °C.

Condiciones de Análisis por Espectrofotometro

Equipo : Espectrofotometro Genesis 20 Thermo Electron
Longitud de Onda : 517 nm
Celda de Lectura : Cubetas de Vidrio de 1cm.
Ecuación de la curva patrón : $y = 0.0544x + 0.0009$, $R^2 = 0.9998$

| Hojas de Nabo | Repeticiones | | | | | Promedio |
|---------------|--------------|--------|--------|--------|--------|--------------------------------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | Trolox IC50 gr/100 ml /Hojas de Nabo |
| Fresco | 1.1117 | 1.1167 | 1.0466 | 1.0971 | 1.0923 | 1.09 |
| M1 | 1.9078 | 1.8976 | 1.8992 | 1.9187 | 1.8845 | 1.90 |
| M2 | 2.8025 | 2.7729 | 2.7845 | 2.8845 | 2.2386 | 2.74 |
| M3 | 2.7541 | 2.7388 | 2.7388 | 2.7327 | 2.8480 | 2.76 |
| M4 | 2.9065 | 2.8514 | 2.9987 | 3.2085 | 3.8924 | 3.17 |
| M5 | 3.2053 | 3.1487 | 3.2122 | 3.2198 | 3.2145 | 3.20 |
| M6 | 3.3256 | 2.9978 | 3.2728 | 3.1413 | 3.3765 | 3.22 |
| M7 | 3.2550 | 3.2436 | 3.1814 | 3.2287 | 3.2745 | 3.24 |
| M8 | 3.3156 | 3.1662 | 3.2328 | 3.2413 | 3.2765 | 3.25 |

Nota: Los resultados obtenidos en la determinación de actividad antioxidante fue realizado por quintuplicado, expresa el Coeficiente de Inhibición al 50% (CI₅₀ o IC₅₀) en gramos equivalentes Trolox que están presente en 100g de muestra. La metodología utilizada es de acuerdo a: (con algunas modificaciones.)

- Brand-Williams W., M. Cuvelier and C. Berset; (1997) Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity, Lebensm. Wiss. U. Technol. 28, 25-30.
- Norul Liza A-Rahaman, Lee Suan Chua, Mohamad Roji Sarmidi, Ramlan Aziz (2013) Physicochemical and radical scavenging activities of honey samples from Malaysia Agricultural Sciences Vol.4, No.5B, 46 -51.
- Pugliese A.G., †Francisco A. Tomas-Barberan, ‡Pilar Truchado, and Maria I. Genovese, Flavonoids, Proanthocyanidins, Vitamin C, and Antioxidant Activity of Theobroma grandiflorum (Cupuassu) Pulp and Seeds J Agric Food Ch em. 2013 Mar 20;61(11):2720-8.
- Philip Molyneux 2004, The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimatin g antioxidant activity Songklanakarin J. Sci. Technol., 26(2) : 211-219.

Quim. Jorge Choquenaira Pari
 Analista del Laboratorio de Cromatografía y Espectrometría – UNSAAC.
 CQP - 914



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

FACULTAD DE CIENCIAS

LABORATORIO DE CROMATOGRAFIA Y ESPECTROMETRIA – Pabellón de Control de Calidad
 AV. De la Cultura 733 C.U. S.C.O – PERÚ Contacto 973868855

RESULTADOS

Cusco 16 de Enero 2019

Solicitantes : Doris Yaneth Coarita Yapuchura
Tipo de Análisis : Determinación de compuestos Fenolicos Totales
Metodo : Folin Ciocalteu.
Tipo de Muestras : Hojas de Nabo Silvestre liofilizado a diferentes temperaturas
Cantidad de Muestra : 9 muestras con 1 0 gr aproximadamente de cada uno
Almacenamiento : 4 °C.

