

UNIVERSIDAD INCA GARCILASO DE LA VEGA

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



**ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LA PULPA DEL FRUTO DE GUAYABA
(*Psidium guajava*) Y CAMU CAMU (*Myrciaria dubia*) POR EL MÉTODO
QUÍMICO DE DPPH
TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE QUÍMICO FARMACÉUTICO Y
BIOQUÍMICO**

Bach. Ortiz Ramirez, Bertha Zaret

Bach. Ccoñas Bejar, Jackeline

Asesor: Mg. Q.F. Luís Alejandro Roa Chunga

LIMA – PERÚ

2018

**ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LA PULPA DEL FRUTO DE GUAYABA
(*Psidium guajava*) Y CAMU CAMU (*Myrciaria dubia*) POR EL MÉTODO
QUÍMICO DE DPPH.**

DEDICATORIAS

Esta tesis es una parte importante de mi vida y comienzo de otras etapas por eso y más dedico a esta tesis.

A Dios

Por haberme permitido llegar hasta el punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos además de infinito, bondad y amor.

A mi mamá Isolina

Por haberme apoyado en todo momento por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien.

A mi padre David

Que le está en el cielo junto a nuestro creador esta que me ilumina para ser mejor persona.

A mi mama Bertha y mi hermana Elizabeth

Gracias por todo el apoyo brindado y los consejos que me dan las quiero mucho.

A mi madrina Rosita

Gracias por educarme desde pequeña y ahora que está en el cielo ella me ilumina para salir adelante.

A Fanny Cano

Gracias por recibirme sin saber nada sobre esta área aprendí mucho contigo y darme la oportunidad te valoro mucho.

A Miguel Rupaylla

Gracias por estar conmigo en los momentos buenos y difíciles, tus consejos me hacen más fuerte para ser mejor persona te quiero mucho

A mis compañeros de estudios a todas mis amigas y amigos que estuvieron conmigo siempre y a mi familia que gracias a ellos me enseñan con sus valores y la buena crianza que me dan día a día.

Ortiz Ramirez, Bertha Zaret.

A mi padre por haberme forjado como la persona que soy. En la actualidad, mucho de mis logros se lo debo a ustedes. Me formaron con reglas y con algunas libertades, pero al final de cuenta me motivaron constantemente para alcanzar mis anhelos.

Gracias padre y madre.

Ccoñas Bejar, Jaqueline

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Inca Garcilaso de la Vega por darme la oportunidad de desarrollar nuevos conocimientos y formarme profesionalmente a lo largo mi carrera profesional: así mismo a todos los docentes de la Facultad de Farmacia y Bioquímica en el aprendizaje por sus sabios conocimientos y consejos

A nuestro asesor de tesis el QF Luis Roa por su, apoyo y orientación que permitieron la realización y culminación del presente trabajo.

Al profesor Dr. Q.F Héctor Vílchez Caceda por su profesionalismo acertados consejos, orientación y apoyo que permitieron la realización del presente trabajo.

A todos nuestros amigos por su amistad y por acompañarnos durante toda la carrera profesional, mil gracias.

