

**UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ DE ELCHE**  
**ESCUELA POLITÉCNICA SUPERIOR DE ORIHUELA**  
**GRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS**



**“Efecto del estado de madurez de la chirimoya (*Annona cherimola*, Mill.) sobre la composición fisicoquímica y funcional de la piel para el desarrollo de harinas”**

**TRABAJO FIN DE GRADO**

**Septiembre-2017**

Autor: Sonia Bas Sarrió

Tutor/es: Estefanía Valero Cases

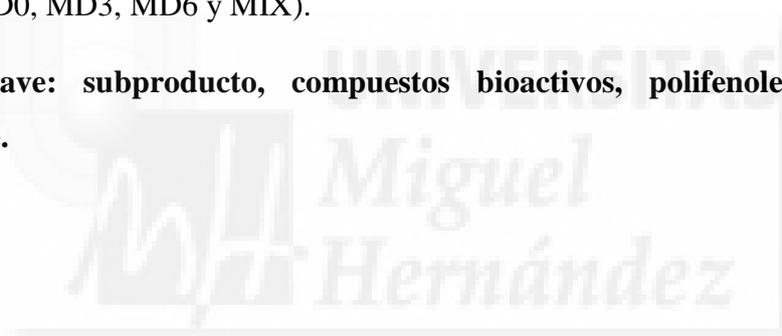
María José Frutos Fernández



## RESUMEN

El objetivo principal de este estudio fue caracterizar las propiedades físico-químicas y funcionales de diferentes tipos de harinas elaboradas con piel chirimoya (*Annona cherimola*, Mill.) en diferentes estados de madurez (0, 3 y 6 días). Las pieles fueron sometidas a un proceso de secado a 45 °C durante 24 horas. Se determinaron la capacidad antioxidante (ABTS, DPPH y FRAP) el contenido en polifenoles totales y clorofila, así como las características fisicoquímicas. Los resultados de las harinas elaboradas a día 0, presentaron mayor contenido de capacidad antioxidante, polifenoles totales, pH, clorofila, mayor parámetro L\* y fueron más verdes. Sin embargo, en la harinas elaboradas a día 3 y 6, presentaron una disminución de capacidad antioxidante, polifenoles totales y clorofilas y un aumento en el contenido de sólidos solubles y una evolución del color a marrones. En cuanto a los resultados de capacidad de retención de agua y capacidad de retención de aceite, no se observaron diferencias significativas entre las diferentes muestras (MD0, MD3, MD6 y MIX).

**Palabras clave:** subproducto, compuestos bioactivos, polifenoles, capacidad antioxidante.



## **ABSTRACT**

The main objective of this study was to characterize the physico-chemical composition and functional properties of flours from cherimoya peel (*Annona cherimola*, Mill.) at different stages of maturity (0, 3 and 6 days). The peels were dried at 45 °C for 24 hours. The antioxidant capacity (ABTS, DPPH and FRAP) total phenolic content, chlorophylls, as well as physicochemical and technological properties were determined. The flours elaborated at day 0, presented higher content of antioxidant capacity, polyphenols, pH, chlorophylls, higher parameter L\* and a greener colour. However, the production of flour from cherimoya peel on the third and sixth days of storage, decrease in antioxidant capacity, total polyphenols and chlorophylls was observed, but showed a higher values in the soluble solids content and a colour evolution to brown. Regarding the results of water retention capacity and oil retention capacity, they did not show significant differences between the different samples (MD0, MD3, MD6 and MIX).

**Keywords:** by-product, bioactive components, polyphenols, antioxidant capacity



## INDICE

<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>10</b>
<b>1.1 ORIGEN Y ANTECEDENTES .....</b>	<b>10</b>
<b>1.2. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA Y CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA.....</b>	<b>10</b>
1.2.1 Fases de desarrollo fenológica específica del árbol de chirimoya .....	12
1.2.2 Requerimientos edafoclimáticos .....	13
<b>1.3 IMPORTANCIA ECONÓMICA Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA .....</b>	<b>14</b>
1.3.2 Producción nacional.....	15
<b>1.4 PROPIEDADES NUTRICIONALES Y DE CALIDAD FUNCIONAL .....</b>	<b>16</b>
<b>1.5 IMPORTANCIA DE SUBPRODUCTOS EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA Y LA DEMANDA DE PRODUCTOS FUNCIONALES Y BENEFICIOSOS PARA LA SALUD. ....</b>	<b>17</b>
<b>1.6 DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS.....</b>	<b>18</b>
1.6.1 Compuestos fenólicos .....	19
1.6.2 Métodos para la determinación de la capacidad antioxidante.....	20
1.6.2.1 Método DPPH.....	21
1.6.2.2 Método ABTS <sup>•+</sup> .....	21
1.6.2.3 Método FRAP .....	21
<b>2. OBJETIVO .....</b>	<b>24</b>
<b>3. MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>26</b>
<b>3.1 DISEÑO EXPERIMENTAL .....</b>	<b>26</b>
<b>3.2 MATERIAL VEGETAL .....</b>	<b>26</b>
<b>3.3 ELABORACIÓN DE LA HARINA .....</b>	<b>28</b>
<b>3.4 CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA .....</b>	<b>28</b>
3.4.1 ACTIVIDAD DE AGUA .....	28
3.4.2 COLOR .....	29
3.4.3 CAPACIDAD DE RETENCIÓN DE AGUA (CRA) .....	29
3.4.4 CAPACIDAD DE RETENCIÓN ACEITE (CRO) .....	29
3.4.5 pH .....	30
3.4.6 DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS SOLUBLES .....	30
<b>3.5 PREPARACIÓN DE EXTRACTOS DE HARINAS DE PIEL DE CHIRIMOYA ..</b>	<b>30</b>
<b>3.6 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE .....</b>	<b>30</b>
3.6.1 MÉTODO ÁCIDO 6-HIDROXI-2, 5,7, 8-TETRAMETILCROMANO-2-CARBOXÍLICO (ABTS <sup>•+</sup> ) .....	30
3.6.2 MÉTODO 2,4, 6-TRIPYRIDIL-S-TRIAZINA (FRAP).....	31
3.6.3 MÉTODO 2,2-DIFENIL-1-PICRILHIDRAZIL (DPPH) .....	31
<b>3.7 DETERMINACIÓN DE LOS FENOLES TOTALES MÉTODO FOLIN-CIOCALTEU.....</b>	<b>32</b>

3.8 DETERMINACIÓN CLOROFILA TOTAL .....	32
3.9 ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	33
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	35
4.1 CAPACIDAD ANTIOXIDANTE .....	35
4.2 POLIFENOLES TOTALES.....	36
4.3 CLOROFILA.....	38
4.4 PARÁMETROS DE COLOR Ciel*a* b*.....	39
4.5 pH Y SÓLIDOS SOLUBLES.....	41
4.6 ACTIVIDAD DE AGUA .....	42
4.7 CAPACIDAD DE RETENCIÓN DE AGUA Y ACEITE .....	43
5. CONCLUSIONES.....	46
BIBLIOGRAFÍA.....	48



## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.1 Clasificación taxonómica de la chirimoya (<i>Annona cherimola</i>, Mill.) ...</b>	<b>11</b>
<b>Tabla 1.2 Composición química de 100g de pulpa comestible de chirimoya .....</b>	<b>16</b>
<b>Tabla 4.1 Actividad antioxidante de las harinas elaboradas a partir de piel de chirimoya en diferentes días de almacenamiento .....</b>	<b>36</b>
<b>Tabla 4.2 Contenido de polifenoles totales en las harinas elaboradas a partir de piel de chirimoya en diferentes días de almacenamiento. ....</b>	<b>38</b>
<b>Tabla 4.3 Contenido en clorofilas totales en las harinas elaboradas a partir de piel de chirimoya en diferentes días de almacenamiento. ....</b>	<b>39</b>
<b>Tabla 4.4 Evolución del color en las harinas elaboradas a partir de piel de chirimoya en diferentes días de almacenamiento. ....</b>	<b>41</b>
<b>Tabla 4.5 pH y Brix en las harinas elaboradas a partir de piel de chirimoya en diferentes días de almacenamiento. ....</b>	<b>42</b>



## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.1 Chirimoya (<i>Annona cherimola</i>, Mill.).....</b>	<b>13</b>
<b>Figura 1.2 Producción de chirimoya en España. Fuente: MAPAMA, 2014 .....</b>	<b>15</b>
<b>Figura 1.3 Clasificación comp. Fenólicos .....</b>	<b>19</b>
<b>Figura 3.1 Diseño experimental del trabajo.....</b>	<b>26</b>
<b>Figura 3.2 a) Chirimoya (<i>Annona cherimola</i>, Mill.) b) Recepción de los frutos en el laboratorio</b>	
<b>Figura 3.3 a) Almacenamiento día 0, b) almacenamiento día 3, c) Almacenamiento día 6.....</b>	<b>27</b>
<b>Figura 3.4 a) Pieles antes de tratamiento de secado b) Pieles después del tratamiento de secado.....</b>	<b>28</b>





## 1. INTRODUCCIÓN

### 1.1 ORIGEN Y ANTECEDENTES

La familia *Annonaceae* aparece entre las Angiospermas más primitivas, las distintas especies se localizan en los trópicos y algunas en las regiones templadas. El chirimoyo es un árbol de hoja caduca, tiene su origen en las montañas de los Andes peruanos y las montañas de Ecuador (González Vega, 2013). La mayor diversidad genética se encuentra en el sur de México, Centroamérica y norte de Sudamérica (Andrés-Agustín et al., 2004).

El cultivo de la chirimoya adquirió importancia en el Imperio Inca en 1200 a.C. Evidencias antropológicas, sugieren que este fruto exótico fue un ingrediente activo en la dieta Inca (Gupta-Elera, Garrett, Martínez, Robison & O'Neill, 2011), ya que se ha demostrado que muchas especies de *Annonaceae* se utilizaban en medicina popular para los tratamientos antitumorales o antiparasitarios de enfermedades intestinales (Barreca et al., 2011). Existen registros durante el período clásico tardío (700-900 d.C.) donde ya se citaba especies frutales de la *Annona* por su deleitoso sabor (Albuquerque et al., 2016).

El chirimoyo llegó al Sur de España en el siglo XVIII y más tarde se introdujo en Italia y en la Isla de Madeira (Portugal) (Rossell García, Galán Saúco & Hernández Delgado, 1997).

### 1.2. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA Y CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

La chirimoya (*Annona cherimola*, Mill.), es un fruto subtropical de la familia de las anonáceas (van Zonneveld et al., 2012). La familia *Annonaceae* presenta una gran diversidad de especies y la mayoría de los autores citan entre 2000-2500 especies y 120-130 géneros (Couvreur et al., 2016; Paul H. Hoekstra et al., 2006). Hay que destacar, que de estos 120-130 géneros, 17 se distribuyen en zonas tropicales y solamente 4 géneros *Annona*, *Rollinia*, *Uvaria* y *Asimina*, producen frutos comestibles, siendo el género *Annona* spp, el que recoge un mayor número de especies de interés económico. Las especies más importantes del género *Annona* són: *Annona cherimola* Mill., *Annona muricata* L., *Annona Squamosa* L., y *Atemoyas* que se trata de un híbrido entre las

especies *A. muricata* y *A. Squamosa* (González Vega, 2013; Pareek, Yahia, Pareek & Kaushik, 2011).

