

UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ MARÍA ARGUEDAS
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



Presentado por
Br. HAYDEÉ MELISA LUNA REYES

**DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE,
CONTENIDO DE FENOLES TOTALES, TANINOS TOTALES
Y FLAVONOIDES TOTALES DEL HIDROMIEL DE SAÚCO
(*SAMBUCUS PERUVIANA*) DE CUATRO EMPRESAS DEL
DISTRITO DE TALAVERA EN EL AÑO 2019**

Asesor:
Mg. RONALD PEREZ SALCEDO

Co - Asesor:
Mg. CELIA ROCIO YAURIS SILVERA

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

ANDAHUAYLAS – APURÍMAC – PERÚ
2019

UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ MARÍA ARGUEDAS
FACULTAD DE INGENIERÍA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL



**DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE,
CONTENIDO DE FENOLES TOTALES, TANINOS TOTALES
Y FLAVONOIDES TOTALES DEL HIDROMIEL DE SAÚCO
(*SAMBUCUS PERUVIANA*) DE CUATRO EMPRESAS DEL
DISTRITO DE TALAVERA EN EL AÑO 2019**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

Presentado por

Br. HAYDEÉ MELISA LUNA REYES

Asesor:

Mg. RONALD PEREZ SALCEDO

Co - Asesor:

Mg. CELIA ROCIO YAURIS SILVERA

**ANDAHUAYLAS – APURÍMAC – PERÚ
2019**



APROBACION DEL ASESOR Y CO ASESOR

Quién suscribe:

Mg. Ronald Perez Salcedo, Mg. Celia Rocio Yauris Silvera, por la presente:

CERTIFICA,

Que, el Bachiller en Ingeniería Agroindustrial, HAYDEÉ MELISA LUNA REYES ha culminado satisfactoriamente el Informe Final de Tesis intitulado: "DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE, CONTENIDO DE FENOLES TOTALES, TANINOS TOTALES Y FLAVONOIDES TOTALES DEL HIDROMIEL DE SAÚCO (*SAMBUCUS PERUVIANA*) DE CUATRO EMPRESAS DEL DISTRITO DE TALAVERA EN EL AÑO 2019" para optar el Título Profesional de Ingeniero Agroindustrial.

Talavera, 16 de diciembre de 2019

Mg. Ronald Perez Salcedo
Asesor

Mg. Celia Rocio Yauris Silvera
Co-Asesor

Br. Haydeé Melisa Luna Reyes
Tesista



DECLARACIÓN JURADA DE AUTENTICIDAD

Yo, Haydeé Melisa Luna Reyes, identificado (a) con DNI N°46915700 de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial Declaro bajo juramento que el Informe Final de Tesis Titulado: "DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE, CONTENIDO DE FENOLES TOTALES, TANINOS TOTALES Y FLAVONOIDES TOTALES DEL HIDROMIEL DE SAÚCO (*SAMBUCUS PERUVIANA*) DE CUATRO EMPRESAS DEL DISTRITO DE TALAVERA EN EL AÑO 2019". Es auténtico y no vulnera los derechos de autor. Además, su contenido es de entera responsabilidad del autor (es) del proyecto, quedando la UNAJMA exenta de toda responsabilidad en caso de atentar contra la Ley de propiedad intelectual y derechos de autor.

Talavera, 23 de diciembre del 2019

.....
Firma
N° DNI: 46915700
E-mail: hamelure@gmail.com
N° Celular: 942649254



FACULTAD DE INGENIERIA
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL

ACTA DE SUSTENTACION
DE TESIS

En la Av. 28 de julio N° 1103 del Local Académico SL02 (Santa Rosa) en el Salón de Grados de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional José María Arguedas ubicado en el distrito de Talavera de la Reyna de la Provincia de Andahuaylas, siendo las 11:00 horas del día lunes 23 de diciembre del año 2019, se reunieron los docentes: Mg. Denis Hernán Gutiérrez Martínez, MSc. Carlos Alberto Ligarda Samanez, Mg. Rosa Huaraca Aparco, en condición de integrantes del Jurado Evaluador del Informe Final de Tesis intitulado: "DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE, CONTENIDO DE FENOLES TOTALES, TANINOS TOTALES Y FLAVONOIDES TOTALES DEL HIDROMIEL DE SAÚCO (SAMBUCUS PERUVIANA) DE CUATRO EMPRESAS DEL DISTRITO DE TALAVERA EN EL AÑO 2019, cuya autora es la Bachiller en Ingeniería Agroindustrial HAYDEÉ MELISA LUNA REYES, el asesor Mg. Ronald Perez Salcedo y Co – Asesor Mg. Celia Rocío Yauris Silvera, con el propósito de proceder a la sustentación y defensa de dicha tesis.



Luego de la sustentación y defensa de la tesis, el Jurado Evaluador ACORDÓ: Aprobar por Unanimidad a la Bachiller en Ingeniería Agroindustrial HAYDEÉ MELISA LUNA REYES, obteniendo la siguiente calificación y mención:

Table with 3 columns: Nota escala vigesimal (Numeros, Letras), and Mención. Handwritten values: 15, Quince, Bueno.

En señal de conformidad, se procedió a la firma de la presente acta en 03 ejemplares.

Signature of Mg. Denis Hernán Gutiérrez Martínez
Mg. Denis Hernán Gutiérrez Martínez
Presidente del Jurado Evaluador

Signature of MSc. Carlos Alberto Ligarda Samanez
MSc. Carlos Alberto Ligarda Samanez
Primer Miembro del Jurado Evaluador

Signature of Mg. Rosa Huaraca Aparco
Mg. Rosa Huaraca Aparco
Segundo Miembro del Jurado Evaluador



APROBACIÓN DEL JURADO DICTAMINADOR

LA TESIS: “**DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE, CONTENIDO DE FENOLES TOTALES, TANINOS TOTALES Y FLAVONOIDES TOTALES DEL HIDROMIEL DE SAÚCO (SAMBUCUS PERUVIANA) DE CUATRO EMPRESAS DEL DISTRITO DE TALAVERA EN EL AÑO 2019**”; para optar el Título Profesional de Ingeniero Agroindustrial, ha sido evaluada por el Jurado Dictaminador conformado por:

PRESIDENTE: Mg. DENIS HERNÁN GUTIÉRREZ MARTÍNEZ

PRIMER MIEMBRO: MSc. CARLOS ALBERTO LIGARDA SAMANEZ

SEGUNDO MIEMBRO: Mg. ROSA HUARACA APARCO

Habiendo sido aprobado **por UNANIMIDAD**, en la ciudad de Andahuaylas el día 23 del mes de diciembre de 2019.

Talavera, 23 de diciembre de 2019.

Mg. DENIS HERNÁN GUTIÉRREZ MARTÍNEZ
PRESIDENTE DEL JURADO DICTAMINADOR

MSc. CARLOS ALBERTO LIGARDA SAMANEZ
PRIMER MIEMBRO DEL JURADO DICTAMINADOR

Mg. ROSA HUARACA APARCO
SEGUNDO MIEMBRO DEL JURADO DICTAMINADOR

DEDICATORIA

Quiero dedicar este triunfo a Dios por darme la oportunidad de vivir, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente el entendimiento y la paciencia que necesitaba para cumplir este logro, por darme las fuerzas, por esta gran bendición.

De forma muy especial a mi padre Alberto Luna Salvador por su apoyo incondicional y confianza, a mis hermanos y hermanas Walter, Noé, Alex, Olga, Noelia, Reyna, Dorcas y María por su enorme comprensión, paciencia y cariño.

A los Ingenieros y compañeros de la escuela profesional de ingeniería Agroindustrial, a todos los que me formaron como profesional. Gracias por compartir sus conocimientos.

AGRADECIMIENTO

Quisiera expresar mis agradecimientos a todos aquellos que me han estado ayudando a la realización de este trabajo de investigación.

A la Universidad Nacional José María Arguedas y la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial por darme la oportunidad de estudiar durante cinco años, y agradecer a los docentes que me brindaron conocimientos en mi formación profesional.

También expresar mi agradecimiento al Mg. Ronald Pérez Salcedo y Mg. Celia Rocio Yauris Silvera, por el asesoramiento de tesis, por brindarme su amistad, su orientación y apoyo constante para el logro de este trabajo de investigación.

A mis jurados Mg. Denis Hernán Gutiérrez Martínez, MSc. Carlos Alberto Ligarda Samanez y Mg. Rosa Huaraca Aparco por su tiempo y dedicación empleados al revisar el trabajo de investigación.

Al Mg. José Pardo Gomez (ASOCIACIÓN EDUCATIVA SAYWA), por su motivación y corrección de Quechua.

Finalmente, agradezco a todas las personas que de alguna u otra forma han contribuido para la culminación de este trabajo de investigación.

ÍNDICE

	Pág.
APROBACIÓN DEL ASESOR	iii
COPIA DEL ACTA DE SUSTENTACIÓN	v
APROBACIÓN DEL JURADO EVALUADOR	vi
DEDICATORIA	vii
AGRADECIMIENTO	viii
ÍNDICE.....	ix
RESUMEN.....	xvi
ABSTRACT.....	xvii
CHUMASQA	xviii
INTRODUCCIÓN.....	19
CAPITULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	21
1.1. Situación problemática	21
1.2. Formulación del problema	22
1.2.1. Problema general	22
1.2.2. Problemas específicos	22
1.3. Objetivos de la investigación	22
1.3.1. Objetivo general	22
1.3.2. Objetivos específicos	22
1.4. Justificación de la investigación	23
CAPITULO II: ANTECEDENTES	24
CAPITULO III: MARCO TEÓRICO.....	30
3.1. Bases teóricas.....	30
3.2. Marco conceptual	44
CAPITULO IV: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN	46
4.1. Lugar de ejecución.....	46

4.2. Materiales, instrumentos y equipos	46
4.2.1. Materiales.....	46
4.2.2. Instrumentos y equipos	47
4.2.3. Reactivos e insumos	47
4.3. Población y muestra.....	48
4.3.1. Población	48
4.4. Tipo de investigación.....	48
4.5. Método de análisis	49
4.6. Diseño experimental.....	55
CAPITULO V: RESULTADOS Y DISCUSIONES	59
CONCLUSIONES	68
RECOMENDACIONES	69
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	70
ANEXO	76

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Lista de materiales de la investigación.	46
Tabla 2. Lista de instrumentos y equipos de investigación.	47
Tabla 3. Lista de reactivos e insumos de investigación.	47
Tabla 4. Curva estándar de Trolox.	49
Tabla 5. Curva calibración de ácido gálico.	52
Tabla 6. Curva estándar de quercetina.	54
Tabla 7. Diseño completamente al azar (DCA).	55
Tabla 8. Análisis de varianza para el DCA.	57
Tabla 9. Resultados de la actividad antioxidante del hidromiel de saúco.	59
Tabla 10. Resultados del contenido de fenoles totales del hidromiel de saúco. ...	61
Tabla 11. Resultados del contenido de taninos totales del hidromiel de saúco. ...	63
Tabla 12. Resultados del contenido de flavonoides totales del hidromiel de saúco.	65
Tabla 13. Promedio de resultados de cuatro empresas del distrito de Talavera...	67

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Estructura de Taninos Hidrolizables - Taninos Gálicos.	41
Figura 2. Estructura de Taninos Hidrolizables - Taninos Elágicos.	41
Figura 3. Estructura de Taninos Condensados.	42
Figura 4. Taninos hidrolizables y Taninos condensadas proantocianidinas.	42
Figura 5. Sistema de numeración de flavonoides y estructura básica.	44
Figura 6. Comparación de medias para actividad antioxidante con LSD.	60
Figura 7. Comparación de medias para el contenido de fenoles totales con LSD.	62
Figura 8. Comparación de medias para el contenido de taninos totales con LSD.	64
Figura 9. Comparación de medias para el contenido de flavonoides totales con LSD.	66
Figura 10. Comparación de cuatro empresas del distrito de Talavera.	67

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Datos para la actividad antioxidante del hidromiel de saúco.	76
Anexo 2. Datos para el contenido de fenoles totales del hidromiel de saúco.	77
Anexo 3. Datos para el contenido de taninos totales del hidromiel de saúco.	78
Anexo 4. Datos para el contenido de flavonoides totales del hidromiel de saúco.	79
Anexo 5. Curva estándar de calibración de Trolox.	80
Anexo 6. Curva estándar de calibración de ácido.	80
Anexo 7. Curva estándar de calibración quercetina.	81
Anexo 8. ANOVA para la actividad antioxidante del hidromiel de saúco.	82
Anexo 9. Prueba rangos múltiple (Método: 95.0 porcentaje LSD) para la actividad antioxidante del hidromiel de saúco.	82
Anexo 10. ANOVA para el contenido de fenoles totales del hidromiel de saúco. .	83
Anexo 11. Prueba rangos múltiple (Método: 95.0 porcentaje LSD) para el contenido de fenoles totales del hidromiel de saúco.....	83
Anexo 12. ANOVA para el contenido de taninos totales del hidromiel de saúco. .	83
Anexo 13. Prueba rangos múltiple (Método: 95.0 porcentaje LSD) para el contenido de taninos totales del hidromiel de saúco.....	84
Anexo 14. ANOVA para el contenido de flavonoides totales del hidromiel de saúco.	84
Anexo 15. Prueba rangos múltiple (Método: 95.0 porcentaje LSD) para el contenido de flavonoides totales del hidromiel de saúco.	84
Anexo 16. Fotografía del hidromiel de saúco.	85
Anexo 17. Fotografía de determinación de la actividad antioxidante.	85
Anexo 18. Fotografía del contenido de fenoles totales.	86
Anexo 19. Fotografía del contenido de taninos totales.	87
Anexo 20. Fotografía del contenido de flavonoides totales.....	88

ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS

ANOVA	: Análisis de varianza (Analysis of variance).
%	: Porcentaje.
°C	: Grados Celsius.
A	: Absorbancia de la muestra.
AA	: Actividad antioxidante.
Abs	: Absorbancia de la muestra.
ABS	: Absorbancia.
AG	: Acido galico.
CFIT	: Contenido de flavonoides totales.
CFT	: Contenido de fenoles totales.
Cm	: Centímetros.
CTT	: Contenido de taninos totales.
D	: Dilución.
DCA	: Diseño completamente al azar.
DPPH	: Radical 1, 1-Difenil-2-Picril-Hidrazilo.
TEAC	: Capacidad Antioxidante en Equivalentes de Trolox (trolox Equivalent Antioxidant Capacity).
LSD	: Diferencia mínima significativa (Least Significant Difference).
FRAP	: Poder antioxidante de reducción férrica (Ferricion Reducing Antioxidant Power).
CUPRAC	: Capacidad Antioxidante de reducción cúprico (Cupricion reducing antioxidant capacity).
ABTS	: Radical ácido 2, 2- Azinobis (3- etilbenzotiazolín -6- sulfónico).
HPLC	: Cromatografía líquida de alta resolución (High performance liquid chromatography).
ET	: Equivalente de Trolox.
F - C	: Folin-Ciocalteu.
G	: Gramos.
GAE	: Equivalente de ácido gálico.
H_A	: Hipótesis alternativa.
HCl	: Ácido clorhídrico.
H_o	: Hipótesis nula.

L	: Litros.
m	: Pendiente de la curva calibrada.
mg	: Miligramos.
min	: Minutos.
mL	: Mililitros.
mM	: Milimolar.
N	: Normalidad.
nm	: Nanómetros.
P	: Peso de la muestra.
AlCl₃	: Tricloruro de aluminio.
RL	: Radical Libre.
S	: Desviación estándar.
μ	: Media global.
T	: Tratamientos.
T⁰	: Temperatura.
Trolox	: Análogo de la vitamina E (6-hidroxi-2, 5, 7, 8 tetrametilcromo-ácido carboxílico).
UV	: Ultravioleta visible.
V	: Volumen de muestra.
Y	: Miligramos (mg) equivalente de ácido gálico (GAE)/por mL.
<i>Y_{ij}</i>	: Resultado Modelo de DCA en el que actúan tratamientos.
Δ Abs	: Variación de absorbancias.
τ_i	: Medición que corresponde al tratamiento i.
ϵ_{ij}	: Error aleatorio.

RESUMEN

En este trabajo de investigación el objetivo principal fue determinar la actividad antioxidante, contenido de fenoles totales, taninos totales y flavonoides totales del hidromiel de saúco (*Sambucus peruviana*) de cuatro empresas del distrito de Talavera en el año 2019. En consecuencia se utilizó el método espectrofotométrico con el reactivo DPPH para determinar la actividad antioxidante; con respecto al contenido de fenoles totales con Folin-Ciocalteu; para el contenido de taninos totales se utilizó ácido clorhídrico y para el contenido de flavonoides totales se analizó con el reactivo de tricloruro de aluminio. Por otro lado, Los resultados obtenidos por triplicado, fueron tabulados y evaluados a través del análisis de varianza (ANOVA), mediante la comparación prueba de rango múltiple se determinó la significancia de las medias con un nivel de confianza del 95 %, empleando diferencias mínimas significativas (LSD), donde mostraron el (valor - $p < 0.05$) esto explica que se rechazó la hipótesis nula, donde se demostraron que existen diferencias estadísticamente significativas de la actividad antioxidante, el contenido de fenoles totales, taninos totales y flavonoides totales del hidromiel de saúco de cuatro empresas del distrito de Talavera. Finalmente, se concluye que la empresa Santa Isabel presenta el mayor nivel de actividad antioxidante del hidromiel de saúco (2.830 ± 0.003 mMEq.trolox/100 mL de hidromiel de saúco), la empresa El Dorado tiene mayor contenido de fenoles totales (3783.38 ± 2.33 mg equivalente de ácido gálico/100 mL de hidromiel de saúco), la empresa Santa Isabel obtuvo el mayor contenido de taninos totales (12.254 ± 0.022 mg/L de hidromiel de saúco) y la empresa Marqués de Aranjuez muestra mayor contenido de flavonoides totales (335.46 ± 0.00 mg equivalente de quercetina/mL de hidromiel de saúco).

Palabras claves: *Actividad antioxidante, fenoles, taninos, flavonoides, hidromiel, saúco.*

ABSTRACT

In this research work the main objective was to determine the antioxidant activity, phenol content Total, total tannins and total flavonoids of elder mead (*Sambucus peruviana*) from four companies in the Talavera district in 2019. Consequently, the spectrophotometric method with the DPPH reagent was used to determine the antioxidant activity; regarding the content of total phenols with Folin-Ciocalteu; for the total tannin content, hydrochloric acid was used and for the total flavonoid content it was analyzed with the aluminum trichloride reagent. On the other hand, the results were obtained by doing a data analysis and comparison by means of the DCA that were tabulated and evaluated through the analysis of variance (ANOVA), using the multiple range test comparison the significance of the means with a level was determined. of 95% confidence, using significant minimum differences (LSD), where they showed the (value - $p < 0.05$) this explains that the null hypothesis was rejected, where it was shown that there are statistically significant differences in antioxidant activity, the content of phenols Total, total tannins and total flavonoids of elder mead from four companies in the Talavera district. When that the company Santa Isabel has the highest level of antioxidant activity of elder mead (2.830 ± 0.003 mMEq.Trolox/100 mL of mead), El Dorado has a higher total phenolic content (3783.38 ± 2.33 mg equivalent of gallic acid/100 mL of mead, the Santa Isabel company obtained the highest total tannin content ($12,254 \pm 0.022$ mg/L of elder mead) and the company Marqués de Aranjuez shows higher total flavonoid content ($335,46 \pm 0.00$ mg equivalent of quercetin/mL of elder mead).

Key words: *Antioxidant activity, phenols, tannins, flavonoids, mead, elder*

CHUMASQA

Kay investigación nisqanpi chiqap kamachikuyqa antioxidante imaynatas puririn chay riqsichikuymi, layanmanta hidrimielpi fenoles, taninos, flavonoides llapan tarikusanmanta (*Sambucus peruviana*) tawa qatupi riqsichiy, Talavera llaqtapi 2019 watapi. Kay yachay riqsichikun, llamkay yanapakuqkunata espectrofotométrico reactivo DPPH nisqanwan antioxidantipa ruraynin riqsichiwanchikpaq kaynata; llipin fenolespa willakuynin kay Folin-Ciocalteu nisqanwan; chaynallataq llipin taninospa willakuynin ácido clorhídricowan chapuspa riqsichikun; llipin flavonoides nisqanpaqtaq willakuynin reactivo tricloruro de aluminiowan tupachispa riqsichikun.

Chaynallaq, Qispiqninkunañataq kimsa kutikama chaninchasqa, tinkuchispa taripasqa karqaku chay varianza (ANOVA) allin yuyaychasqa nisqanwan, aswan allinta tupanachispa taripasqa rango multiple nisqanwan allin chaninchasqa 95% kasqanta riqsichikun, tukuy imaman hapipakusqa (LSD) chay ruraykunata qispichin, chaypi (valor - $p < 0.05$) nisqanta riqsirachin, kayqa willakun hipótesis nula nisqanta mana chaskinchu aswan huk niraqkuna allin chaninchasqa llapan antioxidante nisqanta qawarachin, chay layan hidromiel nisqanpi llipin fenoles, llipin taninos, llipin flavonoides nisqankunata tawantin Talavera qatukunapi kasqanta riqsichin. Maypi kay Santa Isabel qatu aswan chanin antioxidante nisqanta chay layanmanta hidrimielpi riqsichikun kaynata (2.830 ± 0.003 mMEq.Trolox/100 mL layan hidromielpi), Dorado qatutaq ancha chanin fenoles nisqanta (3783.38 ± 2.33 mg kaq niraqlla ácido gálico/100 mL layan hidromielpi) risqichikun, Santa Isabel qatutaq ancha chanin taninos nisqanta (12.254 ± 0.022 mg/L layan hidromielpi) riqsichikun, chaynallataq Marqués de Aranjuez qatutaq ancha chanin flavonoides nisqanta (335.46 ± 0.00 mg kaq niraqlla kay quercetina/mL layan hidromielpi) riqsichikun. Tukupayninpi willakun.

Chanin simikuna: *Antioxidante nisqan llamkay, fenoles, taninos, flavonoides, layan, hidromiel upyana chaykuna.*

INTRODUCCIÓN

El hidromiel de saúco es una bebida alcohólica obtenida mediante fermentación por levadura, miel, agua y jugo de saúco, ya que este producto es elaborado por las empresas de Marqués de Aranjuez, Santa Isabel, Granja Santa Rosa y El Dorado. Las propiedades beneficiosas del hidromiel de saúco aparentemente se deben a su actividad antioxidante y por su contenido de fenoles totales, taninos totales y flavonoides totales. Los taninos del hidromiel proceden principalmente de las semillas y los hollejos de saúco transferidos al hidromiel durante su elaboración.

