

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



Presentado Por:

Br. PORFIRIO ANCCO ROJAS

Caracterización de los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en los frutos silvestres de *Citharexylum dentatum* D. Don (Yanali) y *Hesperomeles escalloniifolia* Schlttdl (Capachu).

Asesor:

Ing. Mg. ROSA HUARACA APARCO

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

ANDAHUAYLAS – APURIMAC – PERÚ

2019

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



Caracterización de los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en los frutos silvestres de *Citharexylum dentatum* D. Don (Yanali) y *Hesperomeles escalloniifolia* Schldl (Capachu).

TESIS PARA OPTAR TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AGROINDUSTRIAL

Presentado Por:

Br. PORFIRIO ANCCO ROJAS

Asesor:

Ing. Mg. ROSA HUARACA APARCO

ANDAHUAYLAS – APURIMAC – PERÚ

2019



APROBACION DEL ASESOR

Quién suscribe:

Ing. Mg. Rosa Huaraca Aparco por la presente:

CERTIFICA

Que, el Bachiller en Ingeniería Agroindustrial, **PORFIRIO ANCCO ROJAS** ha culminado satisfactoriamente el informe Final de Tesis intitulado: "**Caracterización de los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en los frutos silvestres de *Citharexylum dentatum* D. Don (Yanali) y *Hesperomeles escalloniifolia* Schldl (Capachu)**" para optar el Título Profesional de Ingeniero Agroindustrial.

Andahuaylas, 08 de julio del 2019

Ing. Mg. Rosa Huaraca Aparco
Asesora

Br. Porfirio Ancco Rojas
Tesista



FACULTAD DE INGENIERIA

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 8:30 horas del día 14 de junio del año 2019, se reunieron los docentes: MSc. Fidela Tapia Tadeo, Ing. Fredy Taipe Pardo, Mg. Celia Rocio Yauris Silvera, en condición de integrantes del Jurado Evaluador del Informe Final de Tesis intitulado: "CARACTERÍSTICAS DE LOS COMPUESTOS BIOACTIVOS Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN LOS FRUTOS SILVESTRES DE *CITHAREXYLUM DENTATUM D. DON* (YANALI) Y *HESPEROMELES ESCALLONIIFOLIA SCHLTDL* (CAPACHU)", cuyo autor es el Bachiller en Ingeniería Agroindustrial **PORFIRIO ANCCO ROJAS**, la asesora Mg. Rosa Huaraca Aparco 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** al Bachiller en Ingeniería Agroindustrial **PORFIRIO ANCCO ROJAS**, obteniendo la siguiente calificación y mención:

Nota escala vigesimal		Mención
Números	Letras	
13	TRECE	REGULAR

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

MSc. Fidela Tapia Tadeo
Presidente del Jurado Evaluador

Ing. Fredy Taipe Pardo
Primer Miembro del Jurado Evaluador

Mg. Celia Rocio Yauris Silvera
Segundo Miembro del Jurado Evaluador



APROBACIÓN DEL JURADO DICTAMINADOR

LA TESIS: **Caracterización de los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en los frutos silvestres de *Citharexylum dentatum* D. Don (Yanali) y *Hesperomeles escalloniifolia* Schltidl (Capachu);** para optar el Título Profesional de Ingeniero Agroindustrial, ha sido evaluada por el Jurado Dictaminador conformado por:

Presidente : MSc. Fidelia Tapia Tadeo

Primer Miembro : Ing. Fredy Taipe Pardo

Segundo Miembro : Ing. Mg. Celia Rocio Yauris Silvera

Habiendo sido aprobado por UNANIMIDAD, en la ciudad de Andahuaylas el día 14 del mes de junio del 2019.

Andahuaylas, 08 de julio del 2019

MSc. Fidelia Tapia Tadeo
PRESIDENTE JURADO DICTAMINADOR

Ing. Fredy Taipe Pardo
PRIMER MIEMBRO JURADO DICTAMINADOR

Ing. Mg. Celia Rocio Yauris Silvera
SEGUNDO MIEMBRO JURADO DICTAMINADOR



DECLARACIÓN JURADA DE AUTENTICIDAD

Yo, **Porfirio Ancco Rojas**, identificado con DNI N° 71131471 de la **Escuela Profesional** de Ingeniería Agroindustrial, **Declaro bajo juramento** que el Tesis Titulado: **Caracterización de los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en los frutos silvestres de *Citharexylum dentatum* D. Don (Yanali) y *Hesperomeles escalloniifolia* Schlttdl (Capachu).**

Es auténtico y no vulnera los derechos de autor, Además, su contenido es de entera responsabilidad del autor de tesis, quedando la UNAJMA exenta de toda responsabilidad en caso de atentar contra la ley de propiedad intelectual y derechos de autor.

Andahuaylas, 08 de julio del 2019

Porfirio Ancco Rojas

N° DNI: 71131471

E-mael: anccoporfirio@gmail.com

N° Celular: 913114162

Dedicatoria

A Dios todo poderoso, por estar siempre en cada momento de mi vida, en cada paso que doy, fortalecer y llenar de amor a mi corazón.

A mis queridos padres Fortunato Ancco Poma y Teodora Rojas Leguía por su apoyo incondicional a lo largo de mi vida; por su eterna amabilidad, afecto y comprensión que siempre puso en mí.

A mis hermanos por incentivar me a seguir adelante y a todas las personas que con amor me brindaron su apoyo.

Porfirio

Agradecimiento

En primer lugar, agradezco a Dios por concederme la vida y el camino para alcanzar esta meta.

A mi familia especialmente a mis padres por su amor, comprensión y por darme fuerza para seguir adelante con mi carrera universitaria en todo momento; asimismo a mis hermanos por su apoyo y consejo.

A la Universidad Nacional José María Arguedas y a mi Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial (EPIA) y por su intermedio a la Facultad de Ingeniería, por brindarme los conocimientos para mi formación profesional y personal.

A la Ing. Mg. Rosa Huaraca Aparco, profesora asesora de la presente tesis, quien brindó su apoyo incondicional para su ejecución.

A todos mis compañeros y especialmente amigos que estuvieron ahí siempre, en los diferentes logros y dificultades presentadas en el transcurso estudiantil.

A los miembros del jurado evaluador; la Ing. MSc. Fidelia Tapia Tadeo, el Ing. Fredy Taipe Pardo y la Ing. Mg. Celia Rocio Yauris Silvera por formar parte de esta investigación, por su paciencia y el soporte cognitivo aportado.

Índice

Dedicatoria.....	vii
Dedicatoria.....	vii
Agradecimiento	viii
Índice	ix
Índice de Tablas.....	xii
Índice de Figuras.....	xiii
Resumen.....	xvii
Abstrac.....	xviii
Chumasqa.....	xix
CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN	1
1.1. Antecedentes de la investigación.....	2
1.2. Justificación de la Investigación	7
1.3. Problema de la investigación	8
1.4. Hipótesis de la investigación.....	8
1.5. Variables de la investigación.....	9
1.6. Objetivos de la investigación.....	9
CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO.....	10
2.1. Capachu (<i>Hesperomeles escalloniifolia</i> Schltd).....	10
2.2. Yanali (<i>Citharexylum dentatum</i> D. Don).....	11
2.3. Compuestos bioactivos	11
2.3.1. Compuestos bioactivos en los alimentos	12
2.3.2. Compuestos bioactivos en derivados.....	13
2.4. Compuestos fenólicos.....	13
2.4.1. Clasificación de Compuestos Fenólicos.....	15
2.4.2. Importancia de los compuestos fenólicos	17

2.4.3.	Propiedades antioxidante fenólicos en alimentos	18
2.4.4.	Método de cuantificación de compuestos polifenólicos	18
2.5.	Compuesto antocianicos.....	19
2.5.1.	Estructura química de las antocianinas.....	20
2.5.2.	La antocianina y su importancia.....	21
2.5.3.	Distribución en la naturaleza.....	21
2.5.4.	Beneficios en la salud	22
2.5.5.	Extracción y purificación de la antocianina	22
2.5.6.	Estabilidad de antocianinas	25
2.5.7.	Antocianinas en frutas.....	28
2.6.	Capacidad antioxidante.....	29
2.6.1.	Mecanismos de acción antioxidante	29
2.6.2.	Clasificación de los antioxidantes	31
2.6.3.	Sistemas de defensa antioxidantes	33
2.6.4.	Reacción de DPPH frente a compuestos fenólicos.....	34
2.6.5.	Estrés oxidativo.....	34
2.6.5.1.	Estructura química del oxígeno.....	35
2.6.6.	Radicales libres.....	36
2.6.6.1.	Clasificación de los radicales libres del oxígeno	38
2.6.6.2.	Producción de radicales libres de oxígeno.....	38
2.6.6.3.	Daño molecular inducido por radicales libres.....	38
CAPÍTULO 3: MATERIALES Y MÉTODOS		39
3.1.	Lugar de ejecución.....	39
3.2.	Población y muestra.....	39
3.2.1.	Población	39
3.2.2.	Muestra	39

3.2.3.	Muestreo	39
3.2.4.	Unidad de análisis.....	39
3.2.5.	Operacionalización de variables	40
3.3.	Materiales e instrumentos y equipos.....	41
3.4.	Tipo de investigación	43
3.4.1.	De acuerdo al fin que persigue	43
3.4.2.	De acuerdo a la técnica de contrastación	43
3.5.	Métodos de análisis preliminares.....	44
3.5.1.	Materia Prima.....	44
3.5.2.	Clasificación de los frutos silvestres	44
3.6.	Metodología experimental.....	44
3.6.1.	Determinación de compuestos antocianicos.....	46
3.6.2.	Determinación de compuestos fenólicos.....	48
3.6.3.	Determinación de la capacidad antioxidante.....	50
CAPÍTULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....		54
4.1.	Compuestos antociánicos	54
4.2.	Compuestos fenólicos.....	56
4.3.	Capacidad antioxidante.....	58
CONCLUSIONES		61
RECOMENDACIONES		62
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....		63
ANEXOS		73

Índice de Tablas

Tabla 1. Variables de la investigación.....	9
Tabla 2. Contenido de fenólicos totales de algunos alimentos	15
Tabla 3. Variaciones estructurales del anillo B producen las seis antocianidinas.	21
Tabla 4. Distribución de las principales antocianicos en vegetales.....	22
Tabla 5. Métodos de extracción de antocianinas	24
Tabla 6. Contenido de antocianinas de algunos productos alimenticios	28
Tabla 7. Mecanismo de actuación de los antioxidantes primarios	30
Tabla 8. Clasificación de los antioxidantes	32
Tabla 9. Clasificación de antioxidantes de acuerdo a su solubilidad.....	32
Tabla 10. Antioxidantes enzimáticos.....	33
Tabla 11. Forma molecular	35
Tabla 12. Radicales libres más frecuentemente producidos por los sistemas biológicos	37
Tabla 13. Operacionalización de variables	40
Tabla 14. Equipos	41
Tabla 15. Materiales.....	42
Tabla 16. Reactivos e insumos	43
Tabla 17. Datos para la curva de calibración	49
Tabla 18. Datos para la elaboración de la curva estándar de solución Trolox ..	51
Tabla 21. Resultados del contenido de antocianinas totales de los frutos silvestres	54
Tabla 22. Resultados del contenido de fenólicos totales de los frutos silvestres	56
Tabla 23. Resultados del contenido de capacidad antioxidante de los frutos silvestres	58

Índice de Figuras

Figura 1. Estructura del fenol	14
Figura 2. Clasificación según su anillo y estructura de fenoles	16
Figura 3. Reacción del ácido gálico con molibdeno y folin-ciocalteu.....	19
Figura 4. Estructura básica de las antocianinas.....	20
Figura 5. Reacción estructural de malvidina-3-glicosido en el intervalo de pH 1 a 7.....	26
Figura 6. Reacción de DPPH frente a compuestos fenólicos.....	34
Figura 7. Estructura del DPPH antes y después de la reacción con el antioxidante	37
Figura 8. Diagrama de flujo para la extracción de antocianinas.....	45
Figura 9. Metodología experimental.....	53
Figura 10. Antociánicos totales de los frutos silvestres	54
Figura 11. Fenólicos totales de los frutos silvestres.....	57
Figura 12. Capacidad antioxidante de los frutos silvestres	59

Índice de Anexos

Anexo 1. Gráfica de curva estándar de calibración de ácido gálico.....	73
Anexo 2. Gráfica de curva estándar de calibración de Trolox.....	73
Anexo 3. Resultados de Antocianinas totales por cinco repeticiones	74
Anexo 4. Resultados de compuestos fenólicos totales por cinco repeticiones .	75
Anexo 5. Resultados de la capacidad antioxidante por cinco repeticiones	76
Anexo 6. Identificación y clasificación taxonómicas de los especímenes vegetales de Capachu y Yanali.....	77
Anexo 7. Imagen de los frutos silvestres de Yanali y Capachu.....	82
Anexo 8. Imágenes de extracción de pigmentos y determinación de antocianina en el laboratorio de UNSAAC.....	83
Anexo 9. Imágenes de análisis de procedimiento en laboratorio para Compuestos fenólicos.....	85
Anexo 10. Imágenes de análisis de procedimiento en laboratorio para capacidad antioxidante.....	86
Anexo 11. Constancia de traducción de español a quechua (Chumasqa)	87
Anexo 12. Matriz de consistencia.....	88

Abreviaturas, Símbolos y Unidades

A •	: Radical estable
Ac.	: Acido
Abs	: Absorbancia de la muestra
Am	: Antocianina monoméricas
AGE	: Ácido gálico equivalente
AH	: Antioxidante
ABTS	: Radical ácido 2,2'- Azinobis (3- etilbenzotiazolín -6- sulfónico)
Bx	: Ecuación simplificada de la curva de calibración de Trolox.
C.F.T.	: Compuestos fenólicos Totales
Cya	: cianidina
cm	: Centímetros
D	: Diámetro
DCA	: Diseño completamente al azar
DPPH	: Radical libre 1,1- difenil-2- picrilhidrazilo
DF	: Factor de dilución
EQ	: Equivalente
F.V	: Fuente de variabilidad
FRAP	: Ferric ion Reducing Antioxidant Power (Poder antioxidante de reducción férrica).
g	: Gramos
H	: Altura
I.M.	: Índice de maduréz
L •	: Radical libre
LO •	: Radical alcoxi
LOO •	: Radical peroxilo
L	: Litros
MW	: Peso molecular de la Cianidina-3-glucosido (449.6 g/mol)
m	: Metros
ml	: Mililitros
m.s.n.m	: Metros sobre el nivel del mar

meq	: mili equivalente del ácido predominante
mg	: miligramo
N	: Normalidad
Nm	: Nanómetros
ORAC	: Oxygen Radical Absorbance Capacity (capacidad de absorción de radicales libres de oxígeno)
pH	: Potencial de hidrogeniones.
P	: Peso de la muestra en gramos
R	: Repeticiones
S	: Desviación estándar
T	: Tratamientos
TEAC	: Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (Capacidad Antioxidante como equivalente Trolox)
Mg	: Micro gramo
Uv	: Ultravioleta visible
V	: Volumen en ml
\bar{X}	: Promedio
Y	: miligramos (mg) de ácido gálico equivalente / ml
ϵ	: Coeficiente de extinción molar de cianidina 3 – glucósido
MAE	: Método aleatorizado estratificado
CI50	: Coeficiente de inhibición al 50%

Resumen

Hoy en día existe una demanda de los consumidores por productos industrializados con ciertas características de los compuestos bioactivos procedentes de fuentes comestibles vegetales y al mismo tiempo hay un interés por los antioxidantes que juegan un papel importante en la prevención de la salud. Es por ello que la presente investigación tuvo como objetivo determinar los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en los frutos silvestres *Citharexylum dentatum* D. Don (Yanali) y *Hesperomeles escalloniifolia* Schltidl (Capachu). Para lo cual se recolectó 200g de muestras de frutos frescos maduros del bosque Ccalhua. Por otra parte la extracción de pigmentos se realizó a través del método sólido líquido con ácido fórmico al 1% y etanol 70%. Además se determinó el contenido de antocianinas totales por método de pH diferenciales, compuestos fenólicos totales por espectrofotometría utilizando el indicador Folin-Ciocalteu y en cuanto a la capacidad antioxidante a través de la metodología de la decoloración del radical DPPH y como estándar la curva de calibración Trolox. Asimismo con los análisis realizados se obtuvo los siguientes resultados: el contenido de compuesto antocianicos totales fue 215.26 (mg cianidina-3-glucosido/100 g fruto fresco) para Yanali y 207.98 (mg cianidina-3-glucosido/100 g fruto fresco) para Capachu, los compuestos fenólicos totales fueron 3.45 (EQ - Ac. gálico g/ 100 g de fruto fresco) en Yanali y 2.25 (EQ - Ac. gálico gr/ 100 g de fruto fresco) en Capachu y para la capacidad antioxidante fue 80.219 (Trolox CI50 mg/g muestra del fruto fresco) de Yanali y 143.602 (Trolox CI50 mg/g muestra del fruto fresco) de Capachu. En virtud de los resultados de los frutos silvestres de Capachu y Yanali, se caracterizó el contenido de compuestos antocianicos totales, compuesto fenólicos totales y la capacidad antioxidante, las cuales demuestran que es importantes por el contenido de antioxidantes.

Palabras clave: Antocianinas, fenoles, capacidad antioxidante y frutos silvestres.

Abstrac

Today there is a consumer demand for industrial products with certain characteristics of bioactive compounds from edible vegetable sources while there is an interest antioxidants play an important role in preventing health. That is why this research was to determine the bioactive compounds and antioxidant capacity of wild fruits *Citharexylum dentatum* D. Don (yanali) and *Hesperomeles escalloniifolia* Schltidl (Capachu). For which I was collected samples 200g fresh ripe fruits of the forest Ccalhua. Moreover the pigment extraction was performed through the solid-liquid method with formic acid 1% and 70% ethanol. Furthermore the total anthocyanins was determined by differential pH method, Total phenolics spectrophotometrically using the Folin-Ciocalteu indicator and as to the antioxidant capacity through methodology bleaching DPPH radical and standard Trolox calibration curve. Also the analyzes made the following results were obtained: the content of total anthocyanin compound was 215.26 (mg cyanidin-3-glucoside / 100 g fresh fruit) for yanali and 207.98 (mg cyanidin-3-glucoside / 100 g fresh fruit) for Capachu, total phenolics were 3.45 (EQ -. Ac gallic g / 100 g of fresh fruit) in yanali and 2.25 (EQ -. Ac gallic g / 100 g of fresh fruit) in Capachu and antioxidant capacity was 80,219 (Trolox IC50 mg / g sample of the fresh fruit) of yanali and 143,602 (Trolox IC50 mg / g sample of the fresh fruit) of Capachu.

Keywords: Anthocyanins, phenols, antioxidant capacity and wild fruits.

Chumasqa

Kanankunaqa rantikuqkuna anchatan mañakunku imapas chaninchasqa kawsaykunata, unquykunamanta hampikuqkunata, hinallataqmi unquymanta waqaychakuqta, utaq amachakuqniyuq kawsaykunata munanku.

Chaymi kay hatun yachay maskasqawan rurakurqa kikillanmanta wiñaq kawsaykunapa *Citharexylum dentatum* D. Don (Yanali) y *Hesperomeles escalloniifolia* Schltdl (Capachu) nisqakunapa unquymanta hampiqninta, amachakuyninta qawarinapaq. Chaypaqmi 200g (iskay pachak gramos nisqa) allin puqusqa kawsaykuna Ccalhua huntasqa sachamanta karqa huñusqa.

Chaynallataqmi llimpinkuna hurqanapaq pawaykuna mana chuylluq utaq yaku ácido fórmico al 1% y etanol 70% nisqaman hapipakuy karqa. Chaynataq pH kay wak kaynin, llapan asnayninkuna kasqan, achki chaskisqankuna yachanapaqñataq Folin-Ciocalteu nisqata hapirirqa. Unquymanta qarkakuq, amachakuq kasqanpaqñataq kayn qaymayayninñataq pawayachiy radical DPPH hinallataq estándar de la curva de calibración Trolox nisqawan yachasqa karqa.

Chaynallataq kuskisqa rurasqakunawan tarikurqa: kawsaypa llimpinkunam kasqa 215.26 (mg cianidina-3-glucosido/100 g nisqa, mana chakisqapi) Yanalipi Capachu kawsaypiñataq 207.98 (mg cianidina-3-glucosido/100 g nisqa, mana chakisqapitaq). Unquymanta waqaychakuq, amachakuqninkunañataq chayan 3.45 (EQ - Ac. gálico g/100 g nisqaman, mana chakisqa kawsaypi) Yanalipi hinallataq 2.25 (EQ - Ac. gálico gr/100 g nisqa, mana chakisqa kawsaypi) Capachu kawsaypi. Unquymanta waqaychakuynin amachakuqninpaqñataq karqa 80.219 (Trolox CI50 mg/g nisqa, mana chakisqa yanalipi) chaynataq 143.602 (Trolox CI50 mg/g nisqa mana chakisqa Capachu kawsaypi).

Chaynapin kay kikillanmanta wiñaq kawsaykunapa Capachu hinallataq Yanalipi tarisqa karqa unquymanta amachakuq, waqaychakuq kaqninkuna: compuestos antocianicos, fenólicos y capacidad antioxidante nisqakuna; kaykunam qawarichiwanchik chaniyuq kasqanta antioxidante nisqa ukumpi kasqanmanta.

Puntaq simikuna: Llimpinkuna, asnayninkuna, unquymanta qarkakuq, amachakuq kasqan hinallataq kikillanmanta wiñaq kawsay.

CAPÍTULO 1 INTRODUCCIÓN

Las frutos silvestres Capachu (*Hesperomeles escalloniifolia* Schltdl) y Yanali (*Citharexylum dentatum* D. Don) se encuentra en la sierra sur oriental del Perú como arbusto silvestre, ubicado en el centro poblado de Huancas, distrito de Andarapa, provincia de Andahuaylas, departamento de Apurímac, a una altitud 3319 m.s.n.m., sus frutos son comestibles por los pobladores de la zona y tienen características de color violeta tinto intenso (Yanali) y rojo tinto intenso (Capachu).

Compuestos bioactivos son sustancias químicas (metabolitos secundarios) que se encuentra en pequeñas cantidades en las plantas y ciertos alimentos (como frutas, verduras, nueces, aceites y granos integrales) catalogado como alimento funcional (Sotacuro, 2013), al mismo tiempo hay un interés por los antioxidantes que juegan un papel importante en la prevención de la mayoría de las reacciones oxidativas, tanto en las proteínas, grasas y ácidos nucleicos que ocurre a nivel del cuerpo humano (Porras y López, 2009).

