**Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud**
**Escuela Profesional de farmacia y bioquímica**

# "EFECTO SINÉRGICO DE *Mauritia flexuosa L.* (AGUAJE) *y Mangifera indica* (MANGO*)* SOBRE SU CAPACIDAD ANTIOXIDANTE"

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**QUIMICO FARMACEUTICO**

**BACHILLER:** **BARJA OTERO ANGELA LIZ**

**ASESOR:** **Q.F. MIRANDA PAREDES, JEAN PAUL**

**LIMA – PERÚ**

**2018**

**DEDICATORIA**

A DIOS por haberme brindado la oportunidad, voluntad y salud para culminar esta etapa de vida universitaria y el presente trabajo.

A mis padres y hermanos por apoyarme en cada nuevo reto que asumo y por sus consejos para seguir adelante y de manera especial a mi esposo David y Daniel, hijo eres mi motivación para todo lo que emprendo en esta vida sin ti no hubiera sido real.

**AGRADECIMIENTO**

A cada uno de los docentes, asesor, metodóloga, que compartieron sus conocimientos y experiencias durante todo el proceso de estudio universitario.

ÍNDICE

*Dedicatoria*……ii

Agradecimiento……iii

Índice……iv

Índice de cuadros……vii

Índice de figuras……viii

Índice de gráficos…… ix

Resumen……x

Abstract……xi

Introducción……xii

**CAPÍTULO I PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

1.1 Descripción de la Realidad Problemática ..... 14

1.2 Problema de la investigación……...16

1.2.1 Problema General..... 16

1.2.2 Problema Específico ..... 16

1.3 Objetivos de la Investigación ..... 16

1.3.1 Objetivo General ..... 16

1.3.2 Objetivos Específicos..... 16

1.4 justificación, importancia y limitaciones de la investigación ..... 17

**CAPÍTULO II HIPOTESIS Y VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN**

2.1 Hipotesis de la investigación..... 21

2.1.1 Hipotesis general ..... 21

2.1.2 Hipotesis especifica ..... 21

2.2 Variables de la investigación……22

2.2.1 Identificación y clasificación de variables……....22

2.2.2 Operacionalización de variables ..... 22

**CAPITULO III MARCO TEÓRICO**

3.1 Antecedentes de la investigación..... 23

3.2 Bases teóricas……..27

3.2.1 Radical libre .....…41

3.2.1.1 Clases de radicales libres……..……28

3.2.1.2 Formación de los radicales libres……..……30

3.2.2 Estrés oxidativo……..…….. 34

3.2.3 Antioxidantes……..…….. 35

3.2.3.1 Características de los antioxidantes……..…….……36

3.2.3.2 Clases de antioxidantes……36

3.2.3.3. Fuentes de antioxidantes……..…..37

3.2.4 Compuestos fenólicos……..……....39

3.2.4.1 Actividad antioxidante de compuestos fenólicos……..40

3.2.5 Determinación de la capacidad antioxidante……..……41

3.2.5.1 Método DPPH……42

3.2.5.2 Fundamento del método DPPH……..45

3.2.6 Sinergismo……..……..45

3.2.6.1 Sinergismo entre extractos de aguaje y mango……...46

3.2.6.2 Ventajas……..……...47

3.2.6.3 Desventajas……..……..…47

3.2.7 Taxonomía de recursos vegetales……....48

3.2.7.1 *Mauritia flexuosa L*……..…...48

*3.2.7.2 Mangifera indica*……..…….51

*3.2.*8 Obtención de extracto……..……..53

3.2.9 Definición de terminos……...54

**CAPITULO IV METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN**

4.1Tipo y nivel de la investigación……..……56

4.1.1 Tipo de investigación……56

4.1.2 Nivel de investigación……..56

4.2 Método y diseño de la investigación…..……..…….……56
4.2.1 método de la investigación…….……..…....56
4.2.1 diseño de la investigación…….……..…....56
4.3 Población y muestra de la investigación..……..……..56
4.3.1 Población……...56
4.3.2 Muestra…….……..57
4.4Tecnica e instrumento de recolección de datos……...…57
4.4.1 Técnica……..……57
4.4.2 Instrumento……..…..…….....57
4.5 Procedimiento de recolección de datos……...58
**CAPITULO V: PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS**
5.1 Análisis de tablas y gráficos…….…61
5.2 Discusiones de los resultados…….....72
Conclusiones……..……...…..75
Recomendaciones……..……..…..76
Referencias bibliográficas…….……77
Anexos……..……..……...81

## ÍNDICE DE CUADROS

**Cuadro 1** Concentración versus actividad anti radical en extracto Metanólico de pulpa de mango *(Mangifera indica)*……...61

**Cuadro 2** Concentración versus actividad anti radical en extracto Metanólico de pulpa de aguaje *(Mauritia flexuosa L)*……..64

**Cuadro 3** Concentración versus actividad anti radical en extracto Metanólico de pulpa de aguaje *(Mauritia flexuosa)* y mango *(Mangifera indica)*……..66

**Cuadro 4** Concentración versus actividad anti radical en extracto Metanólico de ácido ascórbico (Vitamina C)……68

## ÍNDICE DE FIGURAS

1. **FIGURA 1** Castañeda Benjamín, et al, Centro de investigación, Facultad de medicina humana, UNSMP, Rev. Academia de Salud, 2008……...57

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

**Gráfico 1**: Capacidad anti radical versus concentración de extracto de pulpa de Mango *(Mangifera indica)*…….62
**Gráfico 2:** Absorbancia versus concentración de pulpa de mango (*Mangifera indica*)……...63
**Grafico 3:** Capacidad antioxidante versus concentración del extracto metanólico de pulpa de aguaje *(Mauritia flexuosa L)*……..…..64
**Gráfico 4:** Absorbancia versus concentración de extracto de pulpa de Aguaje *(Mauritia flexuosa)*……..……...65
**Gráfico 5:** Capacidad antioxidante versus concentración de extracto de pulpa de Aguaje *(Mauritia flexuosa)* y Mango *(Mangifera indica)*……...67
**Gráfico 6:** Absorbancia versus concentración de la mezcla del extracto de Aguaje y Mango……..……..68
**Gráfico 7:** Comparación entre absorbancia versus concentración en Aguaje (*Mauritia flexuosa L*) y ácido ascórbico (Vitamina C)……..……69
**Gráfico 8:** Porcentaje de inhibición de radicales libres versus concentración en extracto de Aguaje (*Mauritia flexuosa L*) y Vitamina …70
**Gráfico 9:** Actividad antioxidante en Mango *(Mangifera indica*) y Aguaje *(Mauritia flexuosa)* frente a su concentración……...70
**Gráfico10:** Porcentaje de inhibición de los extractos de Aguaje *(Mauritia flexuosa L)*, Mango *(Mangifera indica)* y la mezcla de ambos extractos .71

## RESUMEN

El presente trabajo está orientado a evaluar la capacidad antioxidante de los extractos metanólicos de pulpas en los recursos vegetales: *Mauritia flexuosa* (Aguaje) y *Mangifera indica (*Mango); para lo cual se empleó el método DPPH (depleción del óxido 2,2-difenil-1-picrilhydrazil) mediante cuantificación espectrofotométrica. Dicha capacidad antioxidante fue expresada en gramos por mililitros de muestra, observándose que el extracto metanólico de pulpa de Aguaje requirió de una menor cantidad en concentración para inhibir en un 50% (IC50) el radical DPPH obteniéndose una concentración de 71.85 mg/mL comparado con el extracto metanólico de *Mangifera indica (Mango)* que obtuvo una concentración de 92 mg/mL. Por otro lado, el resultado en la mezcla de ambos extractos obtuvo un IC 50 de 44.82 mg/mL.

Además, todos los extractos fueron comparados frente al ácido ascórbico (vitamina C) como patrón de comparación, el cual presentó una actividad antioxidante de 16.28 mg/mL.

Por lo que se concluye en la presencia de actividad antioxidante en ambos extractos tanto en *Mauritia flexuosa* (Aguaje) y *Mangifera indica* (Mango) de forma independiente y un efecto sinérgico de adición al unirlos

Así pues, se puede establecer que los compuestos antioxidantes derivados de vegetales son capaces de disminuir la oxidación y que ello puede tener un impacto positivo sobre la salud de quienes consumen estos recursos, ya que es conocido que la capacidad antioxidante evaluada *in vitro* es empleada como un indicador indirecto de la actividad *in vivo.*


Palabras claves: Antioxidante, Sinergismo, DPPH, radicales libres

## ABSTRACT

The present work is oriented to evaluate the antioxidant capacity of the methanolic extracts of pulps in the plant resources: *Mauritia flexuosa* (Aguaje) and *Mangifera indica* (Mango); for which the DPPH method (depletion of 2, 2-diphenyl-1-picrilhydrazil oxide) was used, by means of spectrophotometric quantification. Said antioxidant capacity was expressed in grams per milliliter of sample; it was observed that the methanol extract of Aguaje pulp required a lower amount in concentration to inhibit in 50% (IC50) the DPPH radical obtaining a concentration of 71.85 mg / mL compared with the methanolic extract of Mangifera indica (Mango) that obtained a 92 mg / mL concentration. On the other hand, the result in the mixture of both extracts obtained an IC 50 of 44.82 mg / mL

In addition, all the extracts were compared against ascorbic acid (vitamin C) as a comparison standard, which presented an antioxidant activity of 16.28 mg / mL

So it is concluded in the presence of antioxidant activity in both extracts in both Mauritia flexuosa (Aguaje) and Mangifera indica (Mango) independently and a synergistic effect of adding them together

Thus, it can be established that plant-derived antioxidant compounds are capable of decreasing oxidation and that this can have a positive impact on the health of those who consume these resources, since it is known that antioxidant capacity evaluated in vitro is used as an indirect indicator of in vivo activity.



Keywords: Antioxidant, Synergism, DPPH, free radicals

## INTRODUCCIÓN

Un gran número de recursos naturales y/o vegetales en América del Sur presentan un amplio potencial medicinal convirtiéndose para algunas comunidades y grupos étnicos en el único recurso terapéutico, contribuyendo significativamente en la atención primaria de la salud.

La preocupación por la mejora de la calidad de vida despierta entonces el interés en el empleo de recursos vegetales y/o naturales ya sea como fuente de abrigo, cosmética, medicinal y sobre todo en la alimentación.

Nuestro territorio es un país rico en biodiversidad en cuanto a flora y esa es una gran ventaja para poder explorar en nuevas propiedades terapéuticas; además es conocida la relación indirecta que existe entre el consumo de antioxidantes y algunas enfermedades como artritis reumatoides, trastornos nefrológicos, resequedad de la piel, enfermedades cardiovasculares, Alzheimer, entre otros[1]. Es por ello que el presente trabajo de investigación busca constituir un instrumento dinámico, viable y práctico empleando el método espectrofotométrico DPPH (depleción del óxido 2,2-difenil-1-picrilhydrazil) el cual nos indica la capacidad antioxidante que presentan los recursos vegetales en estudio que son *Mauritia flexuosa* (Aguaje) y *Mangifera indica* (Mango). Es conocido que el aguaje es un fruto con alto poder antioxidante ya que posee entre sus principales componentes tocoferoles (Vitamina E), ácido ascórbico (vitamina C) y betacaroteno (vitamina A) que les brindan esta propiedad y por otro lado el Mango es altamente nutricional por la presencia de isoquercitrina, astragalina, ácido ascórbico y gálico. Por tanto obtener mayores beneficios potenciando sus propiedades antioxidantes al unirlos es de interés para la salud[2].

Además, alcanza el objetivo de servir como aporte a las bases teóricas para estudios sobre capacidad antioxidante[3].

# CAPITULO I

# PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

## 1.1 DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA

A nivel mundial existe aproximadamente de 250 a 500 mil especies de recursos vegetales, de los cuales solo el 15% han sido estudiadas en su potencial medicinal, y solamente para un efecto específico. El 70% de la flora se han reconocido en doce países a nivel global, de los cuales cinco pertenecerían a América Latina y son Brasil, Colombia, Ecuador, México y Perú, los otros países son: Australia, India, zaire, Madagascar, Indonesia y china. En nuestro territorio existen aproximadamente 25 mil especies existentes en cuanto a la flora, aunque algunos autores han reportado que esta cifra hasta puede ser duplicada, siendo endémicas un porcentaje importante de estas especies. Además, se calcula que cerca de 4000 especies presentan diversos usos, en la alimentación, cosmética, tintura, como aromatizante y saborizante, muchos de estos usos se encuentran arraigado en el saber popular y transmitido de generación en generación, pero lamentablemente con escasa base científica en prevención de enfermedades ocasionadas por un exceso de exposición a radicales libres[3].

Normalmente, los radicales libres se crean constantemente en nuestro cuerpo y llevan a cabo actividades metabólicas de la vida esencial, es decir son obligatorios para la vida, los necesitamos, ya que ayudan a combatir infecciones, pero universalmente es reconocida la asociación que tiene el proceso de envejecimiento celular; específicamente los cambios físicos, bioquímicos y patológicos que el organismo experimenta cuando se expone a grandes cantidades de dichos radicales libres[4].

Por lo que hay que reconocer que los radicales libres son una parte fundamental de la vida en la lucha contra las infecciones, pero

demasiada cantidad de ellos pueden suponer una amenaza muy grande.

El presente trabajo se realizó con Aguaje y Mango, actualmente estos recursos vegetales son considerados como potenciales fuentes de antioxidantes, que puede revertir el exceso de producción de los radicales libres que ocasionan el envejecimiento celular, enfermedades neurodegenerativas entre otras fisiopatologías, problemática que afronta actualmente el país por el nuevo estilo de vida en alimentación y contaminación ambiental[5].

Como toda temática de investigación requiere de años de estudio y de diversas herramientas para el análisis, sobre todo en estos tiempos donde cada día surgen innovaciones tecnologías para el trabajo experimental se necesita de bases sólidas para el apoyo a los estudios en este campo de los antioxidantes, además de hacer llegar la información a la población en general[6].

Por todo lo mencionado la población debe sensibilizarse y tomar conciencia del riesgo que significa estar sobre exponiéndose a factores externos como la contaminación ambiental, radicaciones, entre otros; que producen un exceso en producción de radicales libres y adquirir hábitos en alimentación saludables y ricos en propiedades antioxidantes.

## 1.2 PROBLEMA DE LA INVESTIGACIÓN

### 1.2.1 PROBLEMA GENERAL

¿Cuál es el efecto sinérgico del extracto metanólico de las pulpas de *Mauritia flexuosa L*. (Aguaje) y *Mangifera indica* (Mango) sobre su capacidad antioxidante?

### 1.2.2 PROBLEMA ESPECÍFICO

¿Cuál es el efecto antioxidante del extracto metanólico de la pulpa de *Mauritia flexuosa L*. (Aguaje)?

¿Cuál es el efecto antioxidante del extracto metanólico de la pulpa del *Mangifera indica* (Mango)?

¿Cuál de los dos extractos metanólicos posee mayor efecto antioxidante?

## 1.3 OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

### 1.3.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el efecto sinérgico de la mezcla de los extractos metanólicos de *Mauritia flexuosa L. (*Aguaje*) con Mangifera indica* (Mango*)* sobre su capacidad antioxidante.

### 1.3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

-Evaluar el efecto antioxidante del extracto metanólico de la pulpa de *Mauritia flexuosa L*. (Aguaje)

-Evaluar el efecto antioxidante del extracto metanólico de la pulpa de *Mangifera indica* (Mango)

-Evaluar cuál de los extractos metanólicos posee mayor efecto antioxidante.

## 1.4 JUSTIFICACIÓN, IMPORTANCIA Y LIMITACIONES DE LA INVESTIGACIÓN

### 1.4.1 JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

El presente trabajo constituyó un instrumento dinámico, viable y práctico que buscó aportar en la investigación de una nueva combinación de extractos de recursos vegetales a fin de crear sinergismo frente a la capacidad antioxidante.