Actualmente, el interés en los compuestos fenólicos ha aumentado debido a la evidencia con respecto al papel importante de estos compuestos con actividad antioxidante en la salud humana. Específicamente se han encontrado varios efectos preventivos en diferentes enfermedades como la prevención de cáncer, las enfermedades de corazón, los desórdenes inflamatorios, la degeneración neurológica, envejecimiento, etc. (Nichols, 2010). Por otro lado, los flavonoides tienen importantes propiedades antioxidantes, ya que minimizan la peroxidación lipídica y efecto de radicales libres, contribuyendo esta manera a reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares. Soto (2007).

Los compuestos bioactivos tales como fenoles, taninos y flavonoides que son componentes que se consumen en la dieta y, que manifiestan una fuerte actividad antioxidante en la salud y en la protección en ciertas patologías frecuentes y cardiovasculares. Conceptualmente, un antioxidante puede ser definido como aquella sustancia capaz de prevenir la oxidación mediada por radicales libres.

Es por esta razón que resulta importante determinar la actividad antioxidante, contenido de fenoles totales, taninos totales y flavonoides totales del hidromiel de saúco (*Sambucus peruviana*) de cuatro empresas del distrito de Talavera en el año 2019.

El contenido del informe está estructurado en cinco capítulos, de la siguiente manera:

CAPÍTULO I, contiene la caracterización del problema de investigación, formulación del problema, problemas específicos, objetivos de la investigación, objetivos específicos y justificación de la investigación.

CAPÍTULO II, se hace referencia los antecedentes de la investigación, se revisa investigaciones anteriores realizadas sobre la actividad antioxidante, contenido de fenoles totales, taninos totales y flavonoides totales del hidromiel de saúco y otras bebidas alcohólicas.

CAPÍTULO III, contiene marco teórico, bases teóricas de la investigación, marco conceptual, los cuales son conceptos de temas tratados en esta investigación.

CAPÍTULO IV, se describe la metodología de la investigación, lugar de ejecución, materiales, instrumentos y equipos, población y muestra de la investigación, el tipo de investigación, Método de análisis y diseño experimental.

CAPÍTULO V, en este capítulo se realiza la presentación, análisis e interpretación de los datos y la discusión de los resultados de las variables en estudio.

Por último se presenta las respectivas conclusiones, recomendaciones, referencia bibliográfica y anexos.

CAPITULO I: PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Situación problemática

El hidromiel de saúco es una bebida alcohólica que tiene un proceso fermentativo proveniente de la levadura, agua, miel, jugo de saúco y sin lugar a dudas la más importante de todas, es la única para la cual se acepta comúnmente la denominación de hidromiel de saúco. En la actualidad hay un alto índice de enfermedades o procesos asociados al daño oxidativo en las moléculas biológicas como: envejecimiento prematuro, enfermedades del corazón, diabetes, cuadros inflamatorios crónicos, enfermedades neurodegenerativas, motivo por el que la población se está preocupando cada vez más, de poder incluir en su dieta diaria alimentos que puedan aportar flavonoides y fenoles entre otros. Los productos que tienen actividad antioxidante y, además, pero por estudios realizados se observa que éste presenta en su composición flavonoides, los cuales brindan a nuestro organismo capacidad antioxidante, que permite luchar contra estos radicales libres y sus consecuencias.

Hay desconocimiento sobre los compuestos bioactivos como fenoles, taninos, flavonoides, y actividad antioxidante presentes en el hidromiel de saúco del distrito Talavera. La mayoría de las personas no tienen conocimiento de la cantidad de los compuestos bioactivos que tienen estas bebidas alcohólicas de las empresas de Marqués de Aranjuez, Santa Isabel, Granja Santa Rosa y el Dorado. Por ello, es necesario conocer el contenido de estos compuestos en el producto y valorar la presencia de compuestos bioactivos y actividad antioxidante además de brindar un aporte científico a la sociedad para el consumo del hidromiel de saúco. Por ello se plantea realizar el estudio para determinar la actividad antioxidante, contenido de fenoles totales, taninos totales y flavonoides totales del hidromiel de saúco comercializadas en el distrito Talavera en el año 2019.

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Problema general

- ¿Cuál es el nivel de la actividad antioxidante, contenido de fenoles totales, taninos totales y flavonoides totales de hidromiel de saúco (*Sambucus peruviana*) de cuatro empresas del distrito de Talavera en el año 2019?.

1.2.2. Problemas específicos

- ¿Cuál es el nivel de la actividad antioxidante del hidromiel de saúco (*Sambucus peruviana*) de cuatro empresas del distrito de Talavera en el año 2019?.
- ¿Cuál es el nivel del contenido de fenoles totales del hidromiel de saúco (*Sambucus peruviana*) de cuatro empresas del distrito de Talavera en el año 2019?.
- ¿Cuál es el nivel del contenido de taninos totales del hidromiel de saúco (*Sambucus peruviana*) de cuatro empresas del distrito de Talavera en el año 2019?.
- ¿Cuál es el nivel del contenido de flavonoides totales del hidromiel de saúco (*Sambucus peruviana*) de cuatro empresas del distrito de Talavera en el año 2019?.

1.3. Objetivos de la investigación

1.3.1. Objetivo general

Determinar la actividad antioxidante, contenido de fenoles totales, taninos totales y flavonoides totales del hidromiel de saúco (*Sambucus peruviana*) de cuatro empresas del distrito de Talavera en el año 2019.

1.3.2. Objetivos específicos

- Determinar la actividad antioxidante del hidromiel de saúco (*Sambucus peruviana*) de cuatro empresas del distrito de Talavera en el año 2019.
- Determinar el contenido de fenoles totales del hidromiel de saúco (*Sambucus peruviana*) de cuatro empresas del distrito de Talavera en el año 2019.
- Determinar el contenido taninos totales del hidromiel de saúco (*Sambucus peruviana*) de cuatro empresas del distrito de Talavera en el año 2019.
- Determinar el contenido flavonoides totales del hidromiel de saúco (*Sambucus peruviana*) de cuatro empresas del distrito de Talavera en el año 2019.

1.4. Justificación de la investigación

La actividad antioxidante y los compuestos bioactivos (fenoles totales, taninos totales, flavonoides totales) son benéficos para la salud. Las propiedades antioxidantes de estos compuestos ayudan a neutralizar los radicales libres y a eliminar determinadas sustancias tóxicas, reduciendo la probabilidad de desarrollar cáncer, inhiben el crecimiento de bacterias dañinas para el organismo, favorece el sistema inmunitario, previene enfermedades cardiovasculares al reducir la presión arterial. Ya que los antioxidantes son sustancias que inhiben o retardan el proceso oxidativo, cuya actividad podría deberse a sus componentes polifenólicos (Chaulya y Mukherjee, 2010). Ya que los compuestos fenólicos son moléculas de importancia demostrada de actividad antioxidante, presentan un numeroso grupo ampliamente distribuido en la naturaleza y son componentes importantes para la salud humana. Agarwal (2002). Los taninos son polímeros de flavanoles y flavanodoles que son potentes antioxidantes, pueden estimular las enzimas detoxificantes, refuerzan los capilares, inhiben la inflamación y pueden bloquear el crecimiento de tumores. Girard (2004), y los flavonoides protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes como rayos UV, contaminación ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos, estrés y otros, poseen actividad antioxidante, antiinflamatoria, antitumoral, además ofrecen protección contra el cáncer y enfermedades neuro- degenerativas (Smith y Tran, 2014).

En el distrito Talavera hay empresas que elaboran el hidromiel de saúco y utilizan materia prima de la zona. Por este motivo, es importante establecer comparaciones del hidromiel de saúco elaboradas por cuatro impresas del distrito de talavera y en las materias primas que se usan durante la elaboración, para determinar las diferencias que pueden poseer estos productos y para su valoración de estas bebidas alcohólicas ya que se puede aprovechar los compuestos bioactivos que presenta. Así mismo la importancia de este trabajo es determinar la actividad antioxidante, contenido de fenoles totales, taninos totales y flavonoides totales. Por lo cual el presente trabajo de investigación contribuirá al incremento del valor agregado de este tipo de productos, lo cual será aprovechado por las organizaciones empresariales y población que dependan de esta fuente de recursos para su sustento económico.

CAPITULO II: ANTECEDENTES

2.1. Antecedente Internacional

Arteaga et al. (2016) en su investigación "Análisis comparativo del contenido de taninos en vinos comerciales de Tarija, Bolivia". Nos indica que la expresión de los vinos está influenciada directamente por los compuestos fenólicos, los cuales están compuestos por antocianos y taninos. Estos compuestos tienen su origen en la materia prima con la que se elabora el vino. En el presente trabajo, tiene como objetivo la cuantificación del grupo de taninos aportados al vino por la uva, conocidos como favanoles, procianidinas o taninos condensados. Los resultados del presente trabajo indican un contenido de taninos que oscilan entre 4,968 como valor máximo y 0,213 mg/L como valor mínimo. Los valores medidos corresponden a vinos comerciales de las cosechas 2012, 2013 y 2015. En conclusión el contenido de taninos con relación al olor, color y sabor si existen diferencias significativas entre los vinos elaborados, demostrándose preferencia por el vino elaborado con adición de 0.5 mg/0.7 L de taninos condensados.

Rodríguez y García, (2005). En este trabajo se ha determinado la actividad antioxidante de 99 vinos de Castilla-La Mancha (España) mediante el método del secuestro del radical DPPH (Radical 1, 1-Difenil-2-Picril-Hidrazilo). El contenido de taninos totales de los vinos tintos analizados presenta valores medios de este parámetro de 3.36 expresados como mg equivalentes de quercetina/L. Los vinos blancos y rosados, por su parte, presentan valores de 0,19 mg/L y 0.37 mg/L respectivamente. En conclusión se han obtenido correlaciones muy estrechas entre la actividad antioxidante de los vinos y sus contenidos en polifenoles totales y taninos totales, y algo menos con respecto a los antocianos.

Según (Leyva, 2009). En su investigación "Determinación de antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante en licores y fruto de mora". Los vinos son una fuente de fenoles, sustancias que ofrecen una acción protectora al organismo contra enfermedades crónico-degenerativas. Además de los vinos existen bebidas alcohólicas elaboradas a partir de frutos que poseen una alta concentración de fenoles como es el licor de mora que es un producto típico elaborado en la región de Xico, Veracruz a partir de fruto maduro de zarzamora que crece de forma

silvestre en dicha región. Sin embargo, no se tiene un estudio acerca de las propiedades fisicoquímicas y sus efectos beneficios para el consumidor. Por lo que el objetivo del presente trabajo fue evaluar en diferentes marcas de licores el contenido de antocianinas monoméricas y % color, fenoles totales y actividad antioxidante, así como sus propiedades fisicoquímicas. El intervalo de contenido de antocianinas manoméricas en los licores fluctúa de 3.56 ± 0.19 a 76.95 ± 1.20 mg de cianidina 3-glucósido/L; el contenido de fenoles totales se encuentra en un intervalo de 477.12 ± 0.04 a 884.98 ± 0.03 mg EAG/100 mL y la actividad antioxidante de 110.51 ± 0.88 a 304.47 ± 2.65 mM equivalentes de Trolox/100 mL de licor. Finalmente en conclusión se encontró mediante un análisis de ANOVA que son excepción de 2 muestras, sí existen diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$) entre los licores evaluados, lo cual puede atribuirse a sus diferentes condiciones de procesamiento y almacenamiento. Mediante una correlación canónica se obtuvo que a menor pH y menor porcentaje de azúcares reductores, existe un mayor contenido de antocianinas manoméricas, es decir bajo estas condiciones se favorece la presencia de estos compuestos bioactivos que ayudan a la prevención de enfermedades crónico-degenerativas.

(Ketter, 2008) "Caracterización de la composición fenólica de vinos comerciales del cv. Cabernet Sauvignon provenientes de tres valles de Chile, de las vendimias 2002 y 2003". El presente estudio tuvo como objetivos cuantificar la composición fenólica total y pormenorizada en vinos comerciales de la vendimia 2002 y 2003, de la variedad Cabernet sauvignon, provenientes de tres valles de Chile (Maipo, Rapel y Curicó) y según su composición fenólica, determinar la existencia de la relación entre las mismas y la procedencia de los vinos. Las muestras fueron sometidas a análisis fenólicos globales, tales como determinación de fenoles totales, taninos totales, flavonoides totales. Los resultados de los análisis globales determinaron valores promedio del índice de polifenoles totales en el rango de los 1193,4 y 938,1 mg/L en miligramos equivalentes de ácido gálico. Los valores promedio observados para antocianos totales, oscilaron entre los 197,2 y 507,1 mg/L en miligramos equivalentes y para los taninos totales entre 3,0 a 4,4 mg/L y flavonoides totales, se detectaron valores promedio entre 1,80 y 9,03 mg/mL. En general, los análisis globales efectuados a las muestras de vinos comerciales del cv. Cabernet sauvignon, no permitieron establecer una diferencia estadísticamente significativa

respecto de la procedencia. El análisis pormenorizado identificó y cuantificó un total de 17 compuestos fenólicos y 18 compuestos antociánicos. De acuerdo a las condiciones empleadas en el presente estudio, es posible concluir que: Las muestras de vino del cv. Cabernet sauvignon presentan en su gran mayoría el mismo perfil de compuestos fenólicos de bajo peso molecular y antocianinas, independientemente de su origen y año de elaboración.

Cañibano, (2012) menciona en su investigación “Efecto del perfil fenólico sobre las características antioxidantes de vinos”. El objetivo principal de este trabajo es estudiar la incidencia del año de vendimia y la variedad de uva sobre la capacidad antioxidante de diversos vinos tintos secos y correlacionar su potencial antioxidante con su perfil fenólico. Se analizaron 16 muestras de vino tinto, 8 de la vendimia del 2009, 4 de ellos elaborados con uva Tempranillo y los otros 4 con Cabernet Sauvignon, y 8 de la vendimia de 2010, con las mismas variedades de uva que la vendimia anterior. Estos vinos fueron elaborados por los alumnos de la E.T.S.I.I.A.A (Universidad de Valladolid, Palencia). Se determinó la actividad antioxidante total utilizando los métodos DPPH, FRAP y HRSA. El contenido en fenoles se determina a través de dos métodos, mediante el índice de polifenoles totales y mediante el reactivo de Folin-Ciocalteu. Además, flavonoides totales. Los resultados del presente trabajo indican un actividad antioxidante total de vino tinto, vendimia del 2009 Tempranillo entre 0.07 a 0.08 y Cabernet Sauvignon del 2010 entre 0.10 a 0.13 y contenido de flavonoides totales de vino tinto, vendimia del 2009 Tempranillo entre 6.7 a 9.5 mg.EQ/mL y Cabernet Sauvignon del 2010 entre 6.8 a 9.6 mg EQ/mL. Los datos anteriormente expuestos se puede concluir que existen evidencias de la relación entre el año de vendimia. En cuanto al factor muestra, las muestras de vino elaboradas a partir de uva de la variedad Cabernet Sauvignon presentan mayor contenido en flavonoles totales.

2.2. Antecedente nacional

Luna et al. (2009). En su investigación “Composición fenólica y actividad antioxidante de variedades minoritarias de vid de las islas baleares”. Se determinó el contenido en polifenoles mediante el método Folin-Ciocalteu y la actividad antioxidante con los métodos DPPH, así como su correlación con la intensidad de color de los vinos. Según los resultados obtenidos, las variedades tintas mostraron

valores muy altos con respecto a las variedades blancas. La variedad que presentó mayor polifenoles totales fue Sabater con un valor de 1169140 ± 2.06 , seguida de Escurcac y Gorgollassa con valores de 971400 ± 2.81 y 869590 ± 3.58 , vino blanco Giró Ros con 214860 ± 0.94 y vino blanco Quigat con 128020 ± 0.31 mg ácido gálico/100 mL y los valores de actividad antioxidante en los vino tinto Sabater con 4.22 ± 0.65 , vino tinto Escursac con 3.27 ± 0.29 , vino tinto Gorgollassa con 3.42 ± 0.5 , vino blanco Giró Ros con 0.33 ± 0.06 y vino blanco Quigat con 0.31 ± 0.07 mMEq.Trolox/100 mL. En conclusión mostraron que las variedades tintas, especialmente la variedad Sabater, fue la que presentó un mayor contenido en polifenoles totales y, por tanto, una mayor actividad antioxidante e intensidad de color. Las variedades blancas presentaron valores de estos parámetros notablemente inferiores a los obtenidos para las tintas.

Salazar et al. (2011) en su investigación "Compuestos fenólicos, actividad antioxidante, contenido de resveratrol y componentes del aroma de 8 vinos peruanos". El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo conocer las propiedades fisicoquímicas, actividad antioxidante, componentes del aroma y contenido de resveratrol y quercetina de 8 vinos peruanos. Se encontró que las densidades relativas de los vinos están dentro del rango de 0.9916 a 1.0174 g/mL, mientras que los valores de pH varían de 3.18 a 3.97. Mediante métodos espectrofotométricos se determinó la concentración de fenoles totales (2374000 a 361000 mg/100 mL) y flavonoides totales (1869190 a 3138850 mg/mL). Por medio de cromatografía líquida de alta performance (HPLC) se pudo detectar la presencia del compuesto trans-resveratrol en 6 de los 8 vinos peruanos evaluados. El vino Tabernerero Malbec-Merlot contiene la mayor concentración de dicho compuesto (0.56 ± 0.03 µg/mL) y, además, es el que presenta la mejor actividad antioxidante en el test de DPPH. Por medio de cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas se pudo determinar que los compuestos volátiles de mayor concentración en el aroma de los vinos fueron el ácido sórbico, feniletanol, ácido propanoico y monoetil éster del ácido butanodioico. En conclusión los vinos peruanos evaluados mostró una concentración de fenoles totales dentro del rango de 2374250 a 3610430 mg/100 mL; una concentración de flavonoides totales de 1869190 a 3138850 mg/mL, y una concentración de antocianinas totales de 102640 a 317500 mg/mL. En general, los vinos tintos presentaron un mayor contenido de

compuestos fenólicos y mayor actividad antioxidante que los vinos rosados. Se ha podido detectar por medio de HPLC la presencia del compuesto transresveratrol en 6 de los 8 vinos peruanos evaluados. El vino Tabernero (Malbec-Merlot) contiene la mayor concentración de dicho compuesto ($0.56 \pm 0,03 \mu\text{g/mL}$) y además, es el que presenta la mejor actividad antioxidante en el test de DPPH.

Muñoz et al. (2007) en su investigación "Evaluación de la actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en vinos producidos en Perú". Se estudiaron 13 tipos de vinos peruanos elaborados en los departamentos de Ica y Lima. El contenido de compuestos fenólicos se estimó usando el método Folin-Ciocalteu, obteniéndose valores de 627000 a 3321000 mg/100 mL. La actividad antioxidante se realizó usando, dos métodos: primero aplicando el método DPPH los valores están entre 32 a 873 mMeq.Trolox /100 mL, para un monitoreo de 5 minutos; luego usando el catión ABTS, los resultados se expresaron en TEAC (capacidad antioxidante equivalente Trolox) y estuvieron entre 2,4 a 17,6 mMeq.Trolox. Los compuestos fenólicos entre 0,13 – 3,28 mg/L, cafeico entre 0,47 – 15,08 mg/L, ferúlico entre 0,21 – 5,57 mg/mL, rutina entre 0,017 – 0,57 mg/L, flavonoides totales entre 0,19 – 7,74 mg/mL y kaemferol entre 0,023 – 1,39 mg/L. En conclusión el vino elaborado con las variedades Tannat y Petit Verdot presentó mayor concentración de compuestos fenólicos y actividad antioxidante por ambos métodos. La presencia de estos compuestos antioxidantes permitiría, un criterio de clasificación que debería considerarse en la información nutricional en la etiqueta de los vinos, proporcionando ventajas para productores y consumidores.

Avalos et al. (2003) en su investigación "Actividad antioxidante y contenido en fenoles totales en vinos de origen nacional". Analizó 12 muestras de vinos tintos, 5 vinos rosados y 7 vinos blancos de producción nacional, consumidos habitualmente en la región de Nordeste argentino y determina la actividad antioxidante total utilizando el test del radical cromógeno DPPH (2,2- difenil-1-picrilhidracilo) y el contenido en fenoles por dos métodos: con el reactivo de Folin-Ciocalteu utilizando un patrón de ácido gálico y lecturas de Absorbancia a 280 nm. Donde La actividad antioxidante expresada en mM equivalentes de Trolox/100 mL y fenoles totales expresada en mg de ácido gálico equivalentes/100 mL de vino tomó valores de 38.4 a 77.8 para los vinos tintos, entre 12.2 y 25.74 para los rosados y 3.80 a 9.96 para

los blancos, los valores de fenoles totales, en vinos tintos fueron de 22.72 a 40.55, para vinos rosados entre 11.85 y 13.65 y para blancos entre 2.06 y 5.75. Además, cuantifica el nivel de antocianinas totales por espectrofotometría a pH diferencial. Se encontró una correlación lineal entre la actividad antioxidante y el contenido en fenoles totales determinado por ambos métodos ($r^2 = 0,981$), no así con el nivel de antocianinas. En conclusión se puede usar el radical DPPH como reactivo para la determinación de la actividad antioxidante en vinos, realizando las lecturas de absorbancia cuando la mezcla de reacción alcanza el estado estacionario. Se encontró una relación lineal entre la actividad antioxidante de los vinos argentinos, determinada por el método propuesto, y el contenido en polifenoles totales (método de Folin-Ciocalteu). Para vinos tintos y rosados, que presentan un máximo en su espectro UV a 280 nm se propone como método alternativo de cuantificación de fenoles totales, lecturas directas de absorbancia a 280 nm. Los niveles de antocianinas totales en vinos tintos y rosados no presentaron una correlación directa con la actividad antioxidante de los vinos analizados, la cual resulta de la contribución que realizan las diferentes fracciones polifenólicas.

Llañez et al. (2013) en su investigación “Compuestos fenólicos totales de los vinos tinto que se elaboran en el distrito de Santa María, Huacho”. Objetivo: Determinar los compuestos fenólicos totales de los vinos tintos que se elaboran en el distrito de Santa María, Huacho. Material y Métodos: Las muestras fueron tomadas a través del método probabilístico y la técnica aleatoria o al azar (botellas de 750 ml) de los lugares de elaboración, fueron trasladadas al laboratorio de Toxicología de los Alimentos de la Facultad de Bromatología y Nutrición para los análisis respectivos. La determinación de antocianinas totales, taninos totales y polifenoles totales se realizó por Espectrofotometría UV-Visible. Resultados: Los vinos tintos que se elaborados en el distrito de Santa María presentan valores promedio bajos de contenidos de antocianinas totales (8,663 mg/l), taninos totales (147,38 mg/l) y polifenoles totales (12,86 mg/l), en comparación con los vinos internacionales. Conclusión: Los vinos tintos que se elaboran en el distrito de Santa María, son aptos para el consumo, porque cumplen con los requisitos según Norma técnica peruana e internacionales.