Condiciones de Análisis por Espectrofotometro

Equipo : Espectrofotometro Genesis 20 Thermo Electron
Longitud de Onda : 755 nm
Celda de Lectura : Cubetas de Vidrio de 1cm
Ecuacion de la curva patrón : $y = 0.0403x - 0.0051$, $R2 = 0.9992$

| Hojas de Nabo | Repeticiones | | | | | Promedio |
|---------------|--------------|---------|---------|---------|---------|-----------------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | EQ-Ac. Galico mg/100g |
| Fresco | 4690.52 | 4828.37 | 5000.69 | 5035.15 | 5069.62 | 4924.87 |
| M1 | 1978.23 | 1820.78 | 1840.56 | 1945.90 | 1989.78 | 1915.05 |
| M2 | 1786.79 | 1810.80 | 1892.43 | 1906.84 | 1911.64 | 1861.70 |
| M3 | 1724.74 | 1632.98 | 1723.24 | 1722.45 | 1632.12 | 1687.11 |
| M4 | 1643.54 | 1517.92 | 1620.68 | 1682.30 | 1523.98 | 1597.68 |
| M5 | 1629.35 | 1522.56 | 1429.41 | 1410.78 | 1472.39 | 1492.90 |
| M6 | 1389.28 | 1430.27 | 1432.78 | 1582.34 | 1528.43 | 1472.62 |
| M7 | 1472.11 | 1587.52 | 1420.83 | 1423.85 | 1463.14 | 1473.49 |
| M8 | 1462.35 | 1522.56 | 1419.41 | 1410.78 | 1472.39 | 1457.50 |

Nota: Los resultados obtenidos fue realizado por quintuplicado, la cuantificación se basó utilizando un estándar Acido Gálico, expresa los gramos en equivalentes de Acido gálico que están presente en 100 g de muestra. La metodología utilizada es de acuerdo a: (con algunas modificaciones.)

1. Vernon L. Singleton, Rudolf Orthofer, Rosa M. Lamuela -Raventós 1999 Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin -ciocalteu reagent Methods in Enzymology Volume 299, 1999, Pages 152-178
2. Pugliese A.G, Francisco A. Tomas -Barberan, Pilar Truchado, Maria I. Genovese, Flavonoids, Proanthocyanidins, Vitamin C, and Antioxidant Activity of Theobroma grandiflorum (Cupuassu) Pulp and Seeds J Agric Food Chem. 2013 Mar 20;61(11):2720-8. doi: 10.1021/jf304349u. Epub 2013 Mar 6.
3. Huang, R. T., Lu, Y. F., Inbaraj, B. S., & Chen, B. H. (2015). Determination of phenolic acids and flavonoids in Rhinacanthus nasutus (L.) kurz by high -performance -liquid-chromatography with photodiode -array detection and tandem mass spectrometry. Journal of Functional Foods, 12, 498-508. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.12.002>
4. Raphanus raphanistrum L Sulu Ekstresi nin Antioksidan Aktivitesi ve Total Fenolik İçerigi. (s. f.). Recuperado 17 de enero de 2019, de <http://www.turkjps.org/archives/archive -detail/article -preview/antoxdant -actvty-and-total -phenolc-content-of-aque/12445>

Quim. Jorge Choquenaira Pari
 Analista del Laboratorio de Cromatografía y
 Espectrometría – UNSAAC.
 CQP - 914



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO
FACULTAD DE CIENCIAS

LABORATORIO DE CROMATOGRAFIA Y ESPECTROMETRIA – Pabellón de Control de Calidad
 AV. De la Cultura 733 CUSCO – PERÚ Contacto 973868855

RESULTADOS

Cusco 16 de Enero 2019

Solicitantes : Doris Yaneth Coarita Yapuchura
Tipo de Análisis : Actividad Antioxidante
Método : DPPH.
Tipo de Muestras : Hojas de Nabo Silvestre secado a diferentes temperaturas
Cantidad de Muestra : 9 muestras con 10 gr aproximadamente de cada uno
Almacenamiento : 4 °C.

Condiciones de Análisis por Espectrofotómetro

Equipo : Espectrofotómetro Génesis 20 Thermo Electrón
 Longitud de Onda : 517 nm
 Celda de Lectura : Cubetas de Vidrio de 1cm.
 Ecuación de la curva patrón : $y = 0.0544x + 0.0009, R^2 = 0.9998$