Es por ello, en el presente trabajo de investigación se tuvo como objetivo caracterizar los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en los frutos silvestres *Citharexylum dentatum* D. Don (Yanali) y *Hesperomeles escalloniifolia* Schltdl (Capachu).

El análisis de muestras para la caracterización del presente investigación se desarrolló a través de cuantificación por el método oficial (AOAC. 2005.02) de pH diferencial para compuestos antocianicos, métodos propuestos por Singleton y Pugliese con algunas modificaciones para compuestos fenólicos, que consiste en la oxidación de los grupos fenólicos por los ácidos fosfomolibdicos y por último el método propuestos por Brand – Williams y Molyneux con algunas modificaciones para capacidad antioxidante el cual se basa en la inhibición de radical DPPH.

1.1. Antecedentes de la investigación

Internacional

Huayhua (2008) en el desarrollo de su investigación intitulado “Antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante en la elaboración de una bebida refrescante a partir del extracto de tusa de maíz morado (*Zea mays* L.)”, caracterizo las antocianinas a través de la metodología de pH diferencial HPLC, a través del ácido clorogenico espectrofotometría para fenoles totales y capacidad antioxidante a través de trolox espectrofotometría. Obteniendo los siguientes resultados: antocianinas 351,618 mg ANCs / 100 g, fenoles totales 613,060 mg ac, clorogenico/ 100 g de la muestra y la capacidad antioxidante 1241, 407 ug. Eq. Trolox / 100 g de muestra. Finalmente concluyo que según las características de la tusa (coronta) de maíz morado, en cinco variedades analizadas, la tusa presenta antocianinas (ANCs), siendo la variedad de C5 (Canta de Huanta).

Nacionales

Llimpe (2017) estudió el contenido de antocianinas y capacidad antioxidante del fruto de macha macha (*Vaccinium floribundum Kunth*) durante la maduración. Cuantifico las antocianinas por la metodología pH diferencial y antioxidante se determinó a través DPPH por espectrofotometría. Concluyendo que el mayor contenido de antocianinas totales por pH diferencial fue del fruto maduro 10.532 (mg de Cianidina/g de muestra) y del fruto pintón 0.521(mg de Cianidina/g de muestra). Mientras que el fruto pintón presento mayor contenido de antioxidante con 569.3637 Umol TE/g muestra a través del método DPPH.

Price, Luque y Meza (2017) evaluaron el efecto del refrigerado y congelado en el contenido de polifenoles totales, antocianinas y actividad antioxidante de arándanos (*Vaccinium corymbosum*, variedad “biloxi”) cultivados en diferentes microclimas de Perú. Determinó los polifenoles totales por el método espectrofotométrico obteniendo en (mg ácido gálico equivalente/100 g) es 1183,99±8,77 de Huacho (Lima), 1428,62±19,58 de

Coris (Ancash) y el contenido de antocianicos totales por pH diferencial $62,93 \pm 9,58$ de Huacho (Lima), $75,64 \pm 2,33$ de Coris (Ancash) en (mg cianidina-3-glucosido/100 g). Concluyo indicando que el factor climático y ambiente influyo en la variación de resultados.

Aldaba, Concha, Enciso y Carranza (2016) en el desarrollo de sus investigaciones, funcionalidad del arándano azul (*Vaccinium corymbosum* L.). Para el análisis de fenoles totales utilizo la metodología de espectrofotometría a través del reactivo folin-ciocalteu y así mismo para la cuantificación de actividad antioxidante utilizo espectrofotometría desarrollada el ABTS; obteniendo los resultados de 23200 μg de Trolox/100g de fruta fresca para actividad antioxidante y 1681mg de ácido gálico/100g de fruta fresca para fenólicos totales. Finalmente concluyo que los análisis puede diferenciar de acuerdo al manejo de cultivo, almacenamiento y así como métodos de extracción en la preparación de las muestras.

Lillo, Carvajal, Núñez, Balboa y Álvarez (2016) realizaron el estudio de cuantificación espectrofotométrica de compuestos fenólicos y actividad antioxidante en distintos berries nativos del Cono Sur de América. Desarrollo a través de la metodología espectrofotometría desarrollada del ABTS para la determinación de capacidad antioxidante, para los polifenoles también determino por espectrofotometría por el método folin-ciocalteuau y antocianinas se cuantifico a través del pH diferencial; obteniendo como resultado para cuatro berries nativos y el arándano la capacidad antioxidante de los frutos de *V. corymbosum* (2640) *L. apiculata* (4930) , *B. darwinii* (5220), *A. chilensis* (7770), *U. molinae* (5280) expresados en (μg equivalentes de Trolox / g de muestra). Así mismo para los polifenoles totales obtuvieron *V. corymbosum* (139), *L. apiculata* (293), *B. darwinii* (226), *A. chilensis* (417), *U. molinae* (288) expresados en (mg AGE /100 g) y los antocianicos totales para *V. corymbosum* (0,20), *L. apiculata* (0,18), *B. darwinii* (0,043), *A. chilensis* (3,41), *U. molinae* (0,076) expresados en (mg cianidina 3- glucósido/ 100 g). Por ultimo

indico, que todos los berries nativos presentan altos contenidos de los compuestos fenólicos y alta capacidad antioxidante comparados con *Vaccinium corymbosum* L.

Aparcana y Villareal (2014) estudiaron la evaluación de la capacidad antioxidante de los extractos etanólicos del fruto de *Physalis peruviana* aguaymanto de diferentes lugares geográficos del Perú, evaluaron el contenido de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu espectrofotométrico y la capacidad antioxidante por los métodos del DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo) y ABTS (ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) espectrofotométrico de fruto de aguaymanto, provenientes de Ancash, Junín, Cajamarca y Huánuco. Obtuvieron resultados para la capacidad antioxidantes por DPPH 1,86; 2,04 ; 2,24 y 2,36 mg/mL respectivamente y por ABTS 1,29; 1,30; 1,47 y 1,55 mg/mL respectivamente y para fenoles totales Áncash 12.79, Junín 14.44, Huánuco 14.93 y Cajamarca 10.6 en mg/Eq. ácido gálico / g extracto seco. Finalmente considero mayor contenido de capacidad antioxidante de Huánuco.

Fabiani *et al.*, (2013) en sus investigaciones intitulado "Contenido de antioxidantes en extractos convencionales y supercríticos de arándano (*Vaccinium corymbosum* L)" mediante el método supercrítico de espectrofotometría cuantifico el contenido de antocianicos totales de 86,1 mg /100 g fruto base húmeda) y en fenólicos totales a través del método folin – Ciocalteu obtuvo 167,5 mg EAG/100 g fruto base Húmeda y la capacidad antioxidante mediante decoloración DPPH se obtuvo 6452 µg Eq Trolox/ g muestra fresco. Concluyo que la actividad antirradivalaria de los extractos resulto ser ligeramente mayor en ESC que en EC, lo cual se corresponde con su mayor contenido en polifenoles e implica que su actividad antioxidante no es solo responsable el contenido de antocianos.

Márquez (2011) estudio la capacidad antioxidante y caracterización estructural de las antocianinas de los frutos rojos de *Prunus domestica* L., *Ficus carica* L. y *Vitis vinifera* L. c.v. "red globe" cultivados en Perú,

Cuantifico las antocianinas monoméricas totales en espectrofotometría mediante el método pH diferencial y la capacidad antioxidante mediante el método de decoloración del DPPH. Obtuvo los resultados para antocianinas 39.92 para *Prunus domestica* L., 30.09 para *Ficus carica* L. y 2128.3 para *Vitis vinifera* L. c.v. “Red Globe” en mg de cianidina-3-glucósido/100g e igualmente para la capacidad antioxidante obtuvo 3.87 para *Vitis vinifera* L.c.v. “Red Globe” , 8,50 para *Ficus carica* L. y 13.25 para *Prunus domestica* L. expresada en IC50 ($\mu\text{g}/\text{m}$. concluyo indicando que el fruto con mayor contenido de antocianinas es *Vitis vinifera* L. c.v. “Red Globe”.

Martínez *et al.*, (2011) determinaron las antocianinas y actividad anti radicales libres de *Rubus adenotrichus* Schldl (zarzamora), a través de la metodología espectrofotometría para fenólicos totales y para la cuantificación de antocianinas por método de HPLC. Después de análisis obtuvieron como resultado para el contenido de polifenoles totales 2923 mg/g y el contenido de antocianicos totales 680 mg de cianidina-3-glucósido en 100 g de materia seca es decir 6.8 mg/g. Finalmente concluyeron que los frutos que producen las plantas del genero *rubus* son fuente de metabolitos con actividad antioxidante y contienen compuestos fenólicos con capacidad de neutralizar radicales libres.

Repo y Encina (2008) determinaron la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas peruanas, a través del método de decoloración del DPPH para la capacidad antioxidante y para fenoles totales a través del método folin – Ciocalteuau, para las frutas de papaya de monte, tomate de árbol, aguaymanto y tuna roja. Obtuvieron resultados capacidad antioxidante fueron papaya de monte 1936mg, tomate de árbol 853 mg, aguaymanto 729g y por último la tuna roja 482mg equivalente trolox/g de tejido respectivamente. Asimismo para contenido de compuestos fenólicos fue de papaya de monte 167mg, aguaymanto 154mg, tomate de árbol 130mg y finalmente la tuna roja 52 mg de

equivalente ácido gálico/100 g muestra. Concluyo que la papaya de monte tiene mayor capacidad antioxidante y en compuestos fenólicos.

Villanueva (2003) en desarrollo de su investigación intitulo "Antocianinas, ácido ascórbico, poli fenoles totales y actividad antioxidante en la cáscara de camu camu (*Myrciaria dubia* McVaugh H.B.K.)" evaluó a través de la metodología de pH diferencia espectrofotometría para la cuantificación de los antocianinas, polifenoles totales utilizo el método de folin – Ciocalteuau espectofotometria y para capacidad antioxidante por el método decoloración de DPPH y ABTS. Obtuvo como resultado 46,42 mg Cianidina-3-glucosido /L para antocianina, 7,70 mg Ac. Gálico/g muestra para compuesto fenólico y 46,20 1-19/mL; 20,25 1-19/mL y 8,30 1-19/ml frente a los radicales DPPH; ABTS. Concluyo que la cáscara de camu camu en estado fresco presentó mayor contenido en antocianicos totales, contenido de fenolicos totales lo presentó en la cáscara del fruto pintón y la mayor capacidad antioxidante lo presentó el extracto acuoso de la cáscara del fruto pintón.

Regional

Salas (2017) estudio la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de los frutos silvestres *Gaultheria glomerata* (Cav.) Sleumer (Machamacha), *Monnina vargassi* Ferreyra (Condorpausan), *Vaccinium floribundum* Kunth (Alaybilí) y *Rubus roseus* Poir (Frambuesa Silvestre), determino a través de la metodología espectrofotómetro la capacidad antioxidante mediante el método DPPH, para compuesto fenólico a través del método folin – Ciocalteuau y compuesto antocianico a través del pH diferencial. Obtuvo resultados para la capacidad antioxidante de Frambuesa silvestre 25010.87, Machamacha 23328.90, Alaybilí 22902.90 y Condorpausan 21924.65 ($\mu\text{g Eq}^* \text{Trolox/ 100 g fruto fresco}$), asimismo para compuestos fenólicos fueron Frambuesa silvestre 5370.42, Machamacha 5187.77, Alaybilí 4817.80 y Condorpausan 4707.21 ($\text{mg AGE /100 g fruto fresco}$) y para los compuestos antocianicos fueron Frambuesa silvestre 2013.967, Machamacha 1033.184, Alaybilí 914.875

y Condorpausan 862.006 (mg cianidina-3-glucosido/100 g fruto fresco. Concluyo el nivel de la capacidad antioxidante mayor le correspondió al fruto de Frambuesa silvestre, también en el contenido total de fenólicos, asimismo alto grado en compuestos antocianicos.

1.2. Justificación de la Investigación

Actualmente existe una demanda de los consumidores hacia productos industrializados con ciertas características de los compuestos bioactivos procedentes de fuentes comestibles vegetales, al mismo tiempo hay un interés por los antioxidantes que juegan un papel importante en la prevención de la mayoría de las reacciones oxidativas, tanto en las proteínas, grasas y ácidos nucleicos que ocurre a nivel del cuerpo humano. Es por ello el interés en los compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante en la última década, ha sido considerado importante por los resultados de los estudios epidemiológicos que vinculan el consumo de dietas ricas en alimentos de origen vegetal con un menor riesgo de enfermedades asociadas con el estrés oxidativo, como el cáncer y las enfermedades cardiovasculares.

Debido a esto el interés de compuestos bioactivos en la industria alimentaria, viene desarrollando constantes investigaciones en los alimentos con efecto benéfico para la salud. Ya que muchos alimentos vienen siendo procesados con excesivos insumos químicos, colorantes sintéticos, grasas saturadas que están dando lugar a generar radicales libres en el organismo y están relacionadas con incidencias negativas para la salud humana (Morales, 2011).

La caracterización del contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en los frutos silvestres Capachu y Yanali es un aporte importante para la Agroindustria, debido a que las propiedades funcionales es un sustituto eficaz de insumos tóxicos que vienen siendo utilizados en la industria alimentaria.

1.3. Problema de la investigación

Problema general

- ¿Cuál es el contenido de los compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante en frutos silvestres *Citharexylum dentatum* D. Don (Yanali) y *Hesperomeles escalloniifolia* Schltl (Capachu)?

Problemas específicos

- ¿Cuál es el contenido de compuestos antocianicos totales en frutos silvestres *Citharexylum dentatum* D. Don (Yanali) y *Hesperomeles escalloniifolia* Schltl (Capachu)?
- ¿Cuál es el contenido de compuestos fenólicos totales en frutos silvestres *Citharexylum dentatum* D. Don (Yanali) y *Hesperomeles escalloniifolia* Schltl (Capachu)?
- ¿Cuál es el contenido de capacidad antioxidante en frutos silvestres *Citharexylum dentatum* D. Don (Yanali) y *Hesperomeles escalloniifolia* Schltl (Capachu)?

1.4. Hipótesis de la investigación

Hipótesis general

- Los frutos silvestres *Citharexylum dentatum* D. Don (Yanali) y *Hesperomeles escalloniifolia* Schltl (Capachu) presentan alto contenido de compuesto bioactivos y capacidad antioxidante.

Hipótesis específicos

- Los frutos silvestres *Citharexylum dentatum* D. Don (Yanali) y *Hesperomeles escalloniifolia* Schltl (Capachu) presentan alto contenido de compuestos antocianicos totales.
- Los frutos silvestres *Citharexylum dentatum* D. Don (Yanali) y *Hesperomeles escalloniifolia* Schltl (Capachu) presentan alto contenido de compuestos fenólicos totales.
- Los frutos silvestres *Citharexylum dentatum* D. Don (Yanali) y *Hesperomeles escalloniifolia* Schltl (Capachu) presentan alto contenido en capacidad antioxidante.

1.5. Variables de la investigación

Tabla 1. Variables de la investigación.

Variables independiente	Variables dependientes
- Fruto silvestre Yanali.	- Compuestos antocianicos.
- Fruto silvestre Capachu.	- Compuestos fenólicos.
	- Capacidad Antioxidante.

1.6. Objetivos de la investigación

Objetivo general

- Caracterizar los compuestos bioactivos y la capacidad antioxidante en los frutos silvestres *Citharexylum dentatum* D. Don (Yanali) y *Hesperomeles escalloniifolia* Schltidl (Capachu).

Objetivos específicos

- Determinar los compuestos antocianicos totales en los frutos silvestres *Citharexylum dentatum* D. Don (Yanali) y *Hesperomeles escalloniifolia* Schltidl (Capachu).
- Determinar los compuestos fenólicos totales en los frutos silvestres *Citharexylum dentatum* D. Don (Yanali) y *Hesperomeles escalloniifolia* Schltidl (Capachu).
- Determinar la capacidad antioxidante en los frutos silvestres *Citharexylum dentatum* D. Don (Yanali) y *Hesperomeles escalloniifolia* Schltidl (Capachu).

CAPÍTULO 2

MARCO TEÓRICO

2.1. Capachu (*Hesperomeles escalloniifolia* Schltdl)

Según Dueñas (2018) la identificación, clasificación taxonómica, sinonimias y descripción botánica (Anexo 6).

a) Clasificación Taxonómica

Reyno	:	Plantae
División	:	Magnoliophyta
Clase	:	Magnoliopsida
Orden	:	Rosales
Familia	:	Rosaceae
Género	:	Hesperomeles
Especie:		<i>Escalloniifolia</i> Schltdl

Sinonimias: *Crataegus escalloniifolia* Schltdl.; *Hesperomeles pernettyoides* var. *Microphylla* Wedd.; *Osteomeles escalloniifolia* (Schltdl) Decne.

Nombres comunes: “Millucapa”, “Ñut’u mayu manzana”, “Capachu”

b) Descripción botánica

***Hesperomeles escalloniifolia* Schltdl (Capachu)**, es un árbol denso armado de espinos simples, tiene los tallos leñosos que alcanzan hasta los 3 metros de altura, son erectos y ramificados con la corteza de color ceniza, las hojas según su forma es elíptica de unos 0.5 cm de longitud, la flores son pequeñas y rosadas, agrupadas en pequeños racimos colgantes, los frutos son bayas de 1 a 1.5 cm de longitud de color rojo brillante, que al madurar toman un color rojo azul oscuro o morados, son ácidas pero de sabor agradable

2.2. Yanali (*Citharexylum dentatum* D. Don)

Según Dueñas (2018) la identificación, clasificación taxonómica, sinonimias y descripción botánica (Anexo 6).

a) Clasificación Taxonómica

Reyno	:	Plantae
División	:	Magnoliophyta
Clase	:	Magnoliopsida
Orden	:	Lamiales
Familia	:	Verbenaceae
Género	:	<i>Citharexylum</i>
Especie:		<i>C. dentatum</i> D. Don

Nombres comunes: "Yanali", "Yana capuli", "Monte capulí"

b) Descripción botánica

***Citharexylum dentatum* D. Don (Yanali)**, es una planta silvestre y nativa que crece en el sur oriental del Perú a una altura 3319 m.s.n.m. La planta de Yanali es un arbusto 3.8 m de altura, ramificado con hojas alternas de 2 cm de largo, con el margen aserrado, cuya nerviación es pinnada, las flores son pequeñas y rosada blanca, agrupadas en pequeños racimos colgantes, los frutos son bayas 0.8 a 1.7 cm de longitud de color morado violeta brillante, que al madurar toman un color negro azul oscuro o morados, son ácidas pero de sabor agradable.

2.3. Compuestos bioactivos

Sotacuro (2013) indica que los compuestos bioactivos son sustancias químicas que se encuentran en pequeñas cantidades en las plantas y ciertos alimentos (como frutas, verduras, nueces, aceites y granos integrales) que cumplen funciones en el cuerpo que promueve la buena salud y capaces de influir en las actividades celulares modificando el riesgo de padecer enfermedades y hacen efectos beneficiosos para la salud, los nutrientes simplemente previenen el riesgo de contraer una

enfermedad debido a una carencia o déficit. Entre las funciones que realizan estos compuestos encontramos que pueden actuar como antioxidantes, inhibidores e inductores de enzimas y son los responsables de las principales características organolépticas de los alimentos a través de fenoles.

En el campo de la alimentación los compuestos bioactivos específicamente, en alimentos funcionales, se define como; aquellos compuestos químicos que ejercen un efecto benéfico para alguna función corporal del individuo, produciendo una mejora en sus salud y bienestar o reduciendo un riesgo de enfermedad. (Barragán, 2011, p. 16)

Diversos compuestos bioactivos tienen un gran potencial como fuente de antocianicos y fenólicos de acuerdo a su composición química y nutricional. Y tiene la capacidad para disminuir el riesgo de enfermedades cardiovasculares, cáncer, gástrico, visión y neurodegenerativas, que actualmente vienen causando problemas al consumidor por el uso de excesivos insumos químicos, colorantes sintéticos, grasa saturadas, tóxicos en el procesamiento de alimentos y están dando lugar a generar radicales libres en el organismo (Morales, 2011).

2.3.1. Compuestos bioactivos en los alimentos

a) Inorgánicos

- Minerales (Ca, Se, Zn y K).

b) Orgánicos

- Isoprenoides (terpenoides) (Carotenoides, saponinas, tocotrienoles y tocoferoles).
- Compuestos fenólicos (Ácidos fenólicos, flavonoides (antocianidinas), lignanos y taninos).
- Lípidos (Ácidos grasos insaturado (omega 3) y fitoesteroles).
- Carbohidratos y derivados (Ácidos ascórbico, oligosacárido (prebiótico), Polisacáridos (almidón)).
- Proteínas, aminoácido y derivados (Aminoácidos, Isotiacionatos, Capsaicinoides, ompuestosalil-s).

2.3.2. Compuestos bioactivos en derivados

- a) **Cárnicos:** Contribuye en la industria cárnica específicamente la capacidad antioxidante esta ayuda a ser efectiva para reducir la oxidación lipídica, la cual se presenta como una de las principales causas de deterioro de la calidad de los productos cárnicos, ya que puede afectar negativamente a los atributos sensoriales tales como el color, la textura, el olor y el sabor, así como la calidad nutricional del producto (Cárdenas, *et al.*, 2015).
- b) **Panificación:** Se utiliza con el fin de mejorar sus propiedades funcionales. Ya que estas mejora de la salud y la protección contra muchas enfermedades. La adición de actividad antioxidante aumenta el nivel de calidad sensorialmente, los panes muestra un cambio de color aceptable, pero conservando intactos otros atributos de calidad (Cárdenas, *et al.*, 2015).
- c) **Lácteos:** se utiliza en lácteos para mejorar la calidad de los productos finales. Los investigadores analizaron a través de cromatografía de gases permitió la detección de ácidos fenólicos, como el ácido gálico, el ácido cafeico, p-cumárico, ácido vanílico, vainillina, y otros compuestos fenólicos como catequina, epicatequina, resveratrol, hesperidina y quercetina en los yogures suplementados. Estos compuestos se valoran como los principales constituyentes del poder antioxidante de los yogures enriquecidos con ingredientes funcionales (Cárdenas, *et al.*, 2015).

2.4. Compuestos fenólicos

Los Compuestos fenólicos son metabolitos secundarios sintetizados por las plantas, estos compuestos constituyen uno de los grupos de micronutrientes presentes en el reino vegetal, que forman parte importante de la dieta humana (Porrás y López, 2009). En gran parte son los responsables de las principales características organolépticas de los alimentos y bebidas procedentes de plantas: se encuentran en frutas, verduras, legumbres, chocolates 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 (Pereira, 2016, p. 8). Las plantas sintetizan una gran variedad de productos secundarios que contienen un grupo fenol. Estas sustancias reciben el nombre de compuestos fenólicos, polifenoles o fenilpropanoides y derivan todas ellas del fenol, un anillo aromático con un grupo hidroxilo tal como se muestra la Figura 1 (Puzanowska, 2009, p. 02).