CAPITULO III: MARCO TEÓRICO

3.1. Bases teóricas

3.1.1. Miel

La miel es una sustancia natural producida por la abeja *Apis melífera* o por diferentes subespecies. Se obtiene a partir del néctar de las flores y otras secreciones extra florales que las 39 abejas liban, transportan, transforman, combinan con otras sustancias, deshidratan, concentran y almacenan en panales. Ulloa et al. (2010).

La miel se compone esencialmente de diferentes azúcares, donde predominan la glucosa y la fructosa; contiene además una mezcla de hidratos de carbono muy complejos, como sacarosa, maltosa, melicitosa y otros oligosacáridos, diversas enzimas, aminoácidos, ácidos orgánicos, minerales, vitaminas, sustancias aromáticas, pigmentos, ceras, granos de polen, etc. (Polaino, 2006).

3.1.1.1. Composición

La miel de abeja es un producto biológico muy complejo, cuya composición depende de diversos factores como son: La raza de abejas, el estado fisiológico de la colonia, la flora visitada, naturaleza del suelo, condiciones climáticas y edafológicas del lugar donde se produce. (Zegarra, 2006).

La miel es esencialmente una disolución acuosa concentrada de azúcar invertido, contiene además una mezcla muy compleja de hidratos de carbono, aminoácidos, ácidos orgánicos, minerales, sustancias aromáticas, pigmentos, ceras, granos de polen etc. (Zegarra, 2006) la composición química de la miel varía dependiendo de la especie de abeja, origen floral del néctar, métodos de recolección y las posibles adulteraciones (Correa, 2015, p. 140). La miel de abeja se compone mayoritariamente de azúcares (77 %), pero también de agua, cenizas y vitaminas. presenta siguientes componentes Agua (18 %), Proteína (0.26 %), cenizas (0.2 %), Azúcares (77 %), Sacarosa (1.3 %), Glucosa (33 %), Fructosa (36 %), maltosa (7.3 %) y cenizas (0.2 %). (Pesante, 2007).

3.1.1.2. Propiedades físicas

Las propiedades físicas de la miel deben ser consideradas junto con la composición químicas, el agua y los azúcares principalmente, que son sus elementos constitutivos más importantes. Bartolini (1994).

a). Densidad

La densidad de una sustancia es la relación entre la su masa y su unidad de volumen. En la miel puede medirse pesando un volumen conocido de muestra contenido en un picnómetro o utilizando un hidrómetro calibrado. Debe tenerse en cuenta que el valor de la densidad depende del contenido de agua de la muestras y de la temperatura a la cual se lleva a cabo la medición. La densidad de la miel a 20 °C varía entre 1.39 gr/mL y 1.44 gr/mL dependiendo del tipo de miel (Sáinz, 2000).

b). Viscosidad.

Es la propiedad de un fluido por la que tiende a oponerse a su flujo cuando se le aplica una fuerza. La viscosidad es una característica de todas las mieles, esta varía según el origen floral. En esta propiedad influye el porcentaje de agua y la relación fructosa: glucosa, teniendo en cuenta que a mayor cantidad de fructosa las mieles son menos viscosas y a mayor cantidad de azúcares superiores mayor es la viscosidad. La viscosidad, único atributo de textura de los alimentos líquidos, es altamente dependiendo de la temperatura y su valor disminuye al aumentar ésta. Algunas mieles se comportan como alimentos líquidos con flujos newtonianos, presentando valores de viscosidad hasta 110 poises, medidos a 20 °C (Fattori, 2004).

3.1.2. Hidromiel

El hidromiel, es una bebida fermentada elaborada a base de miel y agua. Es una de las bebidas más antiguas, anterior al vino y probablemente, precursora de la cerveza. Su uso estuvo muy difundido entre los pueblos de la antigüedad, con una concentración de alcohol entre el 10 % y 15 % v/v. Se considera la primera bebida alcohólica consumida por el hombre y se cree es precursora de la cerveza actual. Para los mayas era una bebida sagrada utilizada en ceremonias religiosas y además, le atribuían propiedades medicinales. Barrios et al. (2010).

El hidromiel es quizás la bebida fermentada más antigua del mundo; sin embargo, es difícil encontrarla comercialmente. La fermentación de la miel se puede utilizar para producir diferentes variedades de vinos, vino espumoso y frutales; puede obtener diferentes sabores según la fuente floral de la miel y el tipo de levadura utilizada en la fermentación. Se ha reportado, que el hidromiel contiene muchos de los elementos requeridos por un organismo y posee un excelente efecto sobre la digestión y el metabolismo (Gupta y Sharma, 2009).

3.1.2.1. La fermentación alcohólica

La fermentación alcohólica constituye una de las etapas más importantes de la elaboración de hidromiel en donde la acción de la cimesa segregada por la levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) convierte los azúcares simples, como la glucosa y la fructosa, en alcohol etílico, dióxido de carbono más energía. (Flanzy, 2000). La palabra fermentación significa una condición de suave burbujeo y ebullición, esta definición se la aplicó hace 1000 años. Posteriormente Pasteur demostró la relación que tenía la levadura en esta reacción y se la llegó a relacionar con la acción de los microorganismos y al final con las enzimas. (Acosta, 2012). La fermentación alcohólica termina cuando prácticamente todo el azúcar se ha transformado en alcohol. La fermentación es imprescindible y se reduce al control de cinco parámetros: tiempo, °Brix, pH, temperatura y la acidez, este último es un parámetro que se controla en diferentes estados de la fermentación, para determinar los diferentes ácidos que se producen durante este tiempo y poder controlar si estos afectan las características del hidromiel. (Acosta, 2012).

3.1.2.2. Proceso de fermentación

Según (Leandro, 2013). Mediante la utilización de una cepa de levaduras denominadas *saccharomyces cerviseae* (más comúnmente conocida como “levadura de pan”), se procede a fermentar mostos azucarados, los cuales tienen como materia prima la miel. La relación de mezcla es la suficiente como para que la suma de los azúcares reductores totales puedan ser transformados en alcoholes con una concentración cercana a 8 – 8,5 % (v/v) de alcohol. La levadura tiene la particularidad de ser un microorganismo facultativo, es decir, que puede vivir con o sin aire, teniendo desde ya funciones distintas según sea el proceso:

a). Con aire. Proceso aeróbico: Los azúcares presentes son utilizados por las levaduras para nutrición y reproducción. Esto implica que en estas condiciones, los azúcares son transformados en biomasa. Leandro (2013).

b). Sin aire. Proceso anaeróbico: Los azúcares presentes son sometidos a un proceso de fermentación mediante un proceso de glicólisis, en donde participan una serie de enzimas que han de llevar al monosacárido glucosa y/o fructosa a aldehído pirúvico y una oxidación final lo transforma en alcohol etílico, con un desprendimiento de calor, y de CO₂, los cuales deben ser retirados del medio para que la reacción continúe. Se debe señalar que los azúcares que esta levadura ha de procesar son sólo los monosacáridos glucosa/fructosa y posee la enzima invertasa para “desdoblar” o hidrolizar a la sacarosa convirtiéndola en sus azúcares simples que la constituyen: glucosa y fructosa. (Leandro, 2013).

3.1.2.3. Caracterización del hidromiel

A continuación, se darán a conocer las generalidades del hidromiel en características organolépticas y fisicoquímicas. Gordon (2015).

a) Aroma.

El aroma a miel variará en función de la concentración de azúcares residuales al igual que el tiempo de fermentación del hidromiel. Hidromieles más fuertes o dulces pueden tener un aroma más destacable a miel que otras versiones como las secas. Las variedades de miel tienen diferentes incidencias dentro del proceso de fermentación. Gordon (2015).

b) Apariencia.

La claridad puede ser de buena a brillante. Claridades a cristal, reflexivas, luminosos y distintivos son altamente deseables. Gordon (2015).

c) Sabor

El sabor a miel variará en función de los azúcares residuales e intensidad del hidromiel. “Las versiones más fuertes y dulces tendrán un sabor a miel más fuerte que las versiones más secas y suaves”. Gordon (2015).

d) Sensación en boca

Para la apreciación, es necesario referirse a una sensación de dulce, intensidad y niveles de carbonatación, así como a cualquier materia prima agregada; estos pueden afectar la sensación en boca al proporcionarle diferentes características al hidromiel clásico. Gordon (2015).

e) Materias primas

El hidromiel se prepara a base de miel, agua y levadura. En algunos casos se es necesario ajuste menor en la acidez y en los taninos que se pueden realizar con frutos cítricos, aditivos naturales o químicos; Sin embargo, estos aditivos no deben ser fácilmente palpables en el sabor o aroma. (Gordon, 2015).

3.1.2.4. Tipos de hidromiel

Con la denominación de Hidromiel compuesto o Hidromiel de frutas, se entiende el producto obtenido por la fermentación alcohólica de un cocimiento de miel, agua potable, adicionado de zumos de frutas (Hidromiel de frutas). Pereira (2004). El hidromiel se clasificar como:

- a) Seco:** Caracterizan por un contenido bajo de azúcar.
- b) Dulce:** Caracterizan por un contenido alto de azúcar.
- c) Espumoso:** Por su efervescencia propia.
- d) Gasificado:** Gasificación proporcionada artificialmente.
- e) Semiseco:** Que se caracteriza por la presencia de burbujas.

3.1.3. Saúco

3.1.3.1. Descripción Botánica

El saúco es una planta originaria del Perú y regiones adyacentes. Se distribuye desde Argentina hasta Costa Rica. Crece espontáneamente, en climas templados y fríos, en terrenos húmedos a orilla de los ríos. En el Perú, el saúco tiene un amplio rango altitudinal, desde los 2,800 hasta los 3,900 msnm, según la zona del país, pero el óptimo está entre 3,200 y los 3,800 msnm. Encontrándose en los departamentos de Ancash, Lima, Huánuco, Junín, Cusco y Apurímac. (Blanco, 2005).

3.1.3.2. Taxonomía

3.1.3.2.1. Clasificación taxonómica del saúco

Según (Brack, 1999), el saúco se clasifica desde un punto de vista botánico de la siguiente manera:

Reino: Plantae.

División: Magnoliophyta.

Clase: Magnoliopsida.

Subclase: Asteridae.

Orden: Dipsacales.

Familia: Caprifoliaceae.

Género: Sambucus.

Especie: *Sambucus peruviana*.

3.1.3.2.2. Características del fruto de saúco

El fruto de saúco está constituido por bayas que en conjunto forman el racimo. Se encuentra constituido por las bayas y el raspón o escobajo, además consta de un vástago principal donde se asientan las bayas. Cahuana (1991).

Las bayas son de forma redonda u ovalada, su color característico es rojo-azulado oscuro, presenta de 200 a 400 por racimo, siendo su diámetro variable entre 0,8 a 1cm, el peso oscila entre 0,4 a 0,7 g; y son débiles a la acción mecánica. (Cahuana, 1991). La baya de saúco se encuentra constituida por una película u hollejo, pulpa y semillas. Además, presenta una estructura similar a la baya de uva. (Cahuana, 1991).

La fruta de saúco (*Sambucus peruviana*) tiene fenoles totales 691.13 mg de ácido gálico/100 gr y actividad antioxidante tiene 699.4613 mg de ácido gálico/100 gr (Jorge y Segura, 2011).

3.1.3.2.3. Propiedades físicas y químicas del fruto del saúco

A) Humedad

La determinación realizada por varios autores acerca del contenido de humedad en el fruto de "Saúco" fue de 91,49 %; 71,6 %; 89,67 %. Cahuana (1991). El componente fundamental de los frutos es el agua, el cual representa del 50 a 90 % de su peso, en estado de madurez. Sin embargo, el desarrollo de los frutos no está

condicionado solamente a las disponibilidades de agua en el suelo, sino al suministro de elementos minerales del suelo (Gil y Albert, 1991).

B) Desprendimiento de frutos

El desprendimiento de los frutos es debido a la formación en el pedúnculo del fruto, a nivel de la zona de inserción, de la llamada "capa de abscisión. Cuando el fruto madura, la presencia de esta capa se hace aparente, y el fruto se desprende con facilidad (Gil y Albert, 1991).

C) Sólidos solubles totales (SST)

En el estado de plena madurez del fruto de saúco, los sólidos solubles totales, están comprendidos entre 6,5 y 7,2 grados brix. Cahuana (1991).

D) pH

El fruto maduro del saúco es considerado muy ácido por oscilar su pH entre 3,2-3,8. Cahuana (1991). Por tal motivo, la determinación del pH en los frutos de saúco tiene importancia para determinar el grado de acidez, el estado de madurez, el grado de deterioro de las bayas de saúco, además de la conservación y almacenamiento de alimentos, por su efecto inhibitor en el desarrollo de microorganismos y enzimas. Matissek et al. (1992).

E) Cenizas

La determinación realizada por varios autores acerca del contenido de cenizas en el fruto del saúco fue de 0,84 %; 2,1 % y 0,89 %. Cahuana (1991).

3.1.4. Actividad antioxidante

La actividad antioxidante es la capacidad acumulativa de los componentes de un alimento de atrapar radicales libres (Pablo y Gotteland, 2007).

La actividad antioxidante de un compuesto depende de sus propiedades redox, así como también de su capacidad como donador de átomos de hidrógeno y como captador de radicales; idealmente, todas esas propiedades deberían medirse en cada componente para valorar la actividad antioxidante total. (Ramirez, 2013).

La capacidad o actividad antioxidante es una propiedad de algunas sustancias (antioxidantes), por la cual retrasan el comienzo o reducen la velocidad de oxidación de las sustancias oxidables, inhibiendo la formación de radicales libres en la fase de iniciación o interrumpiendo la cadena de propagación de radicales libres. La eficacia de un antioxidante está relacionada con numerosos factores como la energía de activación, las constantes de velocidad, el potencial de oxidación-reducción, la facilidad de destrucción del antioxidante y las propiedades de solubilidad. Adicionalmente, su eficacia se ve influida por su capacidad de retrasar o frenar la reacción en cadena, su volatilidad y su carácter anfifílico. Fennema et al. (2000). Esto se produce debido a que los radicales libres son átomos o grupos de átomos que tienen un electrón desapareado con capacidad de aparearse, por lo que son muy reactivos, recorren nuestro organismo intentando robar un electrón de las moléculas estables con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica y lograr su función específica en la célula. La vida biológica del radical libre es de microsegundos, pero tiene la capacidad de reaccionar con todo lo que esté a su alrededor provocando un estrés oxidativo que puede conducir a diversas enfermedades, tales como envejecimiento, problemas del sistema cardiovascular (arterosclerosis), problemas en el sistema nervioso, daño genético. (World, 1990).

3.1.4.1. Radical Libre

El radical libre son compuestos químicos que tienen un electrón desapareado, lo que hace que sean altamente inestables y reactivos, al buscar estabilidad, donan o ganan un electrón de otro compuesto. Halliwell (1993).

Los átomos ordenan sus electrones en los orbitales atómicos, este orden siempre se hace en pares de electrones, lo que confiere al átomo estabilidad y por lo tanto una baja reactividad con el medio. Bajo ciertas circunstancias un orbital puede perder su paridad (perdiendo o ganando un electrón), la presencia del electrón desapareado en el orbital más externo hace que el compuesto se vuelva reactivo con otras moléculas de su entorno, usualmente lípidos, proteínas y ácidos nucleicos. Al reaccionar los radicales libres con dichos sustratos altera sus propiedades estructurales y funcionales, causando un daño irreparable en la mayoría de los casos. (White, 1994).

3.1.4.2. Estrés oxidativo

El estrés oxidativo ocurre cuando la velocidad con la que se generan las especies reactivas en el organismo supera la velocidad con que dichas especies son removidas por los mecanismos y compuestos antioxidantes. Este puede ser originado por una sobre generación de compuestos oxidantes (ROS y RNS) o por la reducida capacidad de los sistemas endógenos para combatir el ataque oxidativo dirigido hacia las biomoléculas. El daño producido a nivel celular, ocasionado por el estrés oxidativo, inducido por la actuación de radicales libres, contribuye al desencadenamiento de enfermedades crónicas como enfermedades cardiovasculares e inflamatorias, cataratas, cáncer, entre otras. (Persson, 2014).

3.1.5. Fenoles totales

Los compuestos fenólicos de los productos vegetales se han identificado un gran abanico de sustancias con un amplio espectro de actividades funcionales. Tradicionalmente, estos compuestos se han considerado importantes en los vegetales por su participación en flavor y color (especialmente en pardeamiento enzimático) pero actualmente también despiertan un gran interés por sus potenciales efectos benéficos para la salud, actividad antioxidante y acciones antimicrobianas. En los términos químicos más simples, los compuestos fenólicos por un anillo aromático hidroxilado como fenol, p-creso y 3-etilfenol. Los compuestos fenólicos disminuyen con el grado de madurez en las frutas, pero aumentan como respuesta al estrés producido por magulladoras y por infecciones fúngicas. Fennema et al. (2000).

Los compuestos fenólicos son en gran parte, los responsables de las principales características organolépticas de los alimentos y bebidas procedentes de plantas: se encuentran en frutas, verduras, legumbres, frutos secos chocolate y en bebidas como el té, café, vino y cerveza. Contribuyen en su color (pigmentación amarillos, rojos, naranjas, rojos, azules), sabor (en el amargor y astringencia) olor y estabilidad oxidativa. (Cheynier, 2005).

3.1.5.1. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos

A lo largo de los años, algunos beneficios han sido atribuidos a los compuestos fenólicos, y un gran número de estudios han sugerido que el consumo de frutas y verduras pueden reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares y de cáncer, potencialmente a través de la actividad biológica de los compuestos fenólicos, así como de las vitaminas como antioxidantes (Proteggente et al., 2002).

3.1.6. Taninos totales

Los taninos totales son compuestos fenólicos de características sensoriales tan importantes como sabor áspero amargor, astringencia y la estabilidad del color. Los taninos son compuestos que no solo poseen un elevado peso molecular, sino además presentan suficientes grupos hidroxilos unidos a estructuras fenólicas que les permiten tener la característica de formar complejos con proteínas, minerales y otras macromoléculas. (Reed, 2010).

Los taninos condensados se encuentran también en otros productos alimenticios, solo que, en menores concentraciones, como por ejemplo en manzanas, duraznos, mangos y bebidas como el vino tinto e hidromiel de saúco. A nivel tecnológico los taninos en alimentos representan parámetros de calidad. Por ejemplo, la sensación de astringencia es ligada muchas veces a características organolépticas negativas en algunos alimentos, pero deseadas en otros. Por ejemplo, la cantidad de proantocianidinas presentes en nueces (400 mg/100g) son suficientes para generar la sensación de astringencia característica de nueces, pero posiblemente esa misma cantidad no sea tan agradable si está presente en manzanas, ya que estamos acostumbrados a otro sabor y sensaciones cuando las consumimos (Drewnowski, 2000).

Desde el punto de vista sensorial, los taninos del hidromiel y vino son un importante componente de la calidad del mismo, ya que contribuyen tanto a la percepción en boca como a la estabilización del color en el tiempo. Vidal (2004). Los taninos del hidromiel proceden principalmente de las semillas y los hollejos de la uva y saúco transferidos al hidromiel y vino durante su elaboración. Los taninos de las semillas y de los hollejos son comúnmente llamados "taninos condensados". (Belitz, 2009).

3.1.6.1. Características de taninos

Según (Belitz, 2009) los taninos son polifenoles naturales, que son metabolitos secundarios ampliamente distribuidos en varios sectores del reino de las plantas superiores. Se distinguen por las siguientes características generales:

- Solubilidad en agua.
- Masa molecular entre 500 y 3000-5000.
- Estructura y carácter polifenólico (12-16 grupos fenólicos y 5-7 anillos aromáticos por cada 1000 unidades de masa molecular relativa).
- Complejación intermolecular (astringencia).

3.1.6.2. Propiedades principales de taninos

La capacidad de formar complejos con las proteínas, que les confiere una característica gustativa interesante, asociada al término globalmente conocido como astringencia o gusto tánico. Su poder antirradicalario y su capacidad de consumir oxígeno disuelto, atribuyéndole su propiedad antioxidante, muy utilizada en la industria agroalimentaria y farmacéutica. (Belitz, 2009).

3.1.6.3. La clasificación de los taninos

Los taninos se pueden clasificar en dos grupos. Taninos hidrolizables que vienen de roble y otros árboles y taninos condensados o proantocianidinas. Son estos últimos procedentes esencialmente a partir de uvas los de interés. López (2015).

a) Taninos condensados o proantocianidínicos

Cuya particularidad es que liberan tras una hidrólisis ácida una antocianidina. El nombre genérico de proantocianidina se usa cuando se desconoce la antocianidina formada. Químicamente se trata de polímeros de flavanoles, formados por unidades de flavanoles o catequinas unidos entre sí por enlaces carbono – carbono. (López, 2015).

b) Taninos hidrolizables

En los cuales después de una hidrólisis ácida se libera ácido gálico o ácido elágico. Se denominan galotaninos o elagitaninos respectivamente. Los elagitaninos están estructurados como moléculas lineales de glucosa enlazadas a las funciones carboxilo de los grupos hexahidroxidifénicos del ácido elágico, mientras que los

galotaninos están constituidos por núcleos de glucosa en forma cíclica que forman enlaces con la función ácida del ácido gálico. En ambos casos se trata de estructuras de una complejidad relativa. (López, 2015).

La estructura de Taninos gálicos Hidrolizables se muestra en la figura 1, los Taninos Gálicos son Hidrolizables por los ácidos, bases y enzimas.