| Hojas de Nabo | Repeticiones | | | | | Promedio |
|---------------|--------------|--------|--------|--------|--------|--------------------------------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | Trolox IC50 gr/100 ml /Hojas de Nabo |
| Fresco | 1.1117 | 1.1167 | 1.0466 | 1.0971 | 1.0923 | 1.09 |
| M1 | 4.5012 | 4.5351 | 4.5761 | 4.6865 | 4.5596 | 4.57 |
| M2 | 4.7571 | 4.5250 | 4.5361 | 4.7058 | 4.5978 | 4.62 |
| M3 | 4.7864 | 4.6475 | 4.8312 | 4.9662 | 4.8306 | 4.81 |
| M4 | 4.8067 | 4.7760 | 4.8514 | 4.9756 | 5.9445 | 5.07 |
| M5 | 4.7854 | 5.1034 | 5.1456 | 5.1576 | 5.2033 | 5.08 |
| M6 | 5.5436 | 5.2467 | 4.8212 | 4.9662 | 4.8306 | 5.08 |
| M7 | 5.3293 | 5.1520 | 5.4536 | 4.9065 | 4.6058 | 5.09 |
| M8 | 5.3220 | 5.0874 | 5.1389 | 5.1285 | 5.1914 | 5.17 |

Nota: Los resultados obtenidos en la determinación de actividad antioxidante fue realizado por quintuplicado, expresa el Coeficiente de Inhibición al 50% (CI₅₀ o IC₅₀) en gramos equivalentes Trolox que están presente en 100g de muestra. La metodología utilizada es de acuerdo a: (con algunas modificaciones.)

- Brand-Williams W., M. Cuvelier and C. Berset; (1997) Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity, Lebensm. Wiss. U. Technol. 28, 25-30.
- Norul Liza A-Rahaman, Lee Suan Chua, Mohamad Roji Sarmidi, Ramlan Aziz (2013) Physicochemical and radical scavenging activities of honey samples from Malaysia Agricultural Sciences Vol.4, No.5B, 46 -51.
- Pugliese A.G, †Francisco A. Tomas-Barberan, ‡Pilar Truchado, and Maria I. Genovese, Flavonoids, Proanthocyanidins, Vitamin C, and Antioxidant Activity of Theobroma grandiflorum (Cupuassu) Pulp and Seeds J Agric Food Ch em. 2013 Mar 20;61(11):2720-8.
- Philip Molyneux 2004, The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity Songklanakar J. Sci. Technol., 26(2) : 211-219.

Quim. Jorge Choquenaira Pari
 Analista del Laboratorio de Cromatografía y Espectrometría – UNSAAC.
 CQP - 914



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

FACULTAD DE CIENCIAS

LABORATORIO DE CROMATOGRAFIA Y ESPECTROMETRIA – Pabellón de Control de Calidad
 AV. De la Cultura 733 CU SGO – PERÚ Contacto 973868855

RESULTADOS

Cusco 16 de Enero 2019

Solicitantes : Doris Yaneth Coarita Yapuchura
Tipo de Análisis : Determinación de compuestos Fenolicos Totales
Metodo : Folin Ciocalteu.
Tipo de Muestras : Hojas de Nabo Silvestre secado a diferentes temperaturas
Cantidad de Muestra : 9 muestras con 10 gr aproximadamente de cada uno
Almacenamiento : 4 °C.

Condiciones de Análisis por Espectrofotometro
 Equipo : Espectrofotometro Genesis 2 0 Thermo Electron
 Longitud de Onda : 755 nm
 Celda de Lectura : Cubetas de Vidrio de 1cm
 Ecuacion de la curva patrón : $y = 0.0403x - 0.0051, R^2 = 0.9992$

| Hojas de Nabo | Repeticiones | | | | | Promedio |
|---------------|--------------|---------|---------|---------|---------|-----------------------|
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | EQ-Ac. Galico mg/100g |
| Fresco | 4690.52 | 4828.37 | 5000.69 | 5035.15 | 5069.62 | 4924.87 |
| M1 | 1585.04 | 1506.70 | 1558.32 | 1567.67 | 1426.65 | 1528.88 |
| M2 | 1583.02 | 1500.60 | 1556.30 | 1565.59 | 1422.64 | 1525.63 |
| M3 | 1583.00 | 1501.59 | 1546.33 | 1530.70 | 1428.23 | 1517.97 |
| M4 | 1576.45 | 1589.23 | 1434.54 | 1456.45 | 1563.75 | 1524.08 |
| M5 | 1490.56 | 1567.90 | 1554.34 | 1435.78 | 1565.32 | 1522.78 |
| M6 | 1489.68 | 1490.67 | 1554.84 | 1448.94 | 1452.20 | 1487.27 |
| M7 | 1492.21 | 1487.39 | 1530.83 | 1443.25 | 1443.94 | 1479.52 |
| M8 | 1498.97 | 1489.08 | 1484.14 | 1498.97 | 1508.86 | 1496.00 |

Nota: Los resultados obtenidos fue realizado por quintuplicado, la cuantificación se basó utilizando un estándar Acido Gálico, expresa los gramos en equivalentes de Ácido gálico que están presente en 100 g de muestra. La metodología utilizada es de acuerdo a: (con algunas modificaciones.)