ZARET Y JACKELINE

RESUMEN

El trabajo se realizó con el objetivo de evaluar la actividad antioxidante de la pulpa del fruto de guayaba (*Psidium guajava*) y Camu camu (*Myrciaria dubia*). El diseño de estudio fue experimental, analítico descriptivo. La metodología se basó en la extracción de la pulpa de guayaba y Camu camu, con la cual se prepararon concentraciones al 25%, 50%, 75%. Para las preparaciones se realizaron mediante cálculo de expresión e solubilidad %P/V, se tomó la cantidad porcentual de materia vegetal y se enrasó con agua C.S.P 100ml, las preparaciones se almacenaron en frascos ámbar estériles. Se realizó la prueba de solubilidad con solventes de diferente polaridad, además, se realizó el tamizaje fitoquímico para determinar los metabolitos secundarios presentes en los frutos de estudio. Para determinar la actividad antioxidante, se empleó el método de químico de DPPH 2,2- difenil-1-picrilhidrazilo y se evaluó la IC50 (concentración mínima necesaria para inhibir el 50% la concentración de DPPH). En la pulpa de guayaba (*Psidium guajava*), se encontraron los siguientes compuestos: Carbohidratos, fenoles, flavonoides, cumarinas, triterpenos y en la pulpa de Camú camú (*Myrciaria dubia*) se encontraron: Carbohidratos, fenoles, flavonoides y alcaloides. En la determinación de la capacidad antioxidante de DPPH de la pulpa del fruto de guayaba, se demostró que el porcentaje de inhibición de la muestra a la concentración del 25% fue de 39.82%, la concentración a 50% fue de 41.23%, la concentración al 75% fue de 46.35%. En la determinación de la capacidad antioxidante de DPPH de la pulpa del Camú camú, se demostró que el % de inhibición de la muestra a la concentración del 25% fue de 50.41%, la concentración a 50% fue de 51.88%, la concentración al 75% fue de 53.41%. esto permite aseverar que la pulpa del fruto de Guayaba (*Psidium guajava*) y Camu Camu (*Myrciaria dubia*) contiene metabolitos secundarios con capacidad antioxidantes confirmándose en el análisis de DPPH a una absorbancia de 517nanometros.

Palabras clave: Actividad antioxidante, Guayaba, Camu Camu, DPPH

ABSTRAC

The work was carried out with the objective of evaluating the "antioxidant activity of the fruit pulp of Guava (*Psidium guajava*) and Camú Camú (*Myrciaria dubia*). The type of study was experimental, descriptive analytical. The methodology was based on the extraction of the Guayaba and Camu camu pulp, with which concentrations were prepared at 25%, 50%, 75%. For the preparations were made by calculation of expression and solubility% P/V, the percentage of vegetable matter was taken and it was trimmed with water C.S.P 100ml, the preparation was stored in sterile amber bottles. The solubility test was carried out with different polarity solvents, and the phytochemical screening was carried out to determine the secondary metabolites present in the study fruits. To determine the antioxidant activity, the chemical method of DPPH 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl was used and the IC 50 (minimum concentration necessary to inhibit the concentration of DPPH) was evaluated. In the pulp of Guava (*Psidium guajava*) compounds were found: Carbohydrates, phenols, flavonoids, coumarins, triterpenes and in the pulp of Camú Camú (*Myrciaria dubia*) were found: Carbohydrates, phenols, flavonoids, alkaloids. In the determination of the DPPH antioxidant capacity of the pulp of the guava fruit, it was demonstrated that the percentage of inhibition of the sample at the concentration of 25% was 39.82%, the concentration at 50% was 41.23%, the concentration 75% was 46.35%. In the determination of the DPPH antioxidant capacity of the Camú Camú pulp, it was shown that the% inhibition of the sample at the 25% concentration was 50.41%, the concentration at 50% was 51.88%, the concentration at 75% was 53.41%. Conclusion: The pulp of the Guava fruit (*Psidium guajava*) and Camu Camu (*Myrciaria dubia*) contains secondary metabolites with antioxidant capacity, confirming an absorbance of 517nm in the DPPH analysis

Keywords: Antioxidant activity, Guava, Camu Camu, DPPH

ÍNDICE

pág.

Dedicatoria

Agradecimiento

Resumen

Abstract

Introducción

1

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la realidad problemática 3

1.2. Identificación y formulación del problema 4

1.2.1. Problema general 4

1.2.2. Problemas específicos 4

1.3. Objetivos de la investigación 5

1.3.1. Objetivo general 5

1.3.2. Objetivos específicos 5

1.4. Justificación y viabilidad de la investigación 6

1.5. Delimitación de la investigación 7

1.6. Limitaciones de la investigación 7

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la investigación 8

2.1.1 Internacionales 8

2.1.2 Nacionales 15

2.2. Bases teóricas 21

2.2.1 Radicales Libres y Antioxidantes 21

2.2.2 DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo) 22

2.2.3 Guayaba 23

2.2.4 Camú Camú 26

2.3. Formulación de hipótesis 31

2.3.1. Hipótesis general 31

2.3.2. Hipótesis específicas 31

2.4. Operacionalización de variables e indicadores 32

2.5. Definición de términos básicos 32

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1. Tipo de investigación 34

3.2. Diseño de la investigación 34

3.3. Población y muestra de la investigación 35

3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos 35

3.5. Plan para el procesamiento de datos 36

3.6 Técnica de procesamiento de datos	42
---------------------------------------	----

CAPÍTULO IV: PRESENTACION Y ANALISIS DE LOS RESULTADOS

4.1. Procesamiento de datos	43
4.2. Discusión y Resultados	50

CAPÍTULO V: CONCLUSION Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones	51
5.2. Recomendaciones	51