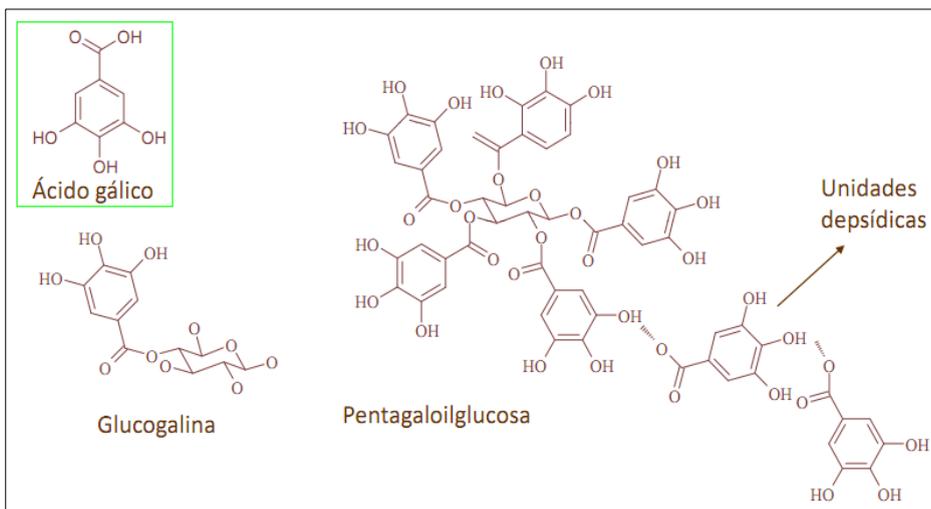


Figura 1. Estructura de Taninos Hidrolizables - Taninos Gálicos.

Fuente: López (2015).

La estructura de Taninos Hidrolizables se muestra en la figura 2, los Taninos elágicos son Hidrolizables por los ácidos, bases y enzimas.

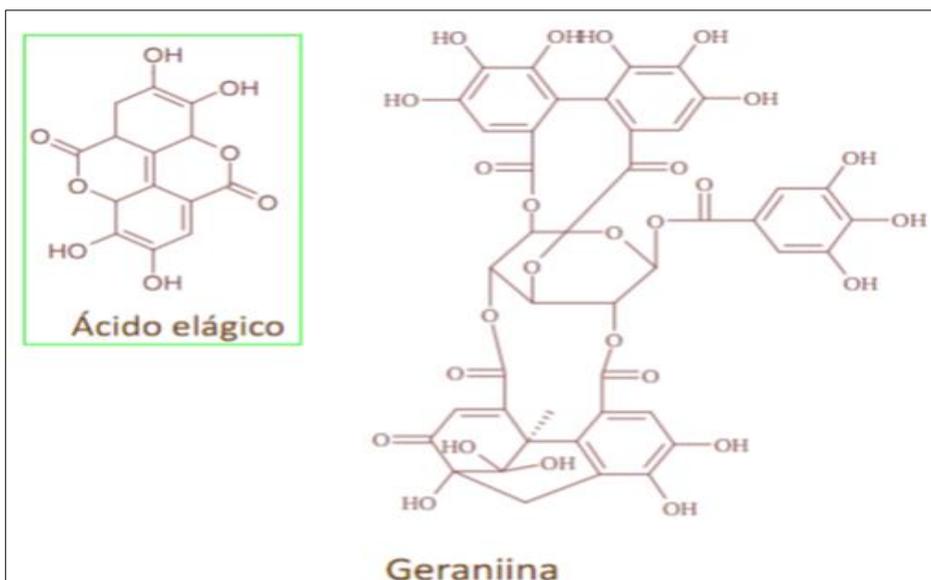


Figura 2. Estructura de Taninos Hidrolizables - Taninos Elágicos.

Fuente: López (2015).

La estructura de Taninos Hidrolizables se muestra en la figura 3, los Taninos condensados son Hidrolizables por los ácidos, bases y enzimas.

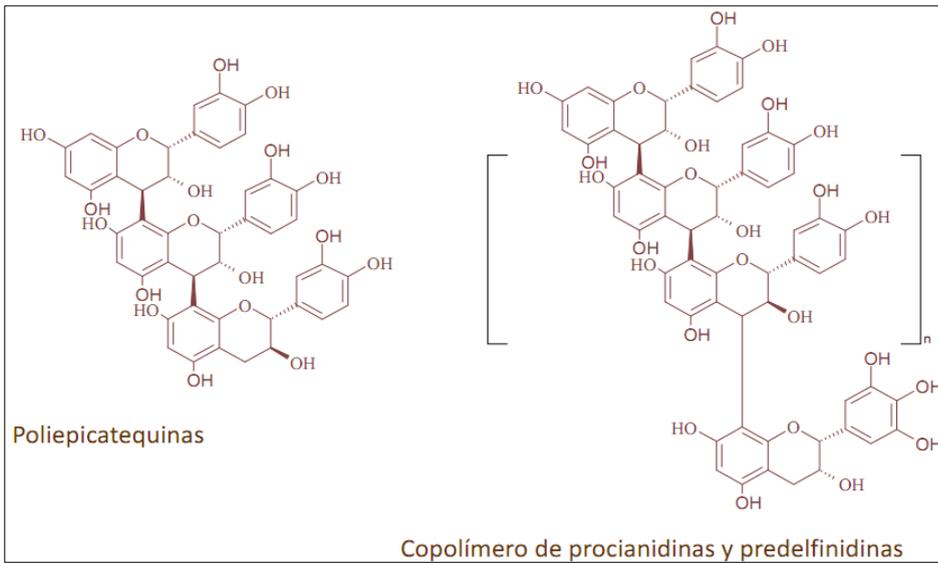


Figura 3. Estructura de Taninos Condensados.

Fuente: López (2015).

La estructura de condensados o proantocianidinas se muestra en la figura 4, hidrolizables, ya que se hidrolizan con dificultad y por el contrario, el tratamiento con calor y ácidos.

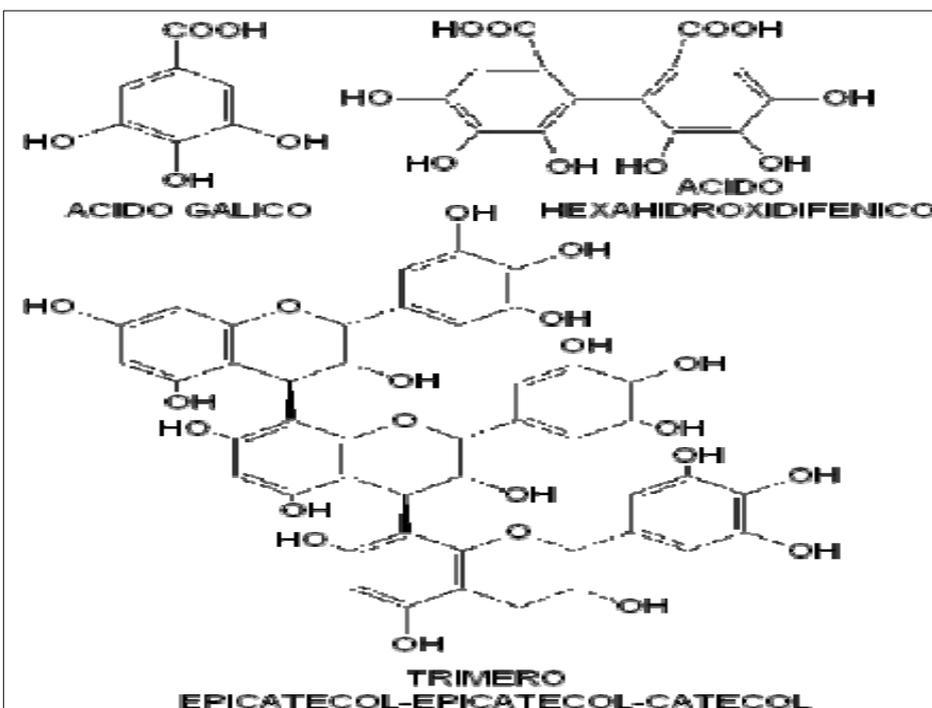


Figura 4. Taninos hidrolizables y Taninos condensadas proantocianidinas.

Fuente: López (2015).

3.1.7. Flavonoides totales

Los flavonoides se encuentran en frutas, verduras, semillas y flores, así como en cerveza, vino, té verde, té negro, los cuales son consumidos en la dieta humana de forma habitual y también pueden utilizarse en forma de suplementos nutricionales, junto con ciertas vitaminas y minerales. Los flavonoides son compuestos fenólicos de 15 carbonos que se distribuyen en el reino vegetal en más de 2.000 especies de muy diversas familias. Debido a sus propiedades antioxidantes y secuestrantes de radicales libres (Hirano et al., 2001).

Los flavonoides son moléculas que tiene una estructura básica de 15 átomos de carbono, que incluyen 2 anillos aromáticos unidos por una cadena de 3 carbonos (C6-C3-C6), teniendo esta estructura base, es que existe una amplia diversidad de compuestos. En la naturaleza los flavonoides se pueden encontrar en su forma libre o conjugada, la última es esterificada por una o dos moléculas de azúcar, en su grupo hidroxilo. (Arrido, 2013).

3.1.7.1. Estructura química

Según (Hirano et al., 2001), los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular que comparten un esqueleto un esqueleto común de difenilpiranos (C6-C3-C6), compuesto por dos anillos de fenilos (A y B) ligados a través de un anillo C de pirano (heterocíclico). Los átomos de carbono en los anillos C y A se numeran del 2 al 8, y los anillos B desde 2 al 6. La actividad de los flavonoides como antioxidantes depende de las propiedades redox de sus grupos hidroxifenólicos y de la relación estructural entre las diferentes partes de la estructura química. Esta estructura básica permite una multitud de patrones de sustitución y varía en función de sus características estructurales se pueden clasificar en:

- a) Flavanos**, como la catequina, con un grupo –OH en posición 3 del anillo C.
- b) Flavonoles**, representados por la quercetina, que posee un grupo carbonilo en posición 4 y un grupo –OH en posición 3 del anillo C.
- c) Flavonas**, como la diosmetina, que poseen un grupo carbonilo en posición 4 del anillo C y carecen del grupo hidroxilo en posición C3.

d) Antocianinas, que tienen unido el grupo –OH en posición 3 pero además poseen un doble enlace entre los carbonos 3 y 4 del anillo C.

3.1.7. 2. Principales polifenoles flavonoides

Los flavonoides, que constituyen el grupo más importante de los polifenoles, se subdividen en distintas clases, con más de 5000 compuestos descritos en la literatura. Su estructura común es la de difenilpropanos (C₆-C₃-C₆) que consta de dos anillos aromáticos vinculados a través de tres carbonos que suelen formar un heterociclo oxigenado. Se caracterizan por ser solubles en agua y en ocasiones presentarse en la naturaleza como agliconas (contraparte no glicosilada de la unión glucosídica entre un azúcar y otra molécula “aglicona”). (Bravo, 1998).

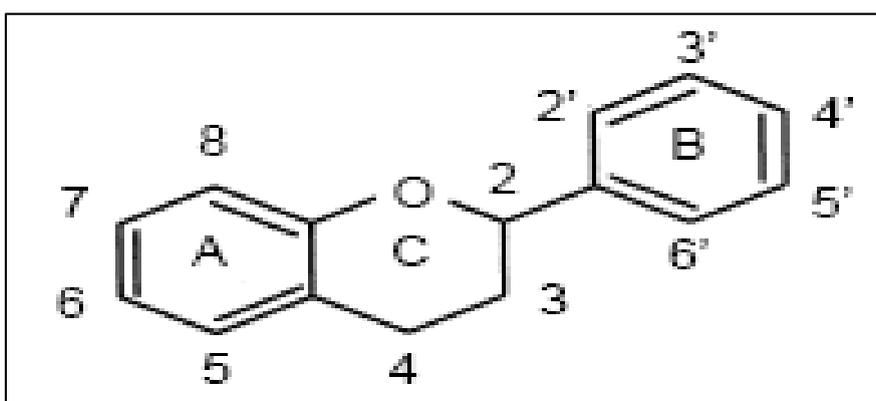


Figura 5. Sistema de numeración de flavonoides y estructura básica.

Fuente: Bravo (1998).

3.2. Marco conceptual

3.2.1. Hidromiel

El Hidromiel es una bebida tradicional que resulta de la fermentación alcohólica de miel de abeja por acción de las levaduras del género *Saccharomyces*. Es la bebida alcohólica más antigua consumida por el hombre, de la cual se han encontrado vestigios que datan de unos 100 a.C. (Apaza, 2011).

3.2.2. Antioxidantes

Los antioxidantes son sustancias que inhiben o retardan el proceso oxidativo, cuya actividad podría deberse a sus componentes polifenólicos. (Chaulya y Mukherjee, 2010).

Los antioxidantes son nutrientes capaces de neutralizar la acción oxidante de los radicales libres, sin perder su estabilidad electroquímica. De acuerdo al modo de acción los antioxidantes se clasifican como bloqueadores de radicales libres, quelantes de iones metálicos y como eliminadores de oxígeno. (Barja, 2014).

3.2.3. Fenoles

Los fenoles están asociados al color, las características sensoriales (sabor, astringencia, dureza), las características nutritivas y las propiedades antioxidantes de los alimentos de origen vegetal. La característica antioxidante de los fenoles se debe a la reactividad del grupo fenol (Finkel y Holbrook, 2000).

Fenoles son compuestos fenólicos poseen una estructura química especialmente adecuada para ejercer una acción antioxidante actuando como captos de radicales libres neutralizando peligrosas especies reactivas de oxígeno e iones metálicos quelantes. Además, debido a su reactividad, se encuentran en la mayoría de los casos combinadas con un ácido orgánico, un azúcar o bien, con ellas mismas para formar un polímero. (Puzanowska, 2009).

3.2.4. Taninos

Los taninos son compuestos polifenólicos muy astringentes y de gusto amargo, Los polifenoles son un conjunto heterogéneo de moléculas entre 500-3000 daltons, que comparten la característica de poseer en su estructura varios grupos bencénicos sustituidos por funciones hidroxílicas. Este grupo de compuestos posee propiedades como: antioxidantes, antiinflamatorias y antirradicales. (Gil A, 2010).

Los taninos presentes en el saúco y en el hidromiel juegan un papel preponderante en la calidad del hidromiel, al conferir propiedades de astringencia, de color y de estructura. También contribuyen a la estabilización del color durante el envejecimiento (Pérez y González, 2001).

3.2.5. Flavonoides

Los flavonoides tienen importantes propiedades antioxidantes, ya que minimizan la peroxidación lipídica y el efecto de radicales libres, contribuyendo esta manera a reducir el riesgo enfermedades cardiovasculares. hertog (1993).

CAPITULO IV: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

4.1. Lugar de ejecución

Las pruebas experimentales de determinación de la actividad antioxidante, contenido de fenoles totales, taninos totales y flavonoides totales del hidromiel de saúco (*Sambucus peruviana*) de cuatro empresas del distrito de Talavera se desarrolló en los laboratorios de Química, Control de Calidad y Biotecnología de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial (EPIA), de la Universidad Nacional José María Arguedas (UNAJMA), ubicada en el barrio de Santa Rosa en la Av. 28 de julio N°. 1102 del Distrito de Talavera, Provincia de Andahuaylas y Región de Apurímac.

4.2. Materiales, instrumentos y equipos

4.2.1. Materiales

En la tabla 1 se muestra materiales que se utilizó durante el trabajo de investigación.

Tabla 1. *Lista de materiales de la investigación.*

CANTIDAD	UNIDAD	MATERIALES
06	Unid.	Fiolas de 50 mL
01	Unid.	Pizeta
02	Unid.	Varillas de vidrio
01	Unid.	Espátula
02	Unid.	Probetas de 100 mL
02	Unid.	Probetas de 50 mL
05	Unid.	Vasos precipitados de 50 mL
05	Unid.	Pipetas de 1 mL
05	Unid.	Pipetas de 10 mL
05	Unid.	Pipetas de 5 mL
01	Unid.	Micro pipeta
01	Unid.	Pro pipeta
01	Unid.	Cubeta de cuarzo
05	Unid.	Frascos color ámbar
02	Unid.	Bolsas de algodón
01	Unid.	Papel aluminio foil (Rollo)
03	Unid.	Papel tisú
50	Unid.	Tubos de ensayo con tapas
01	Unid.	Gradilla para tubos de ensayo
01	Unid.	Matraz erlenmeyer de 100 mL
01	Unid.	Matraz aforado
01	Unid.	Vidrio de reloj
01	Unid.	Cinta masking type

4.2.2. Instrumentos y equipos

En la tabla 2 se observa la lista de instrumentos y equipos que se utilizó durante el trabajo de investigación.

Tabla 2. *Lista de instrumentos y equipos de investigación.*

CANTIDAD	UNIDAD	INSTRUMENTOS Y EQUIPOS
01	Unid.	Espectrofotómetro UV-Visible.
01	Unid.	Refrigeradora
01	Unid.	Agitador magnético digital
01	Unid.	Termómetro digital desde -50°C hasta +200°C
01	Unid.	Estufa
01	Unid.	Balanza electrónica digital

4.2.3. Reactivos e insumos

En la tabla 3 se muestra la lista de reactivos e insumos que se utilizó durante el trabajo de investigación.

Tabla 3. *Lista de reactivos e insumos de investigación.*

CANTIDAD	UNIDAD	REACTIVOS E INSUMOS
100	mL	Reactivo de Folin-Ciocalteu Sigma 2N; mezcla de fosfomolibdato y fosfotungstato, usado para la determinación de polifenólicos.
200	mL	Ácido clorhídrico 37.0 % de pureza de color blanco bastante densos y corrosivos.
1	L	Metanol químicamente puro y al 80 %; líquido claro, incoloro.
3	L	Agua destilada aproximadamente pH: 7; mediante el proceso de destilación se le han eliminado las impurezas e iones.
1	L	Etanol 95° GL; alcohol etílico, se presenta en condiciones normales de presión y temperatura como un líquido incoloro e inflamable.
50	mg	DPPH (2, 2-difenil-1-picrilhidrazil), aproximadamente 90 %; base celular permeable, que se utiliza comúnmente para evaluar la capacidad de los compuestos, para actuar como captadores de radicales libres.
50	G	Carbonato de Sodio 99,9 % de pureza, PM=105,99; sal blanca y translúcida
50	G	Ácido gálico 99 % de pureza, PM=188,141; es un polvo orgánico incoloro cristalino
50	G	Trolox es universalmente empleado como estándar en las curvas de comparación de diversos ensayos de actividad de antioxidante (como DPPH entre otros).
10	G	Quercetina 95 % de pureza.
25	G	Tricloruro de aluminio 98 % de pureza, es como un polvo amarillo.

4.3. Población y muestra

4.3.1. Población

Se consideró como población a hidromiel de saúco de las empresas de Marqués de Aranjuez, Santa Isabel, Granja Santa Rosa y el Dorado del distrito de Talavera.

4.3.2. Muestra

Para obtener la muestra se realizó un muestreo no probabilístico de acuerdo a juicio del investigador. Donde la muestra está referida, a hidromiel de saúco, las cuales fueron compradas de las empresas de Marqués de Aranjuez, Santa Isabel, Granja Santa Rosa y El Dorado. Para cual se trabajó con 3 botellas de muestra de cada empresa, las cuales fueron tomadas.

4.4. Tipo de investigación

4.1. De acuerdo a su naturaleza

Cuantitativa: Es aquella en la que se recogen y analizan datos cuantitativos sobre variables.

4.2. De acuerdo al tiempo

Prospectivo: Que hace referencia a un tiempo futuro o trata de conocerlo anticipadamente mediante la proyección de datos del presente.

4.3. De acuerdo a la técnica de contrastación

Descriptivo: Durante el desarrollo de la investigación se observó mediante el análisis espectrofotométricos la determinación de la actividad antioxidante, fenoles totales, taninos totales y flavonoides totales del hidromiel de saúco (*sambucus peruviana*) de cuatro empresas del distrito de Talavera.

4.5. Método de análisis

4.5.1. Método de análisis desarrollado por Brand-Williams et al. (1995) para la determinación de la actividad antioxidante con la siguiente ecuación.

Se restaron las absorbancias del blanco y de la muestra, y se calculó Mm equivalentes Trolox/100 mL como se muestra en la Ec. (01).

$$\text{mMEq.} \frac{\text{Trolox}}{\text{mL}} \text{ muestra} = \frac{\text{Abs}_{\text{blanco}} - \text{Abs}_{\text{muestra}}}{m * (\text{mL de muestra}) * 1000} \dots \dots \dots \text{Ec. (01)}$$

Dónde, m = pendiente de la curva calibrada, mM = Milimolar y Eq = Equivalente.

4.5.1.1. Fundamento

En este método los compuestos antioxidantes de la muestra a ensayar, reaccionan con el radical estable 2,2 difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) que se encuentra en una solución de metanol. El radical en forma de DPPH absorbe la luz a 517 nm.

4.5.1.2. Preparación de la solución madre de Trolox

Para ello se disolvió 2 mg del reactivo Trolox (Ácido – 6 – hidroxil – 2, 5, 7, 8 – tetrametil – croman – 2- carboxilo), en 10 mL de metanol (MeOH) al 80 %. Y por lo tanto obtiene una concentración de 800 µmol. Y a partir de esta solución madre de Trolox se preparó soluciones a diferentes concentraciones.

4.5.1.3. Preparación de la curva de calibración.

Se preparó una solución patrón, disolviendo 2 mg de Trolox en 10 mL de metanol al 80 %. Se realizó las siguientes diluciones como se muestra en siguiente (Tabla 4).

Tabla 4. Curva estándar de Trolox.

Concentración (µmol)	solución patrón (mL)	Metanol 80% (mL)
100	0.375	2.625
300	1.125	1.875
400	1.5	1.5
500	1.875	1.125
600	2.25	0.75
700	2.625	0.375
800	3	0

Fuente: (Brand-Williams, et al., 1995).

4.5.1.4. Preparación de la solución madre de DPPH

La solución madre de DPPH se preparó disolviendo 3.9 mg de DPPH en 100 mL de metanol. Esta solución se almacena en un frasco ámbar o cubierto con papel aluminio a -20 °C por un tiempo no mayor a una semana.

4.5.1.5. Solución diluida de DPPH

Se dejó temperar la solución madre hasta alcanzar la temperatura ambiente (alrededor de 45-60 minutos). Posteriormente se preparó una solución diluida de DPPH para lo cual se tomó 10 mL de solución madre y se diluyó con 45 mL de metanol puro o al 80 %. Esta solución debe dar una lectura de absorbancia de 1,1. + 0,02 a una longitud de onda de 517 nm, previamente haciendo uso como blanco el solvente empleado para hacer cero el espectrofotómetro.

4.5.1.6. Procedimiento

- Se llevó el espectrofotómetro a cero con metanol.
- Posteriormente se midió la absorbancia de la solución diluida de DPPH a 517 nm que debe dar una lectura de 1,1. + 0,02.
- Con una micropipeta se tomó 0.1 mL de hidromiel de saúco y se le adicionó 2.9 mL de la solución madre de DPPH diluida en un tubo de ensayo protegido de la luz.
- Al mismo tiempo se preparó un blanco con 0.1 mL de solvente puro (de acuerdo a la muestra empleado) en lugar de la muestra, y se le adicionó 2.9 mL de la solución madre de DPPH diluida para obtener un factor de corrección debido a la dilución (blanco).
- Luego se dejó reaccionar la muestra con la solución diluida de DPPH y el blanco en un agitador en la oscuridad a temperatura ambiente (20 °C) con los tubos de ensayos cerrados tomando muestras en intervalos de 15 minutos para realizar las lecturas al espectrofotómetro a 517 nm.
- Finalmente se midió la absorbancia a 517 nm en espectrofotómetro para calcular la actividad antioxidante del hidromiel de saúco.
- Los resultados de la actividad antioxidante se expresó como en mMEq.Trolox/100 mL de muestra utilizando la Ec. (01).