Respecto a lo económico el consumo de estos recursos naturales generaría empleo y bienestar en las comunidades productoras**.**

A nivel social sensibilizará a la población respecto al buen hábito que se debe tener en cuanto al consumo de los recursos vegetales ricos en antioxidantes para la prevención de las enfermedades ocasionadas por la ausencia de una buena nutrición, que desencadenaría en la mejora en la calidad de vida de la sociedad; contrarrestando el efecto de los alimentos con

aditivos, comidas rápidas, la exposición a sustancias contaminantes del medio ambiente, estrés, etc. que producen radicales libres y como consecuencia se disminuiría la aparición de enfermedades no transmisibles crónicas como son: cardiovasculares, cáncer, envejecimiento prematuro y enfermedades neurodegenerativas[7].

### 1.4.2 IMPORTANCIA DE LA INVESTIGACIÓN

Los antioxidantes pueden neutralizar el exceso de radicales libres durante la actividad oxidativa, propia del organismo, dicha producción de radicales libres es un evento natural y regulado por diferentes rutas metabólicas ya que representan la primera línea de defensa de los seres vivos; sin embargo, aunque son relevantes para la mantener la salud, el desbalance entre antioxidantes endógenos y radicales libres se asocia con diferentes enfermedades o con el envejecimiento humano[8]. Es importante entonces el estudio de los antioxidantes exógenos ya que son compuestos que aunque algunos pueden ser sintéticos o naturales la calidad que todos comparten es que son capaces de neutralizar los radicales libres evitando que dañen nuestro organismo; a menudo actúan donando electrones a los radicales libres haciéndolos más estables, cualquiera que sea el mecanismo que utilice un antioxidante ayuda a proteger el cuerpo del daño al interrumpir los efectos deletéreos y el efecto en cadena del daño oxidativo que causan.

El presente trabajo de investigación toma interés en lo natural y los beneficios que aportaría su consumo en nuestra salud evitando consecuencias negativas como el envejecimiento prematuro y otras fisiopatologías como el cáncer[9].

Obtener una base referencial para nuevas extracciones metanólicos en pulpa de frutos que podrán ser empleados en futuros estudios o investigaciones referentes a capacidad

antioxidante mediante el método de DPPH (capacidad atrapadora de radicales libre), buscar nuevas opciones para obtener una incremento o sinergismo en cuanto a la propiedad antioxidante en beneficio de la salud de la comunidad ya que estamos en constante contacto con factores exógenos como ambientales, radiación electromagnética, luz solar, ozono, tabaco, fármacos xenobioticos, drogas; contaminantes aditivos, pesticidas, etc. Todos ellos productores de radicales libres en exceso[10].

### 1.4.3 LIMITACIONES DE LA INVESTIGACIÓN

La principal limitante al realizar esta investigación fue el escaso antecedente o escasas referencias de los recursos vegetales y/o naturales que se emplearon en la investigación.

Escasos antecedentes de estudios de combinaciones de extractos de vegetales.

# CAPITULO II

## HIPÓTESIS Y VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN

### 2.1.1 HIPÓTESIS GENERAL

La sinergia del *Mauritia flexuosa L.* (Aguaje) y *Mauritia indica* (Mango) Modifica su capacidad antioxidante

### 2.1.2 HIPÓTESIS ESPECÍFICAS

-El extracto metanólico de *Mauritia flexuosa L* (Aguaje) Presenta una Significativa capacidad antioxidante

-El extracto metanólico de *Mangifera indica* (mango) presenta Una Significativa capacidad antioxidante

-El extracto de *Mauritia flexuosa L*. (Aguaje) presenta mayor Capacidad antioxidante que *Mangifera* indica (Mango).

## 2.2 VARIABLES DE LA INVESTIGACIÓN

### 2.2.1 IDENTIFICACIÓN Y CLASIFICACIÓN DE VARIABLES

| VARIABLE | INDICADORES | UNIDAD DE MEDIDA |
|---|---|---|
| Capacidad antioxidante<br>>IC 50<br>< IC 50 | IC50% Índice de concentración | % mg/mL |

### 2.2.2 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

| **Variables** | **Definición conceptual** | **Indicadores** | **Valores Finales** |
|---|---|---|---|
| Capacidad antioxidante | **Concentraciones**<br>A mayor concentración de un extracto mayor es la capacidad antioxidante del mismo | < IC 50<br>>IC 50 | Diluciones:<br>25mg/mL<br>50mg/mL<br>75mg/mL<br>100mg/mL |

# CAPÍTULO III

# MARCO TEÓRICO

## 3.1 ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

### 3.1.1 A NIVEL NACIONAL

La investigación realizada por la Doctora Vintimilla Gualán, María Gabriela, **DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LAS FRACCIONES LIPOFÍLICAS E HIDROFÍLICAS DE LOS SUBPRODUCTOS AGROINDUSTRIALES DE MANGO,** (2013) para la obtención del grado de ingeniero en industrias agropecuarias, hace referencia a la obtención de extractos en diferentes solventes con el objetivo de adquirir mayor cantidad de grupos fenólicos y de manera rápida ya que los reactivos y los mismos extractos tienden a degradarse por lo que se determinó que las mejores condiciones de extracción fue la metanólica y se dio en un tiempo de 06 horas; por otro lado realiza su determinación por diversos métodos in vitro como el DPPH para determinar su actividad antioxidante de la fracción lipofílica por este método se obtuvo DPPH 4,649 µmol ABTS 4,979 µmol y FRAP 3,589 µmol, concluyendo que la actividad antioxidante de la fracción hidrofílica extraída con metanol correspondiente a la mayor actividad antioxidante en el extracto etanólico y se obtuvo en 03 horas[11].

La investigación realizada por la Doctora Cusco Vásquez Carmen sobre **LOS COMPUESTOS FENÓLICOS PRESENTES EN EL EXTRACTO METANÓLICO DE LA PULPA DEL FRUTO *MAURITIA FLEXUOSA L.* "AGUAJE" PROCEDENTE DE TARAPOTO – SAN MARTIN,** (2009) para optar el grado de Magister en Farmacia y Bioquímica hace referencia al estudio de compuestos antioxidantes y su mejor extracción por lo que se determinó que el extracto metanólico de *Mauritia* flexuosa L

(aguaje), además de tener una importante capacidad antioxidante también es beneficiosa para disminuir el nivel hormonal, el estudio se realizó en ratas Holtzmann (albinas hembras jóvenes, normales) tratadas produciendo efecto antiestrogénico, se propone el estudio de este fruto con muchas propiedades antioxidantes para disminuir y/o neutralizar los radicales libres captados por factores endógeno ya que como se sabe el aguaje es comestible presentando una pulpa altamente nutritiva que contiene minerales, proteínas, grasa, vitaminas y carbohidratos, posee mayor reserva de betacarotenos y vitamina A[12].

La investigación realizada por "Los doctores Pedro Gilberto Vásquez-Ocmín Víctor Erasmo Sotero Solís ; Dennis Del Castillo Torres ; Luis Freitas Alvarado ; Martha Milagros Maco Luján sobre **"DIFERENCIACIÓN QUÍMICA DE TRES MORFOTIPOS DE *Mauritia flexuosa* L. DE LA AMAZONÍA PERUANA"** (2009) hacen referencia a la actividad antioxidante de las tres clases del fruto aguaje mediante técnicas in vitro ; se determinó polifenoles totales, ácido ascórbico y principales compuestos fenólicos por técnica HPLC y la determinación de la actividad antioxidante mediante el secuestro de radicales libres DPPH. Se observa que existen diferencias significativas entre morfotipos cuando son comparados, resaltando los altos índices de potasio concluyendo en tipo Shambo con una concentración (660,81 ± 3,45g/100g), tipo amarillo con una concentración de (137,79 ± 1,31g/100g) y tipo Shambo (98,61 ± 0,06g/100g).concluyendo los morfotipos, Shambo con 25,61 ± 0,55mg/100g; en cuanto a polifenoles totales, color presenta mayores concentraciones (212,89 mg/100g); teniendo como resultado final la baja captura de radicales libres, resaltando el morfotipo Shambo con un IC50 de 1201,54 ± 1,11µg/mL. Se tiene certeza de las diferencias

significativas entre morfotipos, sin embargo, no se logró establecer el morfotipo más sobresaliente en cuanto a propiedades químicas[13].

### 3.1.2 A NIVEL INTERNACIONAL

La investigación realizada por los doctores Mario J. Simirgiotis, Julio Benites, Carlos Areche and Beatriz Sepúlved (2015) "**Antioxidant Capacities and Analysis of Phenolic Compounds in Three Endemic Nolana Species by HPLC-PDA-ESI-MS,** Como proyectos de investigación para los Laboratorio de Productos Naturales, Departamento de Química, Facultad de Ciencias Básicas, Universidad de Antofagasta, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Arturo Prat, y Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile hace referencia a diversas técnicas in vitro entre para el análisis de la capacidad antioxidante en tres plantas de la clase Nolana de la localidad de atacama una de estas técnicas fue la capacidad atrapadora de radicales libres (DPPH) Entre los 30 Compuestos identificados en las tres plantas bajo estos estudio, se detectaron veintitrés compuestos en N. aplocaryoides, catorce en N.

Leptophylla y nueve En N. ramosissima esta última presentó el mayor antioxidante, Características y contenido polifenólico seguido de N. aplocaryoides, lo que hace que esta planta sea la mejor Candidato para la producción de cultivos industriales y uso potencial en alimentos funcionales y nutracéuticos[14.]

La investigación realizada por la Dra. Ximena Augusta Chiriboga Pasmiño (2013) "**DETERMINACION DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE CUATRO PLANTAS NATIVAS DEL ECUADOR"** para obtener el grado académico de químico farmacéutico hace referencia que Los extractos hidroalcohólicos

de las cuatro plantas seleccionadas pueden tener actividad antioxidante por lo cual se realizó la obtención de compuestos fenólicos mediante extracción etanólica y se obtuvo abundante concentración de metabolitos secundarios, esteroles, flavonoides, taninos y bajas concentraciones de saponinas, analizados por métodos de la capacidad antioxidante de radicales libres (DPPH) de estos extractos hidroalcoholicos de plantas a pesar de tener características similares la *Mauritia flexuosa* tiene mayor actividad antioxidante y se recomienda como base para futuras investigaciones ya que el estilo de vida actual nos predispone a enfermedades no transmisibles crónicas que son desencadenadas por el estrés oxidativo que sufre el organismo[15].

La investigación realizada por la tesista Melisa Arévalo Fernández de la universidad de Chile para obtener el grado de químico Farmacéutica, **EFECTO DE COMPUESTOS NO FENÓLICOS EN LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN AÇAI (Euterpe oleracea) y jabuticaba (Myrciaria Cauliflora),** (2013)**.** Evalúa el efecto de fracciones que contienen y no contienen compuestos fenólicos en la determinación de la actividad antioxidante y la cuantificación de fenólicos totales de açai y jabuticaba por el método DPPH. Donde el contenido de polifenoles se ve afectado por interferentes presentes en açaí y jabuticaba, dando resultados inferiores después de purificar el extracto. También la actividad antioxidante se ve afectada por estos interferentes. Haciendo que la cuantificación de esta en las frutas, puede ser sobrestimada y en algún caso eventual se puede producir el enmascaramiento por parte de estos interferentes de los compuestos antioxidantes, reduciendo su efecto, pudiendo así, subestimar la actividad antioxidante de las frutas[13]. Por todo ello, según el presente estudio se hace

necesario tener en cuenta los posibles interferentes en la cuantificación de los compuestos antioxidantes y la capacidad de estos en las frutas, para así llevar a cabo una caracterización correcta de las mismas, y que puedan ser aprovechadas al máximo en la industria alimentaria y, posible inmersión en el mercado de los alimentos funcionales[16].

## 3.2 BASES TEÓRICAS

### 3.2.1 RADICALES LIBRES

Los radicales libres son átomos que poseen un electrón no apareado por lo cual necesitan un electrón de otro átomo para estar equilibrados o estables con ocho electrones en su órbita externa[17].

Estos electrones desapareados se forma por diversas razones: luz ultravioleta, rayos gama, rayos x, presencia de hierro divalente ( $Fe^{++}$), poca actividad de agua o mucha actividad de agua (aW), presencia de oxígeno, pesticidas, actividad física intensa, estrés, carnes a la parrilla o grill ahumadas, humo del tabaco, productos ahumados, agentes, fármacos antineoplásicos, etc.[18] En nuestro cuerpo humano están presentes algunos factores endógenos los cuales contribuyen a la formación de radicales libres, como son la actividad del sistema inmunológico, la actividad enzimática y la respiración celular[19].

Estos radicales libres son muy inestables por lo que reaccionan con facilidad para encontrar el electrón necesario para lograr su estabilidad. Si captan un electrón de otra molécula, ésta quedará inestable y se convertirá en un radical libre también. De esta forma se produce una cascada de radicales libres, hasta que irrumpen con una célula viva produciendo el envejecimiento celular[3].

Estas reacciones solo son eliminadas por la acción de otras moléculas que se oponen a este proceso tóxico en el organismo, los llamados sistemas antioxidantes defensivos. Un primer grupo trabaja sobre la cadena del radical inhibiendo los mecanismos de activación, un segundo grupo neutraliza la acción de los radicales libres ya formados, por tanto, detiene la cadena de propagación. En este grupo pueden encontrarse enzimas detoxificadoras más notables como el superóxido dismutasa y la catalasa, que producen peroxidasa particularmente importantes como el glutatión peroxidasa[4].

### 3.2.1.1 Clases de radicales libres

El principal radical libre es el oxígeno ya que tiene dos electrones sin ser apareados además como presenta relación con las condiciones de vida aerobia representando la fuerza motriz para el buen mantenimiento del metabolismo pero al mismo tiempo es un peligro potencial debido a sus características paramagnéticas de este gas ya que forma intermediarios parcialmente reducidos y con gran reactividad conocidas como especies reactivas de oxígeno, estos son radicales libres o precursores de estos[5].

De acuerdo al principal tipo de átomo del cual proviene, los radicales libres se clasifican en especies reactivas derivadas del oxígeno y especies reactivas derivadas del nitrógeno. A su vez cada una de ellas presenta varios tipos de radicales libres o pro radicales libres[6].

- **ESPECIES REACTIVAS DERIVADAS DEL OXIGENO**

  RADICAL LIBRE
- Superóxido ($O_2$-)

- Radical hidroxilo (OH-)
- Radical peróxilo (R-$O_2$ )
- Radical alcoxilo (RO-)
- Hidroperoxilo ($HO_2$
  PRO RADICAL
- Peróxido de hidrógeno ($H_2O_2$)
- Ácido hipocloroso ( HOCl)
- Ácido hipo bromoso (HOBr)
- Ozono ($O_3$)
- Oxígeno singulete
- **ESPECIES REACTIVAS DERIVADAS DE NITROGENO**
- RADICAL LIBRE
- Óxido nítrico (NO-)
- Dióxido de nitrógeno ($NO_2$)
- PRO RADICAL
- Ácido nitroso (HNO)
- Catión nitrosilo ($NO^+$)
- Anión nitrosilo ($NO^-$ )

Por otro lado, los radicales libres pueden formarse como consecuencias de una reacción metabólica dentro de la célula o formarse de manera espontánea si las condiciones del medio lo permiten. En este último punto, cabe destacar que las especies reactivas derivadas del oxígeno pueden formarse espontáneamente por medio de dos reacciones llamadas de Haber- Weiss o de Fenton[20]. En la reacción tipo Haber- Weiss una especie reactiva reacciona con un pro radical y de esa manera se forman varios radicales libres. En una reacción tipo Fenton, un compuesto pro radical reacciona con un catalizador

(Generalmente un metal de transición como por ejemplo el hierro) para formar a los radicales libres. Dentro de la célula existen muchos sitios de formación de especies reactivas derivadas ya sea del oxígeno o del nitrógeno. Dentro de los primeros, la cadena respiratoria de las mitocondrias es el principal sitio de producción de radicales libres derivados del oxígeno, seguido por los peroxisomas y el citosol. Por otro lado, una de las células donde existe la mayor producción de radicales libres derivados del oxígeno es el eritrocito seguido del cerebro, hígado y riñón que son órganos que presentan una alta tasa metabólica[21.] A su vez, los radicales libres derivados del nitrógeno se producen principalmente en reacciones metabólicas en el citosol de la célula y como producto de la acción de enzimas localizadas en las membranas celulares en células endoteliales de los vasos sanguíneos[22].