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
-----------------------------------	-----------

ANEXOS	55
Fotos	55
Matriz de consistencia	67
Matriz de operacionalización de variables	68

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 Acción de los Radicales Libres	22
Figura 2 estructura de 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo	23
Figura 3 Planta de Guayaba	24
Figura 4 Planta de Camú Camú	27
Figura 5 Absorbancia de la muestra de Guayaba	46
Figura 6 Absorbancia de la muestra Camú Camú	48

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 Prueba de solubilidad de la pulpa del fruto de Guayaba (<i>Psidium guajava</i>)	43
Tabla 2 Prueba de solubilidad de la pulpa del fruto de Camu camu (<i>Myrciaria dubia</i>)	43
Tabla 3 Marcha fitoquímica de la pulpa del fruto de Guayaba (<i>Psidium guajava</i>)	44
Tabla 4 Marcha fitoquímico del fruto de Camu camu (<i>myrciaria dubia</i>)	45
Tabla 5 Determinación de la capacidad antioxidante DPPH	46
Tabla 6: Cálculo del % de inhibición de la capacidad antioxidante	47
Tabla 7: Determinación de la capacidad antioxidante	48
Tabla N8: Cálculo del % de inhibición de la capacidad antioxidante DPPH fruto de camu camu	49

ÍNDICE DE FOTOS

Procesamiento de las frutas	55
Método de separación	56
Método de extracción	57
Método de filtración	58
Método de almacenamiento	59
Método de acondicionamiento	60
Prueba de solubilidad	61
Marcha fitoquímica	63
Prueba de actividad antioxidante	65-66

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, las ciencias de la salud y sobre todo las ciencias farmacéuticas y la bioquímica, enfocaron su interés sobre aquellos productos que poseen un potencial como alimentos funcionales y las ciencias farmacéuticas aceptan que los alimentos tienen componentes esenciales para el cuidado, control, mantenimiento y curación de la salud.

(1)

Al estudiar los alimentos funcionales se han encontrado componentes que pueden contribuir a evitar enfermedades degenerativas o retardar la aparición de enfermedades crónicas que aparecen a la edad adulta, por lo cual el empleo de estos componentes en los alimentos funcionales es necesario para tener una vida sana y sin complicaciones (2)

Según la definición de (Dufrense et al., 2001) un alimento funcional es semejante al alimento convencional y que al ser consumido reduce las enfermedades con riesgo degenerativo por la liberación de metabolitos en el alimento y que interactúan con las dianas moleculares del cuerpo humano. Son conocidos algunos alimentos funcionales como el Té, la soya, el limón etc. Es bueno hacer recordar que, dentro de la clasificación, los alimentos no están catalogados como medicamentos. (3)

Estudios previos han demostrado que flavonoides, fenoles poseen en los alimentos propiedades antioxidantes y en los últimos años, especies vegetales con estas propiedades son muy apreciados por las personas que quieren tener una vida saludable. La uva, el pomelo, el tomate, la sandía etc. son algunas que presentan la capacidad de capturar los radicales libres y hacer más valioso al alimento, dando un efecto positivo.

Los estudios sobre antioxidantes y la acción de estos sobre enfermedades como el cáncer, el alzhéimer, enfermedades cardiovasculares, se han incrementado debido a la poca seguridad que ofrecen los antioxidantes sintéticos y al estilo de vida de los ciudadanos de lima, el estrés producido por las actividades diarias, cargan negativamente al sujeto almacenando una serie de elementos que en algún momento detonaran como enfermedades degenerativas.

Debido a la importancia de mejorar la calidad de vida es importante encontrar nuevos agentes con propiedades antioxidantes y proponerlos mediante estudios como un recurso para conservar la salud y prevenir las enfermedades.