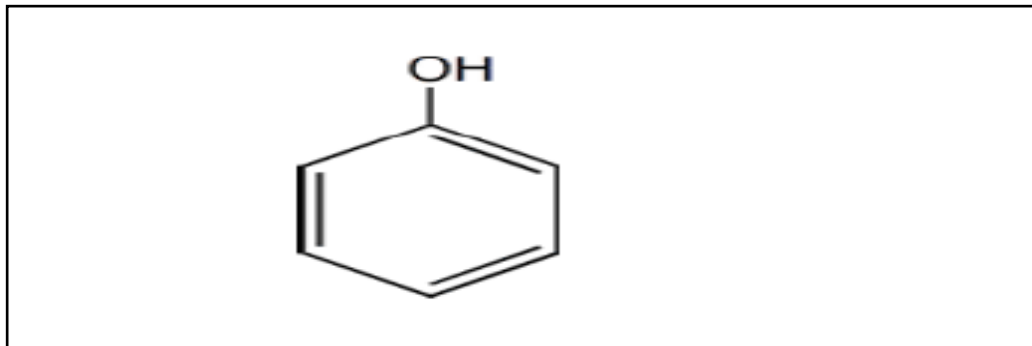


Figura 1. Estructura del fenol

Fuente: Puzanowska (2009)

En la naturaleza, la síntesis de un núcleo aromático la realizan únicamente vegetales y microorganismos. Los organismos animales los reciben, sea por su alimentación o a través de una simbiosis, para elaborar metabolitos que les son dispensables y que poseen este elemento estructural (aminoácidos, vitaminas, pigmentos, toxina, etc.). Los compuestos fenólicos de los vegetales proceden de las dos grandes vías de la aromagenesis (Flores y Hernández, 2016, p. 20).

- La vía más frecuente es la vía sikimato (ácido sikímico), conduce a partir de la formación de aminoácidos aromáticos (fenilalanina y tirosina) y después, por desaminación de estos últimos, a la de ácidos cinámicos y de sus numerosísimos derivados: ácido benzoico, acetofenonas, lignanos y ligninas, cumarinas, etc (Flores y Hernández, 2016, p. 20).
- La otra vía parte del acetato y conduce a la formación de poli- β -cetoésferes de longitud variable, poliacetatos que producen, por

ciclación (condensación aldólica o reacción de claisen), compuestos normalmente policíclicos: cromonas, isocumarinas, orcinoles, depsidos, depsidonas, xantonas, quinonas, etc (Flores y Hernández, 2016, p. 20).

Los antioxidantes de las plantas constituyen uno de los componentes activos de los alimentos, cuya fuente principal se encuentra en las diferentes partes de la planta, ya sea frutos, hojas, raíces y/o flores (Haytowitz y Bhagwat, 2010). En la Tabla 2 se muestra el contenido total de fenoles en algunos alimentos.

Tabla 2. Contenido de fenólicos totales de algunos alimentos

Fuente	mg ácido gálico /100g
Arándanos	311
Bananas	155
Cerezas	259
Ciruelo	332
Duraznos	133
Frambuesas	414
Frutillas	332
Kiwis	211
Limonas	51
Manzanas	250
Melones	56
Naranjas	57
Peras	178
Uvas	170

Fuente:(Haytowitz y Bhagwat, 2010).

2.4.1. Clasificación de Compuestos Fenólicos

a) Según sus compuestos monoméricas

- **Derivados del ácido hidroxibenzoico (C6-C1):** Los ácidos hidroxibenzoico tienen una estructura general C6-C1 que deriva del ácido benzoico. Los distintos ácidos hidroxibenzoico se distinguen

por variaciones en la estructura típica debido a hidroxilación y metilaciones del anillo aromático (Puzanowska, 2009).

- **Derivados del ácido hidroxicinámico (C6-C3):** Los ácidos hidroxicinámicos son un grupo de compuestos presentes en la pared celular vegetal, cuyos principales representantes son el ácido ferúlico, p-cumarico, cafeico y sináptico, de los cuales el ácido ferúlico y p-cumárico son los de mayor abundancia en la naturaleza (Puzanowska, 2009).
- **Derivados de flavonoides:** Los flavonoides (C6-C3-C6) se pueden clasificar en varias familias según los cambios estructurales que presenten en su estructura básica. Poseen varios grupos hidroxilo (-OH) unidos a su estructura de anillo y se encuentran normalmente como glucósidos (Puzanowska, 2009).

b) Según el número de anillos y estructura

Se clasifican en cuatro familias en función del número de anillos fenólicos y de los elementos estructurales unidos a esos anillos (Ugartondo, 2009, p. 32): flavonoides, ácidos fenólicos, estilbenos y lignanos como se muestra en siguiente figura 2.

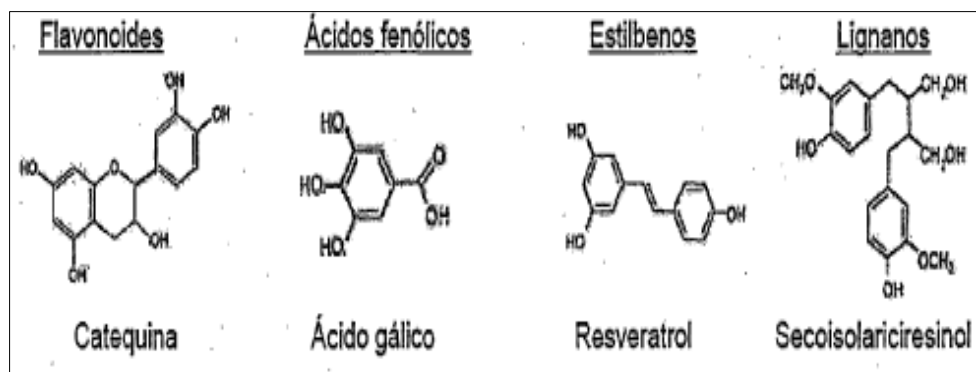


Figura 2. Clasificación según su anillo y estructura de fenoles

- **Catequinas:** Es un antioxidante polifenólico que procede de las plantas en las cuales aparece como un metabolito secundario teniendo como estructura básica un núcleo de flavón unido mediante un enlace β -glucosídico a un azúcar, tiene principal

función de proteger a nuestras células de los radicales libres y el estrés oxidativo.

- **Ácido gálico:** Son ácidos orgánicos también conocido como ácido 3,4,5-trihidroxibenzoico, que se encuentra en las agallas, en las hojas de té, en la corteza de roble y otras plantas, está presente en forma libre como formando parte de taninos. Las sales y los ésteres del ácido gálico se denominan galatos. Tiene usos en la industria farmacéutica como patrón para determinar el contenido de fenoles de diversos analitos mediante el reactivo de Folin-Ciocalteu.
- **Resveratrol:** Es una sustancia química que se encuentra presente en el vino tinto, la piel de la uva roja, el jugo de uva morada, las moras y tiene la función de fijar los vasos sanguíneos y disminuir la actividad de células importantes en la coagulación sanguínea.
- **Secoisolariciresinol:** Son antioxidantes fitoestrógenos presentes en el lino, girasol, sésamo y semillas de calabaza. En los alimentos, se puede encontrar en panes comerciales que contienen linaza. Es un precursor de los lignanos animales que se producen en el colon con los productos químicos de los alimentos.

2.4.2. Importancia de los compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son importantes para entender las propiedades saludables de la matriz analizada (actividad antioxidante, anticancerígena, etc.). La actividad de un determinado extracto se debe a todos sus componentes; no solo los compuestos mayoritarios son los responsables de sus características, sino que también influyen los minoritarios o las interacciones entre ellos (Manach, Hubert, Llorach y Scalbert, 2009, p. 2).

El perfil poli fenólico de los vegetales puede emplearse para su caracterización y control de calidad de los alimentos, como indicador químico del procesado de los alimentos elaborados, ya que pueden producirse alteraciones de su contenido durante los procesos tecnológicos, en la detección y evaluación de posibles adulteraciones o

modificaciones genéticas, aplicaciones en la industria agroalimentaria como pueden ser uso de alternativas a los antioxidantes sintéticos para preservar a los alimentos del daño oxidativo ó como aprovechamiento de sub productos de derivados menos hidrofílicos con características farmacológicas mejoradas (Gómez, 2010, p. 39).

2.4.3. Propiedades antioxidante fenólicos en alimentos

Las propiedades antioxidantes y cardioprotectoras de los polifenoles se deben principalmente a que sus propiedades oxido-reductoras les permiten actuar como agentes donadores de hidrógeno y estabilizadores de radicales libres como oxígeno reactivo, hidroxilo y superóxido, implicados en la cadena de peroxidación lipídica, además de sus propiedades de quelación de hierro y metales de transición (Lee y koo, 2004); la función de los antioxidantes marcadamente, es retrasar o prevenir la oxidación del sustrato (Shahidi 2000 como cito en Flores y Hernandez, 2016, p. 22).

2.4.4. Método de cuantificación de compuestos polifenólicos

Dentro de los métodos para la cuantificación y/o identificación de compuestos polifenólicos se encuentran las técnicas espectrofotométricas método Folin - Ciocalteu (Martínez et al. 2011, p.5).

Método Folin – Ciocalteu

El ensayo Folin - Ciocalteu se utiliza como medida del contenido en compuestos fenólicos totales en productos vegetales. Se basa en que los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo de Folin - Ciocalteu, a pH básico, dando lugar a una coloración azul susceptible de ser determinada espectrométricamente a 765 nm. Este reactivo contiene una mezcla de wolframato sódico y molibdato sódico en ácido fosfórico y reacciona con los compuestos fenólicos presentes en la muestra. El ácido fosfomolibdotúngstico (formado por las dos sales en el medio ácido), de color amarillo, al ser reducido por los grupos fenólicos da lugar a un complejo de color azul intenso, cuya intensidad es la que se mide para evaluar el contenido en polifenoles (Singleton y Rossi, 1999).

La reacción redox figura 3 condice a la desprotonación de los compuestos fenólicos (en el ejemplo, patrón de ácido gálico) en un medio básico, mediante la generación de anión fenolato. Después de ello, hay una reacción redox entre el anión fenolato y el Folin - Cioalceu en el que el molibdeno (Singleton *et al.*, 1999), el componente reactivo de Folin – Cioalceu se somete a reducción y el medio de reacción cambia de color amarillo a azul.

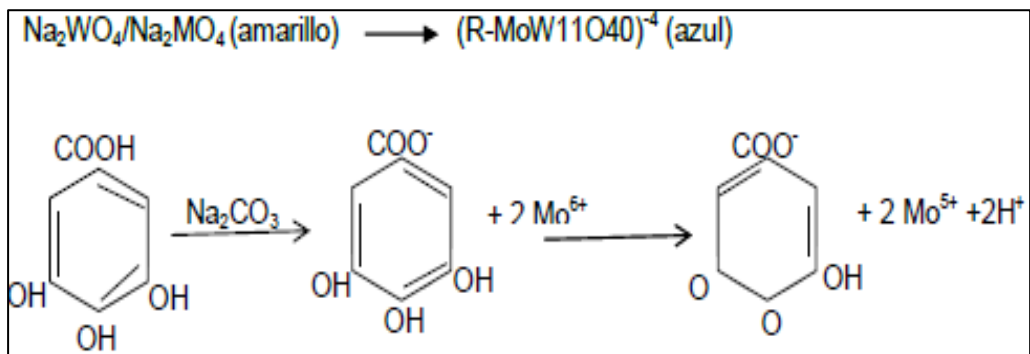


Figura 3. Reacción del ácido gálico con molibdeno y folin-cioalceu

Fuente: (Oliveira, Barros y Fonseca, 2009)

Los compuestos fenólicos son buenos compuestos antioxidantes debido a la capacidad que tienen de estabilizar la carga generada sobre el fenol y la posterior formación de la quinona, ocasionando la completa neutralización de la carga generada tras el proceso de oxidación.

2.5. Compuesto antocianicos

Las antocianinas son los compuestos químicos responsables de conferir los colores rojo, azul y violeta en hojas, flores y frutos, pigmentos más importante, después de la clorofila, que es visible al ojo humano (Malacrida y Damota, 2005 como cito en Martínez (2011)). Son hidrosolubles, ampliamente distribuidos en el reino vegetal (Fennema, 2000). Químicamente las antocianinas son glucósidos de las antocianidinas, es decir, están constituidas por una molécula de antocianidina, que es la aglicona, a la que se le une un azúcar por medio de un enlace β -glucosídico. La estructura química básica de estas

agliconas es el ión flavilio (Badui, 2006). También llamado 2-fenilbenzopirilio (Aguilera *et al.* 2011, p.16), que consta de dos grupos aromáticos: un benzopirilio (A) y un anillo fenólico (B); el flavilio normalmente funciona como un catión (Badui, 2006).

2.5.1. Estructura química de las antocianinas

Aguilera *et al.*, (2011) indica que estos compuestos pertenecen a la familia de los flavonoides. Son glucósidos de antocianidinas, es decir, que están constituidos por una molécula de antocianidina, que es la aglicona, a la que se le une un azúcar por medio de un enlace glucosídico (p.17). La estructura química consiste en un grupo flavilo formado por un anillo de benzopirano unido a un anillo fenílico (Sotacuro, 2013, p. 24). Estas son agliconas es el ion flavilio, también llamado 2-fenil-benzopirilio, que consta de dos grupos aromáticos: un benzopirilio (A) y un anillo fenólico (B); ambos unidos por una cadena de tres átomos de carbono como se muestra en la figura 4 (Aguilera *et al.*, 2011, p. 17).

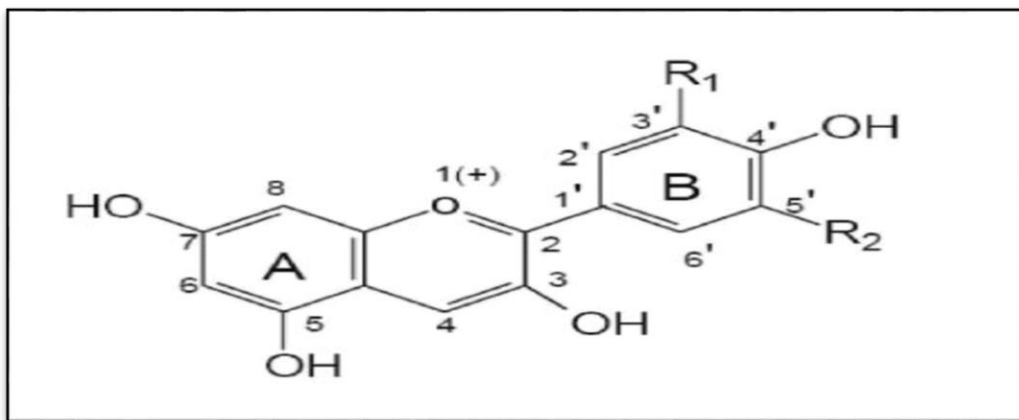


Figura 4. Estructura básica de las antocianinas

Stinzing *et al.*, 2002 (como cito en Dionisio, 2017) el color de las antocianinas depende del número y orientación de los grupos hidroxilo y metoxilo de la molécula, especificado en tabla 3. Incrementos en la hidroxilación producen desplazamientos hacia tonalidades azules mientras que incrementos en las metoxilaciones producen coloraciones rojas.

Tabla 3. Variaciones estructurales del anillo B producen las seis antocianidinas.

Antocianinas	R1	R2	Espectro visible λ Max (nm)
Pelargonidina	H	H	494 (Naranja)
Cianidina	OH	H	506 (Naranja-rojo)
Delfinidina	OH	OH	508 (Azul –rojo)
Peonidina	OCH ₃	H	506 (Naranja-rojo)
Petunidina	OCH ₃	OH	508 (Azul-rojo)
Malvidina	OCH ₃	OCH ₃	510 (Azul-rojo)

Fuente: Durst y Wrolstad, 2002 (como cito en Dionisio, 2017)

2.5.2. La antocianina y su importancia

Las antocianinas son pigmentos vegetales de color rojo, azul, morado con gran potencial para el reemplazo competitivo de colorantes sintéticos; por tanto es de gran importancia conocer los aspectos bioquímicos que enmarcan estos pigmentos; las propiedades bioactivos de las antocianinas abren una nueva perspectiva para la obtención de productos coloreados con valor agregado para el consumo humano (Garzo, 2008, p. 8).

2.5.3. Distribución en la naturaleza

Según Burin *et al.* (2010) las antocianinas se localizan principalmente en la pared celular de las frutas. La función que cumplen es la de atraer seres vivos para propósitos de polinización y dispersión de semillas. La diferencia de color entre las frutas, flores y verduras depende de la naturaleza y concentración de antocianinas. Mejía (2004) indica existencia “factores adicionales que afectan el color como el pH de la célula, el efecto de pigmentación determinado por la presencia de otros flavonoides, temperatura, luz, oxígeno entre otros” (p. 23).

En la siguiente tabla 4 indica la distribución de las principales antocianicos en algunas frutas y vegetales comunes.

Tabla 4. Distribución de las principales antocianicos en vegetales.

COMPUESTO	COLOR	FRUTAS Y VEGETALES
Delfinidina	Rojo	Uva concordia, martillo, bilberry, grosella
	azulado	negra, mashua negra, papas, frijoles, y muchos otros frutos silvestres con bayas.
Cianidina	Rojo	Fresa, mora, ruibarbo, grosella negra, cereza, col roja, bilberry, arandino, saúco,
	naranja	uva concordia, maíz, ciruela, frambuesa, cebolla roja
Pelargonidina	Naranja	Fresa, maíces, otros cítricos
Peonidina	Rojo	Cereza, arándano.

Fuente: Burin, Falcao y Valdemoro (2010).

2.5.4. Beneficios en la salud

El interés en los pigmentos antociánicos se ha intensificado recientemente debido a sus propiedades, farmacológicas y terapéuticas. Durante el paso del tracto digestivo al torrente sanguíneo de los mamíferos, las antocianinas permanecen intactas y ejercen efectos terapéuticos conocidos que incluyen la reducción de la enfermedad coronaria, efectos anticancerígenos, antitumorales, antiinflamatoria y antidiabética; además del mejoramiento de la agudeza visual y del comportamiento cognitivo, los efectos terapéuticos de las antocianinas están relacionados con su actividad antioxidante (Garzo, 2008, p. 7); reduciendo la concentración de radicales libres, y en algunos casos logran establecer grupos de quelación con iones metálicos (Repo y Encina, 2008, p. 11); a las antocianinas también se les atribuye actividad anticancerígena (Hagiwara *et al.*, 2002); finalmente los efectos terapéuticos de las antocianinas están relacionados con su actividad antioxidante (Garzo, 2008, p. 7).

2.5.5. Extracción y purificación de la antocianina

Las antocianinas se pueden extraer de diferentes tejidos vegetales .A nivel comercial, las antocianinas se obtienen principalmente de los subproductos industriales de la uva. En la actualidad existe la tendencia

de utilizar los extractos antociánicos sin necesidad de realizar la separación de los distintos componentes, debido a que todos ellos, presentan propiedades antioxidantes (Zapata, 2014).

El método usual de obtención es la extracción sólido-líquido. El carácter polar de la molécula de antocianina permite su solubilidad en variados solventes, tales como alcoholes, acetona o agua. Ya que su estabilidad es afectada fácilmente por modificaciones estructurales con grupos hidroxilo, metoxilo, glucósidos y grupos acilos, además de factores como la temperatura y la luz el método de extracción debe ser el más adecuado para cada aplicación concreta (AOAC, 2005).

Las antocianinas son moléculas polares y consecuentemente son más solubles en solventes polares que en no polares. A valores de pH donde las moléculas de antocianinas están no ionizadas, pueden ser solubles en éter y no son estables en soluciones neutras y alcalinas; por tanto los métodos convencionales empleados para la extracción de antocianinas implica el uso de solventes ácidos tal como se muestra en la tabla 5 métodos de extracción de antocianinas (Delgado, Jiménez y Paredes, 2000, p. 5).

Debido a su estructura, las antocianinas presentan dos máximos de absorción tanto en la región visible como en la ultravioleta la primera entre 465 y 550 nm, la segunda más pequeña en el UV alrededor de 275nm, es así como se pueden identificar las antocianinas por sus espectros de absorción (Ortega y Guerra, 2006).

Tabla 5. Métodos de extracción de antocianinas

Método	Características
0,001 % HCl en metanol	Este es el método más efectivo, pero el HCl es corrosivo y el metano tiene efectos tóxicos en la salud humana.
0,001 % HCl en etanol	80 % tan efectivo como el metanol.
0,001 % HCl en agua	27 % tan efectivo como el metanol.
Metanol acidificado con ácido cítrico	Este es el más eficiente de los ácidos orgánicos.
Agua acidificada con ácido acético	En eficiencia es seguido por el ácido cítrico, tartárico y clorhídrico.
Agua con 1 000 ppm de SO ₂	La extracción es mejor que la obtenida por el uso de la extracción tradicional los cuales implica sistemas de etanol: ácido acético: agua

Fuente: Delgado *et al.* (2000).

Debido a la gran variedad de estructuras moleculares de las antocianinas que pueden estar presentes en un mismo material y sus bandas de absorción en posiciones muy cercanas, las separaciones y determinaciones por espectrometría se realizan determinando la concentración total de las antocianinas, refiriendo la concentración respecto a un compuesto en particular. Esto permite conocer con seguridad la cantidad total de antocianinas en el material de análisis (Zapata, 2014).

a) Separación de antocianinas por HPLC

La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), es una técnica utilizada para separar los componentes de una mezcla. Consiste en una fase estacionaria no polar (columna) y una fase móvil. La fase móvil actúa de portador de la muestra. La muestra en solución es inyectada en la fase

móvil. Los componentes de la solución emigran de acuerdo a las interacciones no-covalentes de los compuestos con la columna. Estas interacciones químicas, determinan la separación de los contenidos en la muestra. Para la separación y cuantificación de antocianinas, la técnica más empleada hoy en día es la cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa (RP-HPLC) puesto que esta permite la separación simultánea, la identificación y la cuantificación de los compuestos de antocianinas sin requerir pureza excesiva de los extractos (Aguilera *et al.*,2011).

b) Método pH diferencial.