**Tabla 1.1 Clasificación taxonómica de la chirimoya (*Annona cherimola*, Mill.)**

<b>Reino</b>	Vegetal
<b>Subreino</b>	Embriophyta
<b>División</b>	Spermatophyta
<b>Subdivisión</b>	Angiospermae
<b>Clase</b>	Dicotyledoneae
<b>Orden</b>	Ranales
<b>Suborden</b>	Magnoliales
<b>Familia</b>	Annonaceae
<b>Subfamilia</b>	Annonoideae
<b>Género</b>	Annona
<b>Especie</b>	Annona cherimola Miller

**Fuente:** González Vega, 2013

El árbol de la chirimoya presenta una altura promedio de 4 a 9 metros con un crecimiento erguido, una copa redondeada y exuberante follaje. La raíz del chirimoyo es pivotante, lo cual le permite una mayor sujeción a los suelos. El tronco posee una forma cilíndrica cuya corteza es gruesa y lisa, de coloración verde. Las ramas sobresalen irregularmente y poseen la propensión de inclinarse.

El color de la hoja es de verde oscuro a verde brillante y cuya textura presenta una superficie vellosa en el haz y aterciopelado en el envés (Andrés-Agustín et al., 2004). Las flores presentan pétalos aromáticos de tonalidades diferentes (rosado o rojo púrpura, blancas, cremas, amarillas y verdosas). El cáliz se compone por 3 sépalos de color verde oscuro, pequeño tamaño y de forma triangular. La corola contiene seis pétalos dispuestos en dos verticilos. Los estambres (parte inferior) y carpelos (parte superior) están situados en un receptáculo cónico.

El fruto de la chirimoya se trata de una polidrupa, ya que resulta de la fusión de los carpelos donde se encuentran unidos alrededor del receptáculo central, este tiene una forma alargada y cónica. La superficie de la fruta presenta una piel fina y delicada donde se observa unas marcas en forma de U donde se encuentra la zona unión de los carpelos (González Vega, 2013). Las semillas abundan en el fruto, y vistas de frente son aplanadas y elípticas y presentan un color castaño claro o negro. El fruto puede llegar a pesar de 150 a 500 gramos, hasta puede llegar a los 2,7 Kg de peso (Caballero Pérez, 2007).

### **1.2.1 Fases de desarrollo fenológica específica del árbol de chirimoya**

La descripción de las etapas de desarrollo fenológico del árbol de la chirimoya, descritas por Cautín & Agustí (2005), conforme a la escala extendida BBCH (sistema para una codificación uniforme de identificación fenológica de estados de crecimiento para todas las especies de plantas mono-dicotiledóneas).

**Fase 0:** Germinación, brotación, desarrollo de la yema

**Fase 1:** Desarrollo de las hojas (brote o tallo principal)

**Fase 4:** Desarrollo de las partes vegetativas cosechables

**Fase 5:** Emergencia de la inflorescencia

**Fase 6:** Floración

**Fase 7:** Desarrollo del fruto

**Fase 8:** Coloración o maduración de frutos y semillas

**Fase 9:** Senescencia de los foliares y comienza el período de descanso

La fase 2 y 3 donde tiene lugar el desarrollo de la roseta en las hojas y de las partes vegetativas recolectables, no se tienen en cuenta, ya que no se aplican a chirimoya. (Cautín & Agustí, 2005).



**Figura 1.1** Chirimoya (*Annona cherimola*, Mill.)

### 1.2.2 Requerimientos edafoclimáticos

El cultivo de la chirimoya al ser un fruto de procedencia subtropical, se inclina por las exigencias climáticas que no produzcan grandes variaciones de temperatura y humedad. Las condiciones excelentes para conseguir un correcto cuajado de los frutos son temperaturas entre 25 y 28 °C y humedades relativas entre 60-70%. Las temperaturas superiores a los 30 °C y con humedades relativas bajas durante la época de floración,

influye negativamente a la fecundación ocasionando falta de receptividad estigmática, también afecta al cuajado del fruto posterior y provoca quemaduras en hojas y frutos. En los meses más fríos no resistente a heladas, admitiendo un límite de temperatura de 13 °C.

Los vientos bruscos causan desdoblamiento a las ramas más jóvenes, y como consecuencia, se produce una incorrecta formación del árbol. Además, la fuerza que ocasiona los vientos, también afecta a los frutos, durante la etapa de maduración, causándoles alteraciones en la piel, debido al roce de las ramas.

La especie del género *Annona*, inclusive la *Annona chirimola*, Mill., se habitúa a suelos de diferentes tipos: arenosos, arcillosos, limo-arenosos, ligeros profundos, dotados de materia orgánica, drenados, que posibiliten una buena aireación de las raíces, también se ha visto que crecen en suelos pedregosos, compactos e impermeables.

Las condiciones óptimas de pH se encuentran entre 6-7.5, por lo que respecta a la cantidad de caliza total, comprende valores inferiores al 7% (algunos casos presentan deficiencias en calcio) (Rossell García, Galán Saúco & Hernández Delgado, 1997).

### **1.3 IMPORTANCIA ECONÓMICA Y DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA**

Entre los diferentes tipos de *Annonas*, la que adquiere mayor demanda comercial, es la *Annona cherimola* Mill. La chirimoya, se ha convertido en una de las frutas tropicales donde su cultivo ha adquirido importancia, debido a sus propiedades sensoriales y compuestos bioactivos.

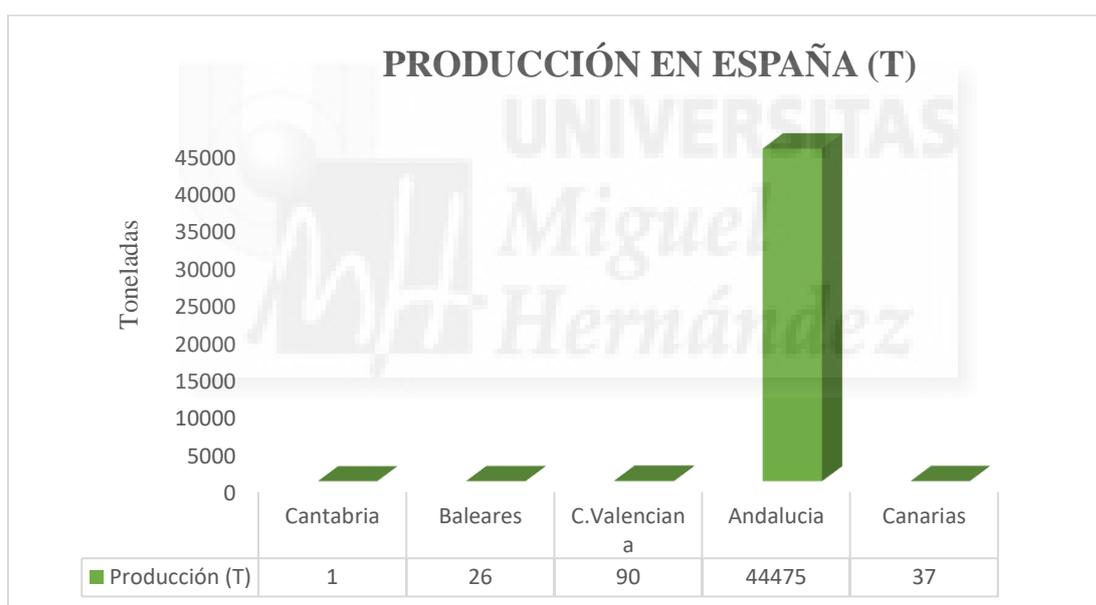
#### **1.3.1 Producción mundial**

En la actualidad, España se considera uno de los mayores productores de chirimoya a nivel mundial ya que el clima mediterráneo favorece el cultivo de estas frutas de origen tropical, le siguen, los productores de Perú y Chile. Sin embargo, existe una menor producción en Centroamérica, México, Israel y EEUU (California) (van Zonneveld et al., 2012).

Otros países con pequeñas producciones se localizan en Reggio Calabria (Italia), y en la Isla de Madeira (Portugal), que representa un área muy importante ya que favorece la demanda portuguesa de esta fruta (Pinto et al., 2005).

### 1.3.2 Producción nacional

El cultivo de la chirimoya en España se localiza principalmente en la cuenca mediterránea, exactamente en la Costa de Granada y Málaga, pertenecientes a la comunidad autónoma de Andalucía conocida también como “costa tropical”. En 2014 se registró una producción de 44475 toneladas (Figura 1.2). Esta zona se diferencian dos tipos de variedades, que cuentan con la denominación de origen protegida de la costa tropical de Granada-Málaga; “Fino de jete” y “Campa”, el primer cultivo es el más difundido por el mundo (García-Salas et al., 2016).



**Figura 1.2** Producción de chirimoya en España. Fuente: MAPAMA, 2014

#### 1.4 PROPIEDADES NUTRICIONALES Y DE CALIDAD FUNCIONAL

La chirimoya se compone principalmente de agua y presenta cantidades importantes de calcio, fósforo, carbohidratos, tiamina y riboflavina (Tabla 1.2.). Diversas evidencias científicas indican que la chirimoya es rica en antioxidantes (Gupta-Elera, Garrett, Martinez, Robison & O'Neill, 2011). El sabor de este fruto es rico y aromático, ofrece una combinación de dulzura y acidez sutil, el sabor es parecido a una mezcla entre el plátano, maracuyá, papaya y piña (Barreca et al., 2011). Asimismo, la chirimoya desprende un olor característico, debido a los componentes activos volátiles desarrollados durante la maduración (Pareek, Yahia, Pareek & Kaushik, 2011). La mayoría de los cambios que se producen en la calidad organoléptica, como el aumento del contenido de azúcares, ácidos y la biosíntesis de aroma, se producen antes del incremento en la producción de etileno, justamente en el primer pico respiratorio. El ácido predominante corresponde al ácido málico, mientras que el ácido tartárico y el ácido cítrico aparecen en bajas concentraciones. El incremento de la dulzura está relacionado con un aumento en el contenido de sólidos solubles, que a la vez, está relacionado por un incremento de azúcares, (Manríquez, Muñoz-Robredo, Gudenschwager, Robledo & Defilippi, 2014).

**Tabla 1.2 Composición química de 100g de pulpa comestible de chirimoya**

<b>Componentes</b>	<b>Cantidad</b>
Agua(g)	77.3 ± 2.8
Proteínas(g)	1.6 ± 0.6
Lípidos(g)	0.3 ± 0.2
Carbohidratos(g)	18.42 ± 4
Fibra(g)	1.64 ± 0.5
Acidez total(g)	0.58 ± 0.19
Ceniza(g)	0.7 ± 0.1
Energía(Kcal)	68.6 ± 13.4
Calcio(mg)	27.14 ± 5
Fósforo(mg)	35.2 ± 18
Hierro(mg)	0.6 ± 0.2

Vitamina B <sub>1</sub> (mg)	0.09 ± 0.03
Vitamina B <sub>12</sub>	0.12 ± 0.2
Vitamina B <sub>5</sub>	0.8 ± 0.2
Vitamina C (mg)	11.5 ± 5.5

**Fuente:** Pareek, Yahia, Pareek & Kaushik, 2011

### **1.5 IMPORTANCIA DE SUBPRODUCTOS EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA Y LA DEMANDA DE PRODUCTOS FUNCIONALES Y BENEFICIOSOS PARA LA SALUD.**

En los últimos años, se han hallado diversas evidencias científicas donde el estrés oxidativo es el responsable del desarrollo de diversas enfermedades como el cáncer, diabetes, aterosclerosis y de otras enfermedades cardiovasculares (Akhtar, Ahamed & Alhadlaq, 2017; Gutiérrez, García, Rincón, Ceballos & Olivares, 2015; Klaunig & Kamendulis, 2004). Por lo tanto, la demanda e interés paulatino por alimentos más sanos que ayuden a disminuir los riesgos de padecer enfermedades y mejoren la calidad y esperanza de vida (Alissa & Ferns, 2015; Soquetta et al., 2016) ha provocado que la industria alimentaria se encuentre en continuo avance (Bigliardi & Galati, 2013; Menrad, 2004).