4.5.2. Método de análisis desarrollado por. Singleton et al. (1999), para la determinación del contenido de fenoles totales: Índice de Folin-Ciocalteu con la siguiente ecuación.

El contenido de fenoles totales se estimó a partir de la curva estándar con una solución acuosa de ácido gálico como patrón.

La curva estándar de calibración para la determinación de fenoles totales se muestra en la siguiente Ec. (02).

$$Y = a \text{ ABS} + b \dots \dots \dots \text{Ec. (02)}$$

$$\text{Fenoles totales} = \frac{Y \times D \times V \times 100}{\text{Peso}} \dots \dots \dots \text{Ec. (03)}$$

Dónde, fenoles totales = Miligramos (mg) equivalente de ácido gálico (GAE) /100 mL muestra, Y = Miligramos (mg) equivalente de ácido gálico (GAE)/ por mL, D = Dilución, V = Volumen de muestra en mL, Peso = Peso de la muestra en mL.

4.5.2.1. Fundamento

El reactivo de Folin-Ciocalteu (F- C) está formado por una mezcla de ácido fosfotúngstico ($\text{H}_3\text{PW}_{12}\text{O}_{40}$) y ácido fosfomolibdico ($\text{H}_3\text{PMo}_{12}\text{O}_{40}$), la cual, a través de la oxidación de los fenoles, es reducida a óxidos azules de tungsteno (W_8O_{23}) y molibdeno (Mo_8O_{23}), respectivamente (Galili y Hovav, 2014). El reactivo Folin-Ciocalteu tiene una coloración amarilla que en presencia de fenol se torna azul. La intensidad de color azul se mide espectrofotométricamente a 765 nm. Los resultados se expresaron como mg equivalente de ácido gálico (AGE)/100 mL de muestra.

4.5.2.2. Preparación de la dilución de ácido gálico

Los fenoles totales se determinaron mediante el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu usando el ácido gálico como material de referencia. Se preparó una disolución patrón 50 mg de ácido gálico en 10 mL de etanol y luego se diluye con agua destilada hasta 100 mL. Para obtener concentraciones de 35 μg EAG/mL.

4.5.2.3. Curva de calibración

Se utilizó la solución patrón de ácido gálico, disolviendo 50 mg de ácido gálico en 100 mL de agua destilada y se realizó las siguientes diluciones a diferentes

concentraciones de 10, 15, 20, 25, 30, 35 $\mu\text{g/mL}$. La técnica empleada fue folin-ciocalteu, carbonato de sodio y para la cual se construyó una curva de calibración de ácido gálico como se observa en tabla 5, usando una solución patrón de 35 μg EAG/mL.

Tabla 5. *Curva calibración de ácido gálico.*

Concentración	Solución patrón (mL)	Agua destilada (mL)
10 μg EAG/mL	0.857	2.143
15 μg EAG/mL	1.286	1.714
20 μg EAG/mL	1.714	1.286
25 μg EAG/mL	2.143	0.857
30 μg EAG/mL	2.571	0.429
35 μg EAG/mL	3	0

Fuente: (Singleton et al., 1999).

4.5.2.4. Preparación de la dilución de carbonato de sodio 20%

De la misma manera se preparó una disolución de carbonato de sodio al 20 % pesando 5 g de carbonato de sodio en un matraz aforado de 25 mL, inicialmente se disolvió en 15 mL de agua y se llevó hasta su completa disolución, finalmente se llevó a su volumen de aforo con agua.

4.5.2.5. Preparación de la dilución 1N del reactivo Folin-Ciocalteu

Ello se realizó por medio de una dilución 1:2 del reactivo comercial (2N) en agua destilada; y el reactivo se protejo de la luz y será en refrigerado hasta su uso.

4.5.2.6. Procedimiento

El contenido de fenoles totales se determinó de acuerdo a la metodología descrita por (Singleton et al., 1999).

- Se tomó 1 mL de hidromiel de saúco y se mezcló con 1 mL de reactivo de Folin - Ciocalteu.
- Se dejó en reposo a temperatura ambiente por 5 min.
- Después de lo cual se agregó 2 mL de carbonato de sodio al 20 %.
- Se agito fuertemente para luego, dejar reposar durante 90 min a temperatura ambiente. Después de este tiempo se midió la absorbancia a 765 nm en espectrofotómetro.

- Los resultados contenidos de fenoles totales se expresaron como mg equivalentes de ácido gálico/100 mL de muestra utilizando la Ec. (03).

4.5.3. Método de análisis desarrollado por (Bate, 1981) para la determinación del contenido de taninos totales con la siguiente ecuación.

Para la determinación del contenido de taninos totales se trabajó utilizando la siguiente Ec. (04).

$$\text{C. T. T. (mg/L de muestra)} = 19.33 \times (A_A - A_B) \dots \dots \dots \text{Ec. (04)}$$

- Dónde, A_A = Absorbancia en tubo "A", A_B = Absorbancia en tubo "B".
- mg= Miligramos, L= Litro, La constante 19.33 corresponde al coeficiente de extinción molar de la cianidina obtenida por la hidrólisis ácida de una disolución de procianidinas oligómeras de referencia (Ribéreau-Gayon et al.,1998).

4.5.3.1. Procedimiento

- Se preparó una dilución previa de la muestra con un factor de dilución 1:10 del reactivo comercial en agua destilada. A partir de esta dilución se preparan dos tubos de ensayo.
- En el tubo "A" se añadió 1 mL de muestra diluida, 0.5 mL de agua destilada y 3 mL de HCl al 37 %.
- En el tubo "B" se añadió 1 mL de muestra diluida, 0.5 mL de agua destilada y 3 mL de HCl al 37 %.
- Se llevó en el tubo "A" a 90 °C durante 30 minutos tapado en baño maria y protegido de la luz y una vez transcurrido este tiempo se deja atemperar en oscuridad.
- El tubo "B" se dejó a temperatura ambiente protegido de la luz. Una vez el tubo "A" esté atemperado se añadió 0.5 mL de etanol (EtOH) en ambos tubos y se mide la absorbancia a 550 nm.
- El resultado contenido de taninos totales se expresó como mg/L de muestra utilizando la Ec. (04).

4.5.4. Método de análisis desarrollado por. Hamasaka et al. (2004) para la determinación del contenido de flavonoides totales con la siguiente ecuación.

Para la determinación del contenido de flavonoides totales se trabajó utilizando la siguiente Ec. (05).

$$FI = \frac{Am \times Pr \times 5}{Ar} \times 100 \dots \dots \dots \text{Ec. (05)}$$

Donde, FI= Contenido de flavonoides totales expresados como mg equivalente de quercetina/mL, Am= Absorbancia de la solución muestra (nm), Pr= Peso de la sustancia de referencia (g) y Ar= Absorbancia de la solución de referencia (nm).

4.5.4.1. Preparación de solución de AlCl₃

- Se pesó en una balanza analítica 2 g de tricloruro de aluminio.
- Después se disolvió en 25 mL de etanol al 80 %.
- Se aforo en fiola de 100 mL y se llevó a volumen con etanol al 80 %.

4.5.4.2. Solución Stock de quercetina

- Se pesó en una balanza analítica 0.05 g de quercetina.
- Luego se disolvió en 25 mL de etanol al 80 %.
- Finalmente se aforo en una fiola de 100 mL y se llevó a volumen con etanol al 80 % hasta 100 mL.

4.5.4.3. Preparación de la curva de calibración

- Disolver 50 mg de quercetina en etanol al 80 % hasta un volumen de 100 mL para alcanzar concentraciones de 5, 10, 15, 20, 25 µg/mL equivalentes de quercetina como se muestra en siguiente tabla 6.

Tabla 6. *Curva estándar de quercetina.*

Concentración	solución patrón (mL)	Etanol al 80% (mL)
5 µg/mL	1.286	1.714
10 µg/mL	1.714	1.286
15 µg/mL	2.143	0.857
20 µg/mL	2.571	0.429
25 µg/mL	3	0

Fuente: (Hamasaka et al., 2004).

4.5.4.4. Procedimiento

- 2 mL de hidromiel de saúco en 2 mL de solución de $AlCl_3$ al 2 % en etanol al 80 %.
- Después se Reposo en 1 hora a temperatura ambiente.
- Leer la absorbancia a longitud de onda (λ) = 420 nm.
- El resultado contenido de flavonoides totales se expresó como mg equivalente de quercetina/mL de muestra utilizando la Ec. (05).

4.6. Diseño experimental

4.7.1. Matriz de diseño experimental

El diseño experimental que se utilizó para la investigación es diseño completamente al azar (DCA) para comparar los tratamientos del hidromiel de saúco (*Sambucus peruviana*) de las empresas de Marqués de Aranjuez, Santa Isabel, Granja Santa Rosa y El Dorado (como variable independiente), para determinar la actividad antioxidante, contenido de fenoles totales, taninos totales y flavonoides totales (como variables dependientes) como se muestra en la siguiente la tabla 7.

Tabla 7. *Diseño completamente al azar (DCA).*

Número de Tratamientos	Número de repeticiones	Actividad antioxidante	Fenoles totales	Taninos totales	Flavonoides totales
T1	Y ₁₁				
Marqués de Aranjuez	Y ₁₂				
T2	Y ₂₁				
Santa Isabel	Y ₂₂				
	Y ₂₃				
T3	Y ₃₁				
Granja Santa Rosa	Y ₃₂				
	Y ₃₃				
T4	Y ₄₁				
El Dorado	Y ₄₂				
	Y ₄₃				

Fuente: (Gutiérrez y de la vara, 2012).

Donde:

T: Tratamientos de cuatro empresas del distrito de talavera (Marqués de Aranjuez, Santa Isabel, Granja Santa Rosa y El Dorado).

Y: Repeticiones por triplicado.

Para el análisis de los resultados se utilizó el software estadístico Statgraphics Centurion XVI.I.

4.7.2. Modelo estadístico

El modelo estadístico para este diseño está dado por:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \varepsilon_{ij} \dots \dots \dots \text{Ec. (06)}$$

Donde μ es el promedio de las medias de cada variable, llamado media global, τ_i es replica de los tratamientos, ε_{ij} es el error aleatorio y Y_{ij} es el resultado de determinación de la actividad antioxidante, contenido de fenoles totales, taninos totales y flavonoides totales de hidromiel de saúco (*Sambucus peruviana*) de cuatro empresas del distrito de Talavera.

4.7.3. ANOVA para el diseño completamente al azar (DCA)

El análisis de varianza (ANOVA) es la técnica central en el análisis de datos experimentales.

La idea general de esta técnica es separar la variación total en las partes con las que contribuye cada fuente de variación en el experimento. En el caso del DCA se separan la variabilidad debida a los tratamientos y debida al error. Cuando la primera predomina “claramente” sobre la segunda, es cuando se concluye que los tratamientos tienen efecto, o dicho de otra manera, las medias son diferentes.

Cuando los tratamientos no dominan contribuyen igual o menos que el error, por lo que se concluye que las medias son iguales.

El objetivo del Análisis de varianza en DCA es probar la hipótesis de igualdad de los tratamientos con respecto a la media de la correspondiente variable de respuesta.

Es importante resaltar que el ANOVA supone que la variable de respuesta se distribuye normal, con varianza constante (los tratamientos tienen varianza similar) y que las mediciones son independientes entre sí. Estos supuestos deben

verificarse con las hipótesis para estar más seguros de las conclusiones obtenidas, de la siguiente manera.

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \dots = \mu_3 = \mu \dots \dots \dots \text{Ec. (07)}$$

$$H_A: \mu_i \neq \mu_j \text{ Para algún } i \neq j \dots \dots \dots \text{Ec. (08)}$$

A continuación las siguientes hipótesis son para las dos fuentes de variabilidad lo que son los tratamientos y el error aleatorio.

Hipótesis Nula (H₀): La actividad antioxidante, contenido de fenoles totales, taninos totales y flavonoides totales del hidromiel de saúco (*Sambucus peruviana*) de cuatro empresas del distrito de Talavera no presentan diferencias significativas.

Hipótesis alterna (H_A): La actividad antioxidante, contenido de fenoles totales, taninos totales y flavonoides totales del hidromiel de saúco (*Sambucus peruviana*) de cuatro empresas del distrito de Talavera presentan diferencias significativas.

4.7.4. Estadístico de prueba: Análisis de varianza

Tabla 8. Análisis de varianza para el DCA.

FV	SC	GL	CM	F ₀	Valor-p
Tratamientos	$SC_{TRAT} = \sum_{i=1}^K \frac{Y_{i.}^2}{n_i} - \frac{Y_{..}^2}{N}$	K - 1	$CM_{TRAT} = \frac{SC_{TRAT}}{K - 1}$	CM_{TRAT}/CM_E	P(F > F ₀ ^A)
Error	$SC_E = SC_T - SC_{TRAT}$	N - K	$CM_E = \frac{SC_E}{N - K}$		
Total	$SC_T = \sum_{i=1}^K \sum_{j=1}^n Y_{ij}^2 - \frac{Y_{..}^2}{N}$	N - 1			

Fuente: (Gutiérrez y de la vara, 2012).

Donde el valor - p < 5 % entonces se rechaza la hipótesis nula por lo tanto se acepta la hipótesis alterna.

4.7.5. Comparaciones o pruebas de rango múltiple

Posterior al ANOVA (Análisis de varianza), y una vez rechazada la hipótesis nula (H₀), se utilizó el método LSD (Diferencia mínima significativa), ya que este método a diferencia del tukey permite detectar los errores más mínimos cometidos en un experimento.

Comparación de parejas de medias de tratamientos

Cuando no se rechaza la hipótesis nula $H_0: \mu_i = \mu_j \dots \mu_k = u$, el objetivo del análisis está cubierta y la conclusión es que los tratamientos no son diferentes. Si por el contrario se rechaza (H_0), y por consiguiente se acepta la hipótesis alternativa $H_A: \mu_i \neq \mu_j$ para algún $i \neq j$, será necesario investigar cuales tratamientos resultaron diferentes, o cuales provocan la diferencia.

4.7.6. Método LSD (diferencia mínima significativa)

Una vez se rechazó en el ANOVA, el problema es probar la igualdad de todos los posibles pares de medias con la hipótesis:

$$H_0: \mu_i = \mu_j \dots \dots \dots \text{Ec. (09)}$$

$$H_A: \mu_1 \neq \mu_j \dots \dots \dots \text{Ec. (10)}$$

Para toda $i \neq j$. para k tratamientos se tiene un total $k(k-1)/2$ pares de medias. En el caso de la presente investigación se tendrá:

$$\frac{k(k-1)}{2} \dots \dots \dots \text{Ec. (11)}$$

Se rechaza la $H_0: \mu_i = \mu_2$, si ocurre que:

$$|\bar{Y}_i - \bar{Y}_j| > t_{\alpha/2, N-1} \sqrt{CM_E \left(\frac{1}{n_i} + \frac{1}{n_j} \right)} = LSD \dots \dots \dots \text{Ec. (12)}$$

Donde el valor $t_{\alpha/2, N-1}$, se leera en las tablas de distribución T de student con $N-k$, grados de libertad que corresponden al error, el CM_E es el cuadrado medio del error y se obtiene de la tabla de ANOVA, n_i y n_j son los números de observación para los tratamientos i y j , respectivamente. La cantidad LSD se llama diferencia mínima significativa. Si el diseño es balanceado, es decir si $n_1=n_2=\dots=n_k$, la diferencia mínima significativa se reduce a:

$$LSD = t_{\alpha/2, N-1} \sqrt{2CM_E/n} \dots \dots \dots \text{Ec. (13)}$$

En tal caso se rechaza la hipótesis nula, se acepta la hipótesis alterna. La cual nos dice que las medias de los tratamientos son diferentes.

CAPITULO V: RESULTADOS Y DISCUSIONES

5.1. Resultados y discusiones de la actividad antioxidante del hidromiel de saúco

5.1.1. Resultados de la actividad antioxidante

La actividad antioxidante se calculó usando una curva estándar de calibración de Trolox, y los resultados se expresan como mM equivalente de Trolox/100 mL de hidromiel (Anexo 5). Se determinó del promedio de tres repeticiones, considerando la lectura de absorbancia a 515 nm con el espectrómetro de UV-Visible (Anexo 1).

Tabla 9. Resultados de la actividad antioxidante del hidromiel de saúco.

Hidromiel de saúco de las empresas del distrito de Talavera	Actividad antioxidante (mMEq.Trolox/100 mL de hidromiel de saúco) ($\bar{X} \pm S$)
Marqués de Aranjuez	2.718 \pm 0.004
Santa Isabel	2.830 \pm 0.003
Granja Santa Rosa	2.683 \pm 0.005
El Dorado	2.259 \pm 0.005

\bar{X} : Promedio de 3 repeticiones

S: Desviación estándar

Así mismo se observa los resultados de la actividad antioxidante del hidromiel de saúco de cuatro empresas del distrito de Talavera en el tabla 9. Donde la empresa Santa Isabel presenta mayor nivel de la actividad antioxidante con (2.830 \pm 0.003 mMEq.Trolox/100 mL de hidromiel de saúco), que Marqués de Aranjuez (2.718 \pm 0.004 mMEq.Trolox/100 mL de hidromiel de saúco), seguido por Granja Santa Rosa (2.683 \pm 0.005 mMEq.Trolox/100 mL de hidromiel de saúco y El Dorado (2.259 \pm 0.005 mMEq.Trolox/100 mL de hidromiel de saúco).

Como se aprecia en el anexo 8 los resultados obtenidos por triplicado, fueron tabulados y evaluados a través del análisis de varianza (ANOVA), donde el ($p < 0.05$) de nivel de significancia entonces se rechaza la hipótesis nula por lo tanto se acepta la hipótesis alterna, que la actividad antioxidante del hidromiel de saúco presentaron una diferencia significativa con un nivel de confianza al 95 % y mediante la comparación de medias de la actividad antioxidante del hidromiel de saúco de cuatro empresas del distrito de talavera como se observan en la figura 6.

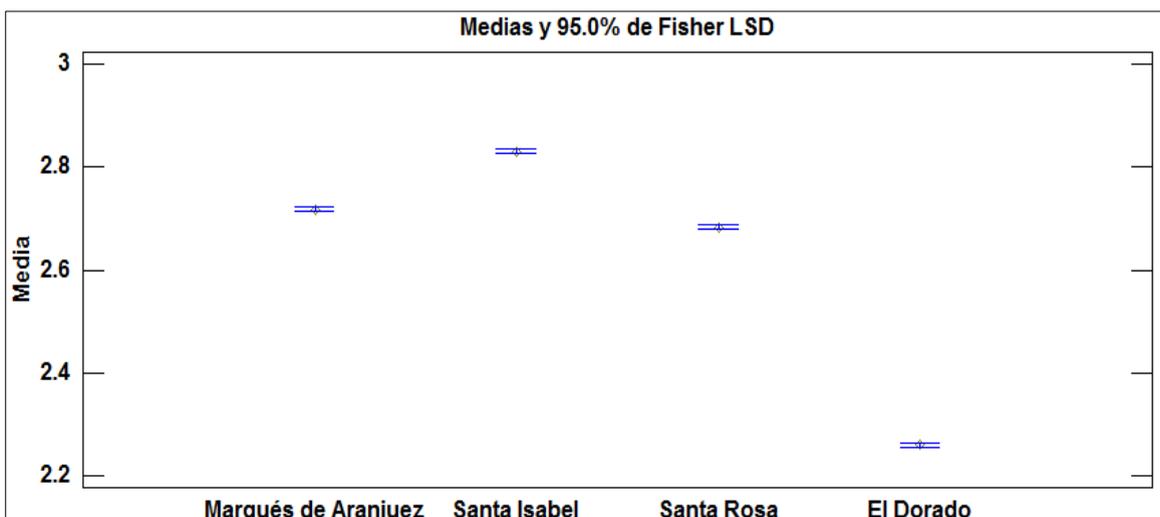


Figura 6. Comparación de medias para actividad antioxidante con LSD.

En la figura 6 se observa la comparación de medias de la actividad antioxidante del hidromiel de saúco con LSD de las empresas de Marqués de Aranjuez, Santa Isabel, Granja Santa Rosa y empresa el Dorado donde muestran diferencias estadísticamente significativas entre ellas, con un nivel del 95 % de confianza.

5.1.2. Discusión de resultado de la actividad antioxidante

En la investigación realizada por (Leyva, 2009) la actividad antioxidante de licor de mora presenta los valores de 110.51 ± 0.18 y 304.47 ± 2.65 mM equivalentes de Trolox/100 mL de licor. Los resultados mostraron mayor nivel de actividad antioxidante del hidromiel de saúco fue de la empresa Santa Isabel con $(2.830 \pm 0.003$ mMEq.Trolox/100 mL de hidromiel de saúco), que Marqués de Aranjuez $(2.718 \pm 0.004$ mMEq.Trolox/100 mL de hidromiel de saúco), seguido por Granja Santa Rosa $(2.683 \pm 0.005$ mMEq.Trolox/100 mL de hidromiel de saúco y el Dorado $(2.259 \pm 0.005$ mMEq.Trolox/100 mL de hidromiel de saúco). En comparación con la investigación realizada por (Leyva, 2009) podemos observar que la cantidad de la actividad antioxidante de licor de mora analizados es mayor a lo demostrado. Por otro lado, determinación de la actividad antioxidante en diferentes tipos de vinos realizado por (Avalos et al., 2003) encontraron los valores de 12.2 mMEq.Trolox/100 mL para los vinos tintos, 25.74 mMEq.Trolox/100 mL para los vinos rosados y 9.96 mMEq.Trolox/100 mL para los vinos blancos. Según un estudio realizado por (Muñoz et al., 2007), se obtuvo que la actividad antioxidante de 13 tipos de vinos peruanos presenta los valores entre 32 a 873 mMEq.Trolox/100 mL. Los resultados obtenidos de la actividad antioxidante de hidromiel de saúco fueron similares a los

reportes de (Luna et al., 2009) los valores de la actividad antioxidante en los vino tinto Sabater con 4.22 ± 0.65 mMEq.Trolox/100 mL, vino tinto Escursac con 3.27 ± 0.29 , mMEq.Trolox/100 mL, vino tinto Gorgollassa con 3.42 ± 0.51 mMEq.Trolox/100 mL, vino blanco Giró Ros con 0.33 ± 0.06 mMEq.Trolox/100 mL y vino blanco Quigat con 0.31 ± 0.07 mMEq.Trolox/100 mL.