CAPÍTULO I:

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA

Las características alimentarias y organolépticas de los productos alimenticios, son indicadores de la calidad nutricional de los alimentos, al ingerir estos alimentos, previenen y mejoran la salud de los individuos que lo consumen gracias a la presencia de componentes (metabolitos primarios y secundarios) químicos, estos alimentos se comportan como antioxidantes.

El estrés celular degenerativo es una enfermedad crónica no transmisible, y ésta, es parte de una serie de enfermedades que reduce las calidad y expectativas de vida de la población peruana.

La OMS recomienda la ingesta abundante de productos con valor antioxidante demostrado y en la actualidad, es una de las formas más efectivas de contrarrestar y reducir el riesgo de aparición de estas enfermedades.

La matriz química de cada antioxidante, se encuentra formando parte del alimento, cada alimento proporciona una concentración diferente de antioxidante, entonces la forma de ser ingerido puede cuantificar la calidad del mismo, por ello, la información de que alimentos tienen capacidad antioxidante, proporcionan la elección de unos sobre otros.

La recomendación para disminuir los riesgos asociados a los radicales libres consiste en aumentar el consumo de los alimentos ricos en antioxidantes para así prevenir el estrés oxidativo.

Por lo expuesto anteriormente nos planteamos la siguiente pregunta de investigación.

1.2. IDENTIFICACIÓN Y FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

1.2.1. Problema general

¿Cuál es la actividad antioxidante de la pulpa del fruto de Guayaba (*Psidium guajava*) y Camú Camú (*Myrciaria dubia*)?

1.2.2. Problema específico

1 ¿Existen metabolitos secundarios, presentes en la pulpa del fruto de Guayaba y Camú Camú?

2 ¿Existe actividad antioxidante en la pulpa del fruto de Guayaba y Camú Camú a través del método de captura de electrones DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo)?

1.3. OBJETIVO DE LA INVESTIGACIÓN

1.3.1. Objetivo General

Determinar la actividad antioxidante de la pulpa del fruto de Guayaba y del Camú Camú

1.3.2. Objetivo Específicos

1 Determinar cualitativamente los metabolitos secundarios en la pulpa del fruto de Guayaba y Camú Camú.

2 Determinar la actividad antioxidante en la pulpa del fruto de Guayaba y Camú Camú a través del método de captura de electrones DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo).

1.4. JUSTIFICACIÓN Y VIABILIDAD DE LA INVESTIGACIÓN

Se sabe que el estrés oxidativo ocasiona la aparición de muchas enfermedades neurodegenerativas, como cáncer, inflamaciones, Párkinson, enfermedades cardiovasculares, Alzheimer, insomnio etc.

Todo organismo viviente necesita realizar procesos biológicos, para ello los radicales libres juegan un papel importante en el sistema inmunitario y actividad cardiovascular (Buitrago et al., 2004); pero cuando estos elementos exceden de concentraciones producen daños a nivel celular lo que trae como consecuencia degeneración celular y por ende la aparición de enfermedades. La forma en la cual se puede ayudar a los organismos vivientes a evitar este daño es con el uso de antioxidantes. (Ramírez et al., 2007).

Desde siempre, las plantas han sido importante para el ser humano, supliendo necesidades básicas como abrigo y salud. Por tal razón, se viene realizando desde hace muchos años esfuerzos para dilucidar sus efectos biológicos en beneficio de la salud humana.

Las plantas en el organismo humano pueden presentar actividad reguladora, conservadora, enzimática, energéticas y de reserva.

Existen aún una gran variedad de plantas con propiedades medicinales pertenecientes a diferentes familias, las cuales tienen un potencial enorme de convertirse en antioxidantes naturales.

Es por ello que hoy el tema del estrés oxidativo y sus efectos en la salud humana viene siendo discutido en todos los foros médicos y en todos los campos de la salud, la búsqueda de productos vegetales con propiedades antioxidantes son una misión para los investigadores con el fin de sustituir los antioxidantes químicos que debido a su naturaleza sintética pueden tener propiedades perjudiciales para el ser humano.