Al mismo tiempo, existe la problemática en las grandes industrias alimentarias que producen grandes volúmenes de residuos, resultando difícil su eliminación y suponiendo un problema medioambiental. De este modo, nace la alternativa de reutilizar dichos desechos biológicos de gran interés, desarrollando alimentos que contengan compuestos bioactivos, cuya finalidad es la de incorporar valor y mejorar las funciones nutricionales de diversos productos alimentarios (Jawad, Alkarkhi, Jason, Easa & Nik Norulaini, 2013; Martins et al., 2013).

Las pieles son los principales subproductos obtenidos durante el procesamiento de diversas frutas y se ha demostrado que son una buena fuente de polifenoles, clorofilas y caratenoides y otros compuestos bioactivos que poseen efectos beneficios para el organismo humano mejorando la salud del consumidor (Chantaro, Devahastin &

Chiewchan, 2008; Larrauri, Rupérez, Borroto & Saura-Calixto, 1996; Sogi, Siddiq, Greiby & Dolan, 2013; Soquetta et al., 2016).

También existen otros estudios, basados en la incorporación de harinas elaboradas con cáscaras de frutos en productos alimentarios actuales, con la finalidad de observar el efecto y los cambios que se producen en las propiedades nutricionales, físico-químicas y reológicas de dicho alimento, como es el caso de Ajila, Aalami, Leelavathi & Rao (2010), donde añadieron harina de piel de mango en macarrones y se observó una mejora en la calidad nutricional, sin afectar las propiedades de cocción, textura o sensoriales de la pasta. Otro estudio descrito por Coelho et al., (2017), también se elaboraron harinas a partir de cáscara de maracuyá, y se observó, que presentaban buenas propiedades gelificantes, por lo que este subproducto podría substituir a los hidrocoloides comerciales actuales, además otra ventaja que presentaban, es que su elaboración se basa en procedimientos simples y de bajo coste.

Hay que tener en cuenta que, para la elaboración de harinas a partir de subproductos de materias primas vegetales, se utilizan altas temperaturas de secado, con este tratamiento se consigue la eliminación de agua, por lo que se reduce la actividad microbiana y también diversas reacciones químicas que puedan alterar el producto. Pero el secado provoca cambios físicos, estructurales, químicos y biológicos, por lo que pueden afectar ciertos atributos de calidad, como por ejemplo la textura, color, sabor y valor nutricional y sobre todo al contenido de nutrientes y fitoquímicos que son inestables al color (Chang, Lin, Chang & Liu, 2006; Nicoli, Anese & Parpinel, 1999; Vega-Gálvez et al., 2009; Nicoli et al., 1999; Vega-Gálvez et al., 2009). Por ello es importante controlar las condiciones de tiempo y temperatura del tratamiento térmico aplicado para minimizar las alteraciones en el producto.

### **1.6 DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS BIOACTIVOS**

Los fitoquímicos de origen vegetal representan un amplio grupo de sustancias no nutritivas. La determinación de estos compuestos biológicamente activos, es de suma importancia, ya que muestran efectos beneficiosos para la salud (Hurtado-Fernández, Gómez-Romero, Carrasco-Pancorbo & Fernández-Gutiérrez, 2010) siendo la mayoría antioxidantes, presentando una capacidad protectora de las células (Helmja et al., 2007).

### 1.6.1 Compuestos fenólicos

Se describen como unos de los principales metabolitos secundarios que forman parte del Reino vegetal, los cuales son sintetizados durante el desarrollo normal de la propia planta y en respuesta bajo condiciones de estrés, por la aparición de infecciones, heridas, o a la exposición de radiación UV (Nacz & Shahidi, 2004). Estos compuestos son sintetizados a partir de hidratos de carbono por medio de una ruta biosintética (ruta del ácido shikímico), la cual ejerce un papel importante en la producción de una amplia gama de compuestos, tales como fenilpropanoides, benzoatos, flavonoides catequinas y lignina (Kundu, Jawali & Mitra, 2012). Los Polifenoles presentan una distribución muy extendida, sin embargo, tienen en común un anillo aromático con uno o más sustituyentes hidroxilo. Los compuestos fenólicos se pueden clasificar según su número de átomos de carbono unido a la estructura simple fenólica, por lo tanto, se pueden dividir en fenoles simples, ácidos fenólicos, ácidos hidrocicinámicos, cumarinas e isocumerinas, estilbenos, flavonoides (Figura 1.3) (Hurtado-Fernández, Gómez-Romero, Carrasco-Pancorbo & Fernández-Gutiérrez, 2010)



**Figura 1.3** Clasificación comp. Fenólicos Fuente: Hurtado-Fernández, Gómez-Romero, Carrasco-Pancorbo & Fernández-Gutiérrez, 2010

Para la determinación del contenido de fenoles totales, se utiliza el método de Folin-Ciocalteu. Tiene lugar una transferencia de electrones desde compuestos fenólicos hacia complejos de ácidos fosfomolibdicos/fosfotúngsticos, que cuando reaccionan generan un compuesto de color azul que se mide a una longitud de onda a 765 nm. En dicha reacción el reactivo Folin-Ciocalteu, que inicialmente presentaba una coloración amarilla, se

reduce por la acción de los compuestos fenólicos que son antioxidantes, pasando a color azul, permitiendo así su determinación espectrofotométrica, por lo que a mayor coloración azul mayor es la concentración de los fenoles en el compuesto (Everette et al., 2010)

### **1.6.2 Métodos para la determinación de la capacidad antioxidante**

Se denomina antioxidante, aquellas sustancias que presentan un efecto protector, contra los daños que producen los radicales libres, que provocan alteraciones en los tejidos vivos. Estos radicales libres son especies que se obtienen durante la respiración aerobia, como consecuencia, de una reducción incompleta de la molécula de oxígeno (Martins et al., 2013). Estas especies derivan de tres elementos: oxígeno, nitrógeno y azufre, de este modo crean especies reactivas de oxígeno, nitrógeno y azufre (ROS, RNS y RSS, respectivamente) (Carocho & Ferreira, 2013). En el cuerpo humano pueden producirse por fuentes endógenas, como por ejemplo, a través del metabolismo de nutrientes o procesos de envejecimiento, también pueden producirse por fuentes exógenas, como es el caso del aire contaminado que podemos inspirar (Loizzo et al., 2012). Los científicos han demostrado diversas propiedades en ciertos componentes bioactivos presentes en tejidos vegetales, que han demostrado actividades preventivas contra diversas enfermedades, como el cáncer, e incluso presentaron actividades antiinflamatorias, antimicrobianas, y antidiabéticas (Dias, Sousa, Alves & Ferreira, 2016), por lo que es importante su estudio y de este modo controlar el daño causado por estos radicales libres, ya que puede ayudar a prevenir o reducir la incidencia de enfermedades y así mejorar la calidad de vida. (Carocho & Ferreira, 2013)

Como consecuencia, existen diversos métodos para la determinación de la actividad antioxidante, ya sea *in vitro* o *in vivo*. Las medidas *in vitro*, permiten la cuantificación global de la capacidad antioxidante de un compuesto, que consiste en la generación de radicales libres cuando reaccionan con la muestra y dependiendo de la capacidad antioxidante de las sustancias cromógenas adicionadas, impiden la generación de estos radicales libres, actuando contra de los efectos perjudiciales que producen los procesos oxidativos, que comprometen a especies reactivas de oxígeno (ROS) (Sánchez-Moreno, 2002).

### 1.6.2.1 Método DPPH

El método del radical 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), se trata de una técnica espectrofotométrica que indica un espectro ultravioleta propio, el cual posee un máximo de absorción próximo de 515 nm en metanol, la capacidad antioxidante se determina de forma directa (Villaño et al., 2006). Brevemente, su procedimiento se fundamenta en la reducción del cromógeno del radical DPPH debido a la presencia de un antioxidante, como consecuencia, se produce un cambio de color del cromógeno (Hidayat, Fitri & Kuswandi, 2017). Este cambio de color es debido a que el radical DPPH, que inicialmente es de color azul-violeta, presenta un electrón desapareado, el cual, al unirse por la existencia de un antioxidante (donador de hidrógenos) se reduce la fuerza de absorción, donde se decolora a amarillo pálido (Wollinger et al., 2016).

### 1.6.2.2 Método ABTS<sup>•+</sup>

La técnica del radical ácido 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolín)-6-sulfónico (ABTS<sup>•+</sup>), se basa en la generación directa de este, donde se obtiene el radical catiónico, de color verde-azulado, debido a la reacción del ABTS junto con el persulfato de potasio. La presencia de antioxidantes produce la reducción del radical ABTS y se produce una disminución de la absorbancia que es medida a una longitud de onda de 734 nm. La capacidad de reducir este cromóforo puede depender de la duración de la reacción, concentración de la muestra y actividad antioxidante interna (Guedes, Amaro, Gião & Malcata, 2013; Re et al., 1999).

### 1.6.2.3 Método FRAP

El método 2,4, 6-tripiridil-s-triazina (FRAP) establece la capacidad antioxidante de forma directa. Se fundamenta en la potencia que posee una sustancia antioxidante para reducir el Fe<sup>3+</sup> a Fe<sup>2+</sup>. Después la reacción queda controlada debido a la interacción con el complejo 2, 4,6-tris (2-pyridyl)-s-triazina (TPTZ), este último forma una coloración azul-violeta que presenta una absorbancia máxima a 596 nm (Jones et al., 2017). Esta técnica espectrofotométrica determina la propiedad antioxidante de una reacción redox, que tiene

lugar entre el sustrato (donador de electrones), y los iones de  $\text{Fe}^3$  (aceptor de electrones), donde se obtendrán iones  $\text{Fe}^{2+}$  (Martins et al., 2013).



OBJETIVO



## 2. OBJETIVO

El objetivo del presente estudio fue caracterizar las propiedades físico-químicas y funcionales de diferentes tipos de harinas elaboradas con piel chirimoya (*Annona cherimola*, Mill.) en diferentes estados de madurez.