#### 3.2.1.2 Formación de radicales libres

Los radicales libres se producen fisiológicamente en cantidades moderadas, ya que participan en importantes funciones biológicas.

Si alcanza niveles elevados en el organismo provoca daños celulares de diversos tipos teniendo una repercusión importante en la salud. La formación de radicales libres puede deberse a la acción de fuentes exógenas o endógenas[23].

Los seres vivos en el transcurso del día producen cierta cantidad de radicales libres que mantienen un equilibrio con los antioxidantes endógenos propio de nuestro organismo, cuando se da una producción excesiva de estos radicales el cuerpo no puede desecharlo, se suma a

este exceso ciertos hábitos y factores cotidianos que son los causantes de que año tras año se acumulen hasta aproximadamente dos kilogramos de radicales libres en el organismo[3].

Entre estos hábitos y factores cotidianos que los causan encontramos:

- **Fuentes exógenas**

  Los óxidos de nitrógeno del humo del tabaco, las sales de hierro y cobre promueven la generación de radicales oxidantes a partir de peróxidos. Los oxidantes pueden proceder del exterior ya sea directamente o como consecuencia del metabolismo de ciertas sustancias[15]. De las fuentes exógenas de radicales libres, el tabaquismo es una de las más importantes. El humo del tabaco es una mezcla de sustancias entre las cuales destacan los óxidos de nitrógeno y de azufre. Otros componentes del humo del tabaco pueden interaccionar con el citocromo P450 y con el catabolismo del ácido araquidónico y de las flavonas[5]. Se ha estudiado además que la presencia de nitrógeno puede proceder de la contaminación atmosférica, los hidrocarburos presentes en la polución ambiental constituyen, asimismo, una fuente nada despreciable de radicales libres, el ozono es una ERO (especie reactiva del oxígeno) dotada de un extraordinario poder oxidante. Puede proceder de la acción fotoquímica de las radiaciones electromagnéticas sobre el oxígeno[6].

  El ozono ($O_3$) es un ERO (especie reactiva de oxigeno) dotado de un extraordinario poder oxidante. Puede proceder de la acción fotoquímica de las radiaciones electromagnéticas sobre el oxígeno, de los campos eléctricos o de la combustión de los carburantes[11].

El ozono ($O_3$) puede oxidar grupos (-SH, -$NH_2$, OH y COH), y en los fosfolípidos de las membranas celulares induce la peroxidación lipídica[4]. Una concentración de oxigeno ($O_2$) demasiado elevada puede generar una sobrecarga de ERO (especie reactiva de oxigeno). Así, cuando la concentración de $O_2$ en el aire inspirado sobrepasa el 30-40%, las defensas antioxidantes comienzan a fracasar. Una concentración del 100% es altamente toxica y solo suele resistir, sin que aparezcan lesiones durante unos pocos minutos[12].

Las principales fuentes exógenas de radicales libres se pueden clasificar en:

- **Factores ambientales:** la contaminación atmosférica producida por contaminantes fotoquímicos, el humo del tabaco inhalado directamente o indirectamente, la hiperoxia, los plaguicidas, los compuestos xenobióticos (cloroformo, paracetamol, etanol, tetracloruro de carbono, etc.), los metales pesados, los disolventes, los anestésicos y los hidrocarburos aromáticos. Todos estos compuestos pueden poseer radicales libres de manera intrínseca como el humo del tabaco, o bien generarlos a través del metabolismo celular y los procesos relacionados con este[12].
- **Compuestos de naturaleza pro oxidantes**, que entran en el Organismo a través de la dieta, ya que se encuentran en una gran parte de los aditivos químicos utilizados en los alimentos en conservas y embutidos (conservantes, colorantes, saborizantes, etc.), las grasas animales y vegetales calentadas al fuego o por hidrogenación, bebidas alcohólicas, azucares refinados, etc.

- **Contaminantes químicos,** componentes de perfumes, cremas para la piel, champús, jabones pinturas detergentes para la ropa productos de limpieza etc. Son los radicales libres o precursores de estos.

- **Agentes antineoplásicos y antibióticos** fármacos que se utilizan por su capacidad para reducir el $H_2O_2$, $O_2$ y $OH^-$ adriamicina, bleomicina y algunos antibióticos con grupos quinoides o metales.

- **Irradiaciones sobre el organismo,** las cuales pueden provocar el paso de un compuesto a su estado excitado, lo que puede originar un radical o acentuar su carácter oxidante. Son radiaciones solares, ultravioletas, rayos X, rayos Y, e ionizantes (electrones, protones neutrones y partículas alfa y beta).

- **Fuentes endógenas:**

  Las mitocondrias presentes en los tejidos sanos son la principal fuente de radicales libres en los organismos aerobios, ya que estos orgánulos son los responsables de más de 90% del consumo del oxígeno celular[17]. La cadena de transporte electrónico, constituida por una serie de proteínas con propiedades redox capaces de reducir el oxígeno molecular hasta la formación de agua, se encuentra acoplada a su vez a la fosforilación oxidativa para producir ATP. Estos procesos constituyen la principal fuente endógena de ROS[18].

  Entre el 1% y el 2% de los electrones transportados por la cadena mitocondrial no alcanza su destino final, por lo que no intervienen en la producción de ATP, sino que están implicados en las reducciones parciales del $O_2$. Entre el 1%

y el 5% de las moléculas de $O_2$ son activadas por incorporación directa de un electrón generando el anión radical superoxido[14]. Dicha producción es proporcional a la actividad de la cadena de transporte electrónico, pero no es necesariamente proporcional al consumo de $O_2$ en el organismo[15]. La liberación de ROS (especies reactivas de oxigeno) hacia el exterior mitocondrial depende del potencial de membrana, principalmente cuando se alcanza el potencial máximo[16].

Aunque la principal fuente de formación de ROS es la hiperactividad mitocondrial otras fuentes no menos importantes son las reacciones enzimáticas e inmunitarias, la autooxidación de catecolaminas, la producción de ácido láctico, etc.

Las fuentes endógenas de formación de ROS pueden clasificarse en dos grupos, según como las regulen los sistemas de homeostasis del organismo:

- **Fuentes de formación regulada.** En este grupo se incluyen el sistema inmune con su necesidad fisiológica de ROS. Los macrófagos y neutrófilos (fagocitos activados) requieren un ambiente oxidativo controlado, donde se pueda desarrollar su metabolismo y la eliminación de antígenos y células apoptoticas[17].
- **Fuentes de formación no regulada.** Las que se producen espontáneamente en respuesta a determinados estímulos como el ejercicio físico la dieta, la temperatura ambiental o las radiaciones.

### 3.2.2 ESTRÉS OXIDATIVO

En nuestro planeta existe una gran cantidad de oxígeno y por tanto en la naturaleza casi todos los materiales se oxidan: las

grasas se enrancian, los tornillos se cubren de óxido la goma pierde elasticidad, el papel se amarillenta, la fruta madura y se pudre, etc. Estas reacciones de óxido-reducción son muy importantes ya que los seres vivos obtienen la mayor parte de su energía a partir de ellas por ejemplo en la fotosíntesis y en el metabolismo aeróbico[14].

A pesar de que el oxígeno es imprescindible para la vida, puede ser también fuente de enfermedades a través de una producción incontrolada de radicales libres entre los que se encuentran las especies reactivas de oxigeno (ROS: “reactive oxygen Species”) que dañan las macromoléculas como lípidos, proteínas, carbohidratos y ácidos nucleicos además de alterar los procesos celulares como la funcionalidad de las membranas producción de enzimas respiración celular, inducción génica etc[15].

Estos ROS (especies reactivas de oxigeno) son iones de oxígeno, radicales libres y peróxidos tanto inorgánicos como orgánicos. Físicamente son moléculas muy pequeñas altamente reactivas debido a sus electrones desapareados. Estas especies se forman de manera natural como subproducto del metabolismo normal del oxígeno y tienen un importante papel en la señalización celular, pero en épocas de estrés ambiental sus niveles pueden aumentar mucho rompiendo el equilibrio y provocando daños significativos a las estructuras celulares provocando una situación conocida como estrés oxidativo. En el momento en que tiene lugar un aumento considerable de la velocidad de formación de ROS (especies reactivas de oxigeno)[16,] con respecto a lo establecido en condiciones normales casi siempre se origina como consecuencia de una disminución de los propios mecanismos de defensa, derivando en una situación de desequilibrio entre las especies oxidantes (más numerosas ahora) y las

antioxidantes lo que origina unos daños oxidativos importantes sobre determinadas moléculas presentes en el organismo reflejándose en sus funciones biológicas. El balance existente entre los agentes oxidantes y antioxidantes determinara el estado redox manteniendo una homeostasis redox o estado de equilibrio de las condiciones de óxido- reducción final[17].

**Efectos ocasionados por el estrés oxidativo**

La naturaleza del daño ocasionado por el estrés oxidativo va a depender principalmente de dos factores: la reactividad del radical libre que lo produce y la disponibilidad de un sustrato susceptible que puede ser atacado en las proximidades de la formación de dicho radical libre[18]. A pesar de la amplia variedad de daños que puede darse, los mecanismos por los que se producen son comunes y contienen la capacidad de un átomo de hidrogeno o de un electrón de una determinada molécula cercana también llamada molécula diana, por parte del radical libre, estabilizándose el electrón desapareados del radical mediante la formación de un par electrónico. De una u otra manera se genera un nuevo radical que generalmente posee la reactividad de su predecesor[19].

### 3.2.3 LOS ANTIOXIDANTES

Los antioxidantes son moléculas capaces de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas en el organismo posee un sistema de defensa antioxidante el cual está formado por compuesto de naturaleza enzimática como son: superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa, y compuestos de naturaleza no enzimática como: vitamina E, beta-caroteno, vitamina C, glutatión reducido, albumina, flavonoides y metales de transición como Se, Cu Zn. Así mismo en oposición a los radicales libres, se encuentran los antioxidantes, que son

sustancias que están presentes en concentraciones bajas en comparación con el sustrato oxidable, retrasan significativamente o evitan la oxidación de este[20].

### 3.2.3.1 Características de los antioxidantes

Las principales características de un compuesto o sistema antioxidantes son la prevención o detección de una cadena de propagación oxidativa, mediante la estabilización del radical generado y la regeneración del antioxidante radicalaria ayudando así a reducir el daño oxidativo en el cuerpo humano es por lo antes mencionado que se puede definir como antioxidante en el ámbito de los alimentos como “aquellas sustancias que en bajas concentraciones, actúan previniendo o retardando grandemente la oxidación de materiales fácilmente oxidables tales como las grasas[21]

Por lo tanto Los antioxidantes se caracterizan principalmente por permitir la oxidación de los alimentos que consumimos y así lograr que nuestro organismo se beneficie, por ejemplo en las grandes industrias comerciales se ha identificado a esta molécula como la opción más beneficiosa que tienen para poder reducir el oxígeno en los productos que se envasan al vacío, en los seres humanos los antioxidantes promueven esas regeneraciones celulares que permiten el bienestar gracias a una apariencia física saludable, entendemos entonces que los antioxidantes son esenciales en la mayoría de los ámbitos por lo cual es de suma importancia su consumo[22].

### 3.2.3.2 Clases de antioxidantes

En función de cómo interaccionan con los agentes oxidantes, los antioxidantes pueden ser:

- **Antioxidantes primarios**: impiden la formación de radicales libres, especialmente las ROS. Algunos ejemplos de estos son: la vitamina E, polifenoles como resveratrol o enzimas antioxidantes, con lo que indirectamente reducen el daño en el ADN y en las membranas
- **Antioxidantes secundarios:** entre los antioxidantes secundarios se encuentran los que interrumpen la propagación de radicales libres como, por ejemplo: alfa-tocoferol, ácido ascórbico o los antioxidantes secundarios que desplazan las ROS, por ejemplo: ácido ascórbico, carotenoides, glutatión y enzimas antioxidantes; inhibiendo la generación de ROS e impidiendo la activación metabólica de carcinógenos[23].
- **Antioxidantes terciarios**: reparan el daño causado por los radicales libres o eliminan moléculas que se han estropeado, modificando el potencial redox mejorando la reparación del ADN. Como, por ejemplo: vitamina C, polifenoles, selenio o N-acetil cisteína.

### 3.2.3.3 Fuentes de antioxidantes

Los antioxidantes están formados por un grupo de vitaminas, minerales y enzimas que protegen nuestro organismo de la formación de radicales libres, cuatro enzimas los neutralizan en el organismo naturalmente y son el superóxido dismutasa, metionina reductasa, catalasa y glutation peroxidasa. La acción de estas

enzimas barredoras, pueden ser suplementadas por una dieta rica en antioxidantes como, as vitaminas A, E y C, el selenio, el zinc, entre otros mnutrientes[18].

Algunos de estos antioxidantes son:

- Selenio: levadura de cerveza, vegetales (brócoli en particular), arroz integral y otros granos, ajo y cebolla, salmón, atún, pescado en general
- Zinc: pescados, legumbres, granos integrales, levaduras de cerveza, yema de huevo, hongos, semillas de zapallo, girasol, sésamo, porotos de soja, almendras, nueces, avellanas
- SOD (superóxido dismutasa): trigo y centeno, integrales, plantas verdes, zapallo, crucíferas
- Vitamina E: Aceites vegetales prensados en frio, girasol, maíz, etc.; cereales integrales, germen de trigo, semillas y oleaginosas, legumbres, avena arrollada.
- Coenzima Q10: Caballa, salmón, sardinas
- Vitamina A y Beta caroteno: Vegetales verdes (espinaca, acelga) y amarillos (zapallo, batata, calabaza), crucíferas, damascos y duraznos, zanahorias, ajo, perejil, clorofila, Espirulina (algas de agua dulce)
- Vitamina C: vegetales verdes, perejil, cítricos, kiwi, rosa mosqueta, Acerola, frutillas, tomate, crucíferas, ante, brote de soja, brotes de trigo.
- Ciproflavonoides: Pomelo, naranja, uvas, melón, ciruela, rosa mosqueta.

Por lo antes mencionado podemos decir que si mantenemos una dieta rica en estos nutrientes tendremos una mayor protección y no necesitaríamos suplementar pero si, como suele suceder con las dietas

habituales del mundo moderno, la alimentación es de clase monotemática, poco variada o se está en una etapa de mayor requerimiento: crecimiento, actividades deportivas, embarazo, envejecimiento, se podría estar carente de estos nutrientes[19].

### 3.2.4 COMPUESTOS FENOLICOS

El término “fenoles” comprende aproximadamente 8000 compuestos que aparecen en la naturaleza. Muchas de estas estructuras, se encuentran de manera natural en especies vegetales y su distribución en los tejidos y células de éstas, varía considerablemente de acuerdo al tipo de compuesto y a la especie[25]. Las frutas se destacan por su alto contenido de compuestos fenólicos, principalmente los flavonoles.

Constituyen un importante y heterogéneo grupo de compuestos ampliamente repartidos en el reino vegetal, formado por más de 8000 estructuras identificadas. Presentan entre sus propiedades, la capacidad de precipitar macromoléculas tales como proteínas, carbohidratos y enzimas digestivas, lo que reduce la digestión de ciertos alimentos y que generó antiguamente, el término de anti nutrientes. En la década de los 90 del siglo pasado, la percepción sobre estos compuestos cambia drásticamente, aumentando el interés en ellos por sus efectos beneficiosos sobre la salud, descritos en determinadas enfermedades cardiovasculares, enfermedades neurodegenerativas, en la prevención y tratamiento de distintos tipos de cáncer y en general en todas aquellas enfermedades relacionadas con estrés oxidativo[20].