- Vernon L. Singleton, Rudolf Orthofer, Rosa M. Lamuela -Raventós 1999 Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin -ciocalteu reagent Methods in Enzymology Volume 299, 1999, Pages 152-178
- Pugliese A.G, Francisco A. Tomas -Barberan, Pilar Truchado, Maria I. Genovese, Flavonoids, Proanthocyanidins, Vitamin C, and Antioxidant Activity of Theobroma grandiflorum (Cupuassu) Pulp and Seeds J Agric Food Chem. 2013 Mar 20;61(11):2720-8. doi: 10.1021/jf304349u. Epub 2013 Mar 6.
- Huang, R. T., Lu, Y. F., Inbaraj, B. S., & Chen, B. H. (2015). Determination of phenolic acids and flavonoids in *Rhinacanthus nasutus* (L.) kurz by high -performance -liquid-chromatography with photodiode -array detection and tandem mass spectrometry. Journal of Functional Foods, 12, 498-508. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.12.002>
- Raphanus raphanistrum L Sulu Ekstresi nin Antioksidan Aktivitesi ve Total Fenolik İçerigi. (s. f.). Recuperado 17 de enero de 2019, de <http://www.turkjps.org/archives/archive-detail/article-preview/antoxdant-actvty-and-total-phenolc-content-of-aque/12445>

Quim. Jorge Choquenaira Parí
 Analista del Laboratorio de Cromatografía y
 Espectrometría – UNSAAC.
 CQP - 914



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO
 FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
 ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGRÓNOMICA
 LABORATORIO DE TAXONOMÍA VEGETAL



CONSTANCIA

El que suscribe JEFE DEL LABORATORIO DE TAXONOMÍA VEGETAL DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS DE LA U. N. A. PUNO, HACE CONSTAR QUE EL ESPECÍMEN BOTÁNICO PUESTO A DISPOSICIÓN PERTENECE A LA ESPECIE *Brassica campestris* L. "Nabo silvestre", "Nabo-maleza" que según el Sistema de Clasificación Filogenético de Adolph Engler posee la siguiente Posición Taxonómica.

| | |
|------------|-------------------------------|
| REINO | Vegetal |
| SUB REINO | Phanerogamae |
| DIVISIÓN | Angiospermae |
| CLASE | Dicotyledoneae |
| SUB CLASE: | Archychlamydeae |
| ÓRDEN | Papaverales |
| FAMILIA | Brassicaceae |
| GÉNERO | Brassica |
| ESPECIE | <i>Brassica campestris</i> L. |

SE EXPIDE LA PRESENTE CONSTANCIA A PETICIÓN ESCRITA DE LA INTERESADA, DORIS YANETH COARITA YAPUCHURA Y PARA LOS FINES QUE VIERE POR CONVENIENTE.

PUNO, C.U. 22 de Marzo del 2018



[Signature]
 Ing. Mario Ángel Solano Larico
 Jefe Laboratorio Taxonomía Vegetal
 FCA UNA PUNO

[Signature]



[Signature]
 Ing. Rosano Y. Bravo Poncecarriero M.Sc.
 DECANA

ANEXO D

ANEXO D.1. Panel fotográfico

Imagen 01: Planta de Nabo silvestre (*Brassica Campestri* L.)