1.5. Delimitación de la investigación

La presente investigación se llevó a cabo en el semestre académico comprendido entre los meses de julio del 2017 a marzo del año 2018, constituyéndose así los límites temporales del estudio. El estudio se llevó a cabo bajo modelo correlacionar mediante el análisis de fichas de registro en el laboratorio de Bromatología de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega.

1.6. Limitación de la investigación

La investigación se limita a aspectos relacionados con metabolitos y actividad antioxidante y no discute aspectos relacionados a otras actividades fisiológicas de la planta.

CAPÍTULO II MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes de la investigación

1.1.1 Internacional

Pérez C. (2017)⁽⁴⁾ en el artículo “Acción antioxidante conjunta de extractos etanólicos de *Mollinedia lanceolata*, *Croton leptostachyus* y *Siparuna sessiliflora*”, publicado en la revista académica colombiana de ciencias Exactas, físicas y Naturales, se evaluó la actividad antioxidante sinérgica de extractos alcohólicos de *Mollinedia lanceolata*, *Croton leptostachyus* y *Siparuna sessiliflora* para determinar su potencial antioxidante, se utilizaron tres especies vegetales y con ellas se prepararon extractos etanólicos crudos para caracterizar compuestos por marcha fitoquímica. Empleando el modelo de actividad antioxidante usando el reactivo de (DPPH) difenilpicrilhidracilo y el catión (ABTS) del ácidoazino-bisetilbenzotiazolinasulfónico se obtuvo concentraciones medias (CI50) con carácter inhibitorio. En análisis fitoquímico demostró la presencia de metabolitos secundarios como esteroides, alcaloides, flavonoides, fenoles y terpenos, taninos. *C. leptostachyus*, demostró ser la especie más activa, cuyo extracto etanólico evidenció un CI50 = 53,5 ± 1,1 mg/l en la prueba de DPPH y CI50 = 128,8 ± 0,9 mg/l en la prueba de ATBS.

Camelo D. (2016)⁽⁵⁾ en la tesis “Contribución al estudio fitoquímico de frutos de *Syzygium paniculatum* (g.) y evaluación de su actividad antioxidante” se evaluó los frutos mediante procesos fitoquímicos, y para demostrar la actividad antioxidante a través de extractos de sistemas de polaridad diferente (metanol, acetato de etilo, cloroformo y hexano), se encontraron fenoles en su mayoría, así como flavonoides, carbohidratos y taninos. Para trabajar con las muestras, se esperaron que estas alcancen su madurez, la cual se aprecia por la coloración magenta morado que presenta el fruto. Para evaluar la actividad de radicales libres se usó la prueba de ABTS, encontrándose actividad antioxidante en el extracto preparado con metanol. Como el extracto metanólico fue el que más performance demostró, se utilizó HPLC acoplados a masas. Los resultados de la cromatografía demostraron la presencia de ac. Málico, quinico. La evidencia demuestra que el fruto de *syzygium paniculatum* tiene un alto porcentaje de compuestos con actividad antioxidante y anti radicales libres.

Gallego M. (2016)⁽⁶⁾ en la tesis doctoral “Estudio de la actividad antioxidante de diversas plantas aromáticas y/o comestibles”, desarrolló la capacidad antioxidante en plantas ornamentales y culinarias, por el método de Folin-Ciocalteu, en *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris* y *Lavandula officinalis*, *Caesalpinia decapetala*, *spinosa*, *Morinda citrifolia* (Noni), se encontraron altas concentraciones de poli fenoles, con lo cual

fueron sometidas a estudios más rigurosos de HPLC que demuestren metabolitos con capacidad antioxidante. Luego de ello se realizó la técnica anti radical libres por los métodos de DPPH, TEAC, FRAP y ORAC. Los estudios revelaron que *Caesalpinia decapetala, spinosa* es una especie vegetal prometedora para estudios de actividad antioxidante ya que en los ensayos demostró que a una concentración de 0.5% m/v disminuyó los hidroperóxidos en un 96,17 %. Como conclusión, se puede informar que *Caesalpinia decapetala, spinosa* tiene buena capacidad antioxidante y que puede ser parte de la dieta, así como también utilizarse para la conservación de los alimentos.