Los numerosos beneficios aportados por la extensa variedad de compuestos fenólicos responden a sus propiedades antiinflamatorias, anticancerígenas y fundamentalmente a sus propiedades antioxidantes[21]. La influencia de estas últimas en

la mejora de la salud, así como la gran abundancia de estos compuestos en nuestra dieta cotidiana, ha despertado un gran interés desde el punto de vista científico– empresarial, tanto en el campo de los ingredientes funcionales, como en el campo farmacológico. Los compuestos fenólicos constituyen una de las principales fracciones de metabolismo secundarios sintetizados por los recursos vegetales, ya que intervienen en procesos fisiológicos referentes al crecimiento y la reproducción, en la respuesta a condiciones de estrés, en procesos defensivos frente a herbívoros, patógenos, parásitos, polución, radiación UV, temperaturas extremas, etc. y son los principales responsables propiedades como el color, la astringencia, el sabor y el aroma. A pesar de la gran variedad de compuestos fenólicos que existen, la mayoría presenta un origen metabólico común: la ruta del ácido shikimico (plantas superiores) y la del ácido malónico (bacterias y hongos). En ellas tiene lugar una biosíntesis que conduce a la producción de ácido benzoico y cinámico, así como a ciertos aminoácidos aromáticos (fenilalanina y tirosina). En su mayoría, se trata de moléculas muy solubles que presentan como elemento común un anillo bencénico con uno o varios grupos hidroxilo en sus estructuras moleculares, que además pueden incluir grupos funcionales como estrés, metil esteres, glucósidos[22]. No obstante ciertos compuestos fenólicos son solubles solo en disolventes orgánicos

**COMPUESTOS FENÓLICOS EN LA DIETA:** los productos naturales con alto contenido en antioxidantes fenólicos, adquieren un papel imprescindible por la tendencia generalizada en la población hacia una alimentación basa en el consumo de productos saludables[23]. Su presencia en los alimentos de origen vegetal como frutas, vegetales, café, té,

especial y condimentos, etc. Aporta aproximadamente un gramo diario, dependiendo de la dieta.

#### 3.2.4.1 La actividad antioxidante de los compuestos fenol

La capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos reside en su estructura química, idónea para reaccionar con los radicales libres. El fundamento de la interacción "antioxidante- radical libre" se basa en la facilidad del antioxidante para donar electrones o átomos de hidrogeno del grupo hidroxilo unido al grupo aromático y en la capacidad del nuevo radical que se origina, para des localizar el electrón despareado (efecto resonante) en el sistema de dobles enlaces característico del anillo aromático, pudiendo estabilizarse mediante la formación de quinonas. A esto hay que sumarse que los compuestos fenólicos presentan una gran capacidad de captación de iones metálicos, principalmente hierro y cobre, de manera que inhibe la formación de radicales libres a través de la reacción de Fenton[24].

Es muy importante el grado de metoxilación e hidroxilación del compuesto fenólico, ya que está directamente relacionada con la capacidad antioxidante de este. Otros factores de gran influencia son: la concentración, la localización de los grupos hidróxidos y el nivel de oxidación que presenta los antioxidantes[13].

### 3.2.5 LA DETERMINACION DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

La actividad antioxidante no puede ser medida directamente, pero puede determinarse por los efectos del compuesto antioxidante en un proceso de oxidación controlado, la

medición de una muestra oxidante, pueden usarse intermediarios o productos finales para valorar la actividad antioxidante. La actividad antioxidante de una muestra no puede ser determinada basándose solo en un ensayo de prueba. En la práctica se realizan muchos modelos de test in vitro para evaluar la actividad antioxidante de la muestra de interés; sin embargo, es necesario considerar que los modelos presenten diferentes variaciones puede dificultar un poco la comparación de los resultados entre un método y otro[14].

En los últimos años se han adoptado un amplio rango de ensayos espectrofotométricos para medir la capacidad antioxidante de los alimentos, muestras biológicas y extractos vegetales. Usualmente los ensayos antioxidantes in vitro utilizan un captador de radicales libres y son relativamente sencillos de realizar. Entre los ensayos de captación de radicales libres, el método DPPH, es el más rápido, es simple y es de menor costo en comparación con otros modelos[15].

#### 3.2.5.1 Método DPPH (1, 1, difenil, 2-picrilhidrazil)

En el año 1958, Marsden Blois demostró por primera vez la capacidad del radical libre DPPH para aceptar un átomo de hidrogeno proveniente de una molécula de cisteína. En la actualidad, se emplea principalmente el protocolo de ensayo propuesto en el año 1995 por Williams y sus colaboradores[16].

El 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH), es una molécula comercial de origen sintético y uno de los pocos radicales orgánicos con átomos de nitrógeno en su estructura, que presenta estabilidad, la cual es debida a la deslocalización de un electrón desapareado sobre la molécula y por tanto, a diferencia de la mayoría de los radicales libres, no sufre proceso de dimerización[17].

La deslocalización del electrón, provoca además una intensificación en el ya de por si intenso color violáceo característico del radical, que disuelto en medio metanólicos absorbe a una longitud de onda de 515nm.

En presencia de una antioxidante que puede donar o transferirle un átomo de hidrogeno, oxidándose y reduciendo de esta forma el DPPH, la coloración violácea de la disolución se atenúa, dando paso a su forma reducida (DPPH-H) de color amarillento[18].

En un principio, se creyó que este ensayo involucraba una reacción HAT, sin embargo, tras investigarse el mecanismo de reacción, se ha visto que la reacción que tiene lugar se corresponde con un mecanismo SET. Se ha determinado que el proceso de reacción del DPPH, con polifenólico ocurre en dos etapas[19]

- En una primera etapa, se da una trasferencia electrónica de un anión fenoxido al DPPH, es un proceso rápido y es la etapa determinante de la velocidad de la reacción.
- En una segunda etapa, el radical nitrógeno sustrae el átomo de hidrogeno al antioxidante fenólico. Es un proceso que se da más

  Despacio en disolventes con enlaces fuertes, capaces de aceptar hidrogeno, como son el etanol y metanol, siendo este último el disolvente que se suele emplear en los ensayos[20].

  Además, los autores indicaron que la aparición de ácidos o bases presentes como contaminantes en el disolvente, pueden influenciar drásticamente el equilibrio de ionización de fenoles, alterando así los valores de la constante d velocidad de la reacción.

Por esto que la reacción de estabilización del radical transcurre principalmente mediante un mecanismo SET, con un ligero aporte de un mecanismo HAT con el metanol como disolvente[21].

En este ensayo, un simple seguimiento de la disminución de absorbancia asociado al proceso de interacción entre el antioxidante y el radical DPPH, permite evaluar eficazmente la actividad antioxidante del mismo. Pese a que existe diversas propuestas a la hora de presentar los resultados, la mayoría de los estudios coinciden en el uso del parámetro “IC50” o “concentración de inhibición” y cuyo significado se corresponde con la cantidad de antioxidante requerida para disminuir en un 50% la concentración inicial del radical en el estado estacionario[22].

Para simplificar los términos, es preferible expresar los datos como “1/IC50% poder anti radical” [12].

**Las ventajas principales que presenta este método,** son la simplicidad y disponibilidad instrumental, características determinantes que establecen este método como prueba habitual en la determinación de la eficacia antiradicalaria de multitud de compuestos aislados y extractos de naturaleza y origen variado (vino, zumo, compuestos polifenólico, mezclas de extractos, etc.)[23].

Sin embargo, el ensayo DPPH, presenta algunas desventajas que limitan, en cierta manera, su aplicación. Los altos potenciales que posee los monómeros de la anilina y del pirrol, se relacionan con una mayor dificultad para interaccionar con radicales DPPH, lo que significa que dicho ensayo

es válido solo para compuestos termodinámicamente capaces de reaccionar con él[24].

Sin embargo, otros radicales menos estables y de interés biológico, como el radical peróxido o hidroxilo, muestran potenciales formales de reducción superiores y pueden reaccionar normalmente con un mecanismo de reacción diferente, con especies que presenten potenciales de oxidación bajos, impidiendo de este modo la viabilidad del ensayo[25].

La diferencia de estabilidad entre el radical DPPH y el radical ROO- altamente reactivo frente a antioxidantes, se refleja en la cinética lenta de la interacción, de manera que algunos antioxidantes concretos resultan inertes frente al DPPH.

Además, como la longitud de onda utilizada en este método, se encuentra próxima a la región visible, la capacidad antioxidante de la muestra puede ser subestimada debido a la interferencia de compuestos como los carotenoides u otros compuestos presentes en la muestra que también absorbe en la región próxima del radical antioxidante mediante el uso del parámetro EC-50.

En la actualidad existe una variedad de técnicas in vitro para determinar la capacidad antioxidante, los cuales se basan en su capacidad para captar radicales libres. Entre ellos se pueden mencionar el uso del 2, 2,-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), acido 2, 2,-azino.bis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfonico (ABTS), la reacción con el óxido nitroso (TES NO)[15].

#### 3.2.5.2 FUNDAMENTO DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

La investigación de como la vitamina E prevenía el proceso de peroxidación de lípidos condujo a la identificación de antioxidantes como agentes reductores que previenen reacciones oxidativas, a menudo depurando especies reactivas del oxígeno antes de que puedan dañar las células. Los posibles mecanismos de acción de los antioxidantes, fueron investigados por primera vez cuando se reconoció que una sustancia con actividad antioxidante probablemente era una que se oxidaba a si misma fácilmente[16].

El fundamento del método desarrollado por Brand-Williams et al., DPPH, consiste en que este radical tiene un electrón desapareado y es de color azul-violeta, decolorándose hacia amarillo pálido por la reacción de la presencia de una sustancia antioxidante, siendo medida espectrofotométricamente a 517 nm. Por diferencia de absorbancia se determina el porcentaje de captación de radical libre DPPH[17].

### 3.2.6 SINERGISMO

Algunas veces, nuestra defensa endógena antioxidante no es completamente efectiva en su acción contra los radicales libres, por lo cual es recomendable el consumo de una dieta rica en sustancias antioxidantes naturales, las cuales se encuentran generalmente en las frutas y verduras. Su consumo constituye una de las mejores formas de prevenir la formación de especies reactivas de oxígeno en exceso, a que constituyen una importante alternativa como fuente potencial de antioxidantes, debido a que presentan diversos compuestos

químicos muy activos en bajas concentraciones, pero que se pueden complementar o actuar de manera sinérgica. El término consiste en que se consiguen ventajas en asociar el efecto adicional que dos compuestos obtienen por trabajar de común, la sinergia es la suma de efectos individuales que se multiplica progresivamente, reflejándose sobre la totalidad. La valoración de las diferencias es la esencia de la sinergia[23].

En el estudio de los extractos metanólicos se produce un sinergismo en cuanto a su efecto de la capacidad antioxidante que se da por la acción de ambos recursos naturales y sus propiedades antioxidantes

En la mezcla de estos recursos vegetales se encuentran comúnmente acción sinérgica mejorando así su actividad antioxidante, La evaluación de la actividad antioxidante demuestran que los extractos crudos y las mezclas de los extractos inhiben especies radicalarias sintéticas como DPPH[24].

#### 3.2.6.1 SINERGISMO EN EXTRACTOS METANOLICOS DE AGUAJE Y MANGO

En este sentido se combinarán dos tipos de vegetales como son Mauritia flexuosa L.; para evaluar la interacción antioxidante frente al radical sintético DPPH, dichos ensayos mostrarán efectos antioxidantes sinérgicos en conjunto de extractos, Otra manera de aumentar el potencial de los antioxidantes naturales es generar una interacción con antioxidantes sintéticos como el ácido ascórbico. Al realizar una serie de combinaciones entre dos antioxidantes comprobando su capacidad a través de diferentes ensayos indirectos y donde se determinó un tipo de interacción potencializada[22].

La mayor parte de la capacidad antioxidante de frutas y vegetales. Se la proporciona su contenido de vitamina E, C y carotenos, así como de diferentes polifenoles

La medición de los antioxidantes individuales por separado no permite conocer con certeza la capacidad antioxidante total de un fluido biológico por los efectos sinérgico que puedan establecerse entre los antioxidantes presentes en él[23].

Diferentes métodos se han desarrollado para determinar la capacidad antioxidante de fluidos, son todos los métodos de inhibición, donde se usa una especie generadora de radicales libres y una sustancia que detecta esta especie. La actividad antioxidante de la muestra añadida inhibe la generación de estos radicales[24].

La evaluación de actividad antioxidante a través de fuentes generadoras de radicales libres en el sistema de prueba, asume que la oxidación es inhibida en un alto porcentaje por la captura de estos; por tanto se enfoca en monitorear la capacidad de aditivos y extractos para la captura de radicales o la inhibición de su formación. Este es el principio de los métodos más modernos de ensayo tales como, DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo).

#### 3.2.6.2 Ventajas

Una combinación de extractos naturales actuando en sinergismo, posee las siguientes características:

Previene la aparición de enfermedades crónicas no transmisibles 0 han obtenido algunos resultados clínicos favorables y una disminución de los marcadores de estrés oxidativo en plasma.

Disminuye los niveles de necrosis y apoptosis celular en cultivos primarios de hepatocitos humanos, lo que el

estrés, ya sea emocional, físico o causado por lesiones o enfermedades, agota los nutrientes del cuerpo, en particular, un sinergismo en capacidad antioxidante favorece el proceso de recuperación[16].

Retarde la deterioración, rancidez y descoloración resultantes de la autooxidación; Sustituye los antioxidantes sintéticos, Conserva e intensifica el sabor, olor y color de los productos. Protege el valor nutricional del alimento; Estabiliza los cambios de color y la reducción de pigmentos; No cambia el sabor original del alimento[17].

#### 3.2.6.3 Desventajas

El efecto que produce el sinergismo de extractos de vegetales se debe recomendar manejarlo con cuidado en cuanto a los niveles de antioxidantes en la dieta ya que una cantidad excesiva podría interferir con las funciones protectoras de la apoptosis y así aumentar el crecimiento tumoral. Todos los autores coinciden en la necesidad de diseñar nuevos estudios que permitan dilucidar el verdadero papel de los antioxidantes en la prevención y tratamiento de algunas enfermedades, principalmente la patología cardiovascular y tumoral, que es la más relacionada con el estrés oxidativo y con una dieta deficitaria en estas sustancias[18].

### 3.2.7 TAXONOMIA DE RECURSOS VEGETALES EN LA INVESTIGACION:

#### 3.2.7.1 *Mauritia flexuosa*

El aguaje, es una palmera perteneciente a la familia Arecaceae, que tiene amplia distribución en América del Sur, y que crece principalmente en territorios mal drenados junto a otras especies de palmeras; en estado natural logra alcanzar hasta 40 metros de altura y llega a su primera fructificación a la edad vegetativa de ocho años . La principal virtud de esta palmera son sus frutos que tienen sabor agridulce y que sirven como alimento en muchas zonas amazónicas, ya sea rurales, urbanas o en tribus de indígenas como los Warao[19]

TAXONOMIA:

Familia Arecaceae

Nombre científico: Mauritia flexuosa

Nombre común: aguaje

Sinónimo: Mauritia vinífera, Mauritia minor

- **Habitad**

  Mauritia flexuosa L, el habitad donde se desarrolla es muy diverso desde tierras bajas inundables permanentemente o estacionalmente hasta terrenos bajos de tierra firme, desde el nivel del mar en la costa atlántica hasta 1000 msnm. “En la ladera de los andes en el suelo pantanosos fértiles o arenosos por lo que se puede afirmar que es una palmera con amplia plasticidad fisiológica.

- **Distribución geográfica:**

Mauritia flexuosa L. esta ampliamente distribuida en toda la amazonia desde el occidente por el Ecuador, Perú y Bolivia, hacia el oriente a través de las cuencas del amazonas y del Orinoco por Venezuela, las Guayanas, trinidad y los estados brasileños de bahía[15].

- **Composición química**

  El fruto es comestible con una pulpa altamente nutritiva que contiene minerales, proteínas, grasas, vitaminas y carbohidratos, posee mayor reserva de betacaroteno, vitamina A. su alto contenido de vitamina A, lo convierte en un recurso inigualable para la dieta de niños y madres gestantes, pues su ayuda a la formación y mantenimiento de dientes sanos de tejidos blandos y óseos de la membrana mucosa y de la piel. Esta vitamina contribuye a mejorar la visión especialmente ante la luz tenue y también es necesaria durante la reproducción y la lactancia[16].