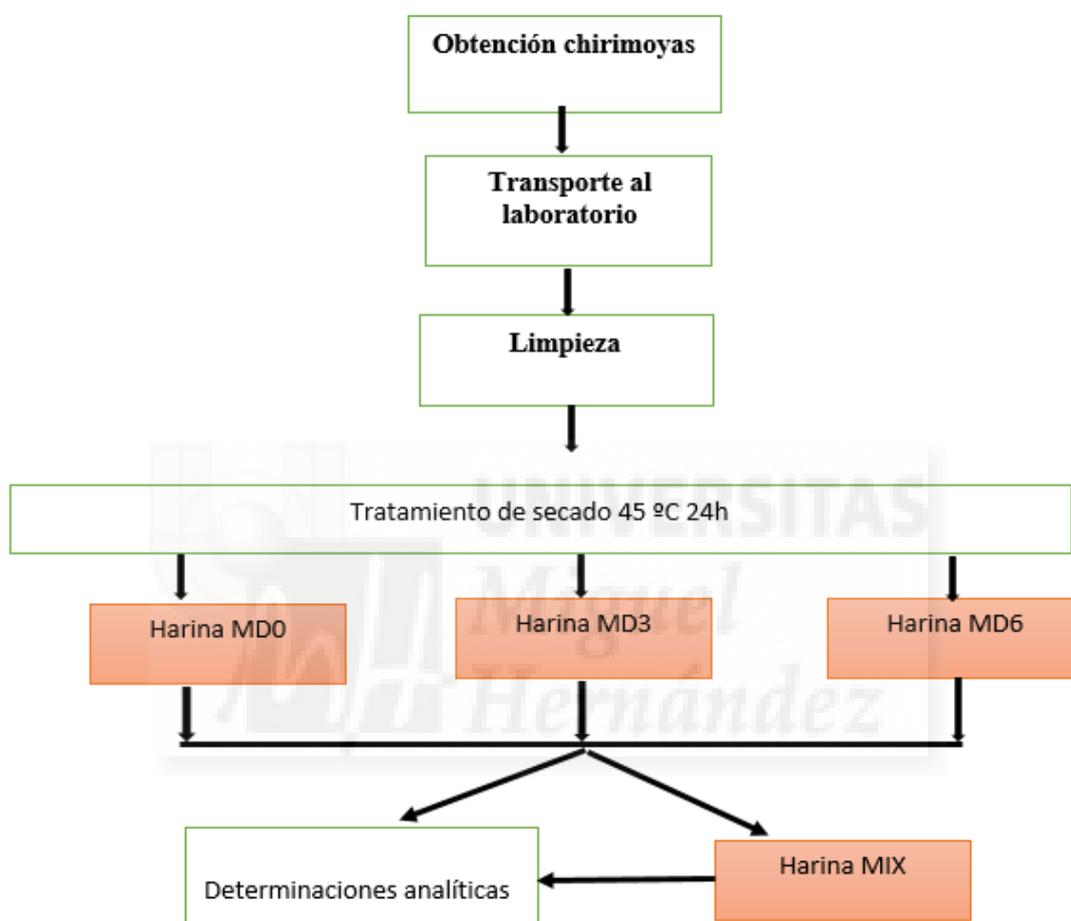
MATERIAL Y  
MÉTODOS



### 3. MATERIAL Y MÉTODOS

#### 3.1 DISEÑO EXPERIMENTAL

En el diagrama de la figura 3.1. se muestra el diseño experimental de los ensayos realizados.

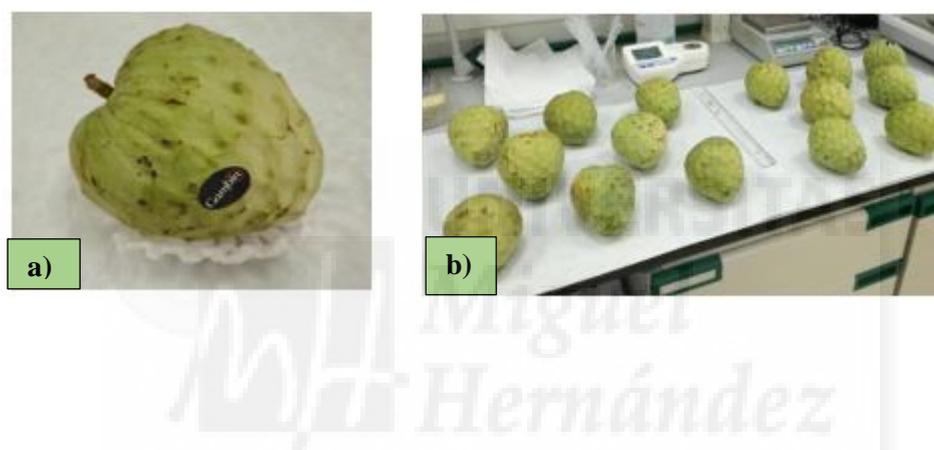


*Figura 3.1* Diseño experimental del trabajo

#### 3.2 MATERIAL VEGETAL

La chirimoya (*Annona chirimola* Mill.) se adquirió del mercado local de Orihuela (Alicante). Antes de su compra, se realizó una inspección visual y manual para seleccionar los frutos (15) con el mismo estado de madurez y asegurar la ausencia de cortes, rozaduras, podredumbres. Una vez en el laboratorio, los frutos se lavaron para

eliminar cualquier residuo adherido. Posteriormente, la piel de 5 frutos (escogidos de forma aleatoria), se retiró manualmente usando un cuchillo afilado de acero inoxidable y la pulpa subyacente fue retirada raspando suavemente (MDO). Para obtener piel madura, los frutos se mantuvieron a temperatura ambiente y en oscuridad durante 6 días. De los cuales, 5 frutos (escogidos de forma aleatoria) se muestrearon al comienzo del almacenamiento (MD0), a los 3 días de almacenamiento (MD3) y los 5 frutos restantes a los 6 días de almacenamiento a temperatura ambiente (MD6). La piel de los frutos durante los diferentes días de almacenamiento se retiró como se ha descrito anteriormente.



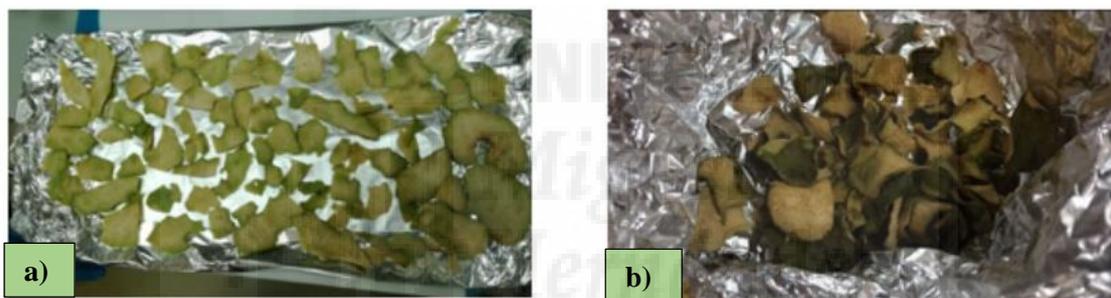
**Figura 3 2** a) Chirimoya (*Annona cherimola*, Mill.) b) Recepción de los frutos en el laboratorio



**Figura 3 3** a) Almacenamiento día 0, b) almacenamiento día 3, c) Almacenamiento día 6

### 3.3 ELABORACIÓN DE LA HARINA

Las pieles obtenidas durante los diferentes días de almacenamiento, se colocaron en bandejas de aluminio y se secaron a 45 °C durante 24 horas (Braun 20-Ponte) hasta alcanzar peso constante. Las pieles secas obtenidas de los diferentes estados de madurez de los frutos, se molieron con un molinillo eléctrico (Moulinex, Barcelona, España) y se tamizaron hasta obtener un tamaño de grano de luz de 0.5 mm. Finalmente, las diferentes harinas, se clasificaron y almacenaron al vacío en bolsas herméticas (Kraft de 200 x 300 mm de espesor  $66 \pm 10\% \mu\text{m}$ ), a temperatura ambiente y en oscuridad hasta su uso. Tras obtener todas las harinas a partir de piel de chirimoya en diferentes estados de madurez (MDO, MD3 y MD6), se elaboró una cuarta muestra, mezclando parte de los diferentes tipos de harinas obtenidos previamente (MDO + MD3 + MD6) y se denominó MIX.



**Figura 3.4** a) Pielas antes de tratamiento de secado b) Pielas después del tratamiento de secado

### 3.4 CARACTERIZACIÓN FÍSICO-QUÍMICA

#### 3.4.1 ACTIVIDAD DE AGUA

La actividad de agua ( $a_w$ ) de las diferentes harinas se determinó directamente usando un aparato NOVASINA TH200 (Novasina, Axiar Ltd., Pfaeffikon, Switzerland).

### **3.4.2 COLOR**

Para la medición del color de las diferentes muestras de harina, se utilizó un colorímetro de la marca KONICA MINOLTA modelo CR-300. Los parámetros que se midieron en el colorímetro fueron, L\*, a\* y b\*. El parámetro L\* mide la luminosidad, se trata en una propiedad, donde cada color corresponde a un miembro de una escala de grises, entre el negro y el blanco, cuyos valores se encuentran entre 0-100, respectivamente. La coordenada a\* representa la variación rojo-verde, donde los valores positivos se corresponde con el color rojo y los valores negativos al color verde. La coordenada b\* muestra la variación amarillo-azul, donde los valores positivos se corresponde con el color amarillo y los valores negativos al color azul (Delgado et al., 2014). Se obtuvieron 5 valores de cada muestra para cada parámetro y el equipo fue calibrado con una baldosa estándar de color blanco. Se tomaron cinco lecturas de cada muestra de harina.

### **3.4.3 CAPACIDAD DE RETENCIÓN DE AGUA (CRA)**

Para la determinación de la capacidad de retención de agua, 0,25 g de cada harina se hidrataron con 10 mL de agua durante 24 horas en oscuridad a temperatura ambiente. Pasado este tiempo, las muestras se centrifugaron a 1000 rpm durante 10 minutos. El exceso de sobrenadante se decantó. La capacidad de retención de agua se expresó como g/mL en peso seco.

### **3.4.4 CAPACIDAD DE RETENCIÓN ACEITE (CRO)**

Para la determinación de la capacidad de retención de aceite, 0,25 g de cada harina se mezclaron con 10 mL de aceite de girasol y se almacenaron en oscuridad durante 24 horas a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo las muestras se centrifugaron a 1000 rpm durante 10 minutos. El exceso de sobrenadante se decantó y la capacidad de retención de aceite se expresó como g/mL en peso seco.

### **3.4.5 pH**

Para la determinación del pH se utilizó un valorador automático (CRISON modelo, PH Matic 23). Para su valoración, 1 g de cada muestra de harina, se diluyó con 9 mL de agua destilada. Se obtuvieron cinco medidas para cada tipo de harina.

### **3.4.6 DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS SOLUBLES**

El contenido de sólidos solubles se determinó mediante un refractómetro (Refractómetro Digital HI 96801) a temperatura ambiente. Los resultados se expresaron como °Brix.

## **3.5 PREPARACIÓN DE EXTRACTOS DE HARINAS DE PIEL DE CHIRIMOYA**

La preparación de los extractos se realizó de la misma forma tanto para la determinación de polifenoles como para la actividad antioxidante. Las diferentes muestras se mezclaron con el agente extractante (80% de metanol, 20% de agua y 0.1% de ácido clorhídrico) en una proporción 1:10 (p/v) y se agitaron en un Ultraturrax® durante 10 minutos a 200 rpm a 4 °C. Las mezclas homogenizadas se centrifugaron (CENTRIFUGE, B. Braun. Biotech mod. C30P) durante 10 minutos a 15000 rpm a 4 °C. Los sobrenadantes resultantes se almacenaron en tubos eppendorf y se conservaron a -80 °C hasta su uso. Todas las extracciones se realizaron por triplicado.