Tovar del Rio J. (2013)⁽⁷⁾ en la tesis “determinación de la actividad antioxidante por DPPH y ABTS de 30 plantas recolectadas en la ecorregión Cafetera”, evaluó en Colombia los extractos de 3 decenas de plantas de 8 familias biológicas empleando metanol y cloroformo como solventes extractivos de las partes aéreas de las plantas, y obtener un perfil cromatografico por HPLC, se pudo evidenciar compuestos flavonicos en dichos extractos tales como flavonas y (300-390 nm) flavonoles (220-290). El modelo utilizado para la determinación de radicales libres fue el DPPH y ABTS, para referenciar los resultados, se usó un patrón el cual estaba constituido por hidroquinona, las muestras fueron analizadas también por UV. Al evaluar los extractos, la mitad de ellos un porcentaje del 25% los extraídos por metanol y los que fueron extraídos por cloroformo solo alcanzaron un 18.5%. Esta diferencia también se apreció en las pruebas de actividad antioxidante con DPPH y ABTS+ ya que el extracto metanolico alcanzo un porcentaje superior en relación al clorofórmico. Las especies vegetales que ponderaron la actividad antioxidante fueron “[Topobea cf. discolor (40,80%) y Alchornea

grandis (39,27%) pertenecientes a las familias Melastomataceae y Euphorbiaceae respectivamente; adicionalmente con el extracto de diclorometano *Tovomita guianensis* (clusiaceae), el cual presentó el mayor porcentaje de actividad antioxidante con un valor de 54,97%]” estas plantas poseen una actividad prometedora ya que la abundancia de flavonoides los convierten en buenos antioxidantes.

Hernández S. (2012) ⁽⁸⁾ en la tesis “relación entre la capacidad antioxidante y composición fenólica en vinos tintos del CV. Carménère” se evaluó y comparó la tendencia antioxidante de dos vinos tintos del cv. Carménere por el método de 2,2- Difenil-1- picrilhidrazilo, ferric-reducing antioxidant power y oxygen radical absorbance capacity. Se evidenció la presencia de fenoles, antiocianinas y taninos. el HPLC evidencio flavonoles, flavonas, siendo estos compuestos los responsables de la actividad antioxidante.

Rodas E. (2012) ⁽⁹⁾ en la tesis “Evaluación de la actividad antioxidante de extractos frutales como alternativa a los antioxidantes sintéticos en preparaciones cosméticas tipo emulsión” se evaluó las preparaciones cosméticas de frutos con propiedades antioxidantes como la mora, fresa, guayaba, mamey se pensó en una alternativa para estos procesos degenerativos. Las frutas reportaron una condición en función a la época de cosecha, lugar de adquisición, precio y capacidad anti radicales libres. El modelo de desarrollo reportó dos fases de estudio, en la primera fase o modelo A. Se determinó el aporte de antioxidantes totales (IC50),

encontrando en la fresa y la mora las especies vegetales con mayor actividad antioxidante. Al realizar la prueba de BHT el extracto de fresa presentó un valor de 0.625 mg y el extracto de mora 0.499. El modelo B preparó dos emulsiones de cremas a la cual se prepararon por separado y otro junto (sinergia) todo esto en 100g de crema. La temperatura fue controlada para lograr una estabilidad de los preparados, teniendo como referencia temperaturas en los rangos de 37-40 °C. durante 6 semanas se midieron los extractos y se observó las características organolépticas de los mismos, las preparaciones con fresa presentaron una buena apariencia organoléptica sin cambios en el aspecto, textura y color, sin embargo, las preparaciones con moras y mezcla moras y fresa presentaron aspecto organoléptico no viable en el color y textura. Las conclusiones demostraron que los extractos frutales provocan un retraso en el proceso de oxidación, siendo recomendable para ser usado en el tratamiento dermatológico.