- **Usos**:

  En la actualidad ninguna fruta de la Amazonía es comercializada en tantas diferentes formas como el morete: maduro, verde, aguajina (refresco), chupetes, helados, mermeladas y yogures.

  En el mercado de Iquitos el morete, se expande en diversas formas: como fruto entero, de color rojo vinosos, como masa amarilla o anaranjada, obtenida del mesocarpio y como bebida fermentada llamada chicha del mesocarpio cocido y fermentado que posee un alto valor nutritivo.

### 3.2.7.2 Mangifera indica

**TAXONOMIA**

Familia: Anacareaceas

Nombre científico: *Mangifera indica*

Nombre común: mango

Sinónimos: manga

- **Habitad:**

  Originario de la india y muy propagado en América y en todos los países intertropicales, que crece hasta quince metros de altura, con tronco recto de corteza negra y rugosa, copa grande y espesa, hojas persistentes, duras y lanceoladas, flores pequeñas, amarillentas y en panoja, y fruto oval, arriñonado, amarillo, de corteza delgada y correosa, aromático y de sabor agradable[18].

  No requiere de riego y rechaza los incendios, una plantación de mangos difícilmente podría quemarse durante la época de sequía, ya que es el periodo de mayor actividad de la fotosíntesis por la menor nubosidad. Es un árbol agresivo con otras especies para ocupar un espacio determinado[19].

- **Distribución geográfica**:

  Este recurso vegetal suele ser un árbol leñoso, que alcanza un gran tamaño y altura (puede superar los 30 m. sobre todo, si tiene que competir por los rayos solares con árboles más grandes, como sería en una plantación de cocoteros, siempre y cuando sea en un clima cálido. En las zonas de clima templado puede cultivarse, aunque no suele alcanzar una gran altura, por las incidencias climáticas que le resultan adversas. Es originario de la india y se cultiva en

países de clima cálido además de algunos climas templados como España, panamá, costa rica, el salvador, Paraguay, México en la zona de clima subtropical, Perú, china, Italia, estados unidos y ecuador.

Así todas estas variedades de mango injerto se derivan de una variedad obtenida por evolución natural que muchas personas denominan “mangas” en Venezuela, canarias y en la costa atlántica de Colombia y que no es sino la adaptación de la fruta durante varios siglos a un clima mucho más favorable que el que tenía en la zona de procedencia de este recurso[20].

Extractos de las frutas inmaduras y de corteza, tallos y hojas han demostrado actividad antibiótica. Una decocción combinada de mango y otras hojas se toma después del parto: rico en potasio ayuda a las personas que sufren de hipertensión y retención de líquidos, contiene vitamina A y vitamina C, ideal para aquellas personas que no pueden tolerar el consumo de otras fuentes de esta vitamina. Contiene una enzima que facilita la digestión y, al ser antioxidante, se recomienda para prevenir enfermedades tan serias como el cáncer y para cuidar la piel. Por su contenido de Selenio, es útil en el tratamiento y cura de la distimia o depresión crónica[21]. El mirceno presente en el mango es un anti-inflamatorio natural que también puede ser sedante, hipnótico, analgésico y relajante muscular. Además, el mirceno también altera la barrera hematoencefálica, ayudando a pasar a las moléculas THC a través de la barrera fisiológica entre el sistema circulatorio y el sistema nervioso central

mucho más rápido y con mayor eficiencia, y provocando así la extensión y mayor fuerza de los efectos psicoactivos de los cannabinoides[22]. El valor energético del mango es ligeramente superior al de la manzana. La pulpa de la fruta es alta en fibra dietética prebiótica, vitamina C, polifenoles diversas y carotenoides de provitamina A. En la pulpa de la fruta del mango, se encuentran vitaminas y antioxidantes A y C, vitamina B6 (piridoxina), ácido fólico, otras vitaminas del grupo B y nutrientes esenciales, tales como potasio, cobre y aminoácidos. La pulpa y cáscara de mango contienen otros compuestos, como pigmentos carotenoides y polifenoles y omega-3 los ácidos grasos poliinsaturados[23].

### 3.2.8 OBTENCION DE EXTRACTOS VEGETALES

Para aprovechar las substancias activas de una planta, se recurre frecuentemente a los extractos. Este proceso de extracción consiste en incorporar las substancias activas de una planta a un solvente, que generalmente suele ser agua, alcohol o metanol; se puede realizar en frío o en caliente, y el producto resultante puede ser una solución concentrada o espesa en función de la sustancia de origen, o espesarse por propio interés en base a la aplicación que se le vaya a dar. La elección del disolvente va a depender de parámetros técnicos y económicos: selectividad, estabilidad, inercia química, temperatura de ebullición no demasiado elevada para permitir su eliminación total, no demasiado baja para evitar las pérdidas; seguridad de manipulación (si es posible no tóxico ni inflamable)[18]

Una de las formas de obtención es la maceración la cual es una extracción que se realiza a temperatura ambiente. Consiste en remojar el material vegetal, debidamente fragmentado en un solvente (agua, metanol o etanol, se prefiere el metanol o el

etanol puesto que a largos tiempos de extracción el agua puede propiciar la fermentación o la formación de mohos) hasta que éste penetre y disuelva las porciones solubles. Se puede utilizar cualquier recipiente con tapa que no sea atacado con el disolvente; en éste se colocan el material vegetal con el disolvente y tapado se deja en reposo por un período de 2 a 14 días con agitación esporádica. Luego se filtra el líquido, se exprime el residuo, se recupera el solvente en un evaporador rotatorio y se obtiene el extracto[19].

### 3.2.9 DEFINICIÓN DE TÉRMINOS

- **ANTIOXIDANTES:** Son moléculas capaces de inhibir o controlan la oxidación ocasionada por otras moléculas llamadas radicales libres que originan el envejecimiento y se produce otras fisiopatologías. juegan un papel importante en la salud fabricando enzimas de este tipo para controlar las reacciones a las cadenas de radicales libres[3].
- **RADICALES LIBRES:** Son un tipo de metabolitos reactivos que son producidos naturalmente en el cuerpo como resultados del metabolismo normal y la producción de energía. Esta es la respuesta biológica natural a las toxinas ambientales como el huno del cigarro, la luz solar, los químicos y generada por los seres humanos, e incluso un componente clave de los medicamentos farmacéuticos. [4].
- **ESTRÉS OXIDATIVO** Resulta de un aumento en la producción de precursores de radicales de oxigeno reactivos, de un aumento de las especies reactivas del oxígeno (EROs) de un incremento de las catálisis pro oxidantes de una reducción de los sistemas antioxidantes o de una combinación de todos ellos[5].
- **DPPH:** Método de capacidad atrapadora de radical libre rápido, eficaz y reproducible: el cual se basa en que la disolución de DPPH

entre en contacto con una sustancia que puede donar un átomo de hidrogeno o con otra especie radical y se produzca la forma reducida DPPH-H o DPPH-R con la consecuente pérdida de color y por lo tanto la perdida de la absorbancia[6].

- **ENFERMEDADES CRÓNICAS NO TRANSMISIBLES**: Son uno de los mayores retos que enfrenta el sistema de salud. Lo son por varios factores: el gran número de casos afectados, su creciente contribución a la mortalidad general, la conformación en la causa más frecuente de incapacidad prematura y la complejidad y costo elevado de su tratamiento.[7].
- **SINERGISMO**: Acción resultan te entre los componentes de un sistema cuya totalidad es mayor que la suma de cada componente por separado. Un conocimiento profundo de las estructuras químicas de los componentes antioxidantes y de sus posibles interacciones permite realizar una interpretación coherente de este fenómeno en algunos casos[8].
- **CAPACIDAD ANTIOXIDANTE:** Es la riqueza antioxidante de los alimentos que está generalmente dada por la suma e interacción de numerosas moléculas. Si bien la estructura química de tales moléculas puede ser significativamente diferente, entre los principales están polifenoles y carotenoides[9].
- **EXTRACTO VEGETALES:** Es un preparado que permite extraer de las plantas determinadas substancias útiles. Estas substancias pueden tener diferentes efectos como antioxidantes[10]

# CAPÍTULO IV

# METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

## 4.1. TIPO Y NIVEL DE LA INVESTIGACIÓN

### 4.1.1 TIPO DE INVESTIGACIÓN

Cuantitativo

Prospectivo

Longitudinal

### 4.1.2 NIVEL DE INVESTIGACIÓN

Analítico

Comparativo

## 4.2 MÉTODO Y DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

### 4.2.1 MÉTODO DE INVESTIGACIÓN

Deductivo

### 4.2.2 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

Experimental

## 4.3 POBLACIÓN Y MUESTRA DE LA INVESTIGACIÓN

### 4.3.1 POBLACIÓN

**Fruto de la Planta:** Aguaje (*Mauritia flexuosa L)* y Mango (*Mangifera indica*)

### 4.3.2 MUESTRA

Extracto metanólico de pulpa de Aguaje (*Mauritia flexuosa)*

Extracto metanólico de pulpa de Mango (*Mangifera indica*)

Extracto metanólico de mezcla de Mango y Aguaje.

## 4.4. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

### 4.4.1 TÉCNICAS

Capacidad atrapadora de radicales libres (DPPH)

El fundamento del método desarrollado por Brand – Williams et al, DPPH, consiste en que este radical tiene un electrón desapareado y es de color azul-violeta, decolorándose hacia amarillo pálido por la reacción de la presencia de una sustancia antioxidante, siendo medida en el espectrofotómetro a 517 nm. Por diferencia de absorbancia se determina el porcentaje de captación de radicales libres DPPH

La molécula DPPH se caracteriza por tener un radical libre estable. El parámetro que se midió es el porcentaje de reducción de DPPH frente a la muestra, llamado también de inhibición.

**Reacción química**

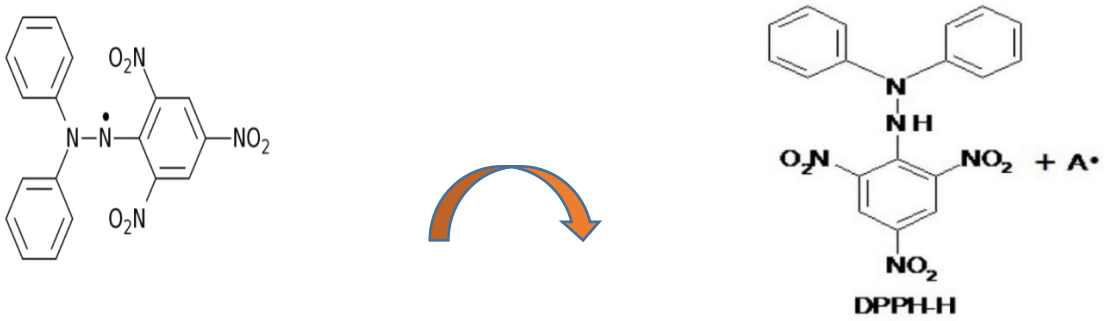



FIGURA 1. Castañeda Benjamín, et al, Centro de investigación, facultad de medicina humana, UNSMP, Rev. Academia de Salud, 2008

## 4.5 PROCEDIMIENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

### 4.5.1 OBTENCIÓN DE LOS RECURSOS NATURALES:

El aguaje y mango fueron adquiridos de Iquitos y Lima respectivamente. La cantidad de cada uno de estos frutos fue de 500 g, los cuales fueron lavados con agua destilada, se extrajo la pulpa de cada fruto para ser homogenizado en un procesador de alimentos para su posterior pesado y extracción metanólica.

### 4.5.2 PROCESO DE EXTRACCIÓN METANÓLICA DE LAS MUESTRAS

Se pesa 2,0 g de la pulpa de aguaje y se coloca en un beaker cubierto con papel aluminio para protegerlo de la luz, luego se adiciona 20 mL del solvente agua-metanol (1:1) se agita y deja en reposo 30 minutos a temperatura ambiente, luego de este tiempo se procede al filtrado.

Se realiza el mismo procedimiento con la pulpa de mango y la mezcla de pulpa de ambos frutos dejando en reposo igualmente por 30 minutos, protegido de la luz y a temperatura ambiente.

### 4.5.3 PREPARACIÓN DEL REACTIVO DPPH

Considerando el peso molecular del DPPH de 394,3 g/mol, para la preparación de 100 mL de la solución se pesa 3,94 mg de reactivo DPPH (2,2-difenil-1-picrilhydrazil). La preparación de la solución de DPPH se debe realizar protegiendo de la luz para esto se cubre la fiola empleando papel aluminio, agitando por 30 minutos hasta disolución completa, la cual debe ser almacenada a una temperatura de -20°C.

### 4.5.4 PREPARACIÓN DEL PATRÓN (ACIDO ASCORBICO)

Se pesa 2,0 g de ácido ascórbico en un beacker cubierto de papel aluminio para protegerlo de la luz, se adiciona 20,0 mL de solvente agua-metanol (1:1)

### 4.5.5 DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

Se realizan las siguientes soluciones:

- Solución de 2,2-difenil-1-picrilhydrazil (DPPH) en metanol a una concentración que de una lectura de absorbancia entre 0.90-1.10 a una longitud de onda de 517nm
- Blanco a base de agua-metanol (1:1) para ajustar el espectrofotómetro a cero unidades de absorbancia.
- Extractos metanólicos de pulpas de aguaje, mango y mezcla de pulpas de ambas frutas. Se deja reposar por 30 minutos a temperatura ambiente y protegidos de la luz.

- Diluciones de 0.5 mL,1.0 mL y 1.5 mL de cada extracto metanólico y se adicionó 1.5 mL, 1.0 mL, y 0.5 mL del solvente agua: metanol (1:1) respectivamente para un volumen final de 2.0 mL
- Se agregó 100 µL de cada dilución en 2.9 mL del reactivo DPPH (2,2-difenil-1-picrilhydrazil) y se dejó reposar por 30 minutos a temperatura ambiente y protegido de la luz.
- Se procede a la lectura de las absorbancias a 517 nm mediante el empleo del espectrofotómetro, cada ensayo se realizó por tres repeticiones.
- Diluciones de 0.5 mL, 1.0 mL y 1.5 mL de vitamina C, la cual fue utilizada como patrón de control, la misma que se preparó de igual forma que las muestras.
- Se midió las absorbancias del patrón y del blanco de la muestra.

  Con los valores de absorbancias obtenidas se determinó el porcentaje de captación de radicales libres 2,2–difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH).