Imagen 02. Recolección de hojas de nabo silvestre



Imagen 3. Hojas liofilizadas de nabo silvestre



Imagen 4. Hojas secas de nabo silvestre

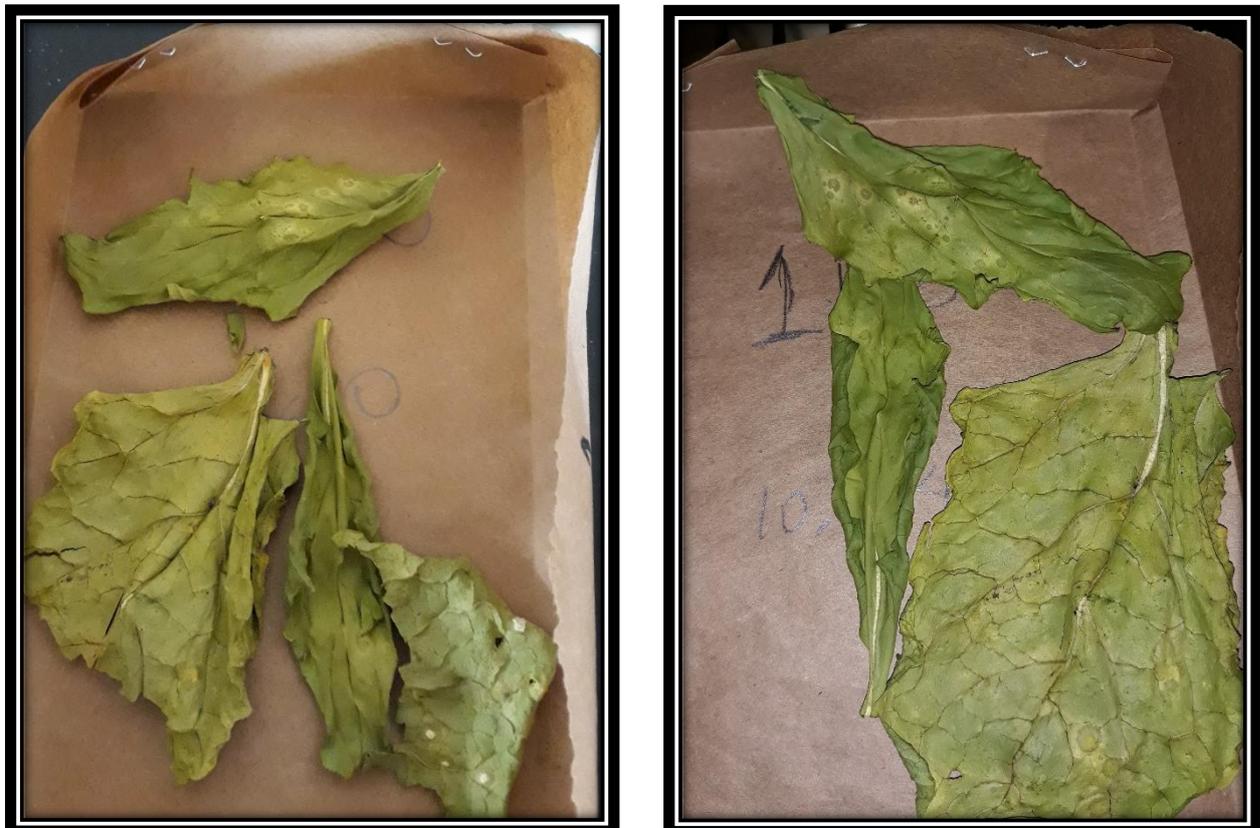


Imagen 5. Molienda de hojas liofilizadas del nabo silvestre



Imagen 6. Molienda de hojas secas de nabo silvestre



Imagen 7. Preparación de las muestras para el análisis de la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos de hojas liofilizadas de nabo silvestre