5.2. Resultados del contenido de fenoles totales del hidromiel de saúco

5.2.1. Resultados del contenido de fenoles totales

El contenido de fenoles totales se estimó a partir de una curva estándar de calibración de ácido gálico (Anexo 6). Los resultados se expresaron como mg equivalente de ácido gálico (AGE)/100 mL de hidromiel, se determinó por triplicado, considerando la lectura de absorbancia a 765 nm con el espectrómetro de UV-Visible (Anexo 2).

Tabla 10. Resultados del contenido de fenoles totales del hidromiel de saúco.

Hidromiel de saúco de las empresas del distrito de Talavera	Contenido de fenoles totales (mg equivalente de ácido gálico (AGE)/100 mL de hidromiel de saúco) ($\bar{X} \pm S$)
Marqués de Aranjuez	3635.94 ± 2.27
Santa Isabel	3759.35 ± 0.86
Granja Santa Rosa	3714.62 ± 8.92
El Dorado	3783.38 ± 2.33

\bar{X} : Promedio de 3 repeticiones

S: Desviación estándar

En la tabla 10 se muestran resultados del contenido de fenoles totales del hidromiel de saúco de cuatro empresas del distrito de Talavera, donde la empresa el Dorado tiene mayor contenido de fenoles totales con (3783.38 ± 2.33 mg equivalente de ácido gálico (AGE)/100 mL de hidromiel de saúco), que Santa Isabel (3759.35 ± 0.86 mg equivalente de ácido gálico (AGE)/100 mL de hidromiel de saúco), seguido por Granja Santa Rosa (3714.62 ± 8.92 mg equivalente de ácido gálico (AGE)/100 mL de hidromiel de saúco) y por ultimo Marqués de Aranjuez (3635.94 ± 2.27 mg equivalente de ácido gálico (AGE)/100 mL de hidromiel de saúco).

Los resultados de análisis estadístico mediante el análisis de varianza (ANOVA) el valor- p resultó ser menor que 0.05 nivel de significancia tal como se puede apreciar en el Anexo 10, rechaza la hipótesis nula por lo tanto se acepta la hipótesis alterna, el contenido de fenoles totales del hidromiel de saúco de cuatro empresas del

distrito de talavera presentaron una diferencia significativa con un nivel de confianza al 95 % y mediante la comparación de medias con LSD como se observa en la figura 7.

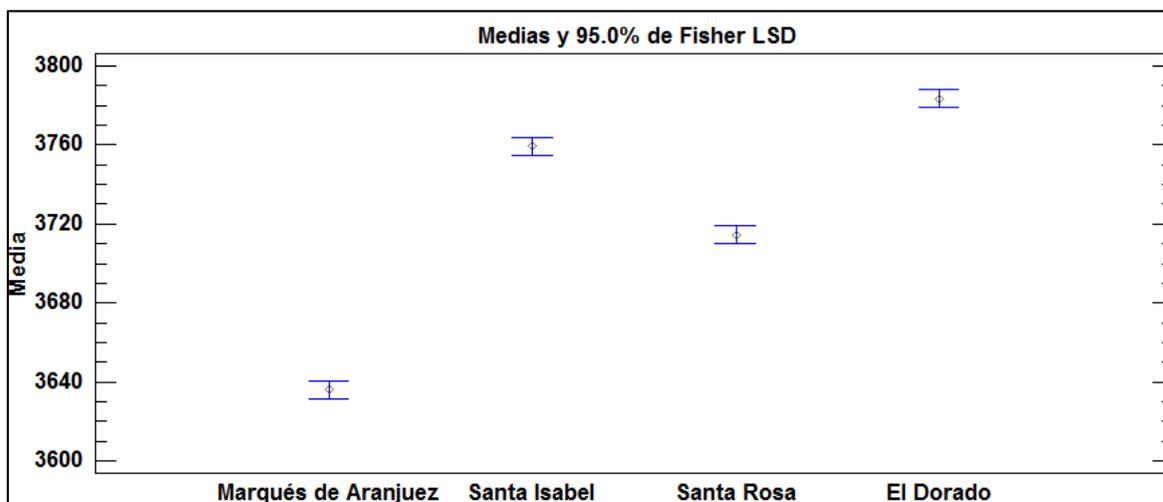


Figura 7. Comparación de medias para el contenido de fenoles totales con LSD.

En la figura 7 se observa la comparación de medias del contenido de fenoles totales del hidromiel de saúco con LSD de las empresas de Marqués de Aranjuez, Santa Isabel, Granja Santa Rosa y el Dorado donde presentan una diferencia significativa con un nivel de confianza al 95 %, esto demuestra que el contenido de fenoles totales del hidromiel de saúco son completamente diferentes entre sí.

5.2.2. Discusión de resultado del contenido de fenoles totales

Los resultados muestran un mayor contenido de fenoles totales del hidromiel de saúco fue de la empresa el Dorado con (3783.38 ± 2.33 mg equivalente de ácido gálico (AGE)/100 mL de hidromiel de saúco), Santa Isabel (3759.35 ± 0.86 mg equivalente de ácido gálico (AGE)/100 mL de hidromiel de saúco), seguido por la Granja Santa Rosa (3714.62 ± 8.92 mg equivalente de ácido gálico (AGE)/100 mL de hidromiel de saúco) y el de menor contenido de fenoles totales es de la empresa Marqués de Aranjuez (3635.94 ± 2.27 mg equivalente de ácido gálico (AGE)/100 mL de hidromiel de saúco). Cabe destacar que el contenido de fenoles totales del hidromiel de saúco son superiores al reporte por (Leyva, 2009) el contenido de fenoles totales de licor de mora se encuentra en un intervalo de 477.12 ± 0.04 y 884.98 ± 0.03 mg EAG/100 mL de licor. Por su parte (Avalos et al., 2003), evaluó el contenido fenoles totales expresados en mg equivalente de ácido gálico (AGE)/100 mL, que estuvo comprendido los valores de fenoles totales, en vinos tintos fueron

de 22.72 a 40.55, para vinos rosados entre 11.85 y 13.65 y para blancos entre 2.06 y 5.75. En el caso del hidromiel de saúco, el contenido de fenoles totales son mayores al reporte (Leyva, 2009) y (Avalos et al., 2003). Por otro lado, un estudio realizado por (Muñoz et al., 2007) en el cual se determinó el contenido fenoles totales de 13 tipos de vinos peruanos, obtuvo concentraciones de 627000 a 3321000 mg ácido gálico/100 mL, mientras que (Salazar et al., 2011), determinó el contenido de fenoles totales de vinos peruanos, siendo los vinos de Borgoña con 2374000 y Tannat con 361000 mg ácido gálico/100 mL. Según (Luna et al., 2009), el contenido de polifenoles totales vino tinto Sabater con 1169140 ± 2.06 mg ácido gálico/100 mL, vino tinto Escursac con 971400 ± 2.81 mg ácido gálico/100 mL, vino tinto Gorgollassa con 869590 ± 3.58 mg ácido gálico/100 mL, vino blanco Giró Ros con 214860 ± 0.94 mg ácido gálico/100 mL y vino blanco Quigat con 128020 ± 0.31 mg ácido gálico/100 mL. En comparación a los resultados obtenidos del contenido fenoles totales del hidromiel de saúco observamos que el hidromiel de saúco presenta menor cantidad de contenido de fenoles totales en comparación a los vinos determinados por (Luna et al., 2009).

5.3. Resultados del contenido de taninos totales del hidromiel de saúco

5.3.1. Resultados del contenido de taninos totales

Los resultados se expresaron como mg/L de hidromiel de saúco se determinó por triplicado, considerando la lectura de absorbancia a 555 nm con el espectrómetro de UV-Visible (Anexo 03).

Tabla 11. *Resultados del contenido de taninos totales del hidromiel de saúco.*

Hidromiel de saúco de las empresas del distrito de Talavera	Contenido de taninos totales (mg/L de hidromiel de saúco) ($\bar{X} \pm S$)
Marqués de Aranjuez	7.679 ± 0.178
Santa Isabel	12.254 ± 0.022
Granja Santa Rosa	11.836 ± 0.233
El Dorado	10.576 ± 0.024

\bar{X} : Promedio de 3 repeticiones

S: Desviación estándar

Los resultados del contenido de taninos totales del hidromiel de saúco de cuatro empresas del distrito de Talavera muestran en la tabla 11. Donde tiene mayor contenido de taninos totales del hidromiel de saúco fue la empresa Santa Isabel con (12.254 ± 0.022 mg/L de hidromiel de saúco), que Granja Santa Rosa (11.836

± 0.233 mg/L de hidromiel de saúco), seguido por el Dorado (10.576 ± 0.024 mg/L de hidromiel de saúco) y Marqués de Aranjuez (7.679 ± 0.178 mg/L de hidromiel de saúco).

Como se aprecia en el anexo 12 los resultados obtenidos por triplicado, fueron tabulados y evaluados mediante el análisis de varianza (ANOVA), Donde el valor- p es menor que 0.05 de nivel de significancia entonces se rechaza la hipótesis nula por lo tanto se acepta la hipótesis alterna, entonces el contenido de taninos totales del hidromiel de saúco de cuatro empresas de distrito de Talavera presentaron una diferencia significativa con un nivel de confianza al 95 % y mediante la comparación de medias con LSD como se observa en la figura 8.

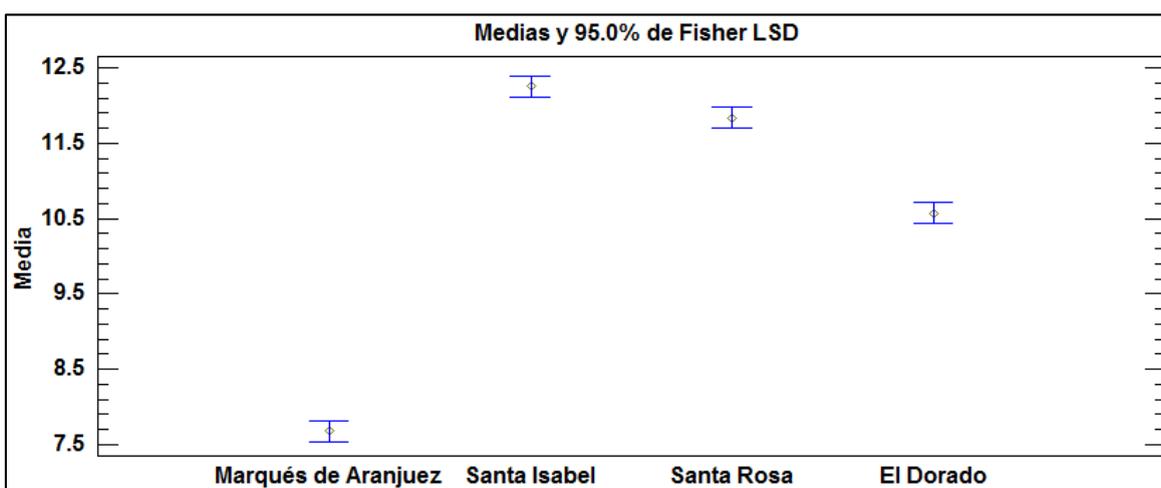


Figura 8. Comparación de medias para el contenido de taninos totales con LSD.

En la figura 8 se observa la comparación de medias del contenido de taninos totales con LSD de las empresas de Marqués de Aranjuez, Santa Isabel, Granja Santa Rosa y el Dorado donde muestran diferencias estadísticamente significativas entre sí, con un nivel del 95 % de confianza.

5.3.2. Discusión de resultado del contenido de taninos totales

En la tabla 11 se muestra el contenido de taninos totales del hidromiel de saúco, los resultados muestran que la empresa Santa Isabel tiene mayor contenido de taninos totales con (12.254 ± 0.022 mg/L de hidromiel de saúco) mientras la empresa Granja Santa Rosa (11.836 ± 0.233 mg/L de hidromiel de saúco), y la empresa el Dorado (10.576 ± 0.024 mg/L de hidromiel de saúco) siendo el Marqués de Aranjuez con el menor contenido de taninos totales (7.679 ± 0.178 mg/L de

hidromiel de saúco). En comparación a los reportes de (Ketter, 2008) en los vinos comerciales cv Cabernet sauvignon de las vendimias 2002 y 2003 en el Valle del Maipo, el contenido de taninos totales entre 3,0 a 4,4 mg/L. En cambio resultados encontrados por (Rodríguez y García, 2005) el contenido de taninos totales en los vinos tintos es de (3.36 mg/L), comparados con rosados (0.37 mg/L) y vinos blancos (0,19 mg/L). Podemos observar que la cantidad de contenido de taninos totales del hidromiel de saúco son mayores a los obtenidos a las muestras analizadas por (Ketter, 2008) y (Rodríguez y García, 2005). Los resultados expuestos por (Arteaga et al., 2016) indican el contenido de taninos totales aportados al vino por la uva que oscilan entre 4,968 como valor máximo y 0,213 mg/L como valor mínimo. Del mismo modo los resultados obtenidos por (Llañez et al., 2013) encontraron contenido de taninos totales en los vinos tintos con (147,38 mg/L).

5.4. Resultados del contenido de flavonoides totales del hidromiel de saúco

5.4.1. Resultados del contenido de flavonoides totales

El contenido de flavonoides totales se calculó usando una curva estándar de calibración de quercetina y los resultados se expresaron como mg equivalente de quercetina/mL de hidromiel de saúco (Anexo 7). Se determinó por triplicado, considerando la lectura de absorbancia a 420 nm con el espectrómetro de UV-Visible (Anexo 4).

Tabla 12. Resultados del contenido de flavonoides totales del hidromiel de saúco.

Hidromiel de saúco de las empresas del distrito de Talavera	Contenido de flavonoides totales (mg equivalente de quercetina/mL de hidromiel de saúco) ($\bar{X} \pm S$)
Marqués de Aranjuez	335.46 \pm 0.00
Santa Isabel	335.35 \pm 0.00
Granja Santa Rosa	335.31 \pm 0.00
El Dorado	335.39 \pm 0.00

\bar{X} : Promedio de 3 repeticiones

S: Desviación estándar

Los resultados del contenido de flavonoides totales del hidromiel de saúco de cuatro empresas del distrito de Talavera se muestra en la tabla 12, la que tiene mayor contenido de flavonoides totales del hidromiel de saúco es la empresa Marqués de Aranjuez con (335.46 \pm 0.00 mg equivalente de quercetina/mL de hidromiel de saúco), que el Dorado (335.39 \pm 0.00 mg equivalente de quercetina/mL de hidromiel

de saúco), seguido por Santa Isabel (335.35 ± 0.00 mg equivalente de quercetina/mL de hidromiel de saúco) y Granja Santa Rosa (335.31 ± 0.00 mg equivalente de quercetina/mL de hidromiel de saúco).

Como se observa en el anexo 14 los resultados obtenidos por triplicado, fueron tabulados y evaluados. En cuanto al resultado del análisis de varianza (ANOVA) el valor-p es menor que 0.05 de nivel de significancia entonces se rechaza la hipótesis nula, donde el contenido de flavonoides totales del hidromiel de saúco presentaron una diferencia significativa con un nivel de confianza al 95 % y mediante la comparación de medias con LSD se observan en la figura 9.

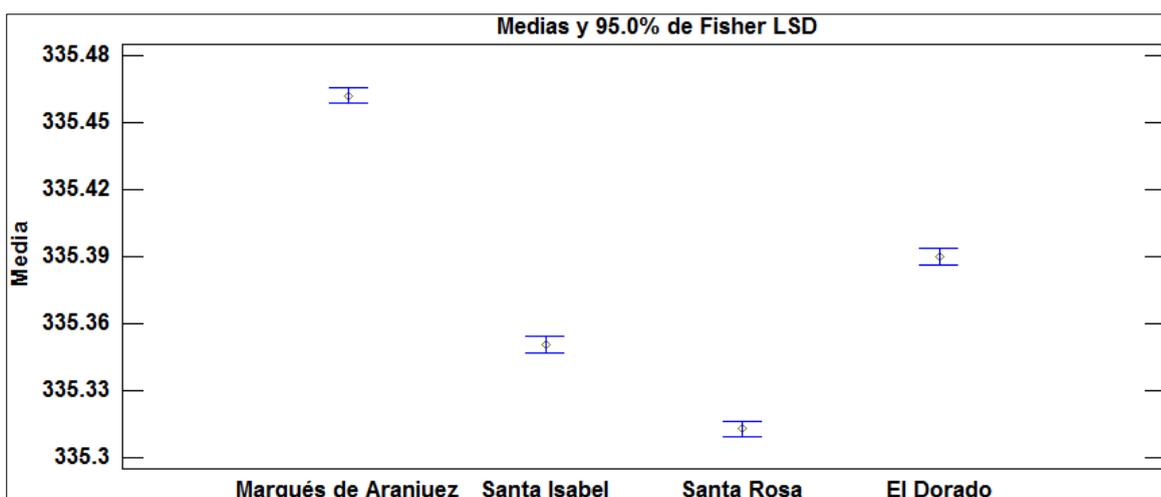


Figura 9. Comparación de medias para el contenido de flavonoides totales con LSD.

En la figura 9 se observa la comparación de medias del contenido de flavonoides totales del hidromiel de saúco con LSD de las empresas de Marqués de Aranjuez, Santa Isabel, Granja Santa Rosa y el Dorado son completamente diferentes entre sí con un nivel de confianza al 95 %.

5.4.2. Discusión de resultado del contenido de flavonoides totales

En cuanto al resultados presenta un mayor contenido de flavonoides totales del hidromiel de saúco fue de la empresa Marqués de Aranjuez con (335.46 ± 0.00 mg equivalente de quercetina/mL de hidromiel de saúco) respecto a la empresa el Dorado tiene (335.39 ± 0.00 mg equivalente de quercetina/mL de hidromiel de saúco), con una diferencia mínima le sigue la empresa Santa Isabel con un (335.35 ± 0.00 mg equivalente de quercetina/mL de hidromiel de saúco) y por último la Granja Santa Rosa (335.31 ± 0.00 mg equivalente de quercetina/mL de hidromiel

de saúco). Estos resultados obtenidos en comparación a otros reportes fueron así como reporta según (Cañibano, 2012) el contenido de flavonoides totales de vino tinto, vendimia del 2009 Tempranillo entre 6.7 a 9.5 mg/mL y Cabernet Sauvignon del 2010 entre 6.8 a 9.6 mg/mL, En un estudio realizado por (Ketter, 2008) en vinos comerciales cv Cabernet sauvignon de las vendimias 2002 y 2003 en el Valle del Maipo, la concentración promedio de flavonoides fue 1,80 y 9,03 mg/mL. Se observa que los valores del contenido flavonoides totales de hidromiel de son mayores a los encontrados por (Cañibano, 2012) y (Ketter, 2008). Para (Salazar et al., 2011) la cantidad flavonoides totales de 8 vinos peruanos fue de (1869190 a 3138850 mg/mL). En general, los rangos encontrados de contenido flavonoides totales es superior a los encontrados por (Muñoz et al., 2007) donde determinan el contenido flavonoides totales de 13 tipos de vinos, obtuvo concentraciones entre 0,19 a 7,74 mg/L.

Tabla 13. Promedio de resultados de cuatro empresas del distrito de Talavera.

Empresas del distrito de Talavera	Actividad antioxidante	Fenoles totales	Taninos totales	Flavonoides totales
Marqués de Aranjuez	2.718	3635.94	7.679	335.46
Santa Isabel	2.830	3759.35	12.254	335.35
Granja Santa Rosa	2.683	3714.62	11.836	335.31
El Dorado	2.259	3783.38	10.576	335.39

Acuerdo de la comparación de la actividad antioxidante, contenido de fenoles totales, taninos totales y flavonoides totales del hidromiel de saúco (*Sambucus peruviana*) de cuatro empresas del distrito de Talavera, como se observa en figura 10 nos muestra en la gráfica radial, donde la empresa el Dorado presenta mayor compuestos bioactivos a comparación de otras empresas.

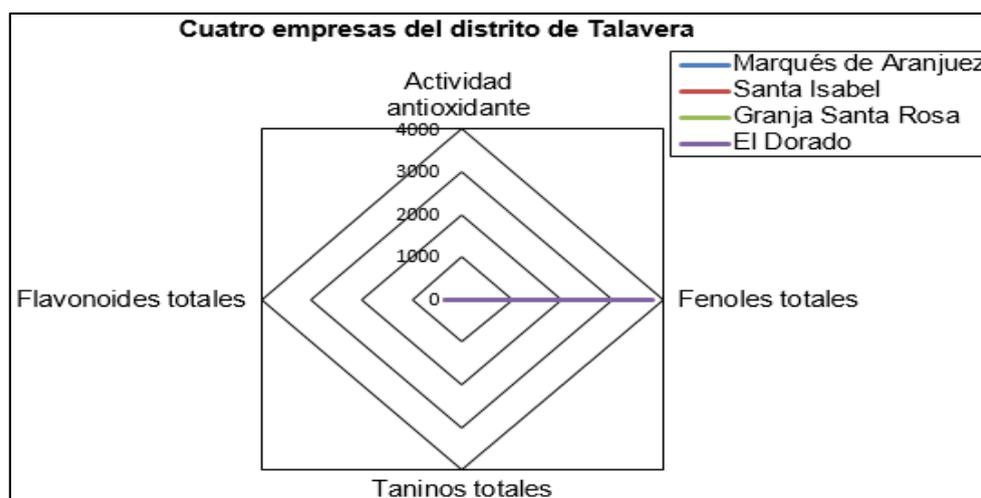


Figura 10. Comparación de cuatro empresas del distrito de Talavera.

CONCLUSIONES

- Se determinó el nivel de actividad antioxidante del hidromiel de saúco, donde tiene mayor actividad antioxidante fue la empresa Santa Isabel, a diferencia del Marqués de Aranjuez, seguido por la Granja Santa Rosa y el que tiene menor actividad antioxidante es la empresa el Dorado.
- El contenido de fenoles totales se determinó mediante espectrofotometría llegando a la conclusión que la empresa que tiene mayor contenido de fenoles totales del hidromiel de saúco fue el Dorado y la empresa Santa Isabel, seguido por la Granja Santa Rosa y contenido de fenoles totales de la empresa Marqués de Aranjuez fueron menores.
- Con respecto al contenido de taninos totales de acuerdo a la investigación realizada se obtuvo los siguientes resultados, la empresa Santa Isabel tiene mayor contenido de taninos totales del hidromiel de saúco mientras la empresa Granja Santa Rosa, y la empresa el Dorado siendo el Marqués de Aranjuez con el menor contenido de taninos totales.
- Se determinó el contenido de flavonoides totales, llegando a la conclusión que la empresa Marqués de Aranjuez destacó por su alto contenido de flavonoides totales del hidromiel de saúco, respecto a la empresa el Dorado, con una diferencia mínima le sigue la empresa Santa Isabel y por último la Granja Santa Rosa.