## **3.6 DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE**

### **3.6.1 MÉTODO ÁCIDO 6-HIDROXI-2, 5,7, 8-TETRAMETILCROMANO-2-CARBOXÍLICO (ABTS<sup>•+</sup>)**

Para el ensayo del ABTS se realizó según el método descrito por Guedes, Amaro, Gião & Malcata, (2013) y Re et al., (1999). Brevemente, 10 µL de cada extracto, preparado previamente, se mezcló con 990 µL de ABTS. Las cubetas se agitaron y se dejaron reaccionar durante 10 minutos en oscuridad. La absorbancia se midió en un

espectrofotómetro (UVIKON xs) a 734 nm y se utilizó el Trolox de referencia, utilizando diferentes concentraciones (0,01-5,00 mmol/L) para obtener la ecuación de la recta patrón:  $y = 0,2373x+0,0547$  ( $R^2=0,9565$ ). Los resultados se expresaron en mmol equivalentes de trolox/g de peso seco

### **3.6.2 MÉTODO 2,4, 6-TRIPIRIDIL-S-TRIAZINA (FRAP)**

El ensayo de FRAP se realizó de acuerdo con el método desarrollado por Martins et al., (2013). Brevemente, 10  $\mu$ L de cada extracto y 990  $\mu$ L de solución FRAP. Las muestras se agitaron y se dejaron durante 10 minutos en oscuridad a temperatura ambiente. Posteriormente se midió la absorbancia a 593 nm. Para conocer la concentración de cada muestra, se elaboró una recta patrón y se utilizó el Trolox de referencia, utilizando diferentes concentraciones (0,01-5,00 mmol/L), con la cual, se obtuvo la ecuación de la recta, donde:  $y = 0,4827x-0,048$  con  $R^2 = 0,9922$ . Los resultados se expresaron en mmol equivalentes de trolox/g de peso seco.

### **3.6.3 MÉTODO 2,2-DIFENIL-1-PICRILHIDRAZILLO (DPPH)**

El ensayo del radical DPPH se elaboró según el método descrito por Villaño et al., (2006). Brevemente, 10  $\mu$ L de cada extracto preparado previamente, se mezcló con 40  $\mu$ L de metanol y 990  $\mu$ L de solución DPPH. Las cubetas con las mezclas resultantes se agitaron y se almacenaron en oscuridad durante 30 minutos a temperatura ambiente. Pasado este tiempo, se midió la absorbancia a 515 nm. Se realizó una recta patrón con distintas concentraciones de Trolox (0,01-5,00 mmol/L) que nos permitió obtener la ecuación de la recta, siendo:  $y = 0,3124x+0,048$  y cuya  $R^2 = 0,9046$ . Los valores resultantes se expresaron en mmol equivalentes de trolox/g de peso seco.

### 3.7 DETERMINACIÓN DE LOS FENOLES TOTALES MÉTODO FOLIN-CIOCALTEU

La estimación de la cantidad total de compuestos fenólicos se realizó según el método Folin-Ciocalteu. Brevemente, 10  $\mu$ L de extracto, preparado previamente se mezcló con 2.5 mL de reactivo Folin (Folin-Ciocalteu Merk) (1:10 reactivo de folin: H<sub>2</sub>O ultrapura) y 490  $\mu$ L de tampón fosfato. La solución resultante se agitó y se dejó reposar durante 2 minutos. A continuación, se añadieron 2 mL de Na<sub>2</sub>CO<sub>2</sub> (1.875 g/25 mL), se agitaron los tubos y se colocaron en un baño a 50 °C durante 10 minutos. La absorbancia se leyó a 760 nm en un espectrofotómetro (UVIKON xs). El Pyrogallol se usó como compuesto de referencia para la obtención de la recta patrón: siendo:  $y = 7.2317x + 0.0437$  con  $R^2 = 0.9935$ . Los valores se expresaron como mg equivalentes de Pyrogallol por g de peso seco.

### 3.8 DETERMINACIÓN CLOROFILA TOTAL

Para la determinación de la clorofila total se usó el método se determinó usando el método colorímetro de Singh (1977) con ligeras modificaciones propuestas por Nath et al. (2011). 0.5g de cada harina se homogenizó con una disolución de acetona: agua ultrapura (80:20 v/v). A continuación se centrifugó en una centrífuga (CENTRIFUGE, B. Braun. Biotech mod. C30P) durante 5 minutos a 5000 rpm a 4 °C. Posteriormente, se tomó el sobrenadante y se traspasó a un matraz aforado de 100 mL usando lana de vidrio como filtro (Glass wool washed op. Panreac) (Figura 3.8). A continuación, el volumen se enrasó hasta 100 ml con la disolución de acetona: agua ultrapura (80:20 v/v). Por último, se realizaron lecturas espectrofotométricas de las diferentes muestras a 645 y 663 nm. El contenido de la clorofila total se determinó con la siguiente fórmula.

$$\text{Clorofila total (mg/g)} = \frac{20:2 * \text{OD a 645nm} + 8:02 * \text{OD a 663 nm} * V}{10 * W}$$

Donde, OD es la densidad óptica, V es el volumen del extracto (mL) y W es el peso de la muestra en (g) Los valores se expresaron como contenido mg de clorofila total /gramo de peso seco.

### 3.9 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados fueron expresados como la media  $\pm$  la desviación estándar. La comparación de medias se realizó mediante un análisis de varianza (ANOVA) usando el software SPSS v 21.0 (SPSS INC., Chicago-Illinois-USA) seguido por una prueba de rangos múltiples de Tukey para establecer diferencia significativa ( $p < 0.05$ ).



RESULTADOS Y  
DISCUSIÓN



## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1 CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

En la tabla 4.1 se pueden observar los resultados obtenidos para los diferentes métodos de capacidad antioxidante (ABTS, DPPH y FRAP), de las harinas de piel de chirimoya elaboradas dependiendo de su estado de madurez.

Al comparar los valores de capacidad antioxidante entre las muestras de harina elaboradas en diferentes días de almacenamiento (MDO, MD3 y MD6) y la muestra MIX, se observó que los métodos DPPH y ABTS no presentaron diferencias significativas entre sus valores de capacidad antioxidante. Sin embargo, para el método FRAP, se observó que las harinas elaboradas a día 0 (MDO), presentaron mayor valor de actividad antioxidante (85.42 mmol eq. de trolox/g de PS). Mientras que la capacidad antioxidante para este mismo método, en las harinas elaboradas al tercer día de almacenamiento (MD3) disminuyó significativamente ( $p < 0.05$ ), respecto a la muestra MDO. Sin embargo, se mantuvo estable respecto a las harinas elaboradas al sexto día de almacenamiento (MD6) y la muestra MIX. A lo largo de todo el almacenamiento el método FRAP presentó mayores valores de capacidad antioxidante, respecto a los valores de DPPH y ABTS.

Al comparar los resultados de capacidad antioxidante con otro estudio donde se elaboró harinas a partir de piel de mango, mediante diferentes métodos de secado (liofilización, cámara de aire de convección caliente a 60 °C durante 4 horas, secado a vacío a 60 °C durante 7 horas y secado con infrarrojos durante 2 horas) (Sogi, Siddiq, Greiby & Dolan, 2013), así como en otro estudio donde se elaboró harinas con piel de pequí, secadas a 50 °C durante 24 horas (Leão, Franca, Oliveira, Bastos & Coimbra, 2017), se observó que los valores de capacidad antioxidante para los tres métodos fueron menores en ambos estudios respecto a las harinas elaboradas a partir de piel de chirimoya en el presente estudio.

**Tabla 4.1 Actividad antioxidante de las harinas elaboradas a partir de piel de chirimoya en diferentes días de almacenamiento**

	<i>mmol de trolox/g de peso seco</i>			
	<b>MD0</b>	<b>MD3</b>	<b>MD6</b>	<b>MIX</b>
<i>DPPH</i>	15,6±1,47 <sup>a</sup>	15,02±1,50 <sup>a</sup>	17,71±0,63 <sup>a</sup>	15,79±0,51 <sup>a</sup>
<i>ABTS</i>	25,38±0,010 <sup>a</sup>	25,35±0,032 <sup>a</sup>	25,19±0,087 <sup>a</sup>	25,25±0,21 <sup>a</sup>
<i>FRAP</i>	85,42±10,42 <sup>b</sup>	56,51±3,64 <sup>a</sup>	54,88±16,36 <sup>a</sup>	55,42±3,26 <sup>a</sup>

Los valores son la media de 5 determinaciones  $\pm$  desviación estandar. Letras minúsculas indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre las diferentes muestras de harinas elaboradas a partir de piel de chirimoya en diferentes días de almacenamiento, día 0 (MD0), día 3 (MD3), día 6 (MD6) y mezcla de las diferentes harinas (MIX).

#### 4.2 POLIFENOLES TOTALES

La Tabla 4.2 muestra al contenido de polifenoles totales para las harinas de piel de chirimoya elaboradas en diferentes días de almacenamiento, expresados en mg de equivalentes pyrogalol/g de peso seco.

Al comparar las diferentes muestras de harina elaboradas durante diferentes días de almacenamiento, se observó, que las harinas elaboradas a día 0 (MD0) presentaron mayor contenido de polifenoles (59,2 mg/g). Sin embargo, el contenido de polifenoles disminuyó significativamente, respecto de las harinas elaboradas en los días 3 y 6 (MD3 y MD6, respectivamente). Al mismo tiempo, la muestra MIX, solamente presentó una

concentración menor de polifenoles (47,36 mg/g) respecto a la harina elaborada a día 0 (MD0).

Al comparar el contenido en polifenoles totales, con un estudio, donde se elaboró harina a partir de piel de melón (*Cucumis melo*, L.) sometidas a condiciones de tiempo y temperatura de secado similares a las del presente estudio (Mallek-Ayadi, Bahloul & Kechaou, 2017). Se observó que las harinas de piel de melón, presentaron menor contenido de polifenoles (3,32 mg/g), comparado con los valores obtenidos con las harinas de piel de chirimoya (59,52-37,53 mg/g). En otro estudio, donde se investigó el efecto de la temperatura (-20, 4 y 25 °C) y tiempo de almacenamiento (0, 2, 4 y 8 semanas), en harinas elaboradas a partir de piel de patata (Al-Weshahy, El-Nokety, Bakhete & Rao, 2013), también se observó una disminución en el contenido de polifenoles totales en todas las muestras de harina elaboradas con piel de patata, a partir de la segunda semana, manteniéndose estable hasta la cuarta semana en todas las muestras. Sin embargo, el mayor descenso en el contenido de polifenoles totales se observó a mayor temperatura (25 °C). Varios estudios relacionados con la maduración de diferentes frutos justifican esta disminución del contenido polifenólico como consecuencia de ciertas reacciones (enzimáticas u oxidativas), que son catalizadas por la acción de la enzima polifenoloxidasas (PPO) que produce la oxidación de estos compuestos polifenólicos al madurar el fruto, de este modo, conforme avanza la madurez del fruto, se produciría un aumento de la actividad enzimática de la polifenoloxidasas y al mismo tiempo, la disminución de los polifenoles totales. Esta disminución en el contenido de polifenoles, podría verse intensificada a medida que aumenta la temperatura de deshidratación a las que se someten las muestras (Ayaz, Demir, Torun, Kolcuoglu & Colak, 2008; Bashir & Abu-Goukh, 2003; Rinaldo, Mbéguié-A-Mbéguié & Fils-Lycaon, 2010).