No solamente se usa la cuantificación de antocianinas por cromatografía HPLC con UV-Vis usando para cuantificarlos patrones externos, también se puede cuantificar por el método de pH diferencial como se indicó antes. Los pigmentos de antocianina experimentan transformaciones estructurales reversibles con un cambio en el pH, observable en los espectros de absorbancia UV-Vis que son sorprendentemente diferentes. La forma de oxonium coloreada predomina a pH 1,0 y la forma hemiacetal incolora a pH 4.5. Este método se basa en este cambio y permite una medición precisa y rápida de las antocianinas totales, incluso en presencia de polimerizados, pigmentos degradados y otros compuestos interferentes (Giusti & Wrolstad, 2001).

2.5.6. Estabilidad de antocianinas

A pesar de las ventajas que las antocianinas ofrecen como posibles sustitutos de los colorantes artificiales, su incorporación a matrices alimenticias o productos farmacéuticos y cosméticos son limitadas debido a su baja estabilidad durante el procesamiento y el almacenamiento (Garzón (2008) como cito a Wrolstad, 2000). Factores como su misma estructura química, pH, temperatura, presencia de oxígeno y ácido ascórbico, concentración y actividad de agua de la matriz determinan la estabilidad del pigmento.

a) Efecto del pH

Las antocianinas son muy sensibles a los cambios de pH (Wong, 1994) esto debido a una deficiencia del núcleo del flavilio u oxonio que es la forma más estable de las antocianinas, estos pigmentos funcionan como verdaderos indicadores de pH; es decir, su color depende de las condiciones de acidez o alcalinidad del sistema en que se encuentran. A pH ácido adquiere una estructura estable del catión flavilio rojo, representado por la fórmula (AH⁺), cuando se incrementa el pH, la distribución electrónica se modifica hasta llegar a la forma quinoidea azul (A) o base anhidra figura 5; tanto la sal del flavilio como la base anhidra pueden convertirse a las especies pseudo base de carbinol o hemiacetal (B) incolora y bastante inestable, que predomina en el intervalo de pH de 4 a 6 (Anzaldúa, 1999) y posterior oxidación a una calcona o chalcona de cadena abierta (C).

A pH superiores a 7 se produce la degradación rápida de las antocianinas que se presentan en las formas quinooidales de color púrpura los mismos que se degradan rápidamente por oxidación con el aire por lo cual, el uso práctico de estos pigmentos antociánicos como colorantes naturales se limita a alimentos ácidos con pH inferior a 3.5 (Zapata, 2014).

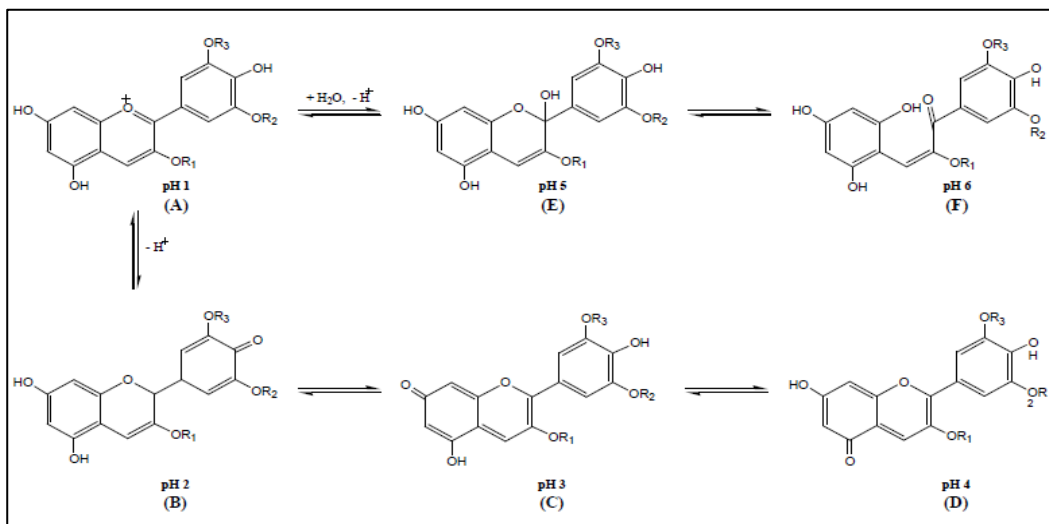


Figura 5. Reacción estructural de malvidina-3-glicosido en el intervalo de pH 1 a 7.

Fuente: (Zapata, 2014).

A pesar de las ventajas que las antocianinas ofrecen como posibles sustitutos de los colorantes artificiales, su incorporación a matrices alimenticias o productos farmacéuticos y cosméticos son limitadas debido a su baja estabilidad durante el procesamiento y el almacenamiento (Wrolstad ,2001, p. 12); la estabilidad de las antocianinas depende de factores como enzimas, pH, temperatura, oxígeno, luz, metales, ácido ascórbico, concentración y actividad de agua de la matriz determinan la estabilidad del pigmento.

b) Efecto de la temperatura

Incrementos de temperatura resultan en pérdida del azúcar glicosilante en la posición 3 de la molécula y apertura de anillo con la consecuente producción de chalconas incoloras (Peña *et al.* 2006, p. 160). Por lo tanto las antocianinas altamente hidroxiladas son menos estables térmicamente que las metiladas, glicosidadas o acetiladas (Fennema, 2000). Incrementos de temperatura provocan pérdidas del azúcar glicosilante en la posición 3 de la molécula y apertura de anillo, con la consecuente producción de chalconas incoloras (Garzón, 2008).

c) Efecto del Agua

El agua puede actuar como nucleófilo y atacar el catión flavilio en C-2 formando la base carbinol incolora según el mecanismo explicado anteriormente, sin embargo, esta degradación puede variar, dependiendo de la concentración de azúcares. Cuando los azúcares se encuentran a altas concentraciones, la actividad de agua es baja, por lo que las moléculas de agua tienen menores posibilidades de atacar el catión flavilio para formar la base carbinol. Sin embargo, cuando los azúcares están en bajas concentraciones la actividad de agua no se ve afectada, por lo que sus productos de degradación (hidroximetilfurfural y furfural) aceleran la degradación de las antocianinas (Zapata, 2014).

d) Efecto del oxígeno

Las antocianinas pueden oxidarse por reacción directa con oxígeno, o bien a través de una oxidación indirecta con compuestos que han sido

previamente oxidados, dando lugar a la formación de productos de color marrón o incoloro. También, pueden reaccionar con radicales de oxígeno actuando como antioxidantes. Estos mecanismos de oxidación se ven favorecidos cuando se eleva la temperatura (Rein, 2005).

e) Efecto de la luz

La luz es esencial para la biosíntesis de las antocianinas, pero también acelera la degradación de antocianinas (Markakis, 1982). Preservan mejor su color cuando se mantienen en la oscuridad. La pérdida más vigorosa de antocianina (70%) se observó bajo luz fluorescente con ligera temperatura elevada de almacenamiento.

2.5.7. Antocianinas en frutas

El estudio de las antocianinas en frutas tropicales, ha tomado fuerza la última década no solo por la capacidad colorante, sino también por su capacidad antioxidante. Es así como los extractos de distintas frutas como mora, frambuesa y diferentes cultivos de grosella han demostrado actuar de manera eficaz como inhibidores de radicales libres (Santacruz, 2011, p. 13).

Tabla 6. Contenido de antocianinas de algunos productos alimenticios

Producto	Contenido de antocianinas (mg/100g)
Frambuesa	60 – 887
Uva tinta	30 – 750
Fresa	19 – 55
Sauco	664 – 1816
Arándano	61.8 – 438
Vino tinto	164 – 350

Fuente: Delgado *et al.* (2000).

2.6. Capacidad antioxidante

Un antioxidante es una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de un sustrato oxidable, actuando como donador de electrones (agente reductor). Todos los seres vivos que utilizan el oxígeno para obtener energía, liberan radicales libres, lo cual es incompatible con la vida a menos que existan mecanismos celulares de defensa que los neutralice. A estas defensas se las denomina antioxidantes. Los niveles bajos de los mismos, o la inhibición de las enzimas antioxidantes causan estrés oxidativo y pueden dañar o matar las células (Llimpe, 2017, p. 24) y son sustancias utilizadas para conservar los alimentos al retardar el deterioro, la rancidez o decoloración debido a la oxidación (Flores y Hernández, 2016, p. 11); retrasando o inhibiendo significativamente la oxidación de dicho sustrato a través de entrega un electrón a los radicales libres, con lo cual los desactivan, apagando el proceso de oxidación (Ibáñez, 2008, p.3).

La actividad antioxidante es la capacidad de una sustancia para inhibir la degradación oxidativa como la peroxidación lipídica, de tal manera que un antioxidante actúa, principalmente, gracias a su capacidad para reaccionar con radicales libres (Londoño, 2012).

La principal justificación para el uso de un antioxidante es para extender la vida útil de los productos alimenticios, reducir los desechos y las pérdidas nutricionales al inhibir y retrasar la oxidación. Sin embargo, los antioxidantes no pueden mejorar la calidad de un producto alimenticio ya oxidado (Coppen 1983 como cito en Flores y Hernández, 2016, p.12).

2.6.1. Mecanismos de acción antioxidante

Según Llimpe (2017) las reacciones de oxidación, que se dan intracelularmente, pueden producir radicales libres, que inician reacciones en cadena, que derivan en el daño de las células. Estos radicales son especies químicas muy reactivas, que pueden producir daños como: (p.10).

- Rupturas en la cadena del ADN y también cambios en las bases con lo que se producirían mutaciones, que podrían derivar en la carcinogénesis.
- Peroxidación de los residuos de ácidos grasos poliinsaturados en las membranas.
- Oxidación de los residuos de ácidos grasos poliinsaturados en las proteínas de baja densidad, con lo que se podría inducir la arterioesclerosis.
- Degradación del ácido hialurónico con lo que se disminuye la cantidad de líquido sinovial en las articulaciones.
- Daño en las proteínas, fragmentación, oxidación de iones metálicos y oxidación de los grupos sulfihidrilo de la cisteína.

Los antioxidantes tienen diferentes mecanismos de acción, unos impiden la formación de los radicales libres y/o especies reactivas (sistema de prevención), otros inhiben la acción de los radicales libres, algunos favorecen la reparación y la reconstitución de las estructuras biológicas dañadas como señala en la tabla 7 (Armenteros, Ventanas, Marcuende y Estevez, 2012, p. 63).

Tabla 7. Mecanismo de actuación de los antioxidantes primarios



Fuente: Armenteros *et al.* (2012).

Donde:

L'	:	Radical libre
AH	:	Antioxidante
LO'	:	Radical alcoxi
LOO'	:	Radical piróxilo

A' : Radical estable

Tradicionalmente los antioxidantes se han dividido en dos grupos: antioxidantes primarios o eliminadores de radicales y antioxidantes secundarios o que previenen la oxidación.

Los antioxidantes primarios son capaces de inhibir la iniciación y propagación de las reacciones de oxidación mediante la inactivación de los radicales libres (L', LO', LOO') que participan en las reacciones oxidativas, convirtiéndolos en productos estables y además son principalmente compuestos fenólicos (AH) que pueden donar un átomo de hidrógeno o un electrón al radical libre convirtiéndolo en un producto estable (LH, LOH, LOOH).

Asimismo, el antioxidante como consecuencia de esta reacción se oxida a su vez formándose un radical estable que no propaga la reacción de oxidación. Los antioxidantes secundarios son compuestos que actúan disminuyendo la formación de radicales libres. Los más utilizados son agentes quelantes de metales como el EDTA (ácido etilen-diaminico-tetracético) o el ácido cítrico (Armenteros *et al.*, 2012).

2.6.2. Clasificación de los antioxidantes

Los antioxidantes se clasifican en enzimáticos o no enzimáticos, también Se clasifican en endógenos (se encuentran en el organismo y son sintetizados por sus células) y exógenos (ingresan a través de la dieta) como se menciona en la tabla 8 (Camacho, 2015).

Tabla 8. Clasificación de los antioxidantes

Exógenos	Endógenos	Cofactores
Vitamina E	Glutación	Cobre
Vitamina C	Coenzima Q	Zinc
Beta-caroteno	Ácido tiótico	Manganeso
Compuestos Fenólicos	Enzimas: Superóxido dismutasa (SOD), Catalasa, Glutación peroxidasa	Hierro
Lycopeno		Selenio

Fuente: Camacho (2015).

De acuerdo a su solubilidad podemos diferenciar entre antioxidantes hidrofóbicos (vitamina E y carotenoides) o hidrofílicos (vitamina C y compuestos fenólicos) como se muestra en la tabla 9:

Tabla 9. Clasificación de antioxidantes de acuerdo a su solubilidad

Hidrofílicos	Hidrofóbicos
Vitamina C (Ácido ascórbico)	Vitamina E (α -tocoferol)
Fenólicos	Carotenoides

Fuente: Armenteros *et al.* (2012).

Antioxidantes enzimáticos se señala en tabla 10, la ubicación celular y su función fisiológica.

Tabla 10. Antioxidantes enzimáticos

Antioxidante	Ubicación celular	Función fisiológica
Superóxido dismutasa	Citoplasma (SOD-1) Mitocondria (SOD-2) Extracelular (SOD-3)	Dismutación de radicales superóxido.
Glutation peroxidasa	Citoplasma y mitocondria	Elimina el peróxido de hidrógeno y los hidroperóxidos orgánicos
Catalasa	Citoplasma y mitocondria	Elimina el peróxido de hidrógeno.

Fuente: Camacho (2015).

2.6.3. Sistemas de defensa antioxidantes

Los antioxidantes son un conjunto de compuestos químicos o productos biológicos que contrarrestan de una manera directa o indirecta los efectos nocivos de los radicales libres u oxidantes, tales como oxidación a lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, alterando las funciones celulares (Camacho, 2015).

El primer grupo se refiere a enzimas que constituyen la primera línea de defensa celular frente al daño oxidante y éstas proporcionan una función protectora frente a los oxidantes biológicos, disminuyendo la concentración intracelular de radicales libres. Entre ellas destacan la catalasa, superóxido dismutasa, glutacion peroxidasa, glucosa-6-fosfato deshidrogenasa, NADPH-quinona oxidoreductasa y el epóxido hidrolasa, entre otras. El grupo no enzimático, como segunda línea de defensa, está constituida por secuestradores de radicales libres residuales que no hayan podido ser neutralizados por las enzimas antioxidantes. Entre ellos podemos citar: glutacion reducida, ácido úrico, transferrina, lactoferrina, taurina, ceruloplasmina, ubiquinol, bilirrubina, carotenoides como la vitamina A, vitamina E, vitamina C, butilhidroxitolueno (BHT), melatonina, entre otros (Camacho, 2015).

2.6.4. Reacción de DPPH frente a compuestos fenólicos

La reacción del DPPH figura 6 es un mecanismo de transferencia de aniones de peróxido que conlleva a una reacción rápida, pero existe una reacción lenta en la cual el átomo de hidrógeno del grupo aromático es atraído lentamente hacia el DPPH (Brand-Williams, 1995).

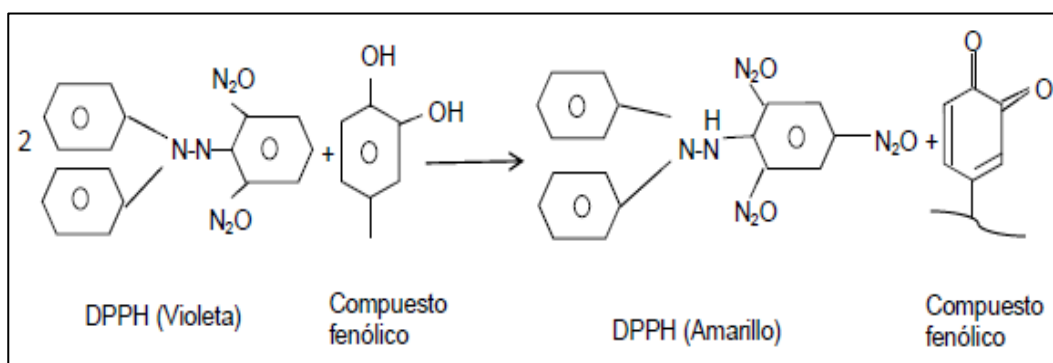


Figura 6. Reacción de DPPH frente a compuestos fenólicos

Fuente: (Gavica, 2016).

El reactivo de DPPH al contacto con la sustancia antioxidante, dona un átomo de hidrógeno y el color violeta desaparece y toma un color amarillo (Gavica (2016) cito como Tovar del Rio, 2013), la concentración de la actividad antioxidante se mide a una longitud de onda de 517 nm, existen diversos estudios que expresa los resultados del ensayo de DPPH en IC50, que es define como la concentración inhibitoria medio máxima, que permite inhibir la concentración de una sustancia en un 50% (Gavica (2016) cito como Deng *et al.*, 2011).

2.6.5. Estrés oxidativo

El estrés oxidativo es causado por un desequilibrio entre la producción de especies reactivas del oxígeno y la capacidad de un sistema biológico de detoxificar rápidamente los reactivos intermedios o reparar el daño resultante. En términos químicos, es un gran aumento en la reducción del potencial celular o una disminución en la capacidad reductora de los pares redox celulares como el glutatión. Un aspecto “destrutivo” del estrés oxidativo es la producción de especies reactivas derivadas del oxígeno

(ERO), que incluyen los radicales libres y los peróxidos. La mitocondria es el principal productor de especies reactivas de oxígeno durante los procesos normales oxidativos del metabolismo, principalmente a través de las reacciones de óxido-reducción que ocurren en los complejos de transferencia de electrones y que tienen al oxígeno como el último aceptor de electrones (Márquez, 2012).

El estrés oxidativo ha sido asociado a la patogénesis de muchas enfermedades humanas. Por esta razón, se estudia de forma intensiva el uso de antioxidantes, especialmente los flavonoides (antocianina) que demuestran su capacidad antioxidante y su contribución significativa en la dieta, así como su efecto en la prevención de diversas enfermedades como cardiovasculares, cancerígenas y neurológicas (Gavita, 2016).

2.6.5.1. Estructura química del oxígeno

El oxígeno (O) en estado natural es un gas incoloro, inodoro e insípido, ligeramente más pesado que el aire (Hill *et al.*, 2000). En la tabla 11 se especifica su forma molecular.

Tabla 11. Forma molecular

Numero atómico	8
valencia	- 2
Peso atómico	16
Forma	Moléculas diatómicas gaseosas

Fuente: Hill *et al.* (2000).

Las principales especies reactivas del oxígeno o sustancias prooxidantes son:

Ozono (O_3), Radical Hidroxilo ($HO\cdot$), Peróxido de Hidrógeno (H_2O_2), Anión Superóxido (O_2^-), Oxígeno Singlete (1O_2), Oxígeno Nítrico (NO), Peróxido (ROO), semiquinona (Q).

2.6.6. Radicales libres

Desde el punto de vista químico los radicales libres son todas aquellas especies químicas, cargadas o no, que en su estructura atómica presentan un electrón desapareado o impar en el orbital externo, dándole una configuración inestable, señalado por el punto situado a la derecha del símbolo. Poseen una estructura birradicálica, son muy reactivos, tienen una vida media corta, por lo que actúan cerca al sitio en que se forman y son difíciles de dosificar (Mariella y Anita, 2011).

Desde el punto de vista molecular son pequeñas moléculas que están presentes al mismo tiempo en todas partes y además difusibles que se producen por diferentes mecanismos entre los que se encuentran la cadena respiratoria mitocondrial, la cadena de transporte de electrones a nivel microsomal y en los cloroplastos, y las reacciones de oxidación, por lo que producen daño celular (oxidativo), al interactuar con las principales biomoléculas del organismo (Zapata, 2016).

No obstante lo expresado anteriormente, los radicales libres del oxígeno tienen una función fisiológica en el organismo como la de participar en la fagocitosis, favorecen la síntesis de colágeno, favorecen la síntesis de prostaglandinas, activan enzimas de la membrana celular, disminuyen la síntesis de catecolaminas por las glándulas suprarrenales, modifican la biomembrana y favorecen la quimiotaxis (Mariella y Anita 2011 como cito en Aguilera *et al.*, 2011).

Alam, Bristi y Rafiquzzaman (2012) menciona el proceso de transformación del radical libre a no radical libre en la figura 7 la

estructura del DPPH antes y después de la reacción con el antioxidante (p.21).

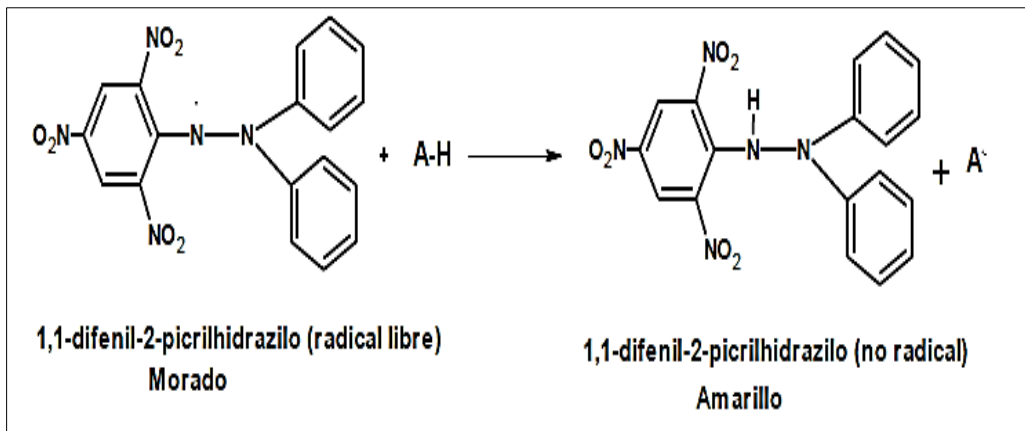


Figura 7. Estructura del DPPH antes y después de la reacción con el antioxidante

Fuente: (Gavica, 2016)

En la tabla 12 menciona los radicales libres más frecuentemente producidos por los sistemas biológicos y sus reacciones que originan.

Tabla 12. Radicales libres más frecuentemente producidos por los sistemas biológicos

A: Radical Libres	B: Reacción más común que los origina
•O ₂ – Radical superóxido	$\text{NADPH} + 2\text{O}_2 \longrightarrow \text{NADPHL}^* + \text{H}^* + 2 \cdot \text{O}_2^-$
•OH – Radical hidroxilo	$\cdot\text{UQ.} + \text{H}_2\text{O}_2 \longrightarrow \text{UQ.} + \cdot\text{OH}^-$
RO ₂ • Radical peróxido	$\text{LH} + \text{RO}_2\cdot \longrightarrow \text{L}\cdot + \text{H}_2\text{O}$
RO• Radical alcóxido o fenóxido	$\text{R}\cdot + \text{O}_2 \longrightarrow \text{RO}\cdot$
L• Radical peróxido lipídica	$\text{LO}_2\cdot + \text{LH} \longrightarrow \text{LOOH} + \text{L}\cdot$
•NO ₂ Radical de óxido nítrico	$\cdot\text{OH} + \text{NO}_2^- \longrightarrow \text{OH}^- + \cdot\text{NO}_2$

Fuente: Dorado *et al.* (2003).