RECOMENDACIONES

- Emplear métodos de Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) para identificar y cuantificar los fenoles, taninos, flavonoides y actividad antioxidante del hidromiel de saúco.
- Utilizar otras marcas de hidromiel para la determinación de actividad antioxidantes y otros estudios adicionales por medio de otros métodos como ABTS, CUPRAC entre otros para corroborar datos y para profundizar las investigaciones.
- Se recomienda evaluar la actividad antioxidante en diferentes etapas de fermentación del hidromiel del saúco.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acosta. (2012). *Evaluación de la fermentación alcohólica para la producción de hidromiel*. Colombia: Universidad Nacional de Colombia facultad de Ingeniería, departamento de ingeniería química y ambiental Bogotá .
- Agarwal, R. (2002). Grape seed extract induces apoptotic death of human prostate carcinoma DU145 cells via caspases activation accompanied by dissipation of mitochondrial membrane potential and cytochrome c release. *Carcinogenesis*, 23(11):1869 – 1876.
- Apaza, J. B. (2011). "Obtención de hidromiel por fermentación alcohólica de la miel de abeja con un-a cepa nativa *Saccharomyces* sp y adición de polen".
- Arrido, J. B. (2013). Wine and grape polyphenols - A chemical perspective. *Food Research International*, 54 (2), 1844–1858.
- Arteaga S., C. J. (2016). Análisis comparativo del contenido de taninos en vinos comerciales de Tarija, Bolivia. *Ciencia Sur Vol. 2. Nº 2. ISSN 2518 - 4792*, Pág. 56 – 66.
- Avalos, K. R., y S. S. (2003). Actividad antioxidante y contenido en fenoles totales en vinos de origen nacional . *Facena*.19:11-19.
- Barja, G. (2014). *Radicals libres y antioxidants. En: cascales M. Bioquímica y Fisiopatología del estrés oxidativa*. Madrid: Real Academia Nacional de Farmacia. Versión impresa.
- Barrios, C. P. (2010). Caracterización físico-química y análisis sensorial de un Hidromiel elaborado de manera artesanal. *Zootecnia Trop*, 28(3):313-319.
- Bartolini, A. (1994). Cría rentable de las abejas. *Barcelona, España, Vecchi*, 191 p.
- Bate, S. (1981). Astringent tannins of the leaves of Germaine species. *Phytochem*, 20: 211 - 216.
- Belitz, H. G. (2009). *Food Chemistry*. 4ta ed. Berlin:Springer .
- Blanco, C. (2005). *Características bromatológicas y evaluación de diferentes niveles de inclusión de morera (*Morus alba* L.) y saúco (*Sambucus nigra* L.)*. Acceso 20 de octubre de 2016.
- Brack, E. (1999). *Diccionario enciclopédico de plantas útiles del Perú CBC centro de estudios andinos "Bartolomé de las casas"*. Cuzco - Peru: RET.
- Brand-Williams, W. C. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Qwiss.u - Technol*, 28, 25 - 30.

- Bravo, L. (1998). Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. *Nutrition Reviews*, (56), 317 – 333.
- Cahuana, J. (1991). *Elaboración de una bebida alcohólica a partir de "Saúco" (Sambucus peruviana)*. Tesis Ing. Alimentario. Lima - Perú: UNALM.
- Cañibano Alberola, M. (2012). Efecto del perfil fenólico sobre las características antioxidantes de vinos. *Escuela técnica superior de ingenierías agrarias de palencia*.
- Chaulya, P. y. (2010). In vitro free radical scavenging activity of methanol extract of rhizome of *Cyperus tegetum* Roxb.(Cyperaceae). *International Journal of Current Pharmaceutical Research*, 39 - 43.
- Cheynier, V. (2005). Polyphenoles in food are more complex than often thought. *Am. J. Clin. Nutri*, 81:223S - 229S.
- Correa, A. (2015). Evaluación de indicadores de deterioro de miel de diferentes especies de abejas. *Tesis Mg. Sc. Colombia, Universidad Nacional de Colombia*, 140p.
- Drewnowski, A. (2000). Bitter taste, phytonutrients, and the consumer. *American Journal of Clinical Nutrition*, 72:1424-1435.
- Fattori, S. (2004). La miel: propiedades, composición y análisis físico-químico. *Apimondia*.
- Fennema, O. D. (2000). *Química de los Alimentos*. Zaragoza- España:Lengua Española: ACRIBIA S.A.
- Fernández-Pachón, M. T.-P. (2004). The antioxidant activity of wines determined by the DPPH method: influence of sample dilution and time. *Talanta*, 64: 501–509.
- Finkel, T. y. (2000). Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing. *Nature* 408 (6809): pp. 239 - 47. PMID 11089981.
- Flanzy, M. (2000). *Fundamentos Científicos y Tecnológicos*. Francia: Mundi-Prensa.
- Gil y Albert, F. (1991). *Tratado de arboricultura frutal*. Madrid: Tomo III. Mundi - Prensa.
- Gil, A. (2010). *Nutrición. Tomo II: Composición y Calidad Nutritiva de los alimentos*. Buenos Aires, Argentina: Médica Panamericana.
- Girard, G. (2004). *Bases Científicas y Tecnológicas de la Enología*. Zaragoza – España. 238 p: Acribia, S.A.

- Gordon, S. (2015). Guía de estilos de hidromiel. *Argentina*, 2 p.
- Gupta, J., y Sharma, R. (2009). Production technology and quality characteristics of mead and fruit-honey wines. *Natural Product Radiance*, 8(4):345-355.
- Gutiérrez, H. y. (2012). *Análisis y Diseño de experimentos*. México: 3a edic. edit. Mc. Grw Hill.
- Halliwell, B. (1993). The chemistry of free radicals. Toxicology and industrial health. 9 (1-2), 1–21.
- Hamasaka, T. K. (2004). Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of Japan. Japan: Food Sc. *Techno Res*, pag. 86 - 92.
- hertog, M. (1993). Determinacion del contenido flavonoides totales de orugo tinto. *Centro de investigacion y desarrollo en tecnologia de alimentos*, Lancet 342:1007 - 11.
- Hirano, R. S. (2001). “capacidad antioxidante de diversos flavonoides contra los radicales DPPH y LDL” oxidation. Internal Medicina I, Defensa del Colegio Médico Nacional. *Tokorozawa , Saitama , Japan. J Nutr Sci Vitaminol (Tokio)*, 47 : 357 - 362.
- Jimenez, M., Castillo, I., Azuara, E., y Beristain, C. (2011). actividad antioxidante y antimicrobiana de extractos de capuli (*Prunus salicifolia*). *Mexicana de Ingeniería Química*, 29 - 37.
- Jorge, E., y Segura, E. (2011). “Evaluación de la actividad antioxidante y la concentración depolifenoles totales en el fruto de saúco (*sambucus peruviana HBK*). Tarma y Huancayo.
- Ketter, R. (2008). Caracterización de la composición fenólica de vinos comerciales del cv. Cabernet Sauvignon provenientes de tres valles de Chile, de las vendimias 2002 y 2003. *Memoria Ingeniero Agrónomo. Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas*, Santiago, Chile. 51 p.
- Kumazawa, S., Hamasaka, T., y Nakayama, T. (2004). *Antioxidant activity of propolis of various geographic origins*. Portugal: Food Chemistry.
- lanzy, C. (2003). *Enología: Fundamentos científicos y tecnológicos*. España: Ediciones Mundi-Prensa. Madrid. 783p.
- Leandro. (2013). *Tecnología de alimentos*. Zaragoza.
- Leyva, D. E. (2009). Determinación de antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante en licores y fruto de mora. *Universidad tecnológica de la mixteca Huajuapán de león, Oaxaca, México*.

- Llañez Bustamante, S., Mejía Domínguez, C., Palacios Rodríguez, B., Velásquez Gamarra, J., y Alor Herbozo, L. (2013). Compuestos fenólicos totales de los vinos tinto que se elaboran en el distrito de Santa María, Huacho.
- López, M. A.-C.-P.-P.-A.-O.-G. (2012). Effect of Chitosan Edible Coatings in the Microbial Reduction and Conservation of the Quality of Strawberries. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud (Biotecnia)*, XIV(1), 33-43.
- López, R. (2015). *Evaluación de diferentes métodos de maceración aplicados a la mejora de la calidad de vinos tintos de la variedad bobal a partir de los valores de su composición polifenólica y sensorial, procesados mediante técnicas de análisis multicriterio*. Universidad Politécnica de Valencia, España.
- Luna Joana M., C. G. (2009). Composición fenólica y actividad antioxidante de variedades minoritarias de vid de las islas baleares. *Instituto de Investigación y Formación Agraria y Pesquera. Consejería de Agricultura y Pesca del Gobierno de las Balears.C/d'Eusebi Estada, 145, 07009 Palma (Illes Balears)*.
- Matissek, R. S. (1992). *Análisis de los alimentos (Fundamentos - Métodos - Aplicación)*. Zaragoza: Acribia: 2 Ed. 460 p.
- Muñoz. (2006). reporta concentraciones entre 3,2 a 3,2 g equivalente de procianidina/L, en el cv. Carménère utilizando la metodología de Bate-Smith.
- Muñoz A, F. A. (2007). Evaluacion de la actividad antioxidante y contenido en fenoles totales en vinos producidos en Perú. *Sociedad química del Perú*, 73 (1): 30 – 40.
- Nichols, J. (2010). Skin photoprotection by natural polyphenols: anti-inflammatory, antioxidant and DNA repair mechanisms. *Arch Dermatol*, 302(2): 71.
- Pablo, S. y. (2007). Algunas verdades sobre el café. Chilena de Nutrición, <http://www.scielo.cl/scielo.php>.
- Pederson, S. (1979). *Microbiology of Fermentation*. AVI Publishing Co.
- Pereira, A. D. (2004). Mead production: selection and characterization assays of *Sacharomyces cerevisiae* strains. Mead production: selection and characterization assays of *Sacharomyces cerevisiae* strains.
- Pérez, S., y González, S. (2001). Influence of commercial pectolytic preparations on the composition and storage evolution of Albillo white wines. *International Journal of Food Science and Technology*, 36: 789 - 796.

- Persson, T. P.-M. (2014). Oxidative stress in Alzheimer's disease: why did antioxidant therapy fail? *Oxidative medicine and cellular longevity*. 427-318.
- Pesante, D. (2007). Composición de la miel de abeja. Disponible en: <http://academic.uprm.edu/dpesante5355/lamieldeabejas>. PDF, 2009-09-20.
- Polaino, C. (2006). *Manual práctico del apicultor*. Madrid, España: Cultural.
- Proteggente A, R. P. (2002). The oxidants activity of a regularly consumed fruit and vegetables reflects their phenolic and vitamin C composition. *Free radicals Research*. 36 (2): 217 - 233.
- Puzanowska, H. (2009). Biological function of some elements and their compounds. *Selenium organic compounds*, 159 (9): 249. .
- Ramirez, A. (2013). *Influencia de las técnicas culinarias sobre el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante en hortalizas de la dieta mediterránea. Memoria de título, Doctor en Nutrición y Tecnología de los Alimentos*. Departamento de Nutrición y Bromatología: Doctor en Nutrición y Tecnología de los Alimentos. Universidad de Granada.
- Reed, J. (2010). Toxicología nutricional de taninos y polifenoles. *Journal of Animal Science*, 73:1516 - 1528.
- Ribéreau-Gayon, P. G. (1998). Dosage des tannins du vin rouge et. *Chim. Anal*, 179 - 260.
- Rodríguez Montealegre, R., y García Romero, E. (2005). Actividad antioxidante y composición fenólica en vinos de Castilla- La Mancha. *Tecnología Higiene Alimentaria*, 362 (5):128:132.
- Roginsky.A y Lissi, E. (2005). review of methods to determine chain-breaking antioxidant activity in food. *Food chemistry*, 92:235-254.
- Sáinz, C. (2000). *Mieles Españolas*. Madrid (España): Mindi-Prensa.
- Salazar R, E. G. (2011). Compuestos fenólicos, Actividad antioxidante y contenido de resveratrol y componentes del aroma de 8 vinos peruanos. *La sociedad química del Perú*. Disponible en: [https://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=scri_arttex y pid=s1810-634x2011000200006&script=scri_isot](https://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=scri_arttex&pid=s1810-634x2011000200006&script=scri_isot), 77 (2): 135 – 143 .
- Simonetti, P. P. (1997). Polyphenol content and total antioxidante potential of selected Italian wines. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45: 1152-1155.

- Singleton, V., Orthofer, R., y Lamuela-Raventos, R. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin - Ciocalteu reagent. *Methods Enzymol*, 299, 152 - 178.
- Smith, R., y K. Tran. (s.f.). *Elderberry juice composition and health benefits, in Fruit Juices: Types, Nutritional Composition and Health Benefits, by Katherlyn Elizabeth Elder*. Editors, Nova Science Publishers, Cap 1, pp:1-20 ISBN 978-1-63321.
- Smith, R., y Tran, K. (2014). *Elderberry juice composition and health benefits, in Fruit Juices: Types, Nutritional Composition and Health Benefits, by Katherlyn Elizabeth Elder*. Nova Science Publishers, Cap 1, pp:1-20 ISBN 978-1-63321-135-3.
- Soto, H. (enero – marzo 2007 vol 30 no. 1 Chapingo). “Actividad antioxidante de flavonoides del tallo de orégano mexicano (*lippia graveolens* hbk var. *Berlandieri* Schafer)”. *Fitotecnia Mexicana*, 43 – 49.
- Ulloa, J. A. (2010). La miel de abeja y su importancia. *Aramara*.
- Valentine, M. (1981). Insect venom allergy, diagnosis and treatment. *The journal of allergy and clinical immunology*, 73 (3): 229:234.
- Valls, J., Lampreave, M., Nadal, M., y Arola, L. (2000). Importancia de los compuestos fenólicos en la calidad de los vinos tintos de crianza. *Alim. equipos y tec*, 2,119-124.
- Venegas Casanova, E. A. (2012). *Cuantificación de flavonoides totales y taninos presentes en el extracto acuoso de hojas de Thea sinensis L. y su capacidad antioxidante*. Trujillo: Facultad de ciencias químicas y farmacéuticas.
- Vidal, S. C. (2004). Use of an experimental design approach for evaluation of key wine components of mouth-feel perception. *Food Quality and Preference*, 15, 209-217.
- White, C. B. (1994). Superoxide and peroxynitrite in atherosclerosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences* , 91 (3), 1044–1048.
- World, H. (1990). Organization Diet, nutrition and the prevention of chronic disease. *World Health Organization*, Technical Report series 797 .
- Zegarra, G. (2006). Influencia del tratamiento térmico en los parámetros de calidad de miel de la zona Illimo . *Departamento de Lambayeque. Tesis Mg.Sc. Lima, Perú, Universidad Nacional Agraria La Molina*.

ANEXO

Anexo 1. Datos para la actividad antioxidante del hidromiel de saúco.

Hidromiel de saúco de las empresas del distrito de Talavera	Abs de la solución DPPH	Abs del blanco	Abs de la muestra	Δ DPPH (Abs blanco - Abs muestra)	bX (curva de calibración)	mL del volumen de muestra	actividad antioxidante mMEq.Trolox/100 mL de hidromiel de saúco
Marqués de Aranjuez	1.099	1.088	0.168	0.920	0.003392	0.1	2.7123
	1.099	1.088	0.165	0.923	0.0033923	0.1	2.7209
	1.099	1.088	0.165	0.923	0.0033923	0.1	2.7209
Santa Isabel	1.099	1.088	0.128	0.960	0.003396	0.1	2.8269
	1.099	1.088	0.126	0.962	0.0033962	0.1	2.8326
	1.099	1.088	0.126	0.962	0.0033962	0.1	2.8326
Santa Rosa	1.099	1.087	0.179	0.908	0.0033908	0.1	2.6778
	1.099	1.087	0.175	0.912	0.0033912	0.1	2.6893
	1.099	1.087	0.177	0.910	0.003391	0.1	2.6836
El Dorado	1.099	1.086	0.321	0.765	0.0033765	0.1	2.2657
	1.099	1.086	0.323	0.763	0.0033763	0.1	2.2599
	1.099	1.086	0.325	0.761	0.0033761	0.1	2.2541

Cálculo para la actividad antioxidante del hidromiel de saúco

Dónde, Y = pendiente de la curva calibrada

$$Y = a \text{ ABS} + b$$

$$Y = 0.0001x + 0.0033$$

$$\text{Abs de la solución DPPH} = 1.099$$

$$\text{Abs del blanco} = 1.088$$

$$\text{Abs de la muestra} = 0.168$$

$$X = \Delta \text{ DPPH (Abs blanco - Abs muestra)} = 1.088 - 0.168 = 0.920$$

$$bX \text{ (curva de calibración)} = Y = 0.0001x + 0.0033$$

$$bX \text{ (curva de calibración)} = ((0.0001 * 0.920) + (0.0033)) = 0.003392$$

$$\text{mL del volumen de muestra} = 0.1$$

$$\text{Actividad antioxidante mMEq.Trolox/mL de muestra} = (\Delta \text{ DPPH (Abs blanco - Abs muestra)}) / (bX \text{ (curva de calibración)} * \text{mL del volumen de muestra} * 1000)$$

Reemplazando a la fórmula:

$$\text{Actividad antioxidante} = ((0.920) / 0.003392 * 0.1 * 1000 \text{ mMEq.Trolox/mL de hidromiel de saúco})$$

$$\text{Actividad antioxidante} = 2.7123 \text{ mMEq.Trolox/mL de hidromiel de saúco}$$

Anexo 2. Datos para el contenido de fenoles totales del hidromiel de saúco.

Hidromiel de saúco de las empresas del distrito de Talavera	Peso de la muestra en (mL)	Volumen a diluir en (mL)	Abs a 765 nm	bx (curva de calibración)	Volumen de muestra en mL	Dilución para lectura en mL	El contenido de fenoles totales mg equivalentes de Acido Gálico/100 mL de hidromiel de saúco
Marqués de Aranjuez	1.033	25	4.207	12.514	1	3	3634.217
	1.033	25	4.208	12.517	1	3	3635.076
	1.033	25	4.212	12.529	1	3	3638.515
Santa Isabel	1.022	25	4.307	12.810	1	3	3760.221
	1.022	25	4.305	12.804	1	3	3758.483
	1.022	25	4.306	12.807	1	3	3759.352
Santa Rosa	1.001	25	4.176	12.422	1	3	3722.895
	1.001	25	4.156	12.363	1	3	3705.153
	1.001	25	4.168	12.398	1	3	3715.798
El Dorado	1.008	25	4.272	12.706	1	3	3781.613
	1.008	25	4.273	12.709	1	3	3782.494
	1.008	25	4.277	12.721	1	3	3786.018

Cálculo para el contenido de fenoles totales del hidromiel de saúco

Dónde, Y = pendiente de la curva calibrada

$$Y = a \text{ ABS} + b$$

$$Y = 2.96x + 0.0611$$

$$\text{Peso de la muestra en (mL)} = 1.033$$

$$\text{Abs a 765 nm} = 4.207$$

$$\text{bx (curva de calibración)} = Y = 2.96x + 0.0611$$

$$\text{bx (curva de calibración)} = Y = ((2.96 * 4.207) + (0.0611))$$

$$\text{bx (curva de calibración)} = Y = 12.514$$

$$\text{Volumen de muestra en mL} = 1$$

$$\text{Dilución para lectura en mL} = 3$$

$$\text{El contenido de fenoles totales} = \text{bx (curva de calibración)} * \text{Dilución para lectura en mL} * \text{Volumen de muestra en mL} * 100 / \text{Peso de la muestra en (mL)}$$

Reemplazando a la fórmula:

El contenido de fenoles totales = 12.514 * 3 * 1 * 100/1.033 mg equivalentes de Acido Gálico/100 mL de hidromiel de saúco

El contenido de fenoles totales = 3634.217 mg equivalentes de Acido Gálico/100 mL de hidromiel de saúco

Anexo 3. Datos para el contenido de taninos totales del hidromiel de saúco.

Hidromiel de saúco de las empresas del distrito de Talavera	Abs de Hidromiel de saúco	Abs de la muestra de tubo A	Abs de la muestra de tubo B	Contenido de taninos totales (mg/L de hidromiel de saúco)
Marqués de Aranjuez	2.420	3.709	1.768	7.504
	2.420	3.710	1.725	7.674
	2.420	3.715	1.682	7.860
Santa Isabel	2.354	3.680	0.517	12.228
	2.354	3.682	0.510	12.263
	2.354	3.683	0.509	12.271
Santa Rosa	1.620	3.572	0.477	11.965
	1.620	3.570	0.472	11.977
	1.620	3.457	0.465	11.567
El Dorado	1.597	3.530	0.797	10.566
	1.597	3.527	0.784	10.604
	1.597	3.525	0.794	10.558

Cálculo para el contenido de taninos totales del hidromiel de saúco

Abs de Hidromiel de saúco = 2.420

Abs de la muestra de tubo A = 3.709

Abs de la muestra de tubo B = 1.768

Contenido de taninos totales = ((19.33) * (Abs de la muestra de tubo A - Abs de la muestra de tubo B)/5)) mg/L de hidromiel de saúco

Reemplazando a la fórmula:

Contenido de taninos totales = ((19.33) * (3.709 - 1.768)/5)) mg/L de hidromiel de saúco

Contenido de taninos totales = 7.504 mg/L de hidromiel de saúco

Anexo 4. Datos para el contenido de flavonoides totales del hidromiel de saúco.