**Tabla 4.2 Contenido de polifenoles totales en las harinas elaboradas a partir de piel de chirimoya en diferentes días de almacenamiento.**

	<i>mg pyrogallol/g de peso seco</i>			
	MDO	MD3	MD6	MIX
<i>Polifenoles totales</i>	59,52±1,33 <sup>c</sup>	57,18±3,68 <sup>bc</sup>	37,53±5,11 <sup>a</sup>	47,36±5,37 <sup>ab</sup>

Los valores son la media de 3 determinaciones  $\pm$  desviación estándar. Letras minúsculas indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre las diferentes muestras de harinas elaboradas a partir de piel de chirimoya en diferentes días de almacenamiento, día 0 (MDO), día 3 (MD3), día 6 (MD6) y mezcla de las diferentes harinas (MIX).

### 4.3 CLOROFILA

La Tabla 4.3 representa la evolución del contenido de clorofila total para las harinas de piel de chirimoya elaboradas en diferentes días de almacenamiento. Al comparar las distintas muestras de harina, se observó que el contenido en clorofila en las harinas elaboradas a día 0, presentaron mayor contenido de clorofila (10,09 mg/g). A partir del tercer día de almacenamiento (MD3), se observó una disminución de hasta un 80% en el contenido de clorofila (1,92 mg/g), respecto a las harinas elaboradas a día 0 (MDO). Sin embargo, los valores de clorofila obtenidos en las harinas elaboradas a día 3 (MD3), permanecieron sin cambios significativos ( $p < 0.05$ ) respecto a las harinas elaboradas al sexto día de almacenamiento (MD6) y la muestra de harina MIX (1,09 mg/g).

En un estudio previo, donde se determinó el efecto de la maduración sobre las propiedades físico-químicas y microbiológicas y los compuestos bioactivos en harinas elaboradas a partir de piel de kiwi, que fueron sometidas a un tratamiento de secado en estufa a 35 °C durante 72 horas. Se observó un descenso estadísticamente significativo en el contenido de clorofila en las harinas elaboradas con la piel del kiwi maduro, con respecto, a las harinas elaboradas con la piel del fruto al inicio de almacenamiento (12,13 a 2,0 mg/100 g, respectivamente) (Soquetta et al., 2016). Al igual que en el presente

estudio, también se observó una disminución en el contenido de clorofilas (10,09 a 1,01 mg/100g), en las harinas elaboradas con piel de chirimoya, conforme avanzaba el tiempo de almacenamiento. Por lo tanto, la degradación del contenido en clorofila durante el almacenamiento podría ser debido a la acción enzimática de la clorofilasa, que degrada la clorofila en fitol y clorofilina. Esta enzima podría activarse como consecuencia del estrés fisiológico, como la senescencia de los frutos y el estrés prolongado (Almela, Fernández-López & Roca, 2000).

**Tabla 4.3 Contenido en clorofilas totales en las harinas elaboradas a partir de piel de chirimoya en diferentes días de almacenamiento.**

	mg /g en peso seco			
	MDO	MD3	MD6	MIX
CLOROFILAS	10,9±1,13 <sup>b</sup>	1,92±1,16 <sup>a</sup>	1,01±0,27 <sup>a</sup>	1,09±0,711 <sup>a</sup>

Los valores son la media de 3 determinaciones ± desviación estándar. Letras minúsculas indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre las diferentes muestras de harinas elaboradas a partir de piel de chirimoya en diferentes días de almacenamiento, día 0 (MDO), día 3 (MD3), día 6 (MD6) y mezcla de las diferentes harinas (MIX).

#### 4.4 PARÁMETROS DE COLOR Ciel \*a\* b\*

La tabla 4.4 muestra los resultados obtenidos de los correspondientes parámetros de color ( $L^*$ ,  $a^*$  y  $b^*$ ) para las harinas elaboradas a partir de piel de chirimoya en diferentes días de almacenamiento. Los valores  $L^*$  representan la luminosidad, es decir, la variación entre 0 (negro) a 100 (blanco). Al comparar los resultados obtenidos se observó que las harinas elaboradas al día 0 (MDO), presentaron un mayor valor de  $L^*$  (70,37). En cambio, los valores de  $L^*$  disminuyeron en las harinas elaboradas a día 3 y 6 (MD3 y MD6, respectivamente). Por lo tanto, las harinas MD3 y MD6 fueron más oscuras que las harinas elaboradas a día 0 (MDO). La muestra MIX presentó una luminosidad (57,18) menor respecto a las harinas elaboradas a día 0 y 3 (MDO y MD3, respectivamente). Sin

embargo, la luminosidad de la harina MIX fue mayor, comparado con la luminosidad (54,24) de las harinas elaboradas al día 6 de almacenamiento (MD6).

Los valores de  $a^*$  representan la variación rojo-verde. Se observó que las harinas elaboradas a día 0 (MD0) presentaron un color más verde (-1,82) respecto a las harinas elaboradas al tercer y sexto día de almacenamiento (MD3 y MD6, respectivamente) y también con respecto a la muestra MIX. Sin embargo, las harinas elaboradas al tercer y sexto día de almacenamiento (MD3 y MD6, respectivamente) mostraron ser más marrones (3,34- 3,51) que las harinas MD0. Sin embargo, la harina MIX presentó un color menos marrón (2,86) que las muestras (MD3 y MD6).

Los valores de  $b^*$  representa la variación amarilla-azul. Según los resultados se observó que al día 0 de almacenamiento (MDO), las muestras presentaron una coloración amarilla (22,05). Sin embargo, conforme avanza el estado de madurez del fruto, se observó una disminución del color amarillo en las muestras de harina.

De acuerdo con Almela, Fernández-López & Roca (2000), durante el almacenamiento, los cambios de color en la maduración del fruto, se podrían producir como consecuencia de la degradación de la clorofila. Esta pérdida de clorofila, como en frutos *Annona*, se produciría un cambio de color verde brillante hacia verde-marrón, las cuales pueden degradarse a compuestos como feofitinas, feoforbidos y clorinas responsables de las coloraciones marrón-verdoso. Hay que tener en cuenta, que existen factores externos, tales como cambios de temperatura, aumento de los niveles de etileno, luz, oxígeno, u otros factores o combinaciones de las mismas, que son responsables de incrementar las reacciones de degradación de la clorofila. Esto explicaría que en el presente estudio, la degradación de clorofila (comentada anteriormente en el punto 4.3, Tabla 4.4) pueda contribuir a los cambios de color observados en las harinas en los días 3 y 6 (MD3 y MD6, respectivamente).

**Tabla 4.4 Evolución del color en las harinas elaboradas a partir de piel de chirimoya en diferentes días de almacenamiento.**

	MD0	MD3	MD6	MIX
<b>L</b>	70,37±0,74 <sup>d</sup>	60,42±0,59 <sup>c</sup>	54,24±0,38 <sup>a</sup>	57,18±0,52 <sup>b</sup>
<b>a*</b>	-1,82±0,08 <sup>a</sup>	3,34±0,17 <sup>c</sup>	3,51±0,14 <sup>c</sup>	2,86±0,21 <sup>b</sup>
<b>b*</b>	22,05±0,31 <sup>a</sup>	27,69±0,41 <sup>c</sup>	24,24±0,52 <sup>b</sup>	24,21±0,41 <sup>b</sup>

Los valores son la media de 5 determinaciones  $\pm$  desviación estándar. Letras minúsculas indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre las diferentes muestras de harinas elaboradas a partir de piel de chirimoya en diferentes días de almacenamiento, día 0 (MD0), día 3 (MD3), día 6 (MD6) y mezcla de las diferentes harinas (MIX).

#### 4.5 pH Y SÓLIDOS SOLUBLES

En la tabla 4.5 se puede observar los resultados obtenidos de pH de las harinas de piel de chirimoya elaboradas a diferentes días de almacenamiento. Al comparar entre las diferentes muestras de harinas, se observó que las harinas elaboradas al día 0 (MD0), presentaron el valor más alto de pH (5,63). Sin embargo, las harinas elaboradas a día 3 (MD3), se observó una disminución significativa de pH, que se mantuvo estable hasta el sexto día de almacenamiento (MD6). Sin embargo, la muestra MIX no presentó diferencias significativas respecto de la muestra MD6.

En un estudio, donde se estudió el efecto de maduración sobre el mesocarpio de la chirimoya (*annona cherimola*, Mill.), durante 6 días de almacenamiento a temperatura ambiente, se observó que el pH disminuyó a medida que aumentaban los días de almacenamiento. Esta disminución de pH se podría justificar, por el aumento de los ácidos orgánicos durante el almacenamiento de la chirimoya, principalmente ácido málico, y en menor concentración el ácido cítrico, lo que contribuye también al desarrollo del aroma y percepción del dulzor (Alique, Zamorano, Calvo, Merodio & De la plaza, 1994; Cordeiro, Sousa, Freitas & Gouveia, 2013).

El contenido de sólidos solubles de las diferentes harinas se muestra en la Tabla 4.5. Como se puede observar, a medida que aumentan los días de almacenamiento, los valores de °Brix se incrementaron, presentando el mayor contenido de sólidos solubles las harinas elaboradas al sexto día de almacenamiento (MD6) (4,74). La muestra MIX presentó un valor mayor con respecto a las harinas elaboradas al 0 día de almacenamiento (MD0) (3,81 vs 2,70, respectivamente), pero inferior respecto a las muestras MD3 y MD6. Estas variaciones en el contenido de sólidos solubles se producirían debido a que durante el almacenamiento se puede producir una rápida hidrólisis de almidón, con la consiguiente transformación en azúcares libres (Cordeiro, Sousa, Freitas & Gouveia, (2013). Los azúcares predominantes en la chirimoya, que incrementan su concentración conforme avanzan los días de almacenamiento, son la glucosa y fructosa (Alique, Zamorano, Calvo, Merodio & De la plaza, 1994).

**Tabla 4.5 pH y Brix en las harinas elaboradas a partir de piel de chirimoya en diferentes días de almacenamiento.**

	<i>MD0</i>	<i>MD3</i>	<i>MD6</i>	<i>Mix</i>
<i>pH</i>	5,63±0,01 <sup>c</sup>	4,73±0,18 <sup>a</sup>	4,89±0,01 <sup>ab</sup>	5,00±0,01 <sup>b</sup>
<i>°BRIX</i>	2,70±0,41 <sup>a</sup>	4,16±0,09 <sup>b</sup>	4,74±0,42 <sup>c</sup>	3,81±0,11 <sup>b</sup>

Los valores son la media de 5 determinaciones ± desviación estándar. Letras minúsculas indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre las diferentes muestras de harinas elaboradas a partir de piel de chirimoya en diferentes días de almacenamiento: día 0 (MD0), día 3 (MD3), día 6 (MD6) y mezcla de las diferentes harinas (MIX).