2.6.6.1. Clasificación de los radicales libres del oxígeno

a) Radicales libres inorgánicos o primarios

Se originan por transferencia de electrones sobre el átomo de oxígeno, representan por tanto distintos estados en la reducción de este y se caracterizan por tener una vida media muy corta; estos son el anión superóxido, el radical hidróxilo y el óxido nítrico (Alam *et al.* 2012, p.20).

b) Radicales libres orgánicos o secundarios

Se pueden originar por la transferencia de un electrón de un radical primario a un átomo de un molécula orgánica o por la reacción de 2 radicales primarios entre sí, poseen una vida media un tanto más larga que los primarios; los principales átomos de las biomoléculas son: carbono, nitrógeno, oxígeno y azufre (Alam *et al.* 2012, p. 35).

2.6.6.2. Producción de radicales libres de oxígeno

Se forman de manera ilimitada durante el metabolismo celular normal, por lo que entre las fuentes endógenas de radicales libres del oxígeno se pueden mencionar las cadenas de transporte de electrones mitocondrial y microsomal, reacciones catalizadas por oxidasas y oxigenasas, reacciones de auto oxidación de metales, actividad de células fagocíticas (granulocitos, macrófagos, células endoteliales) y transporte de oxígeno por la hemoglobina (Ferramola y Sancovich, 2006).

2.6.6.3. Daño molecular inducido por radicales libres

Los radicales libres ejercen efectos útiles y nocivos. Entre los útiles se puede mencionar el papel de defensa que cumplen los producidos por los fagocitos en la destrucción de organismos invasores; además, algunas reacciones enzimáticas transcurren posiblemente por mecanismos radicales (caso de la ciclo oxigenasa y tromboxano sintetasa). En cambio, los efectos nocivos son numerosos, por dañar lípidos, proteínas, carbohidratos, entre otros (Zorrilla, 2002).

CAPÍTULO 3

MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución

El presente trabajo de investigación denominado “Caracterización de los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en los frutos silvestres *Citharexylum dentatum* D. Don (Yanali) y *Hesperomeles escalloniifolia* Schltzl (Capachu)” se desarrolló en el laboratorio de cromatografía y espectrofotometría del pabellón de control de calidad de la Universidad Nacional San Antonio Abad del Cusco (UNSAAC), ubicado en la Av. de la Cultura N° 733 Cusco – Perú (Anexos 7 y 8).

3.2. Población y muestra

3.2.1. Población

La población se consideró las frutos silvestres *Citharexylum dentatum* D. Don (Yanali) y *Hesperomeles escalloniifolia* Schltzl (Capachu) las cuales se encuentra en el bosque de Ccalhua, ubicado en el centro poblado de Huancas, distrito de Andarapa, provincia de Andahuaylas, departamento de Apurímac.

3.2.2. Muestra

Se recolectó la cantidad de muestra de los frutos silvestres para el presente trabajo de investigación. La muestra fue de 200g por cada fruto silvestre de Yanali y Capachu

3.2.3. Muestreo

Fue del tipo probabilístico y se utilizó la técnica de muestreo aleatorizado estratificado (MAE).

3.2.4. Unidad de análisis

Se utilizó la muestra para el análisis experimental que comprendió entre 1.196 g a 1.1002g de cada fruto silvestre de Yanali y Capachu para la determinación de antocianinas, fenólicos y capacidad antioxidantes de acuerdo al arreglo experimental planteado.

3.2.5. Operacionalización de variables

Tabla 13. Operacionalización de variables

VARIABLES	OBJETIVOS	DIMENSIONES	INDICADORES
Independientes:		Muestra de	
Frutos silvestres (Capachu y Yanali)	Selección y clasificación de frutos silvestres.	frutos silvestres.	Frutos silvestres
	Determinar los compuestos Fenólicos de los frutos silvestres:	Fenoles totales	EQ - Ac. Galico gr/ 100 g muestra.
Dependientes:	Capachu y Yanali.		
Compuestos bioactivos (Antocianicos y fenólicos).	Determinar los compuestos antocianicos de los frutos silvestres: Capachu y Yanali	Antocianicos totales	EQ-Cya-3G mg/100g muestra.
	Determinar la capacidad antioxidante de los frutos silvestres Capachu y Yanali.	Capacidad antioxidante.	Trolox CI50 mg/g muestra.

3.3. Materiales e instrumentos y equipos.

A continuación en la Tabla 14 se mencionan los equipos utilizados en el presente trabajo de investigación.

Tabla 14. Equipos

Cantidad	Descripción
01	Espectrofotómetro UV-Visible Genesis 20 Thermo Electron.
01	Centrifuga con toporizador digital Centurión Scientific C2006. Velocidad 1420 RPM.
01	Congeladora Ventus.
01	Refrigeradora Whirlpool (Benton Harbor, Michigan).
01	Ultra sonido Memmert GmbH & Co (Schwabach, Alemania).
01	Balanza analítica Ohaus de sensibilidad 0.01g y 200g (Parsippany, New Jersey).
01	Termómetro digital infrarrojo sin contacto, GM 300 rango (-32 a 350°C).
01	pH metro HANNA EDGE HI2020
01	Cámara fotográfica

En la Tabla 15 se muestra materiales utilizados en el presente trabajo de investigación.

Tabla 15. Materiales

Cantidad	Descripción
02	Matraz Erlenmeyer de 100ml, 50 ml
03	Espátula de acero inoxidable mango de madera
01	Rollos de papel aluminio
01	Rotulador
02	Pizetas.
03	Probetas de 50, 100, 250 ml.
02	Fiolas (10 a 100 ml)
02	Soporte Universal metálico
04	Bureta de 25 ml
05	Micropipetas marca BOECO de volúmenes de 0.1-10 μ l; 10-100 μ l (Hamburgo, Alemania).
05	Vasos precipitados de 100ml
35	Tubos de ensayo
02	Mortero con pilón
01	Paquete papel tissue
03	Varilla de vidrio
15	Tubos de ensayo tapa rosca
01	Laminas de papel whatman N° 40
01	Gradilla

A continuación se menciona los reactivos e insumos utilizados en el presente trabajo de investigación en la Tabla 16.

Tabla 16. Reactivos e insumos

CANTIDAD	DESCRIPCIÓN
1 L	Agua destilada
25 g	Carbonato de sodio 20%
1 L	Etanol (70 %)
50ml	Radical libre DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil).
25g	Ácido gálico
150mg	Reactivo Trolox (Ácido-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametil-croman-2- carboxílico)
25ml	Follin Ciocalteu
20ml	Ácido Clorhídrico
15g	Hidróxido de sodio
15ml	Fenolftaleína
10 g	Cloruro de potasio
50 g	Ácido cítrico
50 g	Acetato de sodio

3.4. Tipo de investigación

3.4.1. De acuerdo al fin que persigue

- **Aplicada:** La materia de investigación se logró aplicando conceptos teóricos y científicos pertinentes al tema. También con los resultados obtenidos serán aplicables para la Agroindustria, farmacéutica, y diversos derivados de productos con valor agregado.

3.4.2. De acuerdo a la técnica de contrastación

- **Experimental:** Esta investigación consistió en realizar la experimentación para probar la hipótesis planteada, mediante la medición de las variables en una situación controlada de sus principales condiciones.

3.5. Métodos de análisis preliminares

3.5.1. Materia Prima

La materia prima para la presente investigación fueron frutos silvestres de *Citharexylum dentatum* D. Don (Yanali) y *Hesperomeles escalloniifolia* Schlttd (Capachu)

3.5.2. Clasificación de los frutos silvestres

Las frutas silvestres tuvieron las siguientes características, estado madurez completo, color violeta tinto intensa para yanali, rojo tinto intenso para capachu y sin daño físico ni biológico.

3.6. Metodología experimental

Extracción de muestra

La extracción de la muestra se desarrolló de acuerdo el método propuesto por (Aguilera *et al.*, 2011) con algunas modificaciones. Se usaron como solvente ácido fórmico al 1% con etanol 70%.

Procedimiento

1. Se preparó solución de ácido fórmico al 1%, para ello se pesó 1g de CH_2O_2 en un vaso precipitado, se agregó 10 ml de etanol al 70% más el agua destilada de 10ml.
2. Las muestras de frutos frescos fueron pesados 1.196g para Yanali y 1.1002g para Capachu según sea el caso el estado en que se encuentre la materia prima.
3. Seguidamente se añadió 20 ml de ácido fórmico al 1%, 2.5 ml de etanol al 70% y 75 ml de agua destilada a los frutos respectivos en un mortero para su trituración y extracción sólido líquido.
4. Los pigmentos extraídos fueron transferidos a los tubos de ensayo y posterior se realizó la filtración al vacío en papel Whatman número 40 a un vaso precipitado.
5. Luego el filtrado se concentró en un rotavapor a presión reducida de 100 mbar y 50 °C. Este extracto concentrado se ha centrifugado y aforó a 100ml con ácido fórmico al 1% para evitar la oxidación del

extracto y se preservó a -20°C para posteriores análisis por quintuplicado en todos los casos.

En la siguiente Figura 8 se muestra la metodología utilizada para la extracción de antocianinas para los frutos silvestres de Yanali y Capachu.

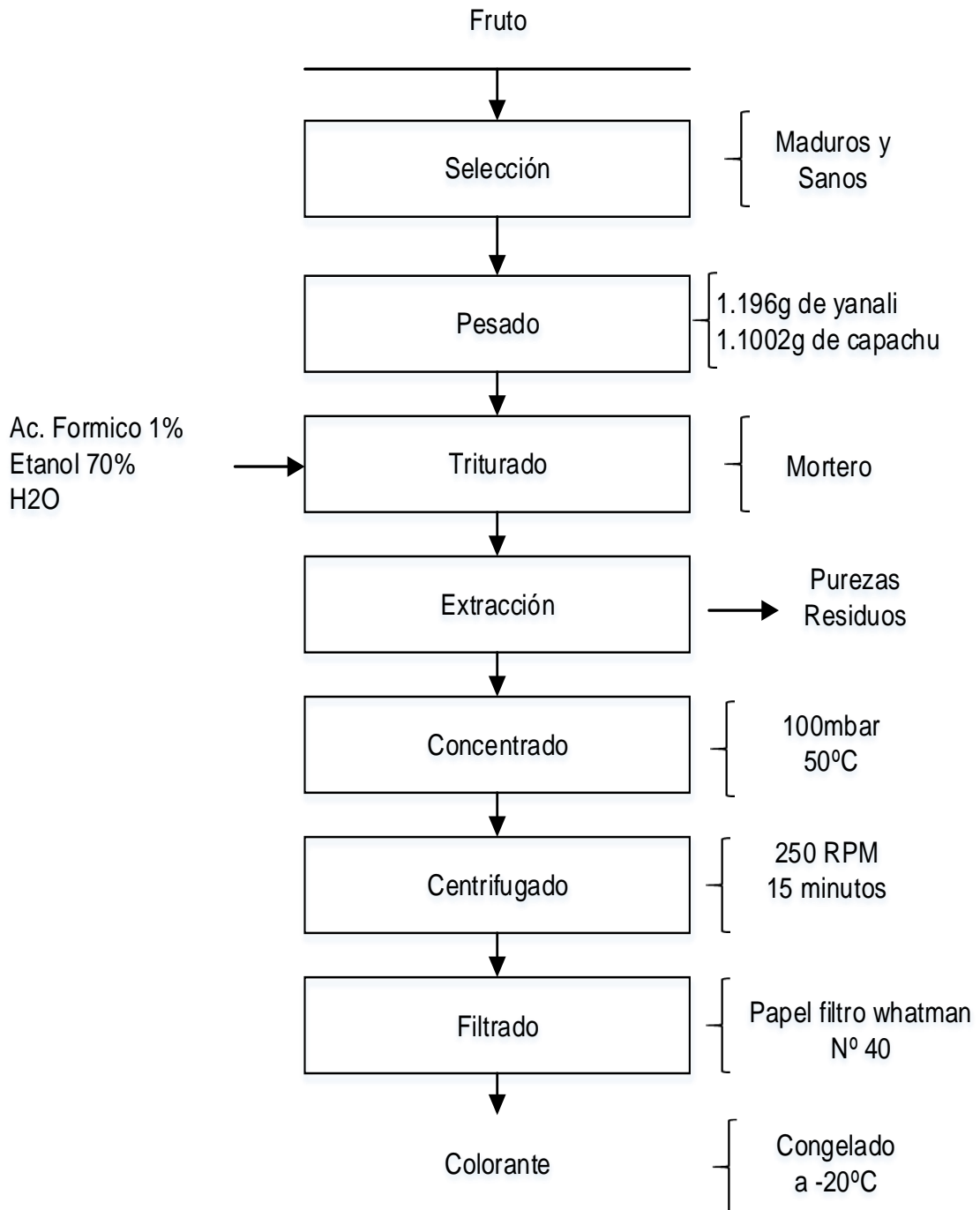


Figura 8. Diagrama de flujo para la extracción de antocianinas

3.6.1. Determinación de compuestos antocianicos

La concentración de antocianina monomérica se cuantifico por el método oficial (AOAC, 2005.02) de pH-diferencial. Para ello, una cantidad de extracto de antocianina se mezcló con solución tampón a pH 1.0, de cloruro de potasio 0.025 M y otro con tampón a pH 4.5 de acetato de sodio 0.4 M. Este es un método espectrofotométrico que se basa en la transformación estructural de las antocianinas con el cambio de pH (pH 1 coloreadas y pH 4.5 incoloras). La diferencia en la absorbancia a la longitud de onda de máxima absorción de 520 nm. Posteriormente y con el propósito de efectuar la corrección de la medida debida a la presencia de compuestos degradados o sustancias interferentes como el hemiacetal y chalcona, se midió la absorbancia a 700 nm.

Procedimiento

1. Se preparó el buffer pH 1,0 (cloruro de potasio 0.025 M): Se pesó 1.86 g de KCl en un vaso precipitado, se agregó agua destilada hasta los 980 ml. el pH fue ajustado a 1.0, con HCl concentrado (toma alrededor de 6.3 ml). Transfirió a una probeta de 1 L y se aforo con agua destilada.
2. También se preparó el buffer pH 4,5 (acetato de sodio 0.4 M): Se pesó 54.43 g de $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ en un vaso precipitado, se agregó 960 ml de agua destilada. Medido el pH se ajustó a 4.5, con HCl concentrado (toma alrededor de 20 ml). Se transfirió a una probeta de 1 L y se aforó con agua destilada.
3. Luego se utilizó las muestras de colorantes extraídos anteriormente, una cantidad de 5ml en tubos de ensayo por quintuplicado, para ambas muestras de yanali y capachu.
4. Se dividieron la cantidad de 0.5 ml de muestra para medir la absorbancia a 520 nm y la otra a 700 nm para ambas muestras por quintuplicados, se añadió el buffer cloruro de potasio la cantidad de 2ml (pH 1.0) y buffer acetato de sodio la cantidad de 2ml (pH 4.5) respectivamente, diluyendo cada uno con el factor de dilución

previamente determinado. Dejando equilibrar estas diluciones durante 30 minutos.

5. Se determinó el factor de dilución apropiado para cada una de las mezclas mediante la dilución con el buffer de cloruro de potasio, pH 1, hasta que la absorbancia de cada una de las muestras a la máxima longitud de onda para antocianinas (520 nm) se encuentran dentro del rango 0.2 a 1.4 AU para cumplir la ley de Beer. Para determinar el factor de dilución (FD) se dividió el volumen final de la muestra a leer en el espectrofotómetro entre el volumen inicial que se tomó del extracto.
6. Luego de ello, se midió la absorbancia en el espectrofotómetro para cada dilución final a las longitudes de onda antes indicadas usando como blanco agua destilada.
7. Se calculó el cambio de absorbancia de la muestra diluida utilizando la siguiente ecuación 1:

$$Abs = (A_{\lambda_{vis-max}} - A_{700})_{pH(1)} - (A_{\lambda_{vis-max}} - A_{700})_{pH(4.5)} \dots \dots \dots 1$$

Donde:

$A_{\lambda_{vis-max}}$ = Lectura del pico más alto a pH (1.0) y pH (4.5).

A_{700} = Lectura a 700 nm, para pH (1.0) y pH (4.5).

El promedio de las mediciones se realizaron por quintuplicado y ecuación para calcular la concentración de pigmentos monoméricas, se empleó la siguiente ecuación 2 expresada como miligramos como equivalentes de cianidina-3- glucósido presente en 100 gramos de muestra (Anexo 9):

$$Am \left(\frac{\text{mg Cianidina3 - Glucosido}}{100g} \right) = \left(\frac{Abs}{\epsilon C} \right) * MW * DF * \left(\frac{v}{p} \right) \dots \dots \dots 2$$

Donde:

Am : Antocianina manométricas

Abs : Absorbancia

- £ : Coeficiente de extinción molar de cianidina 3- glucósido (26900 L*cm¹*mol⁻¹).
- MW : Peso molecular de cianidina 3- glucósido (449,2 g/mol)
- DF : Factor de dilución
- V : Volumen final en l
- P : Peso de la muestra en g
- C : Grosor de la cubeta (1cm)

3.6.2. Determinación de compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos se llevaron a cabo en los extractos anteriormente explicados, aplicando el método Singleton y Pugliese (con algunas modificaciones). Este método consiste en la oxidación de los grupos fenólicos por los ácidos fosfomolibdicos y fosfotúngsticos, este reactivo tiene una coloración amarilla que en presencia de fenol se forma un complejo verde azulado que se mide a 765 nm, la cual es directamente proporcional al contenido de fenoles (Singleton *et al.*, 1999) y (Pugliese, 2013).

Procedimiento

1. Se utilizó 10ml de muestra congelado de extractos anteriormente explicados por quintuplicado de ambas muestras de yanali y capachu.
2. Se preparó una disolución de carbonato de sodio al 20 % con 100 g de carbonato de sodio en un matraz aforado de 50 ml, luego se disolvió en 20 ml de agua luego se llevó al ultrasonido hasta su completa disolución, finalmente se aforo su volumen de con agua destilada.
3. Utilizo la dilución 1N del reactivo folin ciocalteu de una dilución 1:2 del reactivo comercial (2N) en agua destilada; y el reactivo se protegió de la luz y se refrigero hasta su uso.
4. Se preparó una dilución patrón de ácido gálico de 0.1 g/l, con 5 g de ácido gálico, luego se colocó a una fiola aforado de 25 ml y con aforo de agua destilada luego se preparó una dilución 3 ml con agua destilada y 3ml de metanol.
5. **Curva de calibración:** Se utilizó la solución de ácido gálico y se realizó diluciones a diferentes concentraciones de 1, 2, 3, 4 y 5 m/ll. La muestra

en blanco se preparó sin ácido gálico; con 0.100ml de Folin Ciocalteau a 1N más 0.200ml de carbonato de sodio al 20 % luego se aforo a un volumen final de 1.700ml con agua destilada y las diferentes concentraciones se preparó según la Tabla 17, La curva de calibración se utilizara solo como referencia.

Tabla 17. Datos para la curva de calibración

concentración mg/l	Acido gálico (ml)	Agua destilada (ml)	Folin Ciocalteau (ml)	Solución Na ₂ CO ₃ (ml)
Blanco	0.000	1.700	0.100	0.200
2	0.025	1.675	0.100	0.200
3	0.050	1.650	0.100	0.200
4	0.100	1.600	0.100	0.200
5	0.200	1.500	0.100	0.200

6. Luego de 30 minutos de reposo, se realizó la lectura de absorbancia en el espectrofotómetro UV Visible a una longitud de onda a 765 nm.
7. Se utilizó la ecuación 3 para la curva estándar de cuantificación de los compuestos fenólicos totales es:

$$Y = a \text{ Abs} + b \dots\dots\dots 3$$

Y: miligramos (mg) de ácido gálico equivalente / ml

Abs: Absorbancia a 765 nm.

La ecuación de la curva es: $y = 0.0345x - 0.0033$, $R^2 = 0.9995$, como se ve en la gráfica (Anexo 1).

8. Finalmente se determinó el contenido de fenoles totales, se mezcló extracto de muestra y reactivo Folin Ciocalteau. Posteriormente se dejó por 30 minutos en oscuridad. Se utilizó como blanco el etanol acuoso (25%) para medir la absorbancia a 765 nm.

Los resultados obtenidos fue realizado por quintuplicado, la cuantificación se basó utilizando un estándar Acido Gálico, expresa los gramos en

equivalentes de Acido gálico que están presente en 100 g de muestra. Los compuestos fenólicos se calcularon mediante la siguiente ecuación 4:

$$C.F.T = \left(\frac{Y * D * V * 100}{P} \right) \dots \dots \dots 4$$

Donde:

C.F.T : Compuestos Fenólicos en Miligramos de ácido gálico equivalente (AGE) por cada 100 g de fruta fresca.

Y : miligramos (mg) de ácido gálico equivalente/ ml

D : Dilución

V : Volumen de muestra

P : Peso de la muestra en gramos

3.6.3. Determinación de la capacidad antioxidante

La capacidad antioxidante se llevó a cabo en los extractos anteriormente explicados, aplicando el método propuesto Brand-Williams y Molyneux (con algunas modificaciones) el cual se basa en la Inhibición del radical DPPH, lo que genera una decoloración del radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) (Brand-Williams, 1995) y (Molyneux, 2004).

Procedimiento

1. Se utilizó 5 ml de muestra congelado de extractos anteriormente explicados por quintuplicado de ambas muestras de yanali y capachu.
2. Se preparó una curva de calibración de 0,2.5, 5, 10 y 20 mg/l de estándar de trolox en etanol absoluto y sus respectivos blancos con etanol, se mezclaron con 1.5 ml de DPPH.
3. Luego se dejó en reposo, en oscuridad durante 30 minutos, se procedió a hacer las lecturas de las absorbancias con un espectrofotómetro a 517nm.
4. Se realizó ensayo de captación de radicales DPPH con la solución preparada de trolox, para luego realizar diluciones con diferentes concentraciones, de acuerdo a la Tabla 18. Para el blanco se tomaron 0.025, 0.05, 0.10 y 0.20 ml y se mezcló con 1.50 ml de DPPH de la

misma forma como se preparó el estándar, se procedió a registrar las absorbancias. Las lecturas para el estándar se realizaron para ambos muestras por quintuplicado.