Barron R. (2011)⁽¹⁰⁾ en la tesis doctoral titulada “Glicosidos y flavonoides y actividad antioxidante”, se evaluó los extractos de acetato de etilo de *Calia secundiflora* (ort.) yakovlev y la capacidad antioxidante y actividad citotóxica de esta especie vegetal, se pudo cuantificar el contenido de compuestos flavónicos responsables de dicha acción, y responsables de la actividad citotóxica a los terpenos. El método seguido para la evaluación de la actividad antioxidante fue DPPH hallando 8.31 ± 0.38 mg de compuestos fenólicos en materia seca y 3.08 ± 0.32 mg de

compuestos flavonoides en materia seca. Se realizó también la prueba de CL-EM el cual permitió identificar glicosidos variados por primera vez en esta especie vegetal. La sinergia de los metabolitos secundarios de flavonoides, quercetina, kaemferol y isormnetina puede explicar la actividad anti radical libres por el método de MTT, se evaluó la actividad citotóxica en los extractos siendo las hojas de hojas de *C. secundiflora* la que presenta mayor efecto citotoxico166.7-500 µg MI.

Martínez J. (2007) en la tesis “Evaluación de la actividad antioxidante de las semillas de la especie vegetal *Heliocarpus Terebinthinaceus*” se usó el método de DPPH y FRAP, se pudo observar que este extracto presenta actividad anti radicales libres prometedores. Usando concentraciones del extracto a 100 µg/mL se pudo medir y cuantificar una absorbancia de (0.10-0.64) a una longitud de onda de 700nm lo que da un buen poder reductor anti radicales libres. A través de la prueba del DPPH los valores anti radicales libres fueron de 25.6% a 52.7% empleando en el espectrofotómetro una longitud de onda de 545nm. La presencia de la actividad anti radical se debe a la presencia de fenoles y flavonoides en los extractos metanólicos y de acetato de etilo. Del trabajo se puede concluir que los flavonoides presentes en el extracto orgánico se responsabilizan de la actividad antioxidante (11).

Paladino S. (2007)⁽¹²⁾ En la tesis titulada “Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos contenidos en las semillas de la vid (*Vitis vinifera* L.)” se evaluó las semillas de uva (*Vitis vinifera* L.) para encontrar actividad antioxidante, se usó un extracto líquido y se comparó con productos comerciales con capacidad antioxidante. Para esta prueba se usó el método diseñado por Özoglu, el cual emplea jugo de manzana como sustrato oxidable. El extracto de las semillas de uva se realizó pesando un gramo por cada 10 ml de solución, se extrajo por 4 horas a 90°C. “El extracto obtenido presentaba una concentración de 12,587 mg de fenoles totales por gramo de semillas de uva extractadas y un poder reductor de 1,290 unidades”

Al realizar los parámetros estadísticos, se pudo demostrar que “la concentración de fenoles totales aumentó 29,57 veces, mientras que el poder reductor aumentó 37,39 veces”. Esta investigación pudo concluir que el extracto de semilla de uva aplicado bajo la forma de antioxidante en el jugo de manzanas produce un desarrollo inhibitorio de 31,51%, en las primeras 24 horas de utilizar sobre el sustrato. Estos resultados son superiores a los presentados por el ácido ascórbico que es un antioxidante más usual ya que cuyo desarrollo de inhibición solo llega al 2.6%.

1.1.2 Nacionales

Müller K. (2015) ⁽¹³⁾ en la tesis titulada “Capacidad antioxidante y contenido de flavonoides entre las semillas de chia negra *Salvia nativa* y chía blanca *salvia hispánica*”, se analizó la actividad antioxidante de las dos variedades obtenidos del departamento de Puno. Esta investigación se enfocó en la determinación del efecto antioxidante gracias a la presencia de metabolitos secundarios de tipo flavonoides. La metodología uso un estudio descriptivo con enfoque transversal empleando el método de CUPRAC, capacidad reductora antioxidante del ion cúprico para evaluar la capacidad antioxidante y Folin-Ciocalteu para identificar polifenoles y flavonoides. Los resultados de la parte experimental demostraron que la semilla de chía negra alcanzo mayor efecto antioxidante 7.50 mmol/g TROLOX, por otro lado, la semilla blanca demostró 6.50 mmol/g TROLOX de contenido de polifenoles y compuestos flavonicos. La semilla de chía negra presento 295 mg de ácido gálico y de polifenoles, la semilla blanca de chía cuantifico 185.91 mg ácido gálico/L. La chía es una semilla que se aprovecha por su capacidad para reducir los niveles de grasa del cuerpo e incrementar los niveles de fibra, sin embargo, lo que se buscó en esta investigación es demostrar una actividad poco conocida que es la antioxidante. Del trabajo de investigación, se pudo determinar que las semillas de chía poseen actividad antioxidante comprobados por los métodos de Folin-Ciocalteu y CUPRAC.