#### 4.6 ACTIVIDAD DE AGUA

La Tabla 4.6 muestra los resultados obtenidos de actividad de agua de las harinas de piel de chirimoya elaboradas en diferentes días de almacenamiento. Al comparar las diferentes muestras de harina, se puede observar que las muestras MD0, MD3 y MD6 no presentaron diferencias significativas entre ellas, al igual se observó para la muestra MIX. En un estudio realizado por Soquetta et al. (2016), donde elaboraron harina a partir de piel de

kiwi, secadas a 35 °C durante 72 horas, obtuvieron valores similares de actividad de agua a los del presente estudio, donde los valores en las harinas de kiwi, variaron entre 0,35 y 0,44 durante 7 días de almacenamiento. Valores de actividad de agua menor o igual a 0,6 aseguran estabilidad al producto elaborado al evitar el crecimiento de microorganismos patógenos (Muggeridge y Arcilla et al, 2001).

**Tabla 4.6 Aw en las harinas elaboradas a partir de piel de chirimoya en diferentes días de almacenamiento.**

	<i>MD0</i>	<i>MD3</i>	<i>MD6</i>	<i>Mix</i>
<i>aw</i>	0,24±0,013 <sup>a</sup>	0,27±0,043 <sup>a</sup>	0,30±0,046 <sup>a</sup>	0,26±0,001 <sup>a</sup>

Los valores son la media de 5 determinaciones ± desviación estándar. Letras minúsculas indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre las diferentes muestras de harinas elaboradas a partir de piel de chirimoya en diferentes días de almacenamiento: día 0 (*MDO*), día 3 (*MD3*), día 6 (*MD6*) y mezcla de las diferentes harinas (*MIX*).

#### 4.7 CAPACIDAD DE RETENCIÓN DE AGUA Y ACEITE

La Tabla 4.7 presenta los resultados obtenidos para la capacidad de retención de agua y aceite de las harinas de piel de chirimoya elaboradas en diferentes días de almacenamiento. Se pudo observar que para las muestras de las harinas elaboradas durante el almacenamiento, tras 0, 3 y 6 días (*MD0*, *MD3* y *MD6*, respectivamente) y la mezcla de las diferentes harinas (*MIX*), no presentaron diferencias significativas entre todas ellas en cuanto a la capacidad de retención de agua y aceite. En un estudio, donde se elaboró harina a partir de sub-productos de diversas frutas exóticas (piel de mango, cáscara y corazón de piña, y cáscara, pulpa y semillas de guayaba y fruta de la pasión), secados a 60 °C durante 12 horas (Martínez et al., 2012). Los valores de CRA de las harinas elaboradas a partir de piña y fruta de la pasión y guayaba, presentaron valores más altos de capacidad de retención de agua, en relación con el presente estudio (14,6 y 13,5 y 10,2 g/g). En cambio el mango mostró una capacidad de retención de agua menor (6,4 g/g). Los valores de capacidad de retención de aceite de las harinas elaboradas a partir de mango, fruta de la pasión, piña y guayaba, fueron menores que los del presente

estudio (1,6; 0,9; 0,7 y 0,7 g/g, respectivamente) (Martínez et al., 2012). Es importante determinar la capacidad de retención de agua, ya que se podría determinar los niveles óptimos de harina, para obtener una textura deseable para mejorar un producto alimentario o elaborar uno nuevo. Al mismo tiempo también es importante, determinar la capacidad de retención de aceite, para estabilizar los ingredientes utilizados en una formulación de un alimento o producto que presentan alto porcentaje de grasa, al igual, que para estabilizar las emulsiones. La capacidad de retención de aceite, mejora la capacidad de retención de grasa en los alimentos, como por ejemplo, en productos de carne, que normalmente la grasa se pierde durante la cocción (Al-Sayed & Ahmed, 2013).

**Tabla 4.7 Capacidad de retención de agua y capacidad de retención de aceite en las harinas elaboradas a partir de piel de chirimoya en diferentes días de almacenamiento.**

	<i>MD0</i>	<i>MD3</i>	<i>MD6</i>	<i>Mix</i>
<i>Capacidad de retención de agua</i>	8,70±0,42 <sup>a</sup>	9,00±0,00 <sup>a</sup>	8,60±0,57 <sup>a</sup>	9,00±0,00 <sup>a</sup>
<i>Capacidad de retención de aceite</i>	7,50±0,70 <sup>a</sup>	8,50±0,14 <sup>a</sup>	8,40±0,28 <sup>a</sup>	8,00±0,57 <sup>a</sup>

Los valores son la media de 5 determinaciones ± desviación estándar. Letras minúsculas indican diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre las diferentes muestras de harinas elaboradas a partir de piel de chirimoya en diferentes días de almacenamiento, día 0 (*MDO*), día 3 (*MD3*), día 6 (*MD6*) y mezcla de las diferentes harinas (*MIX*).

CONCLUSIONES



## 5. CONCLUSIONES

La elaboración de harinas a partir de piel de chirimoya (*Annona cherimola*, Mill.), supone otra fuente alternativa para la obtención de compuestos bioactivos y antioxidantes de origen vegetal, beneficiosos para la salud, al tiempo que ayuda a disminuir el problema medioambiental de los subproductos generados por la industria agroalimentaria. Las harinas de piel de chirimoya elaboradas al comienzo del ensayo, mostraron mayor contenido en polifenoles totales clorofila y mayores valores de capacidad antioxidante, respecto de las harinas elaboradas a partir de piel de chirimoyas en un estado de maduración más avanzado. La baja actividad de agua de las harinas es adecuada para garantizar una mayor estabilidad microbiológica durante su vida útil. Los valores de capacidad de retención de agua y aceite hacen que la harina de piel de chirimoya sea adecuada para su uso como ingrediente en la industria agroalimentaria. Estos resultados hacen interesante el desarrollo de formulaciones en las que se utilice la harina de piel de chirimoya como potencial ingrediente en el desarrollo de alimentos funcionales.



BIBLIOGRAFÍA



**BIBLIOGRAFÍA**

- Ajila, C., Aalami, M., Leelavathi, K., & Rao, U. (2010). Mango peel powder: A potential source of antioxidant and dietary fiber in macaroni preparations. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 11(1), 219-224.
- Akhtar, M., Ahamed, M., & Alhadlaq, H. (2017). Therapeutic targets in the selective killing of cancer cells by nanomaterials. *Clinica Chimica Acta*, 469, 53-62.
- Albuquerque, T., Santos, F., Sanches-Silva, A., Beatriz Oliveira, M., Bento, A., & Costa, H. (2016). Nutritional and phytochemical composition of *Annona cherimola* Mill. fruits and by-products: Potential health benefits. *Food Chemistry*, 193, 187-195.
- Alique, R., Zamorano, J., Calvo, M., Merodio, C., & De la plaza, J. (1994). Tolerance of chirimoya (*Annona cherimola* Mill.) to cold storage. *J. Amer. Soc. Hort. Sci*, 119(3), 524-528.
- Alissa, E., & Ferns, G. (2015). Dietary Fruits and Vegetables and Cardiovascular Diseases Risk. *Critical Reviews In Food Science And Nutrition*, 00-00.
- Almela, L., Fernández-López, J., & Roca, M. (2000). High-performance liquid chromatographic screening of chlorophyll derivatives produced during fruit storage. *Journal of Chromatography A*, 870(1-2), 483-489.
- Al-Sayed, H., & Ahmed, A. (2013). Utilization of watermelon rinds and sharlyn melon peels as a natural source of dietary fiber and antioxidants in cake. *Annals of Agricultural Sciences*, 58(1), 83-95.
- Al-Weshahy, A., El-Nokety, M., Bakhete, M., & Rao, V. (2013). Effect of storage on antioxidant activity of freeze-dried potato peels. *Food Research International*, 50(2), 507-512.
- Andrés-Agustín, J., Barrientos-Priego, A., Martínez-Damián, M., González Andrés, F., Segura-Ledesma, D., Cruz Castillo, J., & Gallegos-Vázquez, C. (2004). Variación morfológica de la hoja del chirimoyo. *Chapingo Serie Horticultura*, 10(2), 103-110.

- Ayaz, F., Demir, O., Torun, H., Kolcuoglu, Y., & Colak, A. (2008). Characterization of polyphenoloxidase (PPO) and total phenolic contents in medlar (*Mespilus germanica* L.) fruit during ripening and over ripening. *Food Chemistry*, 106(1), 291-298.
- Barreca, D., Laganà, G., Ficarra, S., Tellone, E., Leuzzi, U., Galtieri, A., & Bellocco, E. (2011). Evaluation of the antioxidant and cytoprotective properties of the exotic fruit *Annona cherimola* Mill. (Annonaceae). *Food Research International*, 44(7), 2302-2310.
- Bashir, H., & Abu-Goukh, A. (2003). Compositional changes during guava fruit ripening. *Food Chemistry*, 80(4), 557-563.
- Bigliardi, B., & Galati, F. (2013). Innovation trends in the food industry: The case of functional foods. *Trends In Food Science & Technology*, 31(2), 118-129.
- Caballero Pérez, J. (2007). Evaluación del crecimiento, desarrollo y patrón de maduración de cinco genotipos de chirimoya (*Annona Chrerimola* Mill.) con potencial comercial (Doctorado). Instituto de Enseñanza e investigación en ciencias agrícolas. Campus Montecillo.
- Carocho, M., & Ferreira, I. (2013). A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology*, 51, 15-25.
- Cautín, R., & Agustí, M. (2005). Phenological growth stages of the cherimoya tree (*Annona cherimola* Mill.). *Scientia Horticulturae*, 105(4), 491-497.
- Chang, C., Lin, H., Chang, C., & Liu, Y. (2006). Comparisons on the antioxidant properties of fresh, freeze-dried and hot-air-dried tomatoes. *Journal of Food Engineering*, 77(3), 478-485.
- Chantaro, P., Devahastin, S., & Chiewchan, N. (2008). Production of antioxidant high dietary fiber powder from carrot peels. *LWT - Food Science and Technology*, 41(10), 1987-1994.