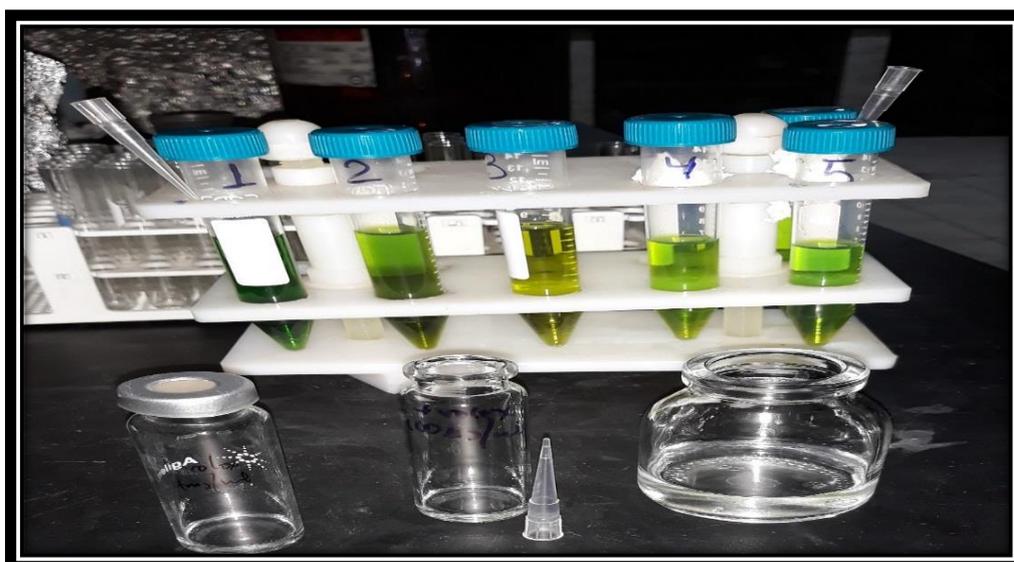


Imagen 8. Preparación de las muestras para el análisis de la capacidad antioxidante y compuestos fenólicos de hojas secas de nabo silvestre

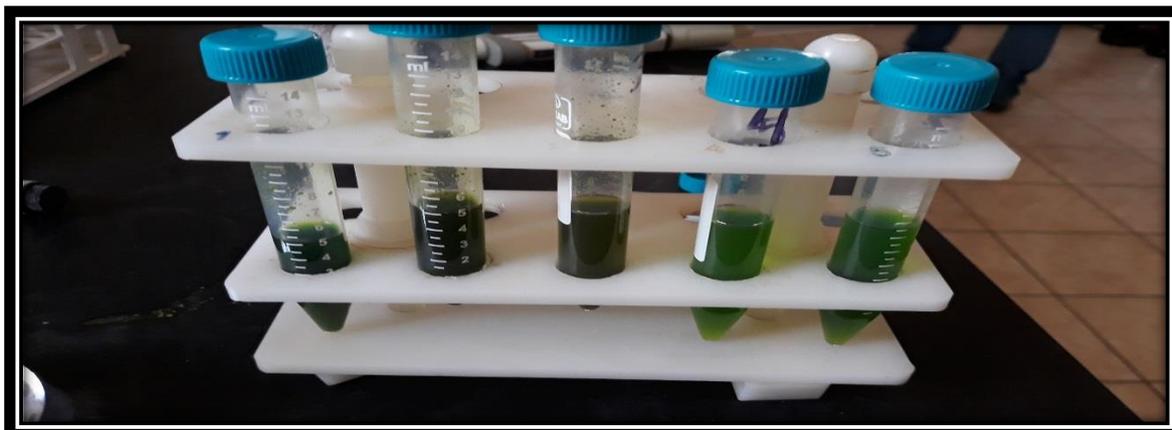


Imagen 9. Resultados de la capacidad antioxidante de las hojas de nabo silvestre

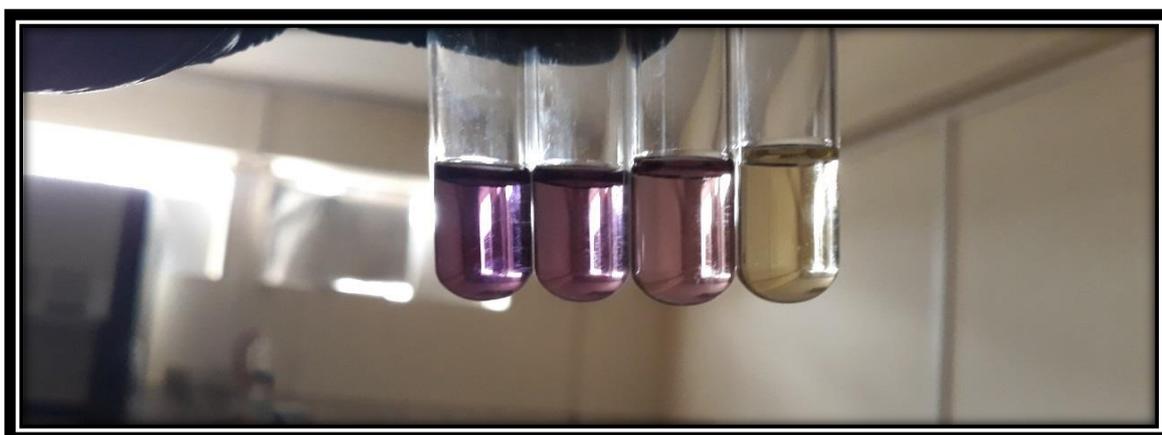


Imagen 10. Resultados de los compuestos fenólicos de las hojas de nabo silvestre