Hidromiel de saúco de las empresas del distrito de Talavera	Absorbancia de la solución muestra (nm)	Peso de la sustancia de referencia (g)	Absorbancia de la solución de referencia (nm) para bx (curva de calibración)	Contenido de flavonoides totales expresados como (mg equivalente de quercetina/mL de hidromiel de saúco)
Marqués de Aranjuez	2.209	2	6.585	335.463
	2.152	2	6.415	335.461
	2.208	2	6.582	335.463
Santa Isabel	1.055	2	3.146	335.346
	1.090	2	3.250	335.354
	1.078	2	3.215	335.351
Santa Rosa	0.902	2	2.690	335.309
	0.903	2	2.693	335.309
	0.942	2	2.809	335.320
El Dorado	1.306	2	3.894	335.389
	1.321	2	3.939	335.392
	1.306	2	3.894	335.389

Cálculo para el contenido de taninos totales del hidromiel de saúco

Dónde, Y = pendiente de la curva calibrada

$$Y = a \text{ ABS} + b$$

$$\text{Absorbancia de la solución muestra (nm)} = 2.209$$

$$\text{Peso de la sustancia de referencia (g)} = 2$$

$$\text{bx (curva de calibración)} = Y = 2.98x + 0.0021$$

$$\text{bx (curva de calibración)} = Y = 2.98 * 2.209 + 0.0021$$

$$\text{bx (curva de calibración)} = Y = 6.585$$

$$\text{Contenido de flavonoides totales} = \frac{\text{Absorbancia de la solución muestra (nm)} * \text{Peso de la sustancia de referencia (g)} * 5}{\text{Absorbancia de la solución de referencia (nm) para bx (curva de calibración)}} * 100$$

Reemplazando a la fórmula:

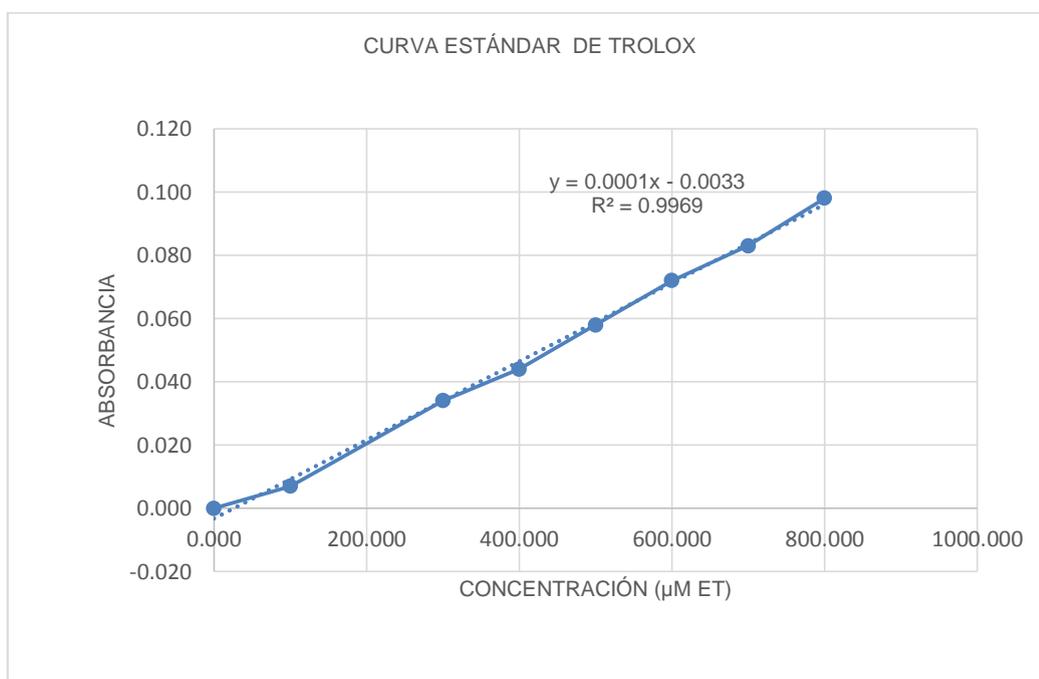
$$\text{Contenido de flavonoides totales} = ((2.209 * 2 * 5)/(6.585)) (100)$$

Contenido de flavonoides totales = 335.463 mg equivalente de quercetina/mL de hidromiel de saúco

Anexo 5. Curva estándar de calibración de Trolox.

Se disolvió 2 mg en 10 mL de metanol al 80 % para alcanzar concentraciones de 100, 300, 400, 500, 600, 700 y 800 $\mu\text{moles/L}$ equivalentes Trolox, como se muestra en siguiente tabla. Concentración vs absorbancia de los estándares de Trolox

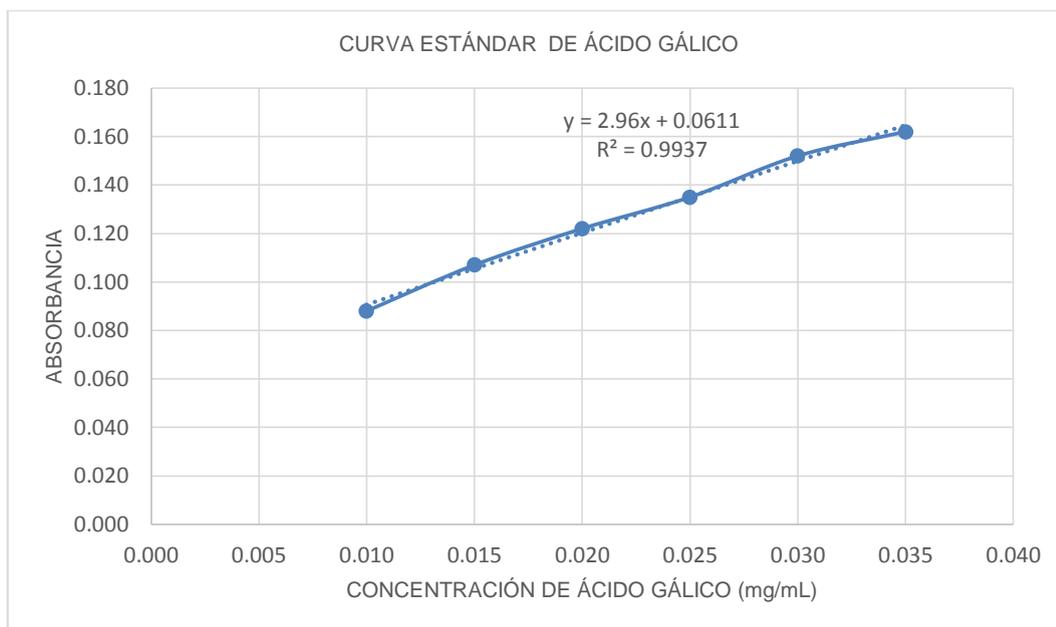
Concentración $\mu\text{moles/L}$ (X)	Absorbancia (Y)
100	0.007
300	0.034
400	0.044
500	0.058
600	0.072
700	0.083
800	0.098



Anexo 6. Curva estándar de calibración de ácido.

Se utilizó la solución patrón de ácido gálico, disolviendo 50 mg de ácido gálico en 100 mL de agua destilada y se realizó las siguientes diluciones a diferentes concentraciones de 10, 15, 20, 25, 30, 35 $\mu\text{g/mL}$. En la siguiente tabla se presentan las absorbancias obtenidas por los estándares de ácido gálico. Concentración vs absorbancia de los estándares de ácido gálico

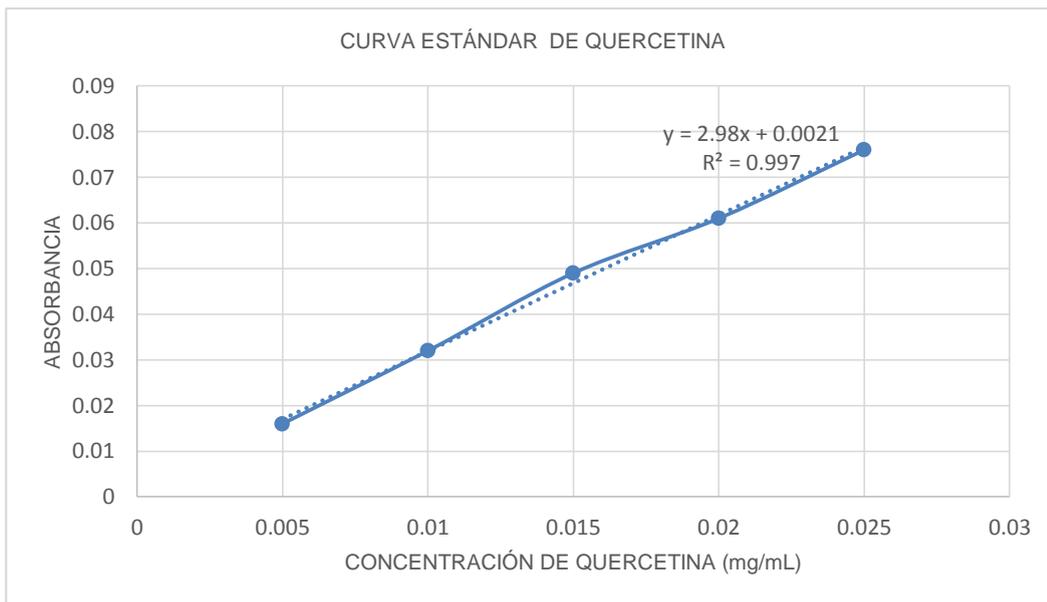
Concentración mg/mL (X)	Absorbancia (Y)
0.010	0.088
0.015	0.107
0.020	0.122
0.025	0.135
0.030	0.152
0.035	0.162



Anexo 7. Curva estándar de calibración quercetina.

Para encontrar la concentración de flavonoides totales para cada muestra, se realizó una curva de calibración utilizando el estándar de quercetina, de la cual se prepararon todas las diluciones de los estándares con concentraciones de 5-25 $\mu\text{g/mL}$. En la siguiente tabla se presentan las absorbancias dadas por los estándares de quercetina. Concentración vs absorbancia de los estándares de quercetina

Concentración mg/mL (x)	Absorbancia (y)
0.005	0.016
0.01	0.032
0.015	0.049
0.02	0.061
0.025	0.076



Anexo 8. ANOVA para la actividad antioxidante del hidromiel de saúco.

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Promedio de los cuadrados	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.5630	3	0.1876	7346.58	0.0000
Dentro de los grupos	0.0002	8	0.000025		
Total	0.5632	11			

Anexo 9. Prueba rangos múltiple (Método: 95.0 porcentaje LSD) para la actividad antioxidante del hidromiel de saúco.

Empresas del distrito de Talavera	Casos	Media	Grupos Homogéneos
El Dorado	3	2.259	d
Granja Santa Rosa	3	2.683	c
Marqués de Aranjuez	3	2.718	a
Santa Isabel	3	2.830	b

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Marqués de Aranjuez - Santa Isabel	*	-0.112	0.009
Marqués de Aranjuez - Granja Santa Rosa	*	0.034	0.009
Marqués de Aranjuez - El Dorado	*	0.458	0.009
Santa Isabel – Granja Santa Rosa	*	0.147	0.009
Santa Isabel - El Dorado	*	0.570	0.009
Santa Rosa - El Dorado	*	0.423	0.009

* indica una diferencia significativa.

Anexo 10. ANOVA para el contenido de fenoles totales del hidromiel de saúco.

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Promedio de los cuadrados	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	37849.9	3	12616.6	553.94	0.0000
Dentro de los grupos	182.21	8	22.776		
Total	38032.1	11			

Anexo 11. Prueba rangos múltiple (Método: 95.0 porcentaje LSD) para el contenido de fenoles totales del hidromiel de saúco

Empresas del distrito de Talavera	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Marqués de Aranjuez	3	3635.94	a
Granja Santa Rosa	3	3714.62	c
Santa Isabel	3	3759.35	b
El Dorado	3	3783.38	d

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Marqués de Aranjuez - Santa Isabel	*	-123.41	8.98
Marqués de Aranjuez – Granja Santa Rosa	*	-78.67	8.98
Marqués de Aranjuez - El Dorado	*	-147.43	8.98
Santa Isabel - Granja Santa Rosa	*	44.73	8.98
Santa Isabel - El Dorado	*	-24.02	8.98
Granja Santa Rosa - El Dorado	*	-68.75	8.98

* indica una diferencia significativa.

Anexo 12. ANOVA para el contenido de taninos totales del hidromiel de saúco.

Fuente	Suma de cuadrados	Gl	Promedio de los cuadrados	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	38.3831	3	12.7944	586.40	0.0000
Dentro de los Grupos	0.174547	8	0.0218184		
Total	38.5577	11			

Anexo 13. Prueba rangos múltiple (Método: 95.0 porcentaje LSD) para el contenido de taninos totales del hidromiel de saúco.

Empresas del distrito de Talavera	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Marqués de Aranjuez	3	7.679	a
El Dorado	3	10.576	d
Granja Santa Rosa	3	11.836	c
Santa Isabel	3	12.254	b

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Marqués de Aranjuez - Santa Isabel	*	-4.574	0.278
Marqués de Aranjuez - Granja Santa Rosa	*	-4.157	0.278
Marqués de Aranjuez - El Dorado	*	-2.896	0.278
Santa Isabel - Granja Santa Rosa	*	0.417	0.278
Santa Isabel - El Dorado	*	1.678	0.278
Granja Santa Rosa - El Dorado	*	1.260	0.278

* indica una diferencia significativa.

Anexo 14. ANOVA para el contenido de flavonoides totales del hidromiel de saúco.

Fuente	Suma de cuadrados	GI	Promedio de los cuadrados	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.0368	3	0.01228	805.72	0.0000
Dentro de los grupos	0.00012	8	0.000015		
Total	0.03698	11			

Anexo 15. Prueba rangos múltiple (Método: 95.0 porcentaje LSD) para el contenido de flavonoides totales del hidromiel de saúco.

Empresas del distrito de Talavera	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Granja Santa Rosa	3	335.31	c
Santa Isabel	3	335.35	b
El Dorado	3	335.39	d
Marqués de Aranjuez	3	335.46	a

Contraste	Sig.	Diferencia	+/- Límites
Marqués de Aranjuez - Santa Isabel	*	0.11	0.007
Marqués de Aranjuez - Granja Santa Rosa	*	0.14	0.007
Marqués de Aranjuez - El Dorado	*	0.07	0.007
Santa Isabel - Granja Santa Rosa	*	0.03	0.007
Santa Isabel - El Dorado	*	-0.03	0.007
Granja Santa Rosa - El Dorado	*	-0.07	0.007

* indica una diferencia significativa.

Anexo 16. Fotografía del hidromiel de saúco.



FOTO 01: MUESTRA DE HIDROMIEL DE SAÚCO DE CUATRO EMPRESAS DEL DISTRITO DE TALAVERA



FOTO 02: MUESTRA DE HIDROMIEL DE SAÚCO DE CUATRO EMPRESAS DEL DISTRITO DE TALAVERA

Anexo 17. Fotografía de determinación de la actividad antioxidante.

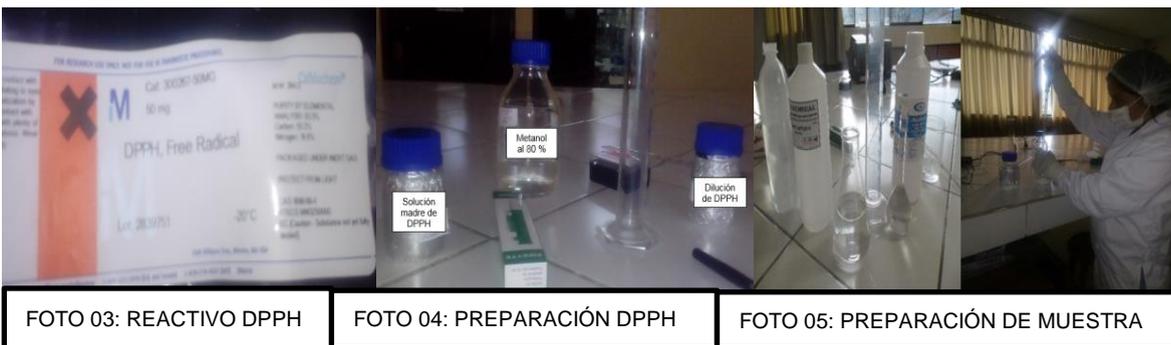


FOTO 03: REACTIVO DPPH

FOTO 04: PREPARACIÓN DPPH

FOTO 05: PREPARACIÓN DE MUESTRA



FOTO 06: PREPARACIÓN DE MUESTRA PROTEGIDAS DE LUZ

FOTO 07: LECTURA EN EL ESPECTROFOTOMETRO

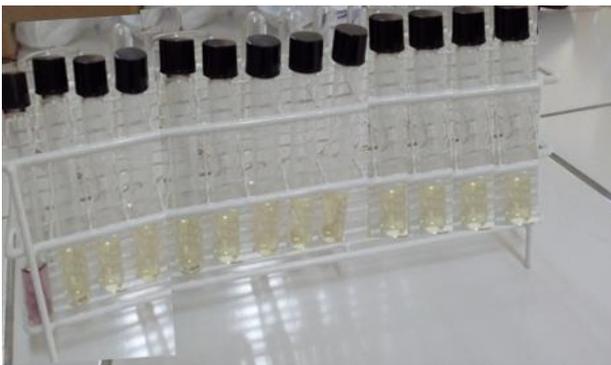


FOTO 08: MUESTRA DESPUES DE LA LECTURA



FOTO 09: MUESTRA EN LA CUBETA DESPUES DE LA LECTURA

Anexo 18. Fotografía del contenido de fenoles totales.



FOTO 10: PESO DE REACTIVOS

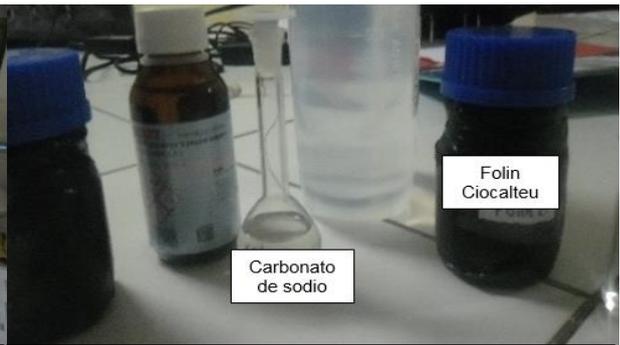


FOTO 11: PREPARACIÓN DE RACTIVOS



FOTO 12: PREPARACIÓN DE MUESTRA

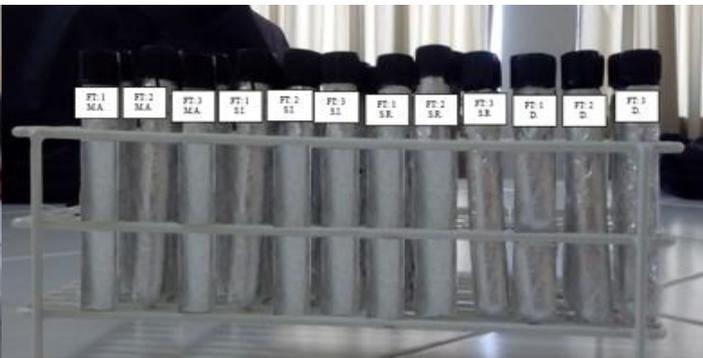


FOTO 13: PREPARACIÓN DE MUESTRA PROTEGIDAS DE LUZ



FOTO 14: LECTURA EN EL ESPECTROFOTOMETRO



FOTO 15: MUESTRA EN LA CUBETA DESPUES DE LA LECTURA

Anexo 19. Fotografía del contenido de taninos totales.



FOTO 16: PREPARACIÓN DE REACTIVO



FOTO 17: PREPARACIÓN DE MUESTRA



FOTO 18: PREPARACIÓN DE MUESTRA DE TUBO "A" A 90 °C DURANTE 30 MINUTOS TAPADO EN BAÑO MARIA

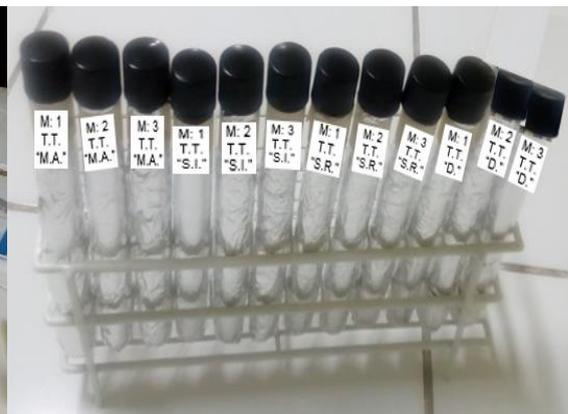


FOTO 19: PREPARACIÓN DE MUESTRA DE TUBO "B" PROTEGIDAS DE LUZ A MEDIO AMBIENTE

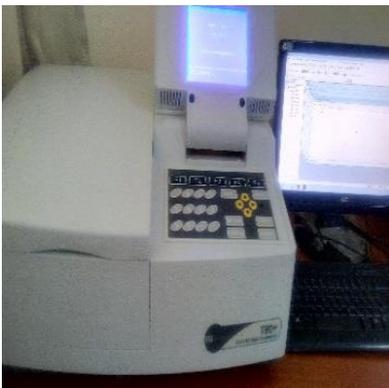


FOTO 20: LECTURA EN EL ESPECTROFOTOMETRO

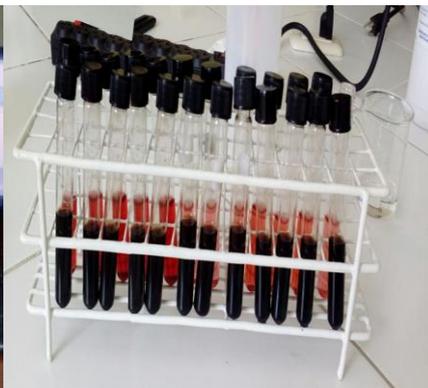


FOTO 21: MUESTRA DESPUES DE LA LECTURA



FOTO 22: MUESTRA DESPUES DE LA LECTURA EN CUBETA

Anexo 20. Fotografía del contenido de flavonoides totales.



FOTO 23: PREPARACIÓN DE REACTIVO



FOTO 24: PREPARACIÓN DE MUESTRA



FOTO 25: PREPARACIÓN DE MUESTRA PROTEGIDAS DE LUZ



FOTO 26: MUESTRA DESPUES DE LA LECTURA

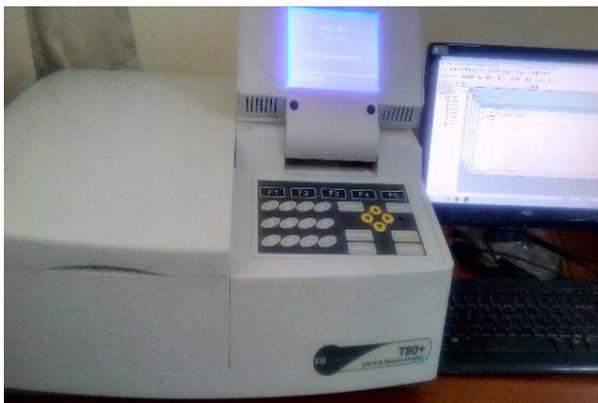


FOTO 27: LECTURA EN EL ESPECTROFOTOMETRO



FOTO 28: MUESTRA DESPUES DE LA LECTURA EN CUBETA