- Coelho, E., Gomes, R., Machado, B., Oliveira, R., Lima, M., de Azêvedo, L., & Guez, M. (2017). Passion fruit peel flour – Technological properties and application in food products. *Food Hydrocolloids*, 62, 158-164.
- Cordeiro, N., Sousa, L., Freitas, N., & Gouveia, M. (2013). Changes in the mesocarp of *Annona cherimola* Mill. 'Madeira' during postharvest ripening. *Postharvest Biology and Technology*, 85, 179-184.
- Delgado, T., Pereira, J., Baptista, P., Casal, S., & Ramalhosa, E. (2014). Shell's influence on drying kinetics, color and volumetric shrinkage of *Castanea sativa* Mill. fruits. *Food Research International*, 55, 426-435.
- Dewanto, V., Wu, X., Adom, K., & Liu, R. (2002). Thermal Processing Enhances the Nutritional Value of Tomatoes by Increasing Total Antioxidant Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(10), 3010-3014.
- Dias, M., Sousa, M., Alves, R., & Ferreira, I. (2016). Exploring plant tissue culture to improve the production of phenolic compounds: A review. *Industrial Crops and Products*, 82, 9-22.
- Dorta, E., Lobo, M., & González, M. (2012). Using drying treatments to stabilise mango peel and seed: Effect on antioxidant activity. *LWT - Food Science and Technology*, 45(2), 261-268.
- Everette, J., Bryant, Q., Green, A., Abbey, Y., Wangila, G., & Walker, R. (2010). Thorough Study of Reactivity of Various Compound Classes toward the Folin–Ciocalteu Reagent. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(14), 8139-8144.
- Galaz, P., Valdenegro, M., Ramírez, C., Nuñez, H., Almonacid, S., & Simpson, R. (2017). Effect of drum drying temperature on drying kinetic and polyphenol contents in pomegranate peel. *Journal of Food Engineering*, 208, 19-27.
- García-Salas, P., Verardo, V., Gori, A., Caboni, M., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2016). Determination of lipid composition of the two principal cherimoya cultivars grown in Andalusian Region. *LWT - Food Science and Technology*, 65, 390-397.

- González Vega, M. (2013). Chirimoya (*Annona cherimola Miller*), frutal tropical y subtropical de valores promisorios. *Cultivos Tropicales*, Instituto Nacional De Ciencias Agrícolas, 34(3), 52-63.
- Guedes, A., Amaro, H., Gião, M., & Malcata, F. (2013). Optimization of ABTS radical cation assay specifically for determination of antioxidant capacity of intracellular extracts of microalgae and cyanobacteria. *Food Chemistry*, 138(1), 638-643.
- Gullon, B., Pintado, M., Fernández-López, J., Pérez-Álvarez, J., & Viuda-Martos, M. (2015). In vitro gastrointestinal digestion of pomegranate peel (*Punica granatum*) flour obtained from co-products: Changes in the antioxidant potential and bioactive compounds stability. *Journal of Functional Foods*, 19, 617-628.
- Gupta-Elera, G., Garrett, A., Martinez, A., Robison, R., & O'Neill, K. (2011). The antioxidant properties of the cherimoya (*Annona cherimola Mill.*) fruit. *Food Research International*, 44(7), 2205-2209.
- Gutiérrez, L., García, J., Rincón, M., Ceballos, G., & Olivares, I. (2015). Efecto de una dieta hipocalórica en el estrés oxidativo en sujetos obesos sin prescripción de ejercicio y antioxidantes. *Medicina Clínica*, 145(1), 1-6.
- Helmja, K., Vaher, M., Püssa, T., Kamsol, K., Orav, A., & Kaljurand, M. (2007). Bioactive components of the hop strobilus: Comparison of different extraction methods by capillary electrophoretic and chromatographic methods. *Journal ff Chromatography A*, 1155(2), 222-229.
- Hidayat, M., Fitri, A., & Kuswandi, B. (2017). Scanometry as microplate reader for high throughput method based on DPPH dry reagent for antioxidant assay. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 7(3), 395-400.
- Hurtado-Fernández, E., Gómez-Romero, M., Carrasco-Pancorbo, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2010). Application and potential of capillary electroseparation methods to determine antioxidant phenolic compounds from plant food material. *Journal ff Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 53(5), 1130-1160.

- Jawad, A., Alkarkhi, A., Jason, O., Easa, A., & Nik Norulaini, N. (2013). Production of the lactic acid from mango peel waste – Factorial experiment. *Journal of King Saud University - Science*, 25(1), 39-45.
- Jones, A., Pravadali-Cekic, S., Dennis, G., Bashir, R., Mahon, P., & Shalliker, R. (2017). Ferric reducing antioxidant potential (FRAP) of antioxidants using reaction flow chromatography. *Analytica Chimica Acta*, 967, 93-101.
- Klaunig, J. E., & Kamendulis, L. M. (2004). The role of oxidative stress in carcinogenesis. *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 44, 239-267
- Kundu, A., Jawali, N., & Mitra, A. (2012). Shikimate pathway modulates the elicitor-stimulated accumulation of fragrant 2-hydroxy-4-methoxybenzaldehyde in *Hemidesmus indicus* roots. *Plant Physiology and Biochemistry*, 56, 104-108.
- Larrauri, J., Rupérez, P., Borroto, B., & Saura-Calixto, F. (1996). Mango Peels as a New Tropical Fibre: Preparation and Characterization. *LWT - Food Science and Technology*, 29(8), 729-733.
- Leão, D., Franca, A., Oliveira, L., Bastos, R., & Coimbra, M. (2017). Physicochemical characterization, antioxidant capacity, total phenolic and proanthocyanidin content of flours prepared from pequi (*Caryocar brasiliense* Camb.) fruit by-products. *Food Chemistry*, 225, 146-153.
- Loizzo, M., Tundis, R., Bonesi, M., Menichini, F., Mastellone, V., Avallone, L., & Menichini, F. (2012). Radical scavenging, antioxidant and metal chelating activities of *Annona cherimola* Mill. (cherimoya) peel and pulp in relation to their total phenolic and total flavonoid contents. *Journal of Food Composition and Analysis*, 25(2), 179-184.
- Mallek-Ayadi, S., Bahloul, N., & Kechaou, N. (2017). Characterization, phenolic compounds and functional properties of *Cucumis melo* L. peels. *Food Chemistry*, 221, 1691-1697.
- Manríquez, D., Muñoz-Robredo, P., Gudenschwager, O., Robledo, P., & Defilippi, B. (2014). Development of flavor-related metabolites in cherimoya (*Annona cherimola* Mill.) fruit and their relationship with ripening physiology. *Postharvest Biology And Technology*, 94, 58-65.

- MAPAMA Ministerio de Agricultura y Pesca, Alimentación y Medio Ambiente. Estadísticas Agrarias. Consultada el 25/5/2017 en [www.mapama.gob.es](http://www.mapama.gob.es)
- Martínez, R., Torres, P., Meneses, M., Figueroa, J., Pérez-Álvarez, J., & Viuda-Martos, M. (2012). Chemical, technological and in vitro antioxidant properties of mango, guava, pineapple and passion fruit dietary fibre concentrate. *Food Chemistry*, 135(3), 1520-1526.
- Martins, A., Bukman, L., Vargas, A., Barizão, É., Moraes, J., Visentainer, J., & Almeida, V. (2013). The antioxidant activity of teas measured by the FRAP method adapted to the FIA system: Optimising the conditions using the response surface methodology. *Food Chemistry*, 138(1), 574-580.
- Martins, N., & Ferreira, I. (2017). Wastes and by-products: Upcoming sources of carotenoids for biotechnological purposes and health-related applications. *Trends in Food Science & Technology*, 62, 33-48.
- Menrad, K. (2004). Innovations in the food industry in Germany. *Research Policy*, 33(6-7), 845-878.
- Naczk, M., & Shahidi, F. (2004). Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography A*, 1054(1-2), 95-111.
- Nath A., Bagchi B., Misra, L.K., Deka, B.C. (2011). Changes in post-harvest phytochemical qualities of broccoli florets during ambient and refrigerated storage. *Food Chemistry*, 127, 1510-1514
- Nicoli, M., Anese, M., & Parpinel, M. (1999). Influence of processing on the antioxidant properties of fruit and vegetables. *Trends in Food Science & Technology*, 10(3), 94-100.
- Pareek, S., Yahia, E., Pareek, O., & Kaushik, R. (2011). Postharvest physiology and technology of *Annona* fruits. *Food Research International*, 44(7), 1741-1751.
- Pinto, A. D. Q., Cordeiro, M. C. R., De Andrade, S. R. M., Ferreira, F. R., Filgueiras, H. D. C., Alves, R. E., ... & Haq, N. (2005). *Annona species*. International Centre for Underutilised Crops; University of Southampton.

- Prior, R., Wu, X., & Schaich, K. (2005). Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290-4302.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
- Rinaldo, D., Mbégué-A-Mbégué, D., & Fils-Lycaon, B. (2010). Advances on polyphenols and their metabolism in sub-tropical and tropical fruits. *Trends in Food Science & Technology*, 21(12), 599-606.
- Rossell García, P., Galán Saúco, V., & Hernández Delgado, P. (1997). Cultivo del chirimoyo en canarias (pp. 1-2). Santa Cruz de Tenerife: Secretaria General Técnica, ICIA.
- Sanchez-Moreno, C. (2002). Review: Methods Used to Evaluate the Free Radical Scavenging Activity in Foods and Biological Systems. *Food Science and Technology International*, 8(3), 121-137.
- Santos, S., Vilela, C., Camacho, J., Cordeiro, N., Gouveia, M., Freire, C., & Silvestre, A. (2016). Profiling of lipophilic and phenolic phytochemicals of four cultivars from cherimoya (*Annona cherimola* Mill.). *Food Chemistry*, 211, 845-852.
- Silva, L., Figueiredo, E., Ricardo, N., Vieira, I., Figueiredo, R., Brasil, I., & Gomes, C. (2014). Quantification of bioactive compounds in pulps and by-products of tropical fruits from Brazil. *Food Chemistry*, 143, 398-404.
- Singh, U. R. (1977). Growth and maturity indices of banana. *Indian Journal of Horticulture*, 34, 19-25.
- Sogi, D., Siddiq, M., Greiby, I., & Dolan, K. (2013). Total phenolics, antioxidant activity, and functional properties of 'Tommy Atkins' mango peel and kernel as affected by drying methods. *Food Chemistry*, 141(3), 2649-2655.
- Soquetta, M., Stefanello, F., Huerta, K., Monteiro, S., da Rosa, C., & Terra, N. (2016). Characterization of physiochemical and microbiological properties, and bioactive

compounds, of flour made from the skin and bagasse of kiwi fruit (*Actinidia deliciosa*). *Food Chemistry*, 199, 471-478.

Van Zonneveld, M., Scheldeman, X., Escribano, P., Viruel, M., Van Damme, P., & Garcia, W. et al. (2012). Mapping Genetic Diversity of Cherimoya (*Annona cherimola* Mill.): Application of Spatial Analysis for Conservation and Use of Plant Genetic Resources. *Plos ONE*, 7(1), e29845.

Vega-Gálvez, A., Di Scala, K., Rodríguez, K., Lemus-Mondaca, R., Miranda, M., López, J., & Perez-Won, M. (2009). Effect of air-drying temperature on physico-chemical properties, antioxidant capacity, colour and total phenolic content of red pepper (*Capsicum annum*, L. var. Hungarian). *Food Chemistry*, 117(4), 647-653.

Villaño, D., Fernández-Pachón, M., Moyá, M., Troncoso, A., & García-Parrilla, M. (2007). Radical scavenging ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical. *Talanta*, 71(1), 230-235.

Wojdyło, A., Figiel, A., Legua, P., Lech, K., Carbonell-Barrachina, Á., & Hernández, F. (2016). Chemical composition, antioxidant capacity, and sensory quality of dried jujube fruits as affected by cultivar and drying method. *Food Chemistry*, 207, 170-179.

Wollinger, A., Perrin, É., Chahboun, J., Jeannot, V., Touraud, D., & Kunz, W. (2016). Antioxidant activity of hydro distillation water residues from *Rosmarinus officinalis* L. leaves determined by DPPH assays. *Comptes Rendus Chimie*, 19(6), 754-765.