# CAPÍTULO V

# PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

## 5.1 ANÁLISIS DE RESULTADOS

**Cuadro 1: CONCENTRACIÓN VERSUS ACTIVIDAD ANTI-RADICAL EN EXTRACTO METANÓLICO DE PULPA DE MANGO.**

| Concentracón mg/100ml | Absorbancias | | | | promedio | Actividad anti-radical |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **25** | 0.796 | 0.796 | 0.795 | 0.796 | 0.796 | 15.65 |
| **50** | 0.688 | 0.682 | 0.689 | 0.688 | 0.796 | 15.65 |
| **75** | 0.567 | 0.563 | 0.576 | 0.565 | 0.568 | 39.78 |
| **100** | 0.425 | 0.423 | 0.431 | 0.421 | 0.425 | 54.97 |
| **Blanco** | | | | | | 0.944 |

Se aprecia los valores de absorbancias y mediante ecuación se determina los valores de actividad anti radical (AAR) empleando la Fórmula:

$$AAR\ (\%) = \frac{AK - Am}{Ak} \times 100$$

Dónde:

AAR= Actividad anti-radical

Ak = Absorbancia del blanco

Am = Absorbancia de la muestra

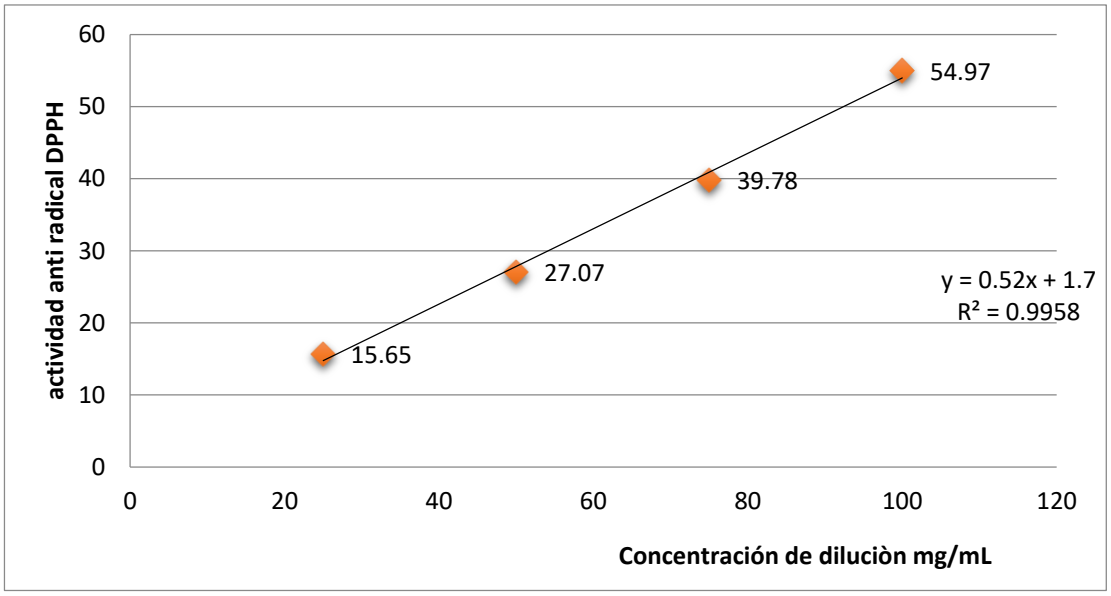



**Gráfico 1**: Capacidad anti radical versus concentración de extracto de pulpa de Mango

Se observa que la actividad anti radical es directamente proporcional a la concentración de pulpa de mango, como se aprecia se inicia con una actividad anti radical de 15.65 a 25 mL y alcanza un valor de 39.78 a 75 mL; este aumento en los valores de la actividad anti radical se debe a la neutralización del radical DPPH y la diminución de su efecto oxidante.
Posteriormente se calcula mediante fórmula el Concentración inhibitoria (IC50) que es el valor que determina la cantidad necesaria de concentración de extracto capaz de inhibir en un 50% el radical DPPH y de esta manera poder compararlo con otros productos.

Cálculo de la concentración para inhibir en un 50% el radical DPPH según Fórmula:

$$\mathbf{Y= 0.52X + 1.7}$$

$$IC\ (50) = \frac{(50 - 1.7)}{0.52} = 92.88\ mg/mL$$

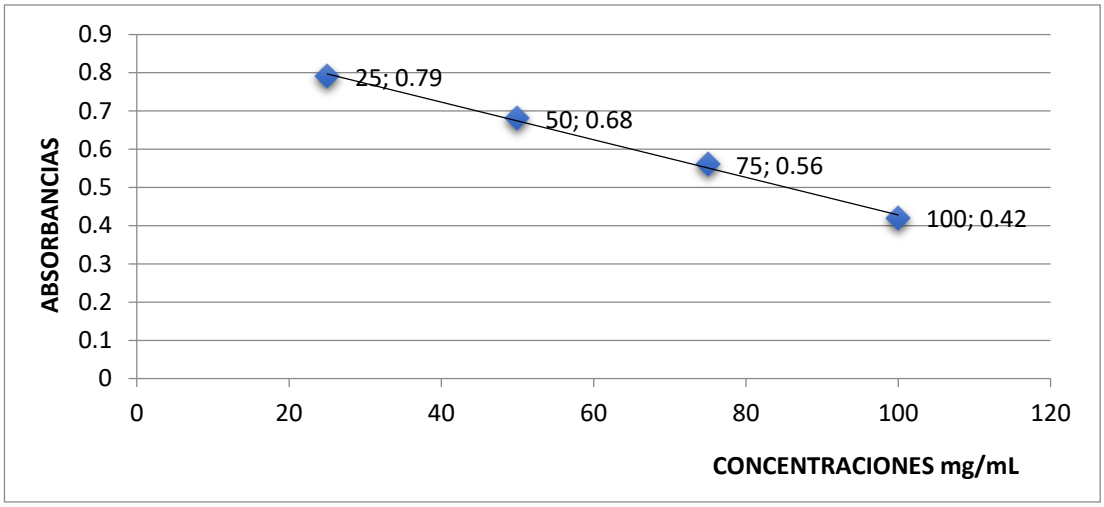



**Gráfico 2:** Absorbancia versus concentración de pulpa de mango

Se observa que la absorbancia de la pulpa de mango a 25mL es 0.796 y a medida que incrementamos la concentración de la misma la absorbancia de la solución es 0.568; esta diferencia se debe a que la intensidad de color va disminuyendo y eso se traduce a que mayor concentración de la pulpa el efecto oxidante del DPPH es neutralizado

**Cuadro 2 CONCENTRACIONES VS ACTIVIDAD ANTI RADICAL EN EXTRACTO METANÓLICO DE PULPA DE AGUAJE**

| Concentraciones en mg/100ml | ABSORBANCIAS | | | | Promedio | AAR |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **25** | 0.720 | 0.716 | 0.717 | 0.697 | 0.710 | 24.78 |
| **50** | 0.592 | 0.591 | 0.592 | 0.565 | 0.590 | 37.50 |
| **75** | 0.465 | 0.463 | 0.463 | 0.466 | 0.470 | 50.21 |
| **100** | 0.322 | 0.312 | 0.324 | 0.317 | 0.321 | 66.10 |
| **Blanco** | | | | | | 0.944 |

Se aprecia los valores de absorbancias medida a longitud de onda de 517 nm en el extracto de pulpa de aguaje.

Posteriormente con el empleo de estos valores y mediante ecuación se determina la actividad anti radical (AAR) empleando la ecuación.

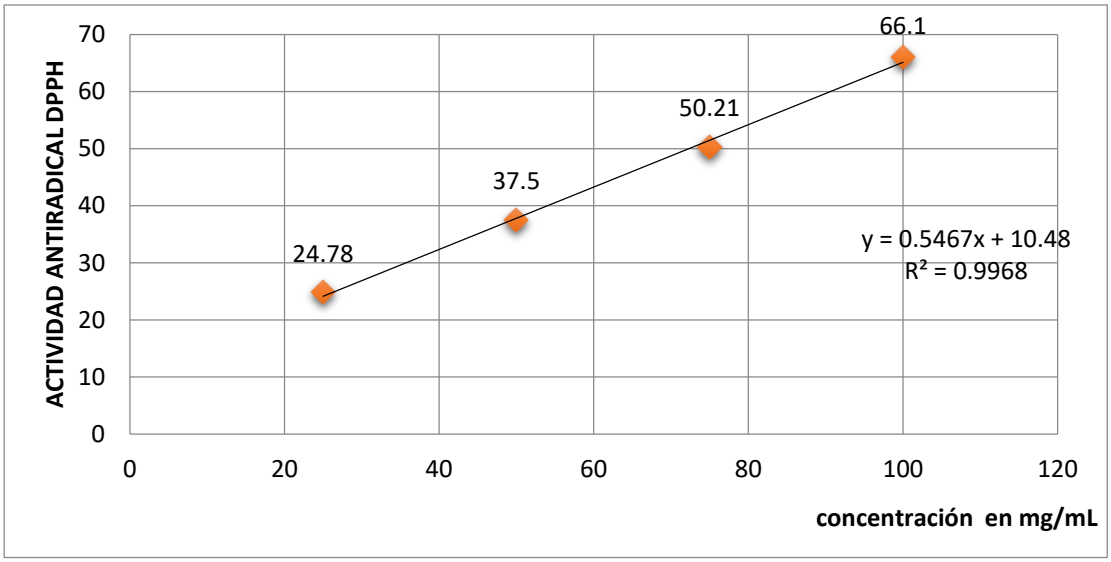



**Grafico 3:** Capacidad antioxidante versus concentración del extracto metanólico de la pulpa de aguaje

Se observa que la actividad anti radical es directamente proporcional a la concentración de pulpa de aguaje, como se aprecia se inicia con una actividad anti radical de 24.78 a 25 mL y alcanza un valor de 50.21 a 75 mL, este aumento en los valores de la actividad anti radical se debe a la neutralización del radical DPPH por tal motivo a mayor concentración de la pulpa tiene un mayor efecto antioxidante. Posteriormente se calcula mediante fórmula el Concentración inhibitoria (IC50) que es el valor que determina la cantidad necesaria de concentración de extracto capaz de inhibir en un 50% el radical

$$\mathbf{Y= 0.55X + 10.48}$$

$$IC\ (50) = \frac{(50 - 10.48)}{0.55} = 71.85\ \ mg/mL$$

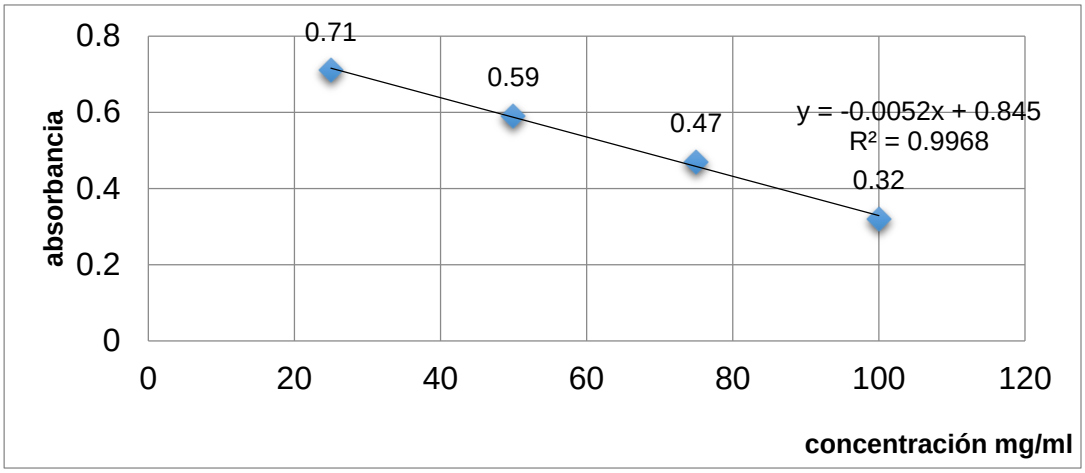



**Grafico 4: Absorbancia versus concentración de extracto de pulpa de aguaje**

El extracto de aguaje tuvo un absorbancia inicial de 0.71 a una concentración de 25 mg/mL y conforme va aumentando la concentración del extracto de pulpa esta absorbancia va disminuyendo apreciándose asi que a 75 mg/mL tuvo una absorbancia de 0.47, lo cual se manifiesta con la pérdida de coloración que tuvo el reactivo en un inicio pasando de violeta a amarillo; por lo cual se deduce que es inversamente proporcional

**Cuadro 3 CONCENTRACIONES VS ACTIVIDAD ANTI RADICAL EN EXTRACTO METANÓLICO DE PULPA DE AGUAJE Y MANGO**

| Concentraciones en mg/100ml | ABSORBANCIAS | | | | Promedio | AAR |
|---|---|---|---|---|---|---|
| **25** | 0.732 | 0.732 | 0.724 | 0.733 | 0.710 | 12.56 |
| **50** | 0.661 | 0.661 | 0.656 | 0.667 | 0.661 | 29.98 |
| **75** | 0.553 | 0.547 | 0.536 | 0.551 | 0.550 | 41.73 |
| **100** | 0.421 | 0.423 | 0.431 | 0.423 | 0.420 | 55.51 |
| **Blanco** | | | | | | 0.944 |

Se aprecia los valores de absorbancias medidas a unidad de longitud de onda 517 nm, con un promedio que va desde 0.710 como máximo y 0.420 como valor mínimo.

Posteriormente mediante ecuación (1) se determina los valores de actividad anti radical (AAR) empleando la fórmula se actividad anti-radical, observándose así un valor máximo de 55.51 a una concentración de 75 mg/mL de extracto de pulpa de la mezcla de mango *(Mangifera indica)* y aguaje *(Mauritia flexuosa l).*

Se observa una menor actividad anti-radical en comparación con el extracto de aguaje que tuvo una actividad de 50.21 a 75 mg/mL de concentración del extracto.

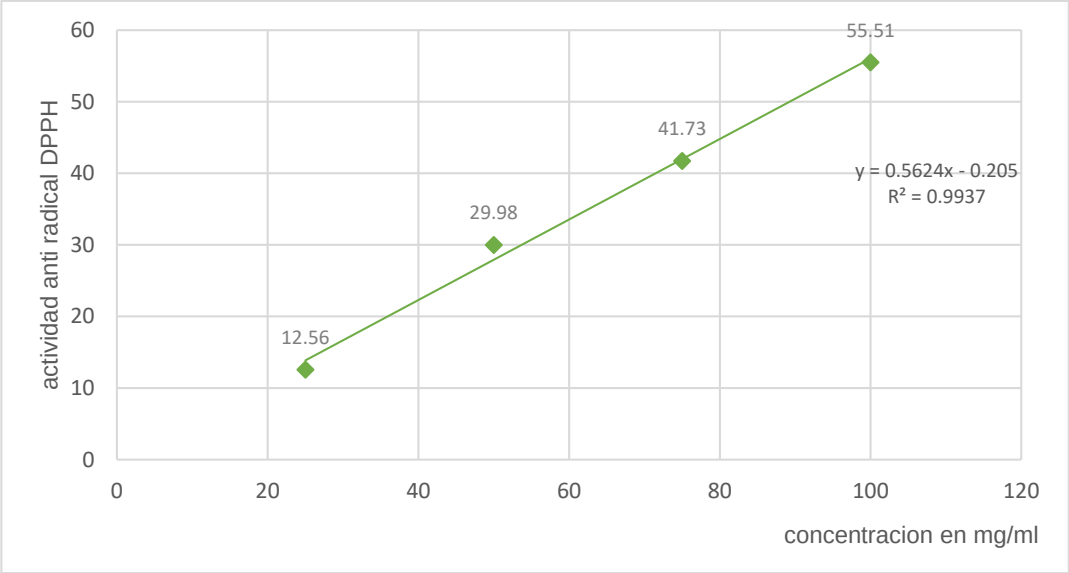



**Grafico 5: Capacidad antioxidante versus concentración de extracto de pulpa de Aguaje *(Mauritia flexuosa)* y Mango *(Mangifera indica)***

Se observa que la actividad anti radical es directamente proporcional a la concentración de la mezcla de pulpa y mango, como se aprecia presenta una actividad anti radical inicial de 15.65 a 25 mL y alcanza un valor de 39.78 a 75 mL; este aumento en los valores de la actividad anti radical se debe a la neutralización del radical DPPH y la diminución de su efecto oxidante.

Posteriormente se calcula mediante fórmula el Concentración inhibitoria (IC50) que es el valor que determina la cantidad necesaria de concentración de extracto capaz de inhibir en un 50% el radical DPPH y de esta manera poder compararlo con otros productos.