Tabla 18. Datos para la elaboración de la curva estándar de solución Trolox

Concentración μM	Solución de trolox (ml)	Etanol (ml)	DPPH (ml)
0	0.000	0.025	1.50
2	0.025	0.000	1.50
0	0.000	0.050	1.50
3	0.050	0.000	1.50
0	0.000	0.100	1.50
4	0.100	0.000	1.50
0	0.000	0.200	1.50
5	0.200	0.000	1.50

5. Se halló la inhibición al 50%, de acuerdo a la ecuación 5

$$\% \text{ de Inhibición} = 1 - \left(\frac{\text{Abs Muestra}}{\text{Abs DPPH}} \right) \times 100 \dots \dots \dots 5$$

Los resultados obtenidos en la determinación de actividad antioxidante fue realizado por quintuplicado, expresa el Coeficiente de Inhibición al 50% (CI50 o IC50) en equivalentes Trolox que están presente en 100 g de muestra.

6. Se utilizó la ecuación para determinar la curva estándar para la capacidad antioxidante:

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

Y: miligramos (mg) de trolox / ml

Abs: Absorbancia a 517 nm.

La ecuación de curva es: $y = 0.0755x + 0.0205$, $R^2 = 0.9927$, como se ve en la gráfica (Anexo 1).

7. Posteriormente al extracto de muestra de 0.03ml, se le adicionó 0.05ml de la solución de DPPH por quintuplicado igual para todos. El blanco fue etanol en lugar de la solución antioxidante. Se dejó reaccionar la muestra con la solución diluida, los tubos de ensayos estuvieron cerrados y en oscuridad por un tiempo de 30 minutos. Luego de ello se realizó las lecturas en espectrofotómetro a 517 nm hasta no observar cambios significativos en la absorbancia a través del tiempo. La capacidad antioxidante se calculó mediante la siguiente ecuación 6:

$$\frac{\mu\text{gTrolox Eq} *}{\text{g muestra fresca}} = \left((\text{bX}) * (0.25) * \left(\frac{\text{ml}}{\text{p}} \right) * (\text{FD}) \right) \dots \dots \dots 6$$

Donde:

bX : Se obtuviera mediante la ecuación de la curva de calibración de Trolox. Siendo X: La variación de las absorbancias Δ (Abs blanco – Abs muestra).

0.25 : Se obtuviera del peso molecular del Trolox para expresar en unidades μg que es igual a un micromolar Trolox.

MI : Volumen de la muestra (ml del extracto)

P : Peso de la muestra en gramos

PD : Es el factor de dilución, que se obtuviera dividiendo el volumen final de la muestra para la lectura de absorbancia entre el volumen inicial.

Para el presente investigación se desarrolló de la siguiente manera, con 03 tratamientos; compuestos antocianicos (T1), compuestos fenólicos (T2) y capacidad antioxidante (T3) con cinco repeticiones (R) por tratamientos para cada una de las muestras de los frutos silvestres de yanali y capachu.

En la Figura 9 se observa la metodología experimental utilizada para la caracterización de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante.

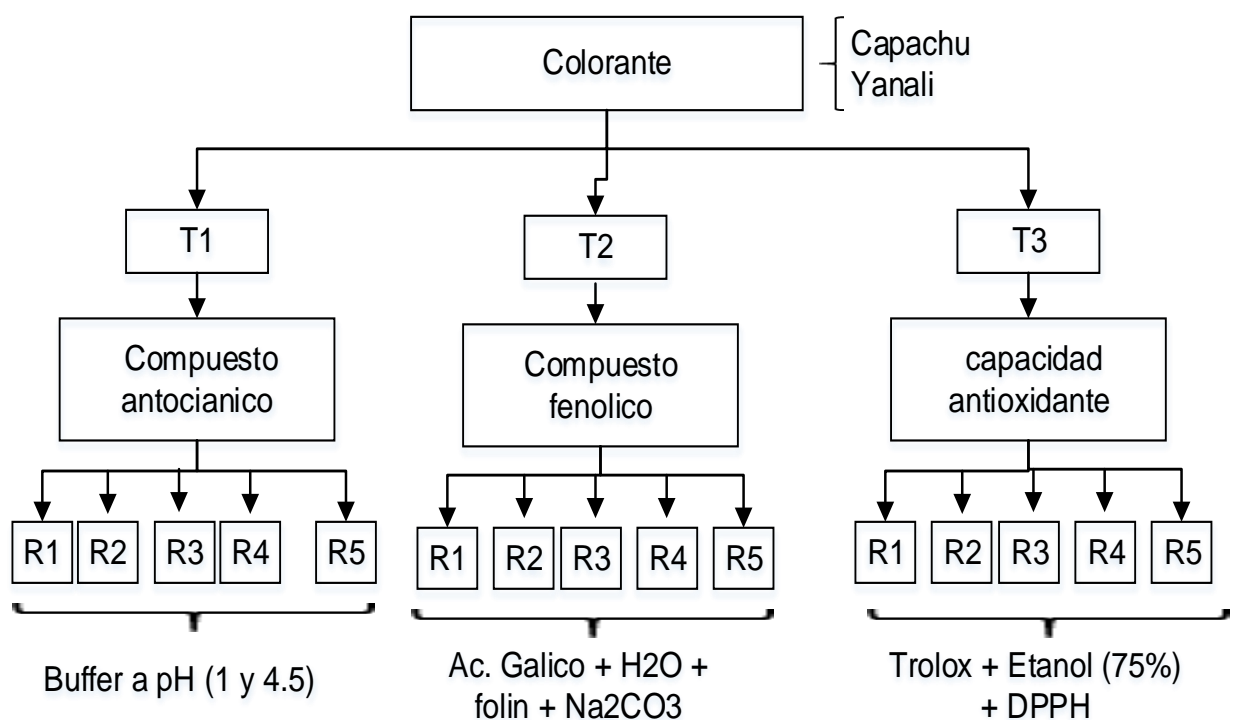


Figura 9. Metodología experimental

CAPÍTULO 4

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Compuestos antociánicos

En la Tabla 19 se aprecia los resultados del contenido compuestos antocianicos totales de los frutos silvestres Yanali y Capachu en promedio de cinco repeticiones como se aprecian en (Anexo 3). El contenido total de antocianina en mayor le correspondió al fruto silvestre Yanali 215.26 (mg cianidina-3-glucosido/100g) y menor correspondió al fruto silvestre Capachu 207.98 (mg cianidina-3-glucosido/100g).

Tabla 19. Resultados del contenido de antocianinas totales de los frutos silvestres

Frutos Silvestres	Contenido de antocianicos totales (mg cianidina-3-glucosido/ 100g) (\bar{X})
Capachu	207.98
Yanali	215.26

\bar{X} : Promedio de 5 repeticiones

En la Figura 10 se observa en grafica el contenido de los compuestos antocianicos de los frutos silvestres Yanali y Capachu.

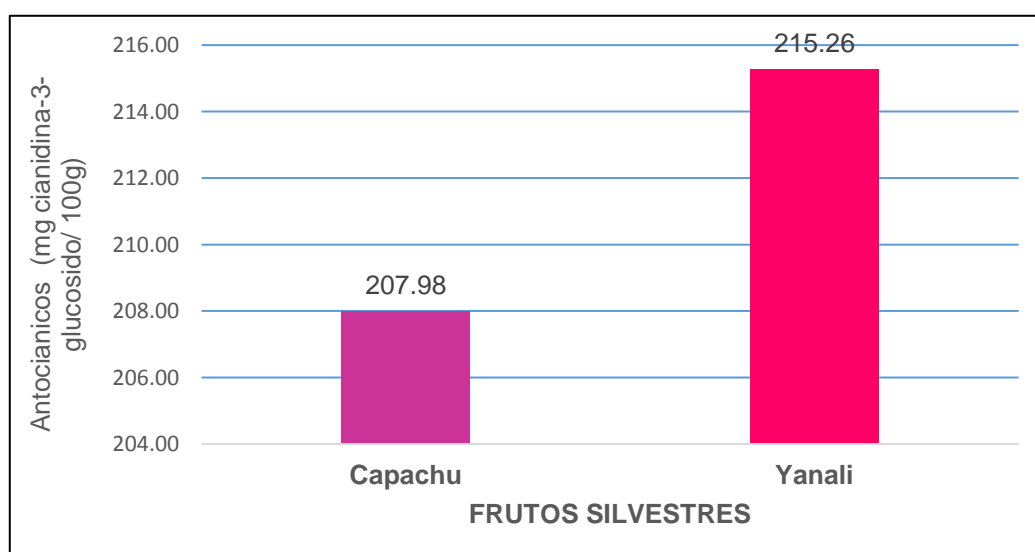


Figura 10. Antociánicos totales de los frutos silvestres

Los resultados obtenidos son menores que los de Huayhua (2008) que reportó 351.618 mg antocianina / 100g de maíz morado, fue menor al reportado, esta diferencia se puede atribuirse debido a que en el presente estudio se determinó en fruto fresco, mientras que Huayhua (2008) reportó los contenidos antociánicos en maíz deshidratados y Salas (2017) obtuvo antocianinas totales en frutos silvestres fueron Frambuesa silvestre 2013.967, Machamacha 1033.184, Alaybilí 914.875 y Condorpausan 862.006 (mg cianidina-3-glucosido/100 g fruto fresco, fue mucho mayor al reportado, esta diferencia se puede atribuirse debido a que en el presente estudio se determinó en fruto fresco, mientras que Salas (2017) reportó los contenidos antociánicos en frutos diferentes que el estudiado. Sin embargo la diferencia según Huayhua (2008) es por la intervención de factores como clima, lugar de procedencia y el tipo de fruta. Por otro lado Aguilera *et al.*, (2011) indica que los contenidos antocianinas también son variables según el tipo de estructura de los frutos que presenta y factores durante la extracción de pigmentos como la temperatura y luz.

Por otra parte también otros autores reportan resultados inferiores al presente trabajo como Llimpe (2017) reportó 10.532 para maduro y 0.521 para pinton en (mg de Cianidina/g de muestra) del fruto de machamacha. Asimismo Price *et al.* (2017) reportó en arándano 62.93 (mg cianidina-3-glucosido/100 g) para Huacho y 75.64 (mg cianidina-3-glucosido/100 g) para Ancash. De igual modo Lillo *et al.*, (2016) obtuvieron en cuatro berries nativos y arándano, las antocianinas totales para *V. corymbosum* (0,20), *L. apiculata* (0,18), *B. darwinii* (0,043), *A. chilensis* (3,41), *U. molinae* (0,076) expresados en (mg cianidina 3- glucósido/ 100 g). De igual forma Fabiani *et al.*, (2013) en arándano obtuvieron antocianicos totales de 86,1 mg /100 g fruto base húmeda. También Márquez (2011) obtuvo en los frutos rojos de 39.92 para *Prunus domestica* L., 30.09 para *Ficus carica* L. y 2128.3 para *Vitis vinifera* L. c.v. "Red Globe" en mg de cianidina 3-glucósido/100g de antocianinas. Asimismo Martínez *et al.*, (2011) reportó antocianinas totales en zarzamora 680 mg de cianidina-3-glucósido en

100 g de materia seca. Por ultimo Villanueva (2003) obtuvo en la cascara de Camu camu antocianina de 46.42 mg Cianidina-3-glucosido /L. Como se reflejó los resultados en comparación a los diferentes valores reportados por otros autores, los dos frutos silvestres en estudio fueron mucho mayor y representaron con mayor contenido de antocianinas totales.

4.2. Compuestos fenólicos

En la Tabla 20 se aprecia los resultados del contenido de compuestos fenólicos totales de los frutos silvestres Yanali y Capachu. Dado que se utilizó como estándar de fenoles el ácido gálico, en promedio de cinco repeticiones como se aprecian en (Anexo 4). El contenido total de fenólicos en mayor correspondió al fruto silvestre Yanali 3.45 (EQ - Ac. Gálico g/ 100 g) y menor corresponde al fruto silvestre de Capachu 2.25 (EQ - Ac. Gálico g/ 100g).

Tabla 20. Resultados del contenido de fenólicos totales de los frutos silvestres

Frutos Silvestres	EQ - Ac. Gálico g/ 100 g (\bar{X})
Capachu	2.25
Yanali	3.45

\bar{X} : Promedio de 5 repeticiones

En la Figura 11 se observa el contenido de los compuestos fenólicos totales de los frutos silvestres Yanali y Capachu en grafica.

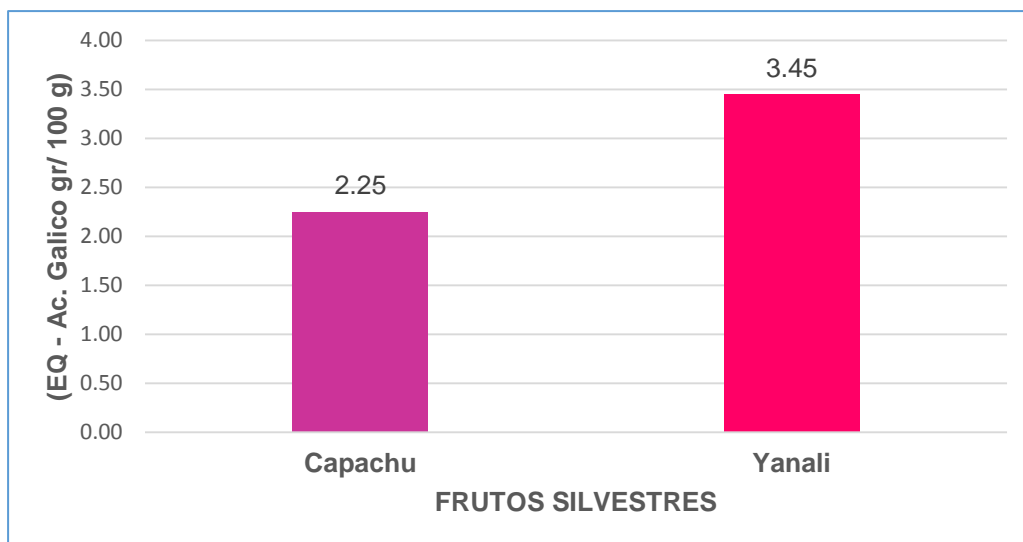


Figura 11. Fenólicos totales de los frutos silvestres

Los resultados obtenidos de Capachu se asemejan a Martínez *et al.*, (2011) quienes reportaron en zarzamora contenido de polifenoles totales 2923 mg/g. Por otro lado Salas (2017) obtuvo en Frambuesa silvestre 5370.42, Machamacha 5187.77, Alaybilí 4817.80 y Condorpausan 4707.21 (mg AGE /100 g fruto fresco) mayor que obtenido de los dos frutos, esta diferencia puede atribuirse a las diferentes condiciones del índice de madurez de los frutos Villanueva (2003), también Aguilera *et al.*, (2011) indica que los contenidos fenólicos también son variables según el tipo de estructura de los frutas que presenta y el equipo de análisis de las muestras utilizados.

Por otra parte también otros autores reportan resultados inferiores al obtenido como Huayhua (2008) obtuvo 613,060 mg ac, clorogenico/ 100 g de la muestra en maíz. De la misma manera reportaron en arandano Price *et al.*, (2017) de 1183.99 (mg ácido gálico equivalente/100 g) de Huacho y 1428.62 (mg ácido gálico equivalente/100 g) para Coris (Ancash). Asimismo Aldaba *et al.*, (2016) obtuvieron 1681mg de ácido gálico/100g de fruta fresca de arándano azul. Por otro lado también Lillo *et al.*, (2016) reportaron valores para los polifenoles totales *V. corymbosum* (139), *L. apiculata* (293), *B. darwinii* (226), *A. chilensis* (417), *U. molinae* (288) expresados en (mg AGE /100 g). De igual forma Aparcana y Villareal (2014) reportaron en aguaymanto de diferentes

lugares del Perú como Áncash 12.79, Junín 14.44, Huánuco 14.93 y Cajamarca 10.6 en mg/Eq. ácido gálico / g extracto seco. Asimismo Fabiani *et al.*, (2013) obtuvieron 167,5 mg EAG/100 g fruto base Húmeda de arándano. De la misma manera Repo y Encina (2008) obtuvieron en frutas nativas de papaya de monte 167mg, aguaymanto 154mg, tomate de árbol 130mg y finalmente la tuna roja 52 mg de equivalente ácido gálico/100 g muestra. También Villanueva (2003) obtuvo en cascara de camu camu 7,70 mg Ac. Gálico/g muestra. Por lo que se atribuye que los resultados de los dos frutos silvestres en estudio fueron clasificados como los frutos con alto contenido de fenoles totales.

4.3. Capacidad antioxidante

En la Tabla 21 se observa el resultado de la capacidad antioxidante de los frutos silvestres Yanali y Capachu. Dado que se utilizó como estándar la curva de calibración de Trolox, los resultados están expresados como Trolox CI50 mg/g muestra del fruto fresco en promedio de cinco repeticiones como se aprecian en el (Anexo 5). La capacidad antioxidante mayor le correspondió al fruto de Capachu 143.602 (Trolox CI50 mg/g) literalmente y en menor el fruto de Yanali 80.219 (Trolox CI50 mg/g) literalmente.

Tabla 21. Resultados del contenido de capacidad antioxidante de los frutos silvestres

Frutos Silvestres	Trolox CI50 mg/g muestra (\bar{X})
Capachu	143.602
Yanali	80.219

\bar{X} : Promedio de 5 repeticiones

En la Figura 12 se observa el contenido de los compuestos fenólicos totales de los frutos silvestres Yanali y Capachu en gráfica.

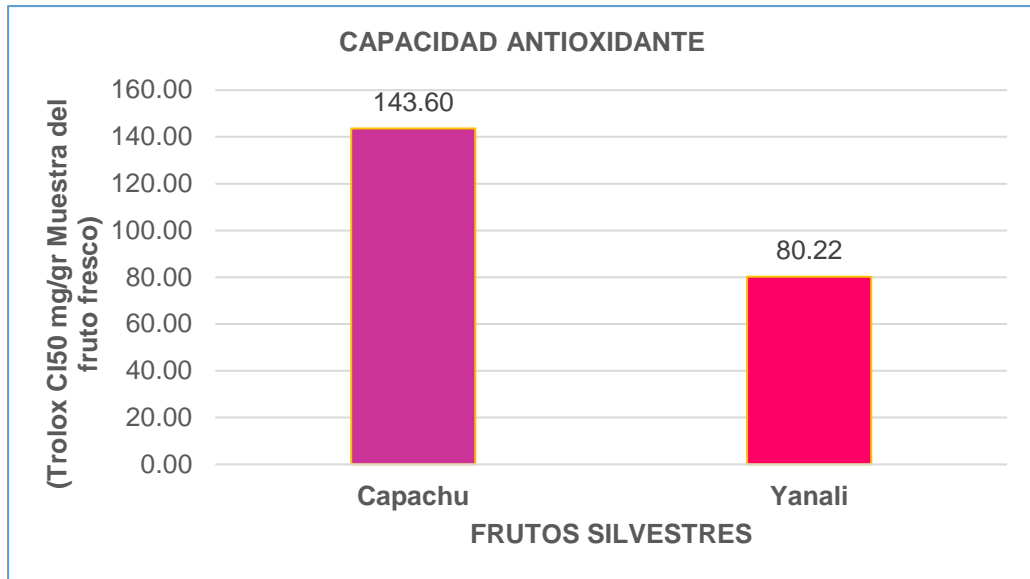


Figura 12. Capacidad antioxidante de los frutos silvestres

El resultado con respecto a la capacidad antioxidante de fruto silvestre de Capachu se asemejan con el reporte de Salas (2017) que obtuvo para Frambuesa silvestre 25010.87, Machamacha 23328.90, Alaybilí 22902.90 y Condorpausan 21924.65 ($\mu\text{g Eq}^* \text{Trolox} / 100 \text{ g fruto fresco}$), sin embargo el fruto de silvestre de Yanali es mucho mayor que Salas (2017), esta atribuí que el fruto es diferente a lo estudiado. Asimismo también el obtenido de Yanali se asemeja a Fabiani *et al.*, (2013) quienes obtuvieron la capacidad antioxidante en arándano de 6452 $\mu\text{g Eq Trolox} / \text{g muestra fresco}$. De la misma manera se compararon al reportes de (Aldaba *et al.*, 2016) la capacidad antioxidante del arándano azul (*Vaccinium corymbosum* L.) 23200 $\mu\text{g Eq}^* \text{Trolox} / 100 \text{ g de fruta fresca}$, éste fue similar a la capacidad antioxidante del fruto Capachu.

Por otra parte también otros autores reportan resultados inferiores al obtenido como Huayhua (2008) reportó para la capacidad antioxidante 1241, 407 $\mu\text{g. Eq. Trolox} / 100 \text{ g de muestra}$ en maíz morado. Por otro lado también Llimpe (2017) reportó para el contenido de antioxidante con 569.3637 Umol TE/g muestra en machamacha. Asimismo los reportaron por (Lillo, *et al.*, 2016) quien determinó cuatro berries nativos y el arándano que mostraron resultados de la capacidad antioxidante de la siguiente manera: los frutos de arandano (*V. corymbosum*) 2640 y los nativos como

(*L. apiculata*) 4930 , (*B. darwinii*) 5220, (*A. chilensis*) 7770 , (*U. molinae*) 5280 expresados en ($\mu\text{g Eq}^* \text{Trolox} / 100 \text{ g}$ de fruto fresco) esto demostró que los frutos nativos tienen mayor capacidad antioxidante que el de arándano, mientras Aparcana y Villareal (2014) reportaron capacidad antioxidantes en los frutos de aguaymanto de 1,86; 2,04 ; 2,24 y 2,36 mg/mL de diferentes lugares geográficos del Perú. De la misma manera Repo y Encina (2008) obtuvieron la capacidad antioxidante para papaya nativa de monte 1936mg, tomate de árbol 853 mg, aguaymanto 729g y finalmente la tuna roja 482mg equivalente trolox/g de tejido. Las cuales muestran de esta manera diferentes autores reportaron los resultados de la capacidad antioxidante para los frutos de aguaymanto, papaya nativa, tomate, arándanos y otros berries que realizando las comparaciones correspondientes con los resultados de la presente investigación, la capacidad antioxidante de los dos frutos silvestres presentaron valores de más altos.

CONCLUSIONES

Los frutos silvestres en cuanto el contenido de compuestos antocianicos totales llego a obtener un valor alto que resalto, fue del fruto silvestre *Citharexylum dentatum* D. Don Yanali con 215.26 (mg cianidina-3-glucosido/ 100g muestra de fruto fresca) y en menor fruto silvestre *Hesperomeles escalloniifolia* Schltzl Capachu con 207.98 (mg cianidina-3-glucosido/ 100g muestra de fruto fresca).