**Y= 0.56X + 0.21**

$$IC\ (50) = \frac{(50 + 0.21)}{0.56} = 89.64\ \ mg/mL$$

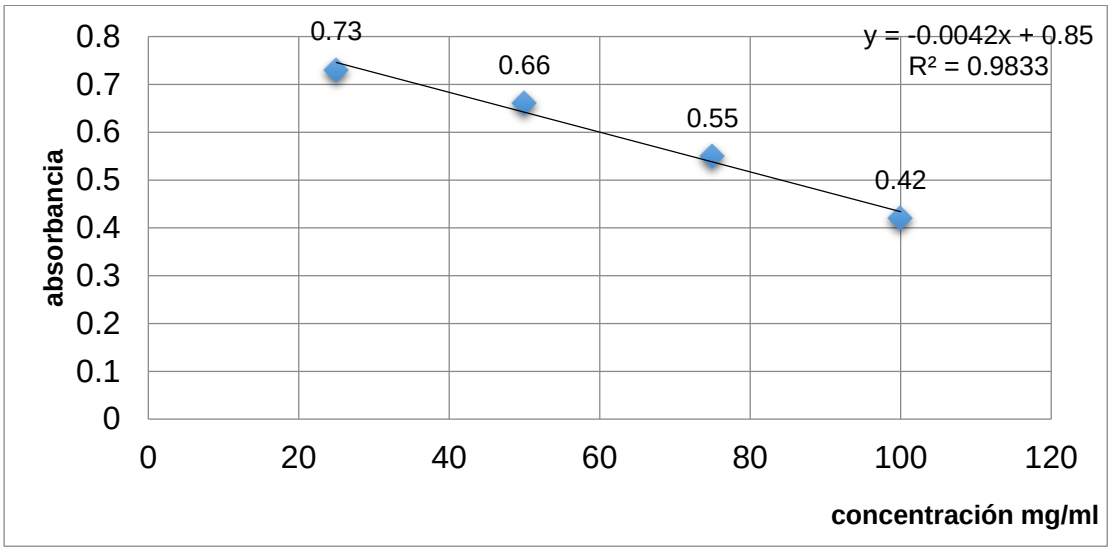



**Gráfico 6: Absorbancia versus concentración de la mezcla del extracto de aguaje con mango**

El extracto de la mezcla de aguaje con mango tuvo una absorbancia inicial de 0.731 a una concentración de 25 mg/mL, la cual fue en disminución esto se debe a que el radical es neutralizado por la actividad antioxidante del extracto y esto se traduce a una pérdida en la intensidad de color registrado por el espectrofotómetro UV- visible, esto ocurre de manera inversamente proporcional

**Cuadro 4: CONCENTRACIÓN VERSUS ACTIVIDAD ANTI-RADICAL EN EXTRACTO METABÓLICO DE ÁCIDO ASCÓRBICO (VITAMINA C)**

| Concentraciones | Muestra: VITAMINA C | | | promedio | AAR |
|---|---|---|---|---|---|
| **25** | 0.4467 | 0.4502 | 0.4522 | 0.45 | 52.83 |
| **50** | 0.3543 | 0.3423 | 0.3478 | 0.34 | 63.98 |
| **75** | 0.2189 | 0.2221 | 0.2321 | 0.22 | 76.69 |
| **100** | 0.1722 | 0.1805 | 0.1745 | 0.18 | 80.93 |
| **Blanco** | | | | | 0.944 |

Se aprecia los valores de absorbancias medida a 517 nm de la concentración de ácido ascórbico, la cual manifestó una actividad anti-radical de 76.69 a una concentración de 75 mg/mal, la cual se traduce en una mejor actividad anti radical en comparación a la obtenida a una concentración de 25 mg7mL esto se debe a la relación directamente proporcional que existe entre la concentración y dicha actividad antiradicalaria

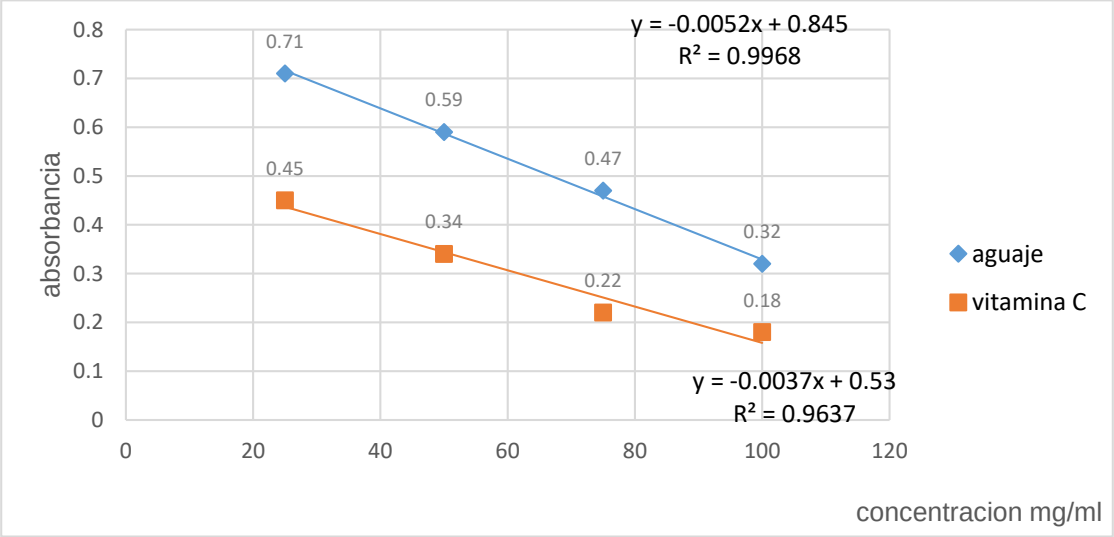



**Gráfico 7:** Comparación entre la absorbancia versus concentraciones en aguaje y vitamina c

El extracto metanólico de vitamina C tuvo una absorbancia inicial de 0.45 a una concentración 25 mg/mL este valor fue menor a comparación del extracto de aguaje que tuvo una absorbancia de 0.71 a la misma concentración, lo cual se traduce a que a mayor concentración del extracto la actividad anti radical o antioxidante va en aumento manifestándose con la pérdida de intensidad de color la cual ocurre en forma inversamente proporcional.

Mediante la ecuación: **Y= 0.388X + 44.35**

$$IC\ (50) = \frac{(50 + 44.35)}{0.388} = 14.56\ mg/mL$$

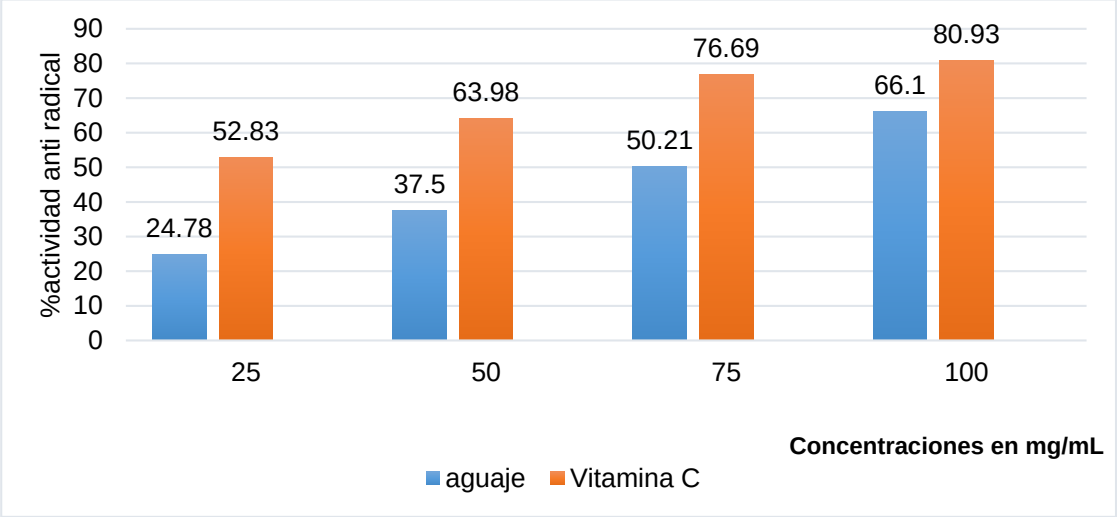



**Gráfico 8:** %inhibición de radicales libres versus concentración en extractos de aguaje y vitamina C

El extracto metanólico de pulpa de Aguaje presenta una actividad anti radical de 24.78 a una concentración de 25 mg/mL frente a una actividad anti radical mayor presente en ácido ascórbico que presentó 52.83 a la misma concentración lo cual se traduce que el ácido ascórbico posee buena capacidad antioxidante por lo cual se empleó como patrón de comparación para la capacidad antioxidante

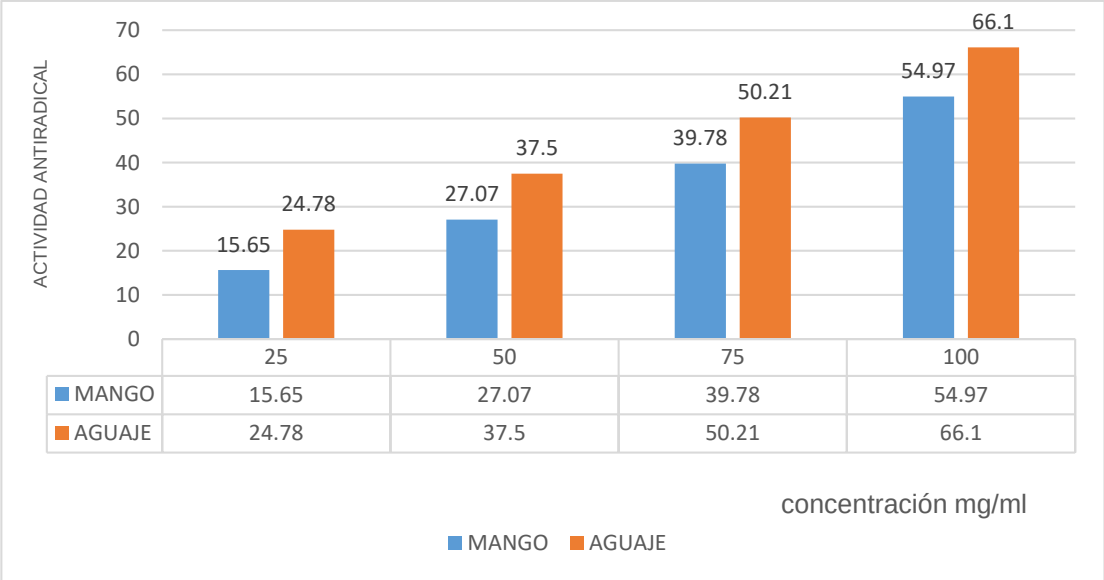



**Gráfico 9:** Actividad antioxidante en *Mangifera indica y Mauritia flexuosa* frente a su concentración

En el gráfico se aprecia que extracto de aguaje presentó mayor actividad antioxidante en comparación con el extracto de pulpa de mango el cual presentó 54,97 de AAR, frente al aguaje que obtuvo 66.10 de actividad anti radical. Por lo cual se traduce que el aguaje es mucho más antioxidante que el mango, así mismo puede inhibir o reducir el efecto oxidante de los radicales libres.

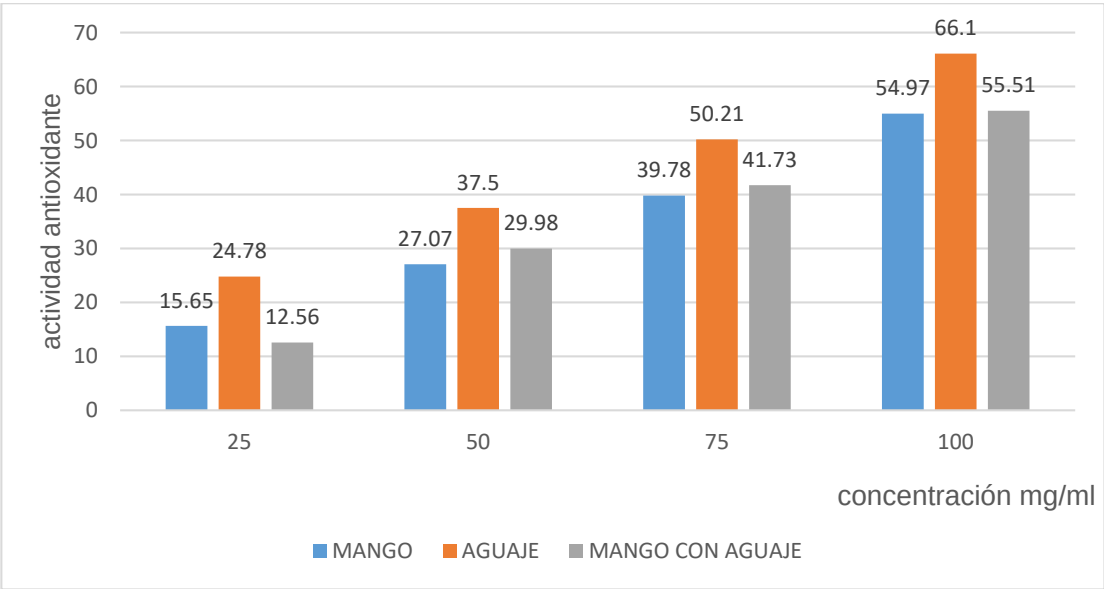



**Gráfico 10**: Porcentaje de inhibición de los extractos de aguaje, mango y la mezcla de ambos extractos

Los valores obtenidos en la determinación de la actividad antioxidante en los extractos mediante el método DPPH fueron los siguientes, el extracto con mayor efecto anti radical fue el de aguaje con una actividad anti radical de 50.21, seguido por el extracto de la mezcla de ambos frutos con una actividad anti radical de 41.73 y por último el extracto de mango con una actividad anti radical de 39.78, todos a la misma concentración de 75 mg/mL de extracto.

## DISCUSIÓN

En el extracto metanólico de pulpa de aguaje la determinación del índice de inhibición IC50 en aguaje que se traduce como la cantidad necesaria para inhibir el radical libre DPPH en un 50%, fue de 71.85 mg/mL, comparando este resultado con los encontrados por el **Dr. Pedro Vásquez O-cmín de la universidad de la Amazonía**, donde se realizó el análisis en tres tipos de aguaje y se obtuvo un índice de inhibición (IC50%) de 120 mg/mL en extracto etanólico en una especie de aguaje "Shambo", así mismo en otro estudio realizado en Lima por el **Dr. Fredy Quispe Jacobo "et al"** donde se obtuvieron resultados IC 50% de 89.63 mg/mL en pulpa de aguaje, se aprecia que existe diferencia en los resultados pero que son poco significativos, dichas diferencias podrían deberse a las variaciones de frutos debido a la estacionalidad de la cosecha, grado de maduración de la fruta así como las condiciones en que estas crecen.

La investigación realizada por la **Dra. Martha Kuskosky "et al" en Brasil,** acerca de la aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos se determinó que el aguaje a diferencia de otros frutos como la Acerola con una capacidad antioxidante de 959,02 mg/mL, la fresa con 132,8 mg/mL y Guayaba con 100,7 mg/mL analizados presenta importantes ventajas para la salud, por el enorme efecto antioxidante que desempeña en nuestro organismo.

Estos datos indican la correlación existente con esta propiedad antioxidante y la influencia de sus compuestos en la muestra. Por tal motivo el aguaje

Analizado mediante el método DPPH presenta valores de correlación de $r^2 = 0.9968$ lo cual indica la presencia de antocianinas responsables de dicha propiedad antioxidante según estudio realizado por la Dra. Kuskosky en pulpas de frutos.

Por otro lado en un estudio de realizado por la *Dra. Ana M. Troncoso en Brasil* se determinó la capacidad antioxidante en pulpa de Mango encontrándose un valor de 174.3 mg/mL, resultado que se comparó con el

extracto de pulpa de mango de la presente investigación el cual tiene una capacidad antioxidante de 92.88 mg/mL, así mismo en otro estudio realizado por el **Doctor Vintimilla Gualán María en un estudio de determinación de actividad antioxidante en productos agroindustriales de mango**; se obtuvo mediante el método DPPH una actividad antioxidante de 46,49 mg/ml y comparado con el estudio realizado por el **Doctor Hernández Valera José realizados en láminas de mango,** la actividad antioxidante de la lámina fue 0,38±0,02 mM, Las láminas flexibles aportan una mayor cantidad de compuestos polifenólico totales por lo que es una manera alternativa de consumir compuestos antioxidantes y nutritivos en la dieta.