El contenido de compuesto fenólicos totales de los frutos silvestres con mayor contenido correspondió a *Citharexylum dentatum* D. Don Yanali con 3.44 (EQ-Ac. gálico g/100g muestra de fruto fresco) y en menor contenido *Hesperomeles escalloniifolia* Schltzl Capachu con 2.25 (EQ-Ac. Gálico gr/100g muestra de fruto fresco).

Las dos frutos silvestres de la presente investigación, demostraron ser una fuente importante de antioxidante, especialmente el fruto silvestre que mostro con mayor contenido de la capacidad antioxidante fue *Citharexylum dentatum* D. Don Yanali con 80.219 (Trolox CI50 mg/g muestra de fruto fresca) y menor fruto *Hesperomeles escalloniifolia* Schltzl Capachu con 143.602 (Trolox CI50 mg/gr muestra de fruto fresca).

RECOMENDACIONES

- Estudiar la estabilidad del compuesto antocianico extraído del fruto silvestre *Citharexylum dentatum* D. Don Yanali para la aplicación en la industria alimentaria.
- Realizar el estudio de análisis proximal, bromatológico y microbiológico de estos frutos silvestres *Hesperomeles escalloniifolia* Schltzl Capachu y *Citharexylum dentatum* D. Don Yanali para el uso en la Agroindustria.
- Realizar el estudio de caracterización de los compuestos bioactivos generales en los frutos silvestres *Citharexylum dentatum* D. Don Yanali y *Hesperomeles escalloniifolia* Schltzl Capachu, cual en la presente investigación no se pudo caracterizar todos los compuestos a razón que tiene un costo de análisis.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Aguilera Ortiz, M., Reza Vargas, M. C., Chew Madinaveltia, R. G. y Meza Velázquez, J. A. (2011), Propiedades funcionales de las antocianinas. (Revista de ciencias biológicas y de salud). Facultad de ciencias químicas. Universidad Juarez del Estado de Durango, México.
- AOAC Método Oficial 2005.02 total pigmento antocianinas monomérica contenido de jugos de frutas, bebidas, colorantes naturales, y Método Vinos pH diferencial.
- Aldaba Marquez, J., Concha Herrera, V., Enciso Muñoz, V. C. y Carranza Concha, J. (2016). Funcionalidad del arándano azul (*Vaccinium corymbosum* L.). Investigación y Desarrollo en Ciencia y Tecnología de Alimentos. Universidad Autónoma de Zacatecas Francisco García Salinas. Zacatecas, México.
- Armenteros, M., Ventanas, S., Morcuende, D., Estevez, M. y Ventanas, J. (2012). Empleo de antioxidante natural en productos cárnicos. Artículo Eurocarne (207). Facultad de veterinaria. Universidad Extremadura, México.
- Aparcana Aaturima, I.M. y Villareal Imca, L.S. (2014). Evaluación de la capacidad antioxidante de los extractos etanólicos del fruto de *Physalis peruviana* "aguaymanto" de diferentes lugares geográficos del Perú. Tesis de grado. Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional Mayor San Marcos, Lima, Perú.
- Alam M., N., Bristi N., J. y Rafiquzzaman M. (2012). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. Saudi Pharmaceutical Journal; 21: 143 - 152.

- Badui Dergal, S. (2006). Química de los alimentos. Edición Cuarta. Editorial: Pearson educación, México.
- Brand Williams, W., Cuvelier, M.E. y Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Received March 11. France.
- Burin, B., Falcao, L. y Valdemoro, L. (2010). Color, contenido fenólico y actividad antioxidante del jugo de uva. Cienc. Tecnol. Aliment.
- Barragán Valbuena, P. A. (2011). Potencial saludable de sustancias bioactivos de algunas verduras. Tesis de grado para optar Nutricionista. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá Colombia.
- Cárdenas Baquero, G., Arrazola Paternina, G. y Villalba Cadavid, M. (2015). Frutas tropicales: fuente de compuestos bioactivos naturales en la industria de alimentos. Ingenium, vol. 17, n.º 33, pp. 29-40.
- Camacho Cervantes, R. M. (2015). Evaluación de la actividad antioxidante e irritabilidad dérmica del aceite de unguirahui (*oenocarpus bataua*) para uso cosmético.
- Delgado Vargas, F., Jiménez A., R. y Paredes López, O. (2000). Natural pigments: carotenoids, anthocyanins, betalains-characteristics, biosynthesis, processing and stability. Food Science and Nutrition.
- Dionisio Ponce, S. J. (2017). Efecto del deshidratado osmótico en la estabilidad de antocianinas del saúco (*Sambucus peruviana HBK*) a diferentes temperaturas y concentraciones de jarabe de sacarosa. Tesis para optar de ingeniero Agroindustrial. Facultad de ingeniería en industrias alimentarias. Universidad Nacional del Centro del Perú. Huancayo, Perú.

- Dorado Martínez, C., Rugerio Vargas, C. y Rivas Arancibia, S. (2003). Estrés oxidativo y neurodegeneración. Rev. Fac. Med. UNAM Vol.46 No.6.
- Durst, R. W., & Wrolstad, R. E. (2001). Separation and Characterization of Anthocyanins by HPLC Current protocols in food analytical chemistry: John Wiley & Sons, Inc.
- Dueñas Linares, H. H. (2018). Especialista Forestal en Identificación Taxonómica de especies de flora silvestre, con Resolución Directoral N° 054-2017-SERFOR/DGGSPFFS-DGSPF, con Código de Licencia LC-ES-2017-009; del Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre-SERFOR. Puerto Maldonado. Perú.
- Fabiani, G. L., Pérez, E. E., Corral, L., Salguero, A. R., Gonzales, M., Teresshuk, M.L. y Boggetti, H. (2013). Evaluación del contenido de antioxidantes en extractos convencionales y supercríticos de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.). Investigación en facultad de ingeniería del NOA N° 1853-7871. Facultad de Agronomía y Agroindustrias. Universidad Nacional de Santiago del Estero.
- Fennema Ower, R. (2000). Química de los alimentos. Edición segunda. Editorial Acribia, S.A. Zaragoza España.
- Ferramola, A. y Sancovich, H. (2006). Interacciones de las radiaciones electromagnéticas y especies reactivas del oxígeno sobre la piel. Revista argentino. Dermatol.
- Gavica Contreras, Wendy (2016). Validación de la determinación de los ácidos fenólicos presente en la infusión de cascarilla de la semilla de cacao (*theobroma cacao*) por el equipo de electroforesis capilar. Tesis para optar el grado de química Farmaceutico. Universidad de Guayaquil, Ecuador.

- Garzo Astrid, G. (2008). Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos. Acta biológica Colombiana vol.13. Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, Colombia.
- Gutiérrez pulido, H. y De la vara Salazar, R. (2012). Análisis y diseño de experimentos. 3ra edición. México, Editorial F.T. S. A. de C. V.
- Giusti Monica, M. y Wrolstad E., R. (2001). Characterization and measurement with UV-visible spectroscopy”, Current protocols in food analytical chemistry, New York.
- Gómez Romero, M. (2010). Desarrollo y evaluación de estrategias analíticas para la caracterización de compuestos bioactivos en alimentos funcionales. Tesis de doctor. Facultad de Ciencias química analítica. Universidad de Granada, Granada.
- Huayhua, T. (2008) “Antocianinas fenoles totales y actividad antioxidante en la elaboración de una bebida refrescante a partir del extracto de tusa de maíz morado (Zea mays L.)” tesis para optar el título profesional de Ingeniero de Industrial Alimentarias, Facultad de Ingeniería Metalurgia, Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho.
- Hagiwara, A. Yoshino, H. Ichiharam, T. Kawabe, M. Tamanos, S. y Aoki, H. (2002). Prevention by natural food anthocyanins, purple sweet potato color and red cabbage color, of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo [4,5-B] pyridine (phip)-associated colorectal carcinogenesis in rats. Journal of Toxicology Science.
- Haytowitz, D. B., & Bhagwat, S. (2010). USDA database for the oxygen radical absorbance capacity (ORAC) of selected foods, Release 2. US Department of Agriculture.
- Hill, et al., (2000). Química para el nuevo milenio. 8va ed. Prentice Hall Hispanoamericana, Naucalpan de Juárez, México.

- Ibáñez Vásquez, L.A. (2008). Evaluación de la capacidad antioxidante de plantas medicinales peruanas nativas e introducidas. *Revista Académico Perú salud* 15(1). Facultad de medicina humana. Universidad San Martín de Porras. Lima. Perú.
- Lee J., N. y Koo D., B. (2004). Reactive oxygen species, ageing, and antioxidants nutraceuticals. *Comprehensive reviews in food science and food safety*.
- Lillo, A., Carvajal Caiconte, F., Nuñez, D., Balboa, N. y Alvear Zamora, M. (2016). Cuantificación espectrofotométrica de compuestos fenólicos y actividad antioxidante en distintos berries nativos del Cono Sur de América. *Revista de Scielo*. Universidad de la Frontera. Temuco, Chile.
- Llimpe Pérez, P. (2017). Estudio del contenido de antocianinas y capacidad antioxidante del fruto de macha macha (*vaccinium floribundum kunth*) durante la maduración. Tesis para optar de ingeniero Agroindustrial. Facultad de ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Huancavelica. Perú.
- Londoño Londoño, J. (2012). Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad Desarrollo y Transversalidad serie Lasallista Investigación y Ciencia: Corporación Universitaria Lasallista.
- Malacrida, C. y Damota, S. (2005). Compuestos fenólicos totales y antocianinas en jugo de uvas. *Ciencia Tecnología de Alimentos*.
- Manach, C., Hubert, J., Llorach, R. y Scalbert, A. (2009) .The complex between dietary phytoche human health deciphered by metabolimmics. Nutrition and food science Department. Pharmacy school. University of Barcelona, Spain.

- Márquez Mendoza, G. C. (2011). Capacidad antioxidante y caracterización estructural de las antocianinas de los frutos rojos de *Prunus domestica* L., *Ficus carica* L. y *Vitis vinifera* L. c.v. "red globe" cultivados en Perú, Tesis de grado magíster. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima, Perú.
- Martínez Rivera, H. (2015). Técnica de análisis espectrofotométrica de antocianinas en materias primas de la región de Ayacucho. Tesis para optar de ingeniero Agroindustrial. Facultad de ingeniería Química y Metalúrgica. Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga. Ayacucho, Perú.
- Mariella, P. y Anita, I. (2011). Papel de la angiotensina II en la resistencia a la insulina neuronal en un modelo experimental de diabetes tipo 2 en ratas. *Diabetes Internacional*, 3(4).
- Martinez Cruz, N.S., Arevalo Niño, K., Verde Star, J. Rivas Morales, C., Oranday Cardenas, A., Ñunez Gonzales, M.A. y Morales Rubio, E. (2011). Antocianinas y actividad anti radicales libres de *Rubus adenotrichus* Schldl (zarzamora). Facultad de ciencias Biologicas. Universidad Autonoma de Nuevo León. San Nicolás de los Garza.
- Mejía Abanto, D. M. (2016). Extracción y cuantificación de antocianinas en frambuesa (*rubus idaeus* L.) a diferentes temperaturas y tiempos de extracción. Tesis para optar de ingeniero en industrias alimentarias. Facultad de ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cajamarca. Perú.
- Min - Sheng, S. y Po-Jung, Ch. (2007). Antioxidant activity, anthocyanins, and phenolics of rabbiteye blueberry (*Vaccinium ashei*). *Food Chemistry* 104.

- Mosquera, A. (2009). Actividad antioxidante e inhibición de la peroxidación lipídica de extractos de frutos de mortiño (*Vaccinium meridionale Sw*). Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas. Colombia.
- Morales Gómez, P. 2011). Vegetales silvestres de uso alimentario: determinación de compuestos bioactivos y valoración de la capacidad antioxidante. Tesis de grado. Universidad Complutense de Madrid
- Mondolvan, B., David, L., Chisbora, C. y Cimpoin, C. (2012). Degradation Kinetics of Anthocyanins from European Cranberrybush (*Viburnum opulus L.*) Fruit Extracts. Effects of Temperature, pH and Storage Solvent. Faculty of Chemistry and Chemical Engineering, Babeş-Bolyai University. Cluj-Napoca. Romania.
- Peña Varela, G., Salinas Moreno, Y. y Rios Sanchez, R. (2006). Contenido de antocianinas totales y actividad antioxidante en frutos de frambuesa (*Rubus idaeus L.*) con diferente grado de maduración. Revista Chapingo serie horticultura, vol. 12. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo. México.
- Pereira Aranda, M. R. (2016). Determinacion de la capacidad antioxidante de productos alimenticios derivados de plantas. Tesis de grado. Químico. Facultad de ciencias experimentales. Universidad de Jaen.
- Price Passalacqua, D. S., Luque Cstañeda, E. J. y Meza Davey, B. (2017). Efecto del refrigerado y congelado en el contenido de polifenoles totales, antocianinas y actividad antioxidante de arándanos (*Vaccinium corymbosum*, variedad "biloxi") cultivados en diferentes microclimas de Perú. Tesis de grado. Licenciada en Nutrición y Dietetica. Facultad de ciencias de la salud. Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas. Lima. Perú.

- Puzanowska, H. (2009). Biological function of some elements and their compounds. Rev. Selenium organic compounds.
- Porras Loaiza, A., y López Malo, A. (2009). Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos. Temas selectos de Ingeniería de Alimentos, 3(1).
- Oliveira Cabral, A., Barros Valentim, I. y Oliveira Fonseca, M. (2009). Fontes vegetais naturais de antioxidantes.
- Repo de Carrasco, R. y Encina Zelada, C.R. (2008). Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas peruanas. Facultad de industrias Alimentarias. Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú.
- Rein, M. (2005). Copigmentation reactions and color stability of berry anthocyanins.
- Reátegui Cárdenas, P.M. y Ramirez Badales, J.P. (2014). Actividad antioxidante *In vitro*, determinación de polifenoles totales de raíz de *Physalis angulata L.* (Bolsa Mullaca), Iquitos - 2013. Tesis de grado. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional de la Amazonia Peruana. Iquitos. Amazonas.
- Rojas Ramírez, Z. C. (2017). Cuantificación de antocianinas de cáscara del fruto de capulí (*Prunus serotina spp*) utilizando dos solventes a diferentes temperaturas y tiempos. Tesis para optar de ingeniero en industrias alimentarias. Facultad de ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Cajamarca. Perú.
- Ortega, G. M. y Guerra, M. (2006). Separación, caracterización estructural y cuantificación de antocianinas mediante métodos químico- físicos. ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar, vol. XL, núm. 3. Cuba.

- Salas Villano, T. S. (2017). Capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de los frutos silvestres *gaultheria glomerata (cav.) sleumer* (Machamacha), *monnina vargassi ferreyra* (Condorpausan), *vaccinium floribundum kunth* (Alaybilí) y *rubus roseus poir* (Frambuesa silvestre). Tesis para optar de ingeniero Agroindustrial. Facultad de ingeniería. Universidad Nacional José María Arguedas, Andahuaylas, Apurímac, Perú.
- Santacruz L., A. (2011). Análisis químico de antocianinas en frutos silvestres colombianos. Tesis de maestría. Facultad de ciencias. Universidad Nacional de Colombia. Bogotá.
- Sotacuro De La Cruz, R. (2013). Caracterización fisicoquímico y concentración de antocianinas en el fruto de *Lacca lacca (Gaultheria glomerata {Cav.} Sleumer)*. Tesis para optar de ingeniero Agroindustrial. Facultad de ciencias Agrarias. Universidad Nacional de Huancavelica. Ocobamba, Perú.
- Singleton V, I., Orthofer R, O. y Lamuela Raventos, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of the Folin-Ciocalteu reagent. *Meth Enzymol*.
- Singleton, V., & Rossi, J. A. (1999). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*.
- Urgartondo Casadevall, V. (2009). Caracterización de derivados polifenólicos obtenidos de fuentes naturales. Citotoxicidad y capacidad antioxidante frente a estrés oxidativo en modelos celulares. Tesis de grado. Facultad de farmacia. Universidad de Barcelona.
- Villanueva Tiburcio, J. E. (2003). Antocianinas, ácido ascórbico, polifenoles totales y actividad antioxidante en la cascara de camu camu (*Myrciaria dubia McVaugh* h.b.k.). Tesis para optar de

ingeniero en industrias alimentarias. Facultad de industrias alimentarias. Universidad Nacional Agraria de la Selva. Tingo María, Perú.

Wrolstad, E. (2001). Extraction, Isolation, and Purification of Anthocyanins. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*.

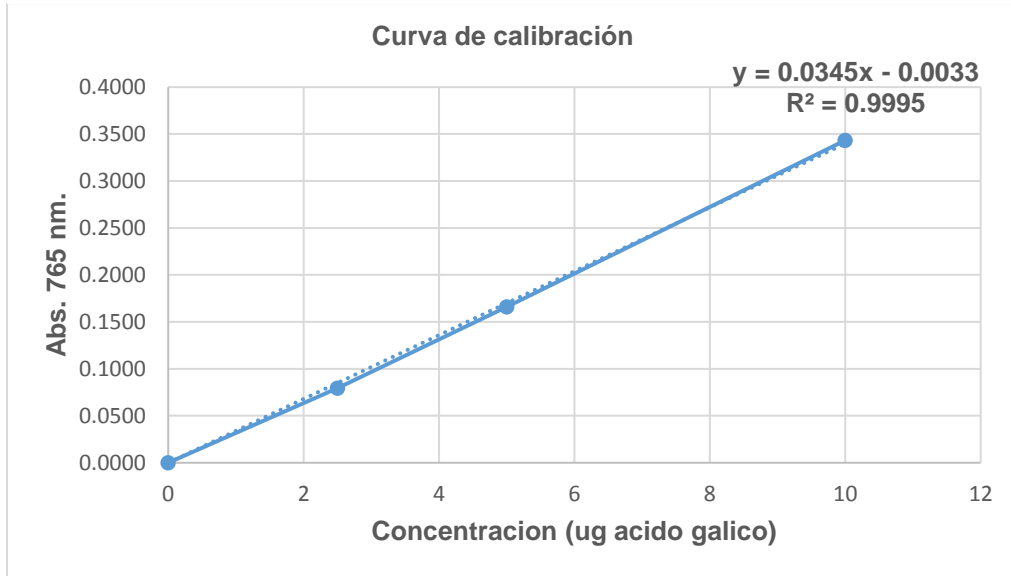
Wang, S. Y (1994). Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and strawberry varies with cultivar and developmental stage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(2)

Zorrilla, A. (2002). El envejecimiento y el estrés oxidativo. *Revista Cub. Invest. Biomed*.

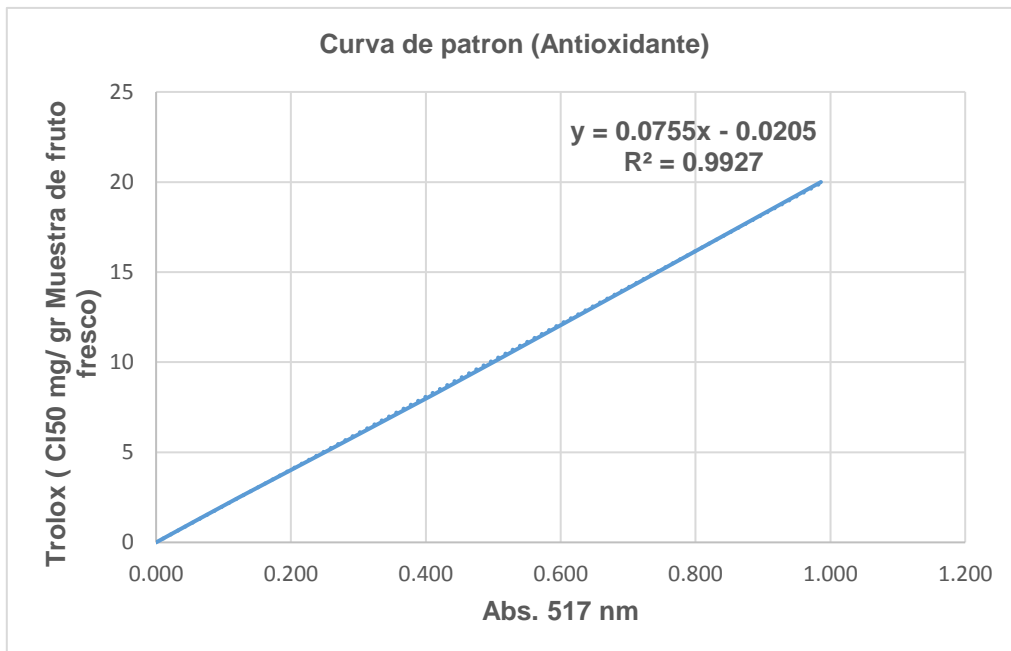
Zapata, L. (2014). Obtención de extracto de antocianinas a partir de arándanos para ser utilizado como antioxidante y colorante en la industria alimentaria. Tesis de grado. Universidad Politécnica de Valencia.

ANEXOS

Anexo 1. Gráfica de curva estándar de calibración de ácido gálico.



Anexo 2. Gráfica de curva estándar de calibraci3n de Trolox



Anexo 3. Resultados de Antocianinas totales por cinco repeticiones



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO FACULTAD DE CIENCIAS

LABORATORIO DE CROMATOGRAFIA Y ESPECTROMETRIA – Pabellón de Control de Calidad
AV. De la Cultura 733 CUSCO-PERÚ Contacto: 973868833

RESULTADOS

Cusco 15 de Noviembre del 2018

Solicitantes : Porfirio Ancco Rojas
Tipo de Análisis : Cuantificación de Antocianinas Totales
Metodo : pH Diferencial.
Tipo de Muestras : Frutos Silvestres
Cantidad de Muestra : 2 con 100g cada uno Denominado "Capachu" y "Yanali"
Almacenamiento : 4 °C.

Condiciones de Análisis por Espectrofotometro

Equipo : Espectrofotometro Genesis 20 Thermo Electron
Longitud de Onda : 520 y 700 nm
Celda de Lectura : Cubetas de Vidrio de 1cm.
pH-Metro : HANNA EDGE® HI2020

Frutos	Repeticiones					Promedio
	1	2	3	4	5	EQ-Cya-3G mg/100
Capachu	224.02	201.86	204.33	205.67	204.03	207.98
Yanali	203.82	214.43	220.25	221.91	216.09	215.28

Nota: Los resultados obtenidos en la Cuantificación de Antocianinas Totales fue realizado por Quintuplicado. El metodo se basa en la transformación estructural de las antocianinas que ocurre con un cambio en el pH a pH 1.0 y 4.5, a 520 y 700 nm, expresa la cantidad de antocianinas en miligramos como equivalentes de cianidina-3-glucósido presentes en 100 gramos de muestra.

- Association of Analytical Communities INTERNATIONAL. Total Monomeric Anthocyanin Pigment Content of Fruit Juices, Beverages, Natural Colorants, and Wines. pH Differential Method AOAC Official Method 2005.02

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

Anexo 4. Resultados de compuestos fenólicos totales por cinco repeticiones



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO FACULTAD DE CIENCIAS

LABORATORIO DE CROMATOGRAFIA Y ESPECTROMETRIA – Pabellón de Control de Calidad
AV. De la Cultura 733 CUSCO-PERÚ Contacto: 973868833

RESULTADOS

Cusco 15 de Noviembre del 2018

Solicitantes : Porfirio Ancco Rojas
Tipo de Análisis : Determinación de compuestos Fenolicos Totales
Metodo : Folin Ciocalteu.
Tipo de Muestras : Frutos Silvestres
Cantidad de Muestra : 2 con 100g cada uno Denominado "Capachu" y "Yanali"
Almacenamiento : 4 °C.

Condiciones de Análisis por Espectrofotometro

Equipo : Espectrofotometro Genesis 20 Thermo Electron
Longitud de Onda : 765 nm
Celda de Lectura : Cubetas de Vidrio de 1cm
Ecuacion de la curva patrón : $y = 0.0345x - 0.0033$, $R^2 = 0.9995$

Frutos	Repeticiones					Promedio
	1	2	3	4	5	EQ-Ac. Galico gr/100g
Capachu	2.26	2.24	2.21	2.25	2.30	2.25
Yanali	3.47	3.43	3.45	3.43	3.45	3.44

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

- Vernon L.Singleton, Rudolf Orthofer, Rosa M. Lamuela-Raventós 1999 Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent Methods in Enzymology Volume 299, 1999, Pages 152-178
- Pugliese A.G, Francisco A. Tomas-Barberan, Pilar Truchado, Maria I. Genovese, Flavonoids, Proanthocyanidins, Vitamin C, and Antioxidant Activity of Theobroma grandiflorum (Cupuassu) Pulp and Seeds J Agric Food Chem. 2013 Mar 20;61(11):2720-8. doi: 10.1021/jf304349u. Epub 2013 Mar 6.

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

Anexo 5. Resultados de la capacidad antioxidante por cinco repeticiones



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO FACULTAD DE CIENCIAS

LABORATORIO DE CROMATOGRAFÍA Y ESPECTROMETRÍA – Pabellón de Control de Calidad
AV. De la Cultura 733 - CUSCO - PERÚ Contacto: 973848833

RESULTADOS

Cusco 15 de Noviembre del 2018

Solicitantes : Porfirio Ancco Rojas
Tipo de Análisis : Actividad Antioxidante
Metodo : DPPH.
Tipo de Muestras : Frutos Silvestres
Cantidad de Muestra : 2 con 100g cada uno Denominado "Capachu" y "Yanall"
Almacenamiento : 4 °C.

Condiciones de Análisis por Espectrofotometro

Equipo : Espectrofotometro Genesis 20 Thermo Electron
Longitud de Onda : 517 nm
Celda de Lectura : Cubetas de Vidrio de 1cm.
Ecuacion de la curva patrón : $y = 0.0755x + 0.0205$, $R^2 = 0.9927$

Frutos	Repeticion	Trolox CI50 mg/gr M	Trolox CI50 mmol/100gr
Capachu	1	145.779	582.4393
	2	146.213	584.1727
	3	141.987	567.2891
	4	144.069	575.6072
	5	139.964	559.2081
Yanall	1	81.367	325.0889
	2	82.253	328.6289
	3	78.683	314.3655
	4	78.005	311.6601
	5	80.786	322.7710

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

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

Quim. Jorge Choquenaira Part
Analista del Laboratorio de Cromatografía y
Espectrometría - UNSAAC.
CCP - 914

Anexo 6. Identificación y clasificación taxonómicas de los especímenes vegetales de Capachu y Yanali.

"Madre de Dios Capital de la Biodiversidad del Perú"
"Año del Diálogo y de la Reconciliación Nacional"

CERTIFICACIÓN DE IDENTIFICACIÓN
TAXONÓMICA DE ESPECIMENES VEGETALES

El que suscribe, Dr. HERNANDO HUGO DUEÑAS LINARES, Especialista Forestal en Identificación Taxonómica de especies de flora silvestre, mediante Resolución Directoral N° 054-2017-SERFOR/DGGSPFFS-DGSPF, con Código de Licencia LC-ES-2017-009; del Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre-SERFOR,

CERTIFICA, que los especímenes (02) presentado por: el señor **Bachiller PORFIRIO ANCCO ROJAS**, en Ingeniería Agroindustrial, de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial; de la Universidad Nacional José María Arguedas, para su identificación y/o determinación, para efectos del proyecto de tesis de investigación de tesis intitulado: "**Caracterización de los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en los frutos silvestres de *Citharexylum dentatum* D. Don (Yanali) y *Hesperomeles escaillonifolia* (Schltd.) C.K. Schneid (Capachu).** Corresponden a los siguientes taxa aceptados oficialmente:

Citharexylum dentatum D. Don

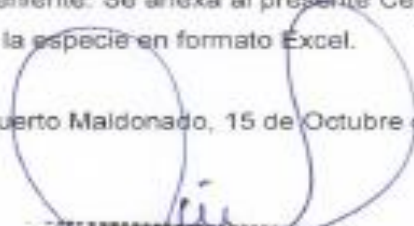
FAMILIA VERBENACEAE

Hesperomeles escaillonifolia (Schltd.) C.K. Schneid

FAMILIA ROSACEAE

De acuerdo a la descripción de sus características vegetativas y reproductivas, las que están registrada para la Flora de Perú: Departamento de Madre de Dios; en el Catálogo de Angiospermas y Gimnospermas del Perú de Lois Brako and James L. Zarucchi (1993), al APG IV (Angiosperm Phylogenetic Group, 2017) y en el Taxonomic Name Resolution Service v4.0. Se expide el presente certificado a solicitud del interesado para los fines que considere conveniente. Se anexa al presente Certificado de Identificación los datos correspondientes a la especie en formato Excel.

Puerto Maldonado, 15 de Octubre de 2018


Dr. Hugo Dueñas Linares
ESPECIALISTA EN IDENTIFICACIÓN
TAXONÓMICA DE FLORA SILVESTRE
Código LIC-ES-2017-009

CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA Y DESCRIPCIÓN

BOTÁNICA

El que suscribe, **Dr. HERNANDO HUGO DUEÑAS LINARES**, Especialista Forestal en Identificación Taxonómica de especies de flora silvestre, mediante Resolución Directoral N° 054-2017-SERFOR/DGGSPFFS-DGSPF, con Código de Licencia LC-ES-2017-009; del Servicio Nacional Forestal y de Fauna Silvestre-SERFOR.

CERTIFICA, que los especímenes (02) presentado por: el señor **Bachiller** en Ingeniería Agroindustrial **PORFIRIO ANCCO ROJAS**, de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial; de la Universidad Nacional José María Arguedas, para su identificación y/o determinación, para efectos del proyecto de tesis de investigación de tesis intitulado: "**Caracterización de los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en los frutos silvestres de *Citharexylum dentatum* D. Don (Yanali) y *Hesperomeles escalloniifolia* (Schltd.) C.K. Schneid. (Capachu).** Corresponden a los siguientes taxa aceptados oficialmente:

<i>Citharexylum dentatum</i> D. Don	FAMILIA VERBENACEAE
<i>Hesperomeles escalloniifolia</i> (Schltd.) C.K. Schneid	FAMILIA ROSACEAE

De acuerdo a la clasificación Filogenética de Arthur Cronquist, 1981 y el Angiosperm Phylogenetic Group, 2016 (APG IV), corresponden a los siguientes grupos taxonómicos y Clados:

Clasificación Filogenética de Arthur Cronquist (1981): *Citharexylum dentatum* D. Don

Reyno	:	Plantae
División	:	Magnoliophyta
Clase	:	Magnoliopsida
Orden	:	Lamiales
Familia	:	Verbenaceae
Género	:	<i>Citharexylum</i>
Especie:	:	<i>C. dentatum</i> D. Don

Nombres comunes: "yana capuli", yanali.

Descripción botánica de *Citharexylum dentatum* D. Don

Es una planta silvestre y nativa que crece en el sur oriental del Perú a una altura de 3319 m.s.n.m. La planta de Yanali es un arbusto, de 3.8 m de alto, ramificado con hojas alternas de 2 cm de largo, con el margen aserrado o crenado, cuya nerviación es pinnada. Los frutos son comestibles con un considerable contenido de color azul violeta intenso, actualmente no se realiza ningún tipo de recolección y almacenamiento. Los estudios sobre este fruto nativo son escasos.

Clasificación Filogenética de Arthur Cronquist (1981):

Hesperomeles escaloniifolia (Schltd.) C.K. Schneid

Reyno	:	Plantae
División	:	Magnoliophyta
Clase	:	Magnoliopsida
Orden	:	Rosales
Familia	:	Rosaceae
Género	:	Hesperomeles
Especie:	:	<i>Hesperomeles escaloniifolia</i> Schltdl



Sinonimias: *Crataegus escaloniifolia* Schltdl.; *Hesperomeles permytoides* var. *microphylla* Wedd.; *Osteomeles escaloniifolia* (Schltdl) Decne

Nombres comunes: "Millucapa", "Ñut'u mayu manzana", "Capachu"

Descripción botánica de *Hesperomeles escaloniifolia* (Schltdl.) C.K. Schneid

Es un árbol denso armado de espinos simples, tiene los tallos leñosos que alcanzan hasta los 3 metros de altura, son erectos y ramificados con la corteza de color ceniza, las hojas según su forma es elíptica de unos 0.5 cm de longitud, las flores aparecen entre diciembre y enero, son pequeñas y rosadas, agrupadas en pequeños racimos colgantes, los frutos es posible encontrarlos entre los meses de marzo y junio, son bayas de 1 a 1.5 cm de longitud de color rojo brillante, que al madurar toman un color rojo azul oscuro o morados, son ácidas pero de sabor agradable.

"Madre de Dios Capital de la Biodiversidad del Perú"
"Año del Diálogo y de la Reconciliación Nacional"

Angiosperm Phylogenetic Group Classification, mayo 2016:

Citharexylum dentatum D. Don



Nombres comunes: "Yanali", "Yana capuli".

Angiosperm Phylogenetic Group Classification, mayo 2016:

Hesperomeles escaloniifolia (Schld.) C.K. Schneid



Nombres comunes: "Capachu", "Milucapa", "Ñut'u mayu manzana".

Puerto Maldonado, 15 de Octubre de 2018

Dr. Hugo Dueñas Linares
ESPECIALISTA EN IDENTIFICACIÓN
TAXONÓMICA DE FLORA SILVESTRE
Código LIC-ES-2017-009

IDENTIFICACION TAXONOMICA DE ESPECIMENES VEGETALES
 PROYECTO DE INVESTIGACIÓN DE TESIS 2018

erización de los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante de los frutos silvestres de *Citharexylum dentatum* D. Don (Yanali) y *Hesperomelastix escaltoniiifolia* (Schltd.) C.K. Schneid "

CHILLER: PROFIRIO ANCCO ROJAS

UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ MARÍA ARGUEDAS

NOMBRE CIENTÍFICO	NOMBRE COMÚN	FAMILIA	HABITO	ALTITUD	LOCALIDAD	Colector	Fecha Coll	ID	FECHA ID
<i>Citharexylum dentatum</i> D. Don.	Yanali	VERBENACEAE	Arbusto	3319 msnm	Bosque de Ccalthua, CP de Huancas, Andarapa	Porfirio Ancco R.	26/07/2018	HDL	30/10/2018
<i>Speromelastix escaltoniiifolia</i> (Schltd.) C.K. Schneid	Capachu	ROSACEAE	Arbusto	3319 msnm	Bosque de Ccalthua, CP de Huancas, Andarapa	Porfirio Ancco R.	26/07/2018	HDL	30/10/2018

erencias:

chers colección PAR, 2018.

chers Herbario San Marcos (HSM), 2018

chers Herbario MCL, 2018

IV, 2010

eromic Resolution Service v4.0, 2018

Plant Lib, 2018

lica, Missouri Botanical Garden, 2018

Puerto Maldonado, 15 de Octubre de 2018

Dr. Hugo Dueñas Linares

Especialista en ID Taxonómica de Flora Silvestre

RD N° 054-2017-SERFOR/DG6S/PFS-005/PF

Código Licencia LC-EC-2017-009

Dr. Hugo Dueñas Linares
 ESPECIALISTA EN IDENTIFICACIÓN
 TAXONÓMICA DE FLORA SILVESTRE
 Código LIC-ES-2017-009

Anexo 7. Imagen de los frutos silvestres de Yanali y Capachu

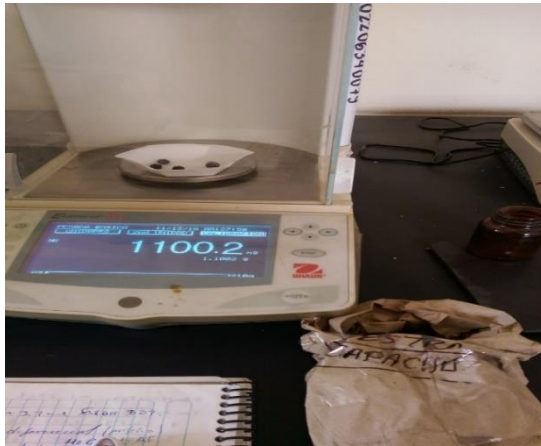


1. Frutos silvestre de Yanali



2. Frutos silvestre de Capachu

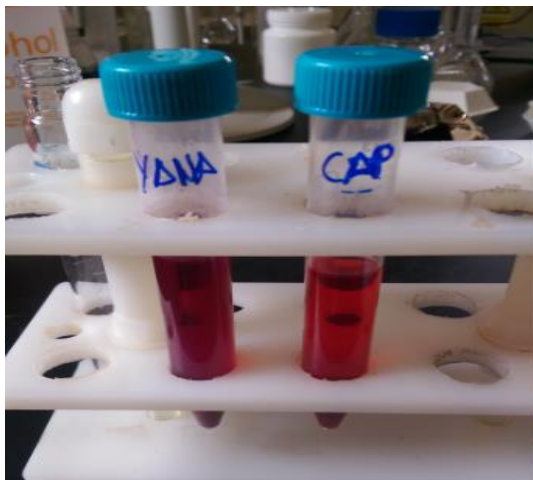
Anexo 8. Imágenes de extracción de pigmentos y determinación de antocianina en el laboratorio de UNSAAC



1. Pesado de muestra de frutos silvestre de Yanali y Capachu en balanza



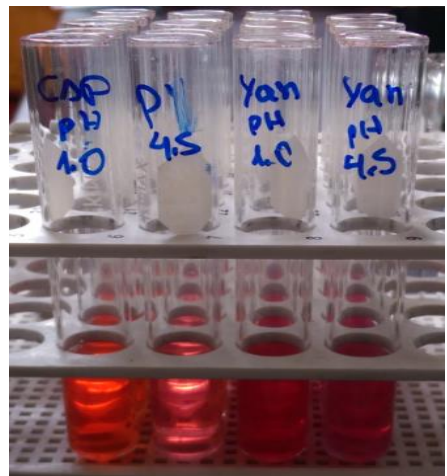
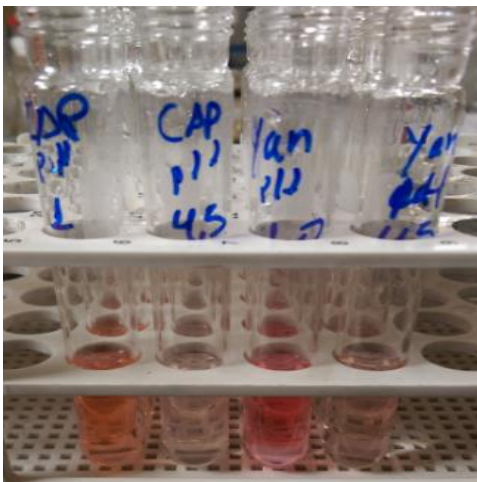
2. Extracción de pigmentos antocianicos de frutos silvestre de Yanali y Capachu en mortero



3. Antocianinas extraídos en tubos de ensayo de muestras Yanali y Capachu. Tapado en oscuridad con papel aluminio



4. Centrifugación de muestras extraídas de Yanali y Capachu.



5. Proporción de extracto de antocianina y mezcla con solución tampón a pH 1.0, de cloruro de potasio 0.025 M y otro con tampón a pH 4.5 de acetato de sodio 0.4 M.



6. Medición de absorbancia a 520 nm en espectrofotometría de las muestras Yanali y capachu.

Anexo 9. Imágenes de análisis de procedimiento en laboratorio para Compuestos fenólicos



1. Diluciones a diferentes concentraciones de la curva de calibración.

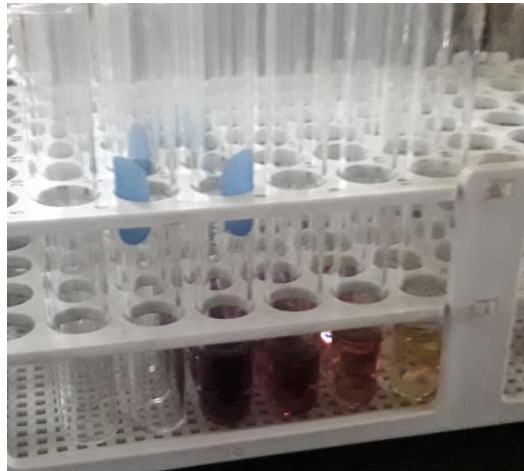


2. Muestra en reposo tapado con papel aluminio durante 30 minutos



3. Lectura de absorbancia a 765 nm en espectrofotometría

Anexo 10. Imágenes de análisis de procedimiento en laboratorio para capacidad antioxidante



1. Diluciones a diferentes concentraciones para la curva de calibración de capacidad antioxidante



2. Muestra en reposo, tapado con papel aluminio durante 30 minutos



3. Lectura de absorbancia a 517 nm en espectrofotometría

CONSTANCIA

EL QUE SUSCRIBE EL PRESENTE DOCUMENTO, Prof. Edwin Daniel FÉLIX BENITES, hace constar lo siguiente:

*Se ha traducido el resumen del trabajo de investigación titulado: Caracterización de los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en los frutos silvestres de *Citharexylum dentatum* D. Don (Yanali) y *Hesperomoles escalloniifolia* Schltdl (Capachu), del español a lengua quechua. Dicho trabajo corresponde al señor Porfirio Ancco Rojas, egresado de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de la Universidad Nacional José María Arguedas.*

Se emite la presente constancia a petición verbal del interesado.

Andahuaylas, 12 de julio de 2019



Prof. Edwin Daniel FÉLIX BENITES
Traductor e intérprete

Anexo 12. Matriz de consistencia

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPOTESIS	DEFINICION DE OPERACIONES					
			VARIABLE	CONCEPTO	DIMENSION	INDICADOR	METODO	INSTRUMENTO
¿Cuál es el contenido del compuesto bioactivo y capacidad antioxidante en frutos silvestres <i>Citharexylum dentatum</i> D. Don (Yanali) y <i>Hesperomeles escalloniifolia</i> Schltl (Capachu)?	Caracterizar los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en los frutos silvestres <i>Citharexylum dentatum</i> D. Don (Yanali) y <i>Hesperomeles escalloniifolia</i> Schltl (Capachu).	Los frutos silvestres <i>Citharexylum dentatum</i> D. Don (Yanali) y <i>Hesperomeles escalloniifolia</i> Schltl (Capachu) presentan alto contenido de compuesto bioactivo y capacidad antioxidante.	Independientes: - Yanali - Capachu	Son frutos silvestres de plantas perennes	Muestras	Variables	Muestreo aleatorizado estratificado (MAE)	Observación
PROBLEMA ESPECIFICO	OBJETIVOS ESPECIFICO	HIPOTESIS ESPECIFICO	Dependientes:	Se determinó el compuesto antocinicos del fruto del Yanali y Capachu.	Antocianinas totales	EQ-Cya-3G mg/100g muestra fruto fresco	Experimental	Espectrofotómetro UV- visible
¿Cuál es el contenido de compuestos antocianicos en frutos silvestres <i>Citharexylum dentatum</i> D. Don (Yanali) y <i>Hesperomeles escalloniifolia</i> Schltl (Capachu)?	Determina los compuestos antocianicos totales en los frutos silvestres <i>Citharexylum dentatum</i> D. Don (Yanali) y <i>Hesperomeles escalloniifolia</i> Schltl (Capachu).	Los frutos silvestres <i>Citharexylum dentatum</i> D. Don (Yanali) y <i>Hesperomeles escalloniifolia</i> Schltl (Capachu) presentan alto contenido de compuestos antocianicos.	Compuesto antocianico	Son pigmentos vegetales de color rojo, azul, morado con gran potencial en para el reemplazo del colorante sintético.				
¿Cuál es el contenido de compuestos fenólicos en frutos silvestres <i>Citharexylum dentatum</i> D. Don (Yanali) y <i>Hesperomeles escalloniifolia</i> Schltl (Capachu)?	Determinar los compuestos fenólicos totales en los frutos silvestres <i>Citharexylum dentatum</i> D. Don (Yanali) y <i>Hesperomeles escalloniifolia</i> Schltl (Capachu).	Los frutos silvestres <i>Citharexylum dentatum</i> D. Don (Yanali) y <i>Hesperomeles escalloniifolia</i> Schltl (Capachu) presentan alto contenido de compuestos fenólicos.	Compuesto fenólico	Se determinó el compuesto fenólico totales de los fruto silvestre Yanali y Capachu. Son responsables de las principales características organolépticas de los alimentos.	Fenoles totales	EQ-Ac. Gálico gr/100g Muestra fruto fresco	Experimental	Espectrómetro UV- visible
¿Cuál es el contenido de capacidad antioxidante en frutos silvestres <i>Citharexylum dentatum</i> D. Don (Yanali) y <i>Hesperomeles escalloniifolia</i> Schltl (Capachu)?	Determinar la capacidad antioxidante en los frutos silvestres <i>Citharexylum dentatum</i> D. Don (Yanali) y <i>Hesperomeles escalloniifolia</i> Schltl (Capachu).	Los frutos silvestres <i>Citharexylum dentatum</i> D. Don (Yanali) y <i>Hesperomeles escalloniifolia</i> Schltl (Capachu) presentan alto contenido en capacidad antioxidante.	Capacidad antioxidante	Se determinó capacidad antioxidante del fruto del Yanali y Capachu. Son retardadores de auto oxidación, deterioro, rancidez y neutralizadores de RL	Capacidad antioxidante	Trolox Cl50 mg/gr Muestra fruto fresco	Experimental	Espectrómetro UV - visible