Ambos pulpas tanto de aguaje y mango resultan ser beneficiosos para la salud pudiendo retardar el efecto oxidante de los factores externos a los cuales estamos expuestos como indican **estudios en Colombia realizados por Arrazola Rozano Díaz, Doctor en la universidad de Córdova** quien destaca la capacidad antioxidante de los extractos de cinco cultivares de mango (Corazón, Paloma, Magdalena River, Canela y Jobo) que fueron estudiadas mediante la determinación del contenido de β-caroteno, fenoles, ácido ascórbico y la capacidad captadora de radicales libres, 2,2-difenil-1-picrylhydrazyl (DPPH) donde el IC-50 de la capacidad captadora de radicales libres para variedad Jobo fue de 77,6 mg/mL el mejor resultado aplicando modelo de regresión simple $R^2$=99,58; esta variedad presentó mayor actividad antioxidante con concentración de extracto 70,35 mg mL. Por lo antes mencionado se traduce que una buena capacidad Antioxidante en nuestros extractos será aquella que emplee menos cantidad de concentración de extracto y que es capaz de proporcionar a nuestro organismo la defensa necesaria para contrarrestar los efectos oxidativos. En los resultados se observó que la mezcla de extracto de aguaje con mango no presenta sinergismo; pero podemos destacar que no existe un sinergismo antagónico ya que obtuvo un IC50 de 89.64 mg/mL a una longitud de onda de 517nm.

## CONCLUSIONES

- Se evaluó la capacidad antioxidante de la mezcla de los extractos metanólicos de la pulpa de *Mauritia flexuosa (*Aguaje) y *Mangifera indica (*Mango) sobre su capacidad antioxidante cuyo IC 50 fue de 89.64 mg/mL.
- Se determinó la capacidad antioxidante del extracto metanólico de la pulpa de *Mauritia flexuosa (*Aguaje) cuyo IC50 fue de 71.85 mg/mL a una longitud de onda de 517 nm
- Se determinó la capacidad antioxidante del extracto metanólico de la pulpa de *Mangifera indica (*Mango) cuyo IC50 fue de 92.88 mg/mL a una longitud de onda de 517 nm.
- Se determinó que el extracto de *Mauritia flexuosa* presenta mayor capacidad antioxidante que el extracto metanólico de la pulpa de *Mangifera indica*; considerando que el IC 50 es la cantidad de muestra o concentración de extracto necesario para captar en un 50% el radical lo que se traduce que a una menor concentración mayor es la actividad antioxidante.

## RECOMENDACIONES

- Considerar la evaluación de la capacidad antioxidante en las pulpas de frutos frescos sin someterlos a congelación, con el propósito de evitar posibles cambios que pudieran darse durante el almacenamiento por congelación.
- Realizar nuevas mezclas de extractos en pulpas de frutos con el fin de obtener una base de datos que puedan servir como antecedente para futuros proyectos
- Evitar la oxidación de metabolitos secundarios durante el procedimiento ya que provoca interferencia al momento de llevar a cabo la lectura del DPPH, esto puede disminución aparente de la actividad anti radical de los extractos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS


1. Pérez Jaramillo Claudia, Acción antioxidante conjunta de extractos etanólico de Molinería lanceolada, Crotón leptostachyus y Siparura sessiliflora, Rev. Acá. Colombo, Nat. 41(158):64-70, enero-marzo de 2017
2. Lock Olga. Investigación Fitoquímica: Métodos en el Estudio de Productos Naturales, 2ª. Ed. Fondo Editorial, PUCP, 1994Lima, Perú.
3. KUSKOSKY E, et al, Actividad antioxidante de pigmentos en recursos vegetales, Revista de Brasil, ciencias tecnológicas; 1999; 13(2):104-11
4. Richard RT, Sharma HM. Free radicals in health and disease, Revisit India. J. Clinic Practice; 2002;2(7): 15-26
5. Claudia Pérez Jaramillo, et al, Acción antioxidante conjunta de extractos etanólica de Mollinella lancealada, crotón leptus y siparura sessiliflora (revista de la academia colombiana de ciencias exactas, físicas y naturales), Colombia: universidad de Tolima, Facultad de Ciencias; 2017
6. Daymi Pineda, et al; capacidad antioxidante y potencial de sinergismo entre los principales constituyentes antioxidantes de algunos alimentos (revista cubana aliment nutrición);2011; 10(1)106-16
7. BARRERO G., María. González H. Esneda P. Extracción y caracterización fisicoquímica del aceite de nuez de macadamia crudo. Tesis. Universidad Nacional de Colombia. Manizales. 1998
8. CALLEJAS T., Pablo A. Obtención de extractos de plantas en medios ácidos y/o alcohólicos para aplicaciones medicinales y alimenticias. Universidad Nacional de Colombia. Manizales. 2002

**9.** Harry. Mc, et al; et al; caracterización de constituyentes fenólicos y métodos para determinar capacidad antioxidante, revista cubana 2014; 1359-1363.

**10.** Benjamín Roberto Lojano, Capacidad antioxidante de cinco cultivares de mango (Mangifera indica L.) y evaluación de su comportamiento en una matriz alimentaria; REVISTA COLOMBIANA DE CIENCIAS HORTÍCOLAS - Vol. 7 - No. 2 - pp. 161-172, julio-diciembre 2013

**11.** Angela Gonzalez Villa; Obtención de aceites esenciales y extractos etanólico de plantas del amazonas;( tesis para obtener el grado de ingeniero químico), UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA SEDE MANIZALES DEPARTAMENTO DE INGENIERIA QUIMICA; 2004.

**12.** BAFNA AR Y MISHRA SH; Actividad antioxidante in vitro del extracto de metanol de los rizomas de Curculigo orchioides Gaertn, (tesis para optar el título preofesional de ingeniero químico). Departamento de Farmacia, Facultad de Tecnología e Ingeniería, Departamento de Farmacia, Facultad de Tecnología e Ingeniería, 2005

**13.** Q.F. Eva Ramos, et al; Evaluación de la capacidad antioxidante de plantas medicinales peruanas nativas e introducidas ,( Centro de Investigación de Medicina Tradicional, Instituto de Investigación, Facultad de Medicina Humana, Universidad San Martín de Porres), REV ACAD PERU SALUD 15(1), 2008

**14.** Ribeiro, S; Barbosa, L: et al, Phenolic Compounds and Antioxidant capacity of Brazilian mango (Mangifera indica L.) varieties. Food Chemistry. Revista Colombiana, 110 (2008): 620-26.

**15.** Julio César Escalona Arran, Evaluación de la actividad antioxidante y antimicrobiana de extractos de hojas de Tamarindus indica L. ; (Tesis en opción al título de Doctor en

Ciencias de la Salud), Cuba: Universidad de Oriente Facultad de Ciencias Naturales Departamento de Farmacia; 2011

**16.** Silvia Cristina Paladino, ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS CONTENIDOS EN LAS SEMILLAS DE LA VID (Vitis vinífera l.); (Tesis de Maestría), Universidades Nacionales de Cuyo, La Rioja, San Juan y San Luis. Sede Mendoza: Facultad de Ciencias Agrarias – UN Cuyo; 2010

**17.** *Ingrid Miranda, Geovanna Tafurt García, et al;* Actividad antioxidante y contenido total de fenoles de los extractos etanólica de salvia aratocensis, salvia sochensis, bidens reptons y montanoa ovalifolia, revista cubana 16(2) 2012

**18.** Pedro Gilberto Vásquez-Ocmín, et al; "DIFERENCIACIÓN QUÍMICA DE TRES MORFOTIPOS DE L. f. DE LA AMAZONÍA PERUANA" CHEMICAL DIFFERENTIATION OF THREE MORPHOTYPES FROM THE PERUVIAN AMAZONY Mauritia flexuosa; Rev. Soc. Quím Perú. 75 (3) 2009 Rev. Soc. Quím Perú. 75 (3) 2009

**19.** VintimillaGualán, María Gabriela; Determinación de la actividad antioxidante de las fracciones lipofílica e hidrofílica de los subproductos agroindustriales de mango; (tesis para optar el título de ingeniero en industrias agropecuarias), universidad técnica particular de Loja – Ecuador 2013.

**20.** Ana Muñoz Jáureguia, Fernando Ramos Escuderob, et al; Evaluación del contenido de fitoesteroles, compuestos fenólicos y métodos químicos para determinar la actividad antioxidante en semilla de sacha inchi (Plukenetia volubilis L.) Facultad de Farmacia, Universidad de Sevilla, 2010

**21.** Cusco vasques Carmen, Determinación de los compuestos fenólicos presentes en el extracto metanólico de la pulpa del fruto Mauritia flexuosa L. "aguaje" procedente de Tarapoto-

San Martín; Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 2009.

**22.** William Muñoz C, William Chávez R; Extracción de compuestos fenólicos con actividad antioxidante a partir de Champa (Campomanesia lineatifolia), Revistas Científicas de América Latina y el Caribe, España y Portugal; Vol. 46, Número Especial, pp. 38-46, 2015.

**23.** Domínguez Maytán, José Alejandro; Polifenoles totales y capacidad antioxidante en la pulpa y cáscara de Mauritia flexuosa L.F. aguaje; Universidad nacional agraria de la selva; 2009

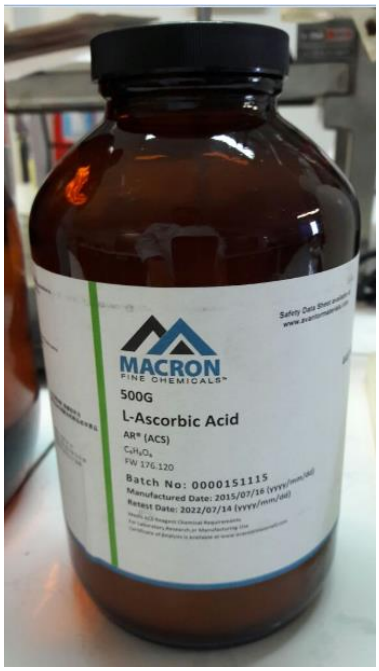
**24.** Ricardo García; Manuela Reátegui; CONSERVACIÓN DE PULPA DE Mauritia flexuosa L. "AGUAJE" CON APLICACIÓN DE MÉTODOS; Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias de la UNAP, Iquitos, Perú; Revista Amazónica de Investigación Alimentaria, v.2, nº 1, p. 59 - 68(2002).

**25.** Margarita Cerón, extracción, caracterización y estabilidad de antocianinas y otros compuestos antioxidantes; Licenciatura en ingeniería de alimentos, Universidad de las Américas puebla- México, 2008.

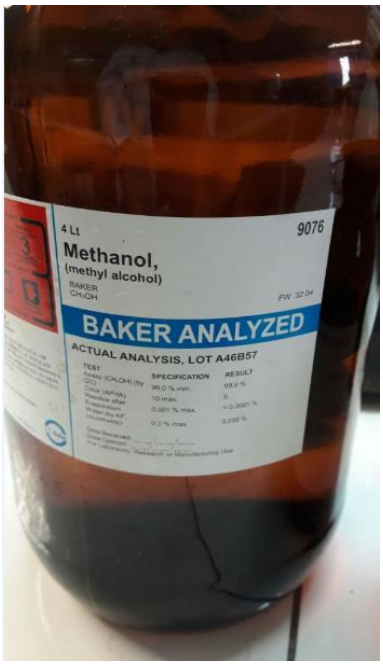
**26.** Maribel robles- Sánchez, et al; FRUTOS TROPICALES MÍNIMAMENTE PROCESADOS: POTENCIAL ANTIOXIDANTE Y SU IMPACTO EN LA SALUD; (revistas científicas de américa latina y el caribe, España y Portugal); vol. 32 nº 4; 2007

## ANEXO

## REACTIVOS EMPLEADOS:

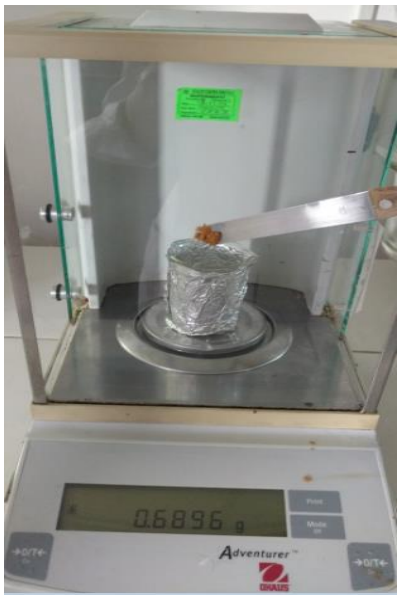



Ácido ascórbico




Metanol

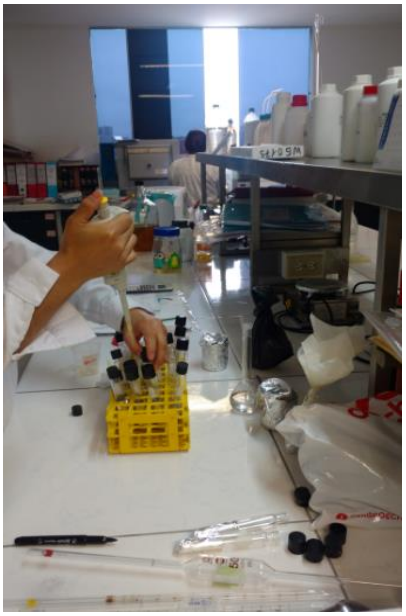
2,2-difenil-1-picrilhrydrazil




Pesado de muestra

Acondicionamiento de la muestra

Preparación de las concentraciones



517.0 nm
0.229 ABS

## INFORME DE MANTENIMIENTO

CLIENTE : *CERTILAB AP S.A.C.*
*UBICACIÓN : LABORATORIO FISICO - QUIMICA*
*EQUIPO : ESPECTROFOTOMETRO*
*MARCA : SHIMADZU*
*MODELO : UV Mini - 1240*
*N°Serie : A10934603159CD*
*CODIGO : EQ - ADI - 33*
*FECHA : 2016-11-13*

---

*TRABAJO REALIZADO :*

1. *Verificación de la tensión de entrada al equipo*
2. *Verificación y limpieza de las tarjetas electrónicas y conectores*
3. *Verificación del monocromador y motor paso a paso, ventana de paso de haz, filtros de rango de longitud de onda y motor selector.*
4. *Verificación de lámparas.*
5. *Verificación de la longitud de onda.*
6. *Verificación del nivel de absorbancia.*
7. *Verificación de programas Spectrum, Fotométrico*
8. *Limpieza externa y de cada una de las partes de porta muestra.*
9. *Verificación de pantalla y funciones de programación.*

***Nivel de Energía: lámpara - tungsteno W = 8256***
***lámpara - deuterio D2 = 45616***

*Mayor información referirse al informe de mantenimiento. El equipo se encuentra en buenas condiciones de operatividad.*

*Responsable:*

*Ing. Héctor García*
Dpto. Técnico
Div. Analítica

ELECTRÓNICA PERUANA S.A.
HECTOR GARCIA C.
Div. Analítica - Dpto. Técnico

## HOJA DE SERVICIO

11 de Junio del 2016

Señor (es) : CERTILAB AP S.A.C. Teléfono: 578-4542

Dirección : Av. La Paz Nº 1598 - San Miguel

| Equipo | Marca | Modelo | Serie |
|---|---|---|---|
| Espectrofotómetro | SHIMADZU | UVMini-1240 | A10934603158CD |
| | | | Código:EQ-ADI-33 |

Servicio realizado:

Mantenimiento correctivo.

-Reparación de la tarjeta electrónica Mainboard.

-Pruebas de operatividad.

El equipo se encuentra operativo.

Se procede a la devolución del equipo a las oficinas del usuario.

ELECTROMEDICA PERUANA S.A.
HECTOR GARCIA C.
Dto. Técnico

Cliente
Sello y Firma

p. Electromédica Peruana S.A.

# Certificate of Compliance

This certifies that the equipment described below:

- Complies with the design criteria of the Shimadzu R&D department.
- Has been tested by the qualified personnel representing the Shimadzu Quality Assurance department.
- Has been found to meet or exceed the documented specifications pertaining to the model described.

Test procedures and documentation protocols are developed to adhere to Shimadzu's ISO 9001 Quality Management System. The Quality Management system has been reviewed and accepted by a committee consisting of the Quality Assurance department, the R&D department, the Analytical & Measuring Instruments Plant and Senior Management.

Instrument Model : UVmini-1240

Serial Number : A109346031590D

Date Inspected : SEP. 18.2014 Certified by : K. Okada

Manager of Quality Assurance Department
Analytical & Measuring Instruments Division
Shimadzu Corporation

SHIMADZU