Durand M (2015) ⁽¹⁴⁾ en la tesis “Evaluación de la capacidad antioxidante de la pulpa fresca y pulpa pasteurizada de guanábana” se analizó la pulpa obtenida en la provincia de Chanchamayo.. Después de un proceso de recolección de la fruta madura de guanábana, se procedió a seleccionarla, lavarla, desinfectarla, pelarla y por último retirar la pulpa del fruto, obtenida la pulpa se procedió a congelarlo y someterlo al proceso de pasteurización” En estas dos condiciones, se encontraron diferencias estadísticas ($p < 0.05$) con respecto a la acidez variando de 13.76 a 11.69%, la humedad de 84.5 a 84.18%, los carbohidratos de 13.27 a 13.59%, el contenido de proteína de 0.98 a 1.09% y finalmente la grasa 0.51 a 0.42% para ambos tratamientos”. Los resultados de la actividad antioxidante demostraron en la pulpa fresca de guanábana 25.15% de inhibición, mientras que la pulpa sometida al proceso de pasteurización demostró 23.02% de inhibición menor que la pulpa fresca.

Villanueva E. (2015) ⁽¹⁵⁾ en la tesis “Contenido de betalaínas y determinación de la actividad antioxidante de accesiones de *Chenopodium Quinoa Willd.* "Quinoa". En este estudio, se analizó el contenido de betalaínas y la actividad antioxidante de la "quinua" del distrito de Tambillo- Ayacucho, mediante los espectros UV-visibles de absorción, cromatografía en capa fina (TLC) y DPPH, respectivamente. Los extractos etanólicos de quinua revelaron la presencia de compuestos fenólicos más no de betalaínas de acuerdo a los espectros UV visibles de

absorción que presentaron valores entre 207 a 300 nm y a la TLC por el color de manchas reveladas con luz UV y cloruro férrico al 5%. Los mayores porcentajes de capacidad antioxidante fueron a la máxima concentración evaluada de 300 Jg/mL a los 30 minutos, correspondientes a las accesiones: 24 (roja) con 55,61 %; 22 (negra) con 54,84%, 4 (blanca) con 52,01%, 25 (roja) con 53,88% y 6 (negra) con 50,34%; congruentes a los de IC50 (Jg/mL) con 224,51; 228,44; 255,04; 238,13 y 285,99 Jg/mL respectivamente, que obtuvieron los valores más bajos lo cual indica que requirieron menor concentración de extracto para reducir en 50 % al DPPH. Por lo tanto, estas accesiones ostentan de mayor y mejor capacidad antioxidante entre las accesiones estudiadas. Las accesiones de quinua estudiadas con las técnicas del espectro UV-visible y cromatografía en capa fina, utilizando extracto etanólico no contienen betalaínas, sólo compuestos fenólicos a los cuales se le atribuye la capacidad antioxidante.

Henderson C., y Yapias E, (2014) ⁽¹⁶⁾ en la tesis “Determinación de la capacidad polifenólica y su capacidad antioxidante del Zapallo loche (*Cucúrbita moschata Duchesne*)” que se cultiva en el departamento de Lambayeque. Se realizó una determinación por el método experimental, para ello fue necesario recolectar zapallo de uno de los mercados más grandes de Lima “El mercado central Mayorista de Lima”, el análisis fue de zapallo fresco, frito y sancochado. Se empleó el método de espectrofotometría y la reacción de Folin-Ciocalteu que es el apropiado

para la identificación de polifenoles y el método desarrollado por Brand-Williams que utiliza el radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo para reducir los radicales libres. Se esperó un resultado lentador de capacidad anti radicales libres. Los resultados obtenidos por el método espectrofotométrico arrojaron que el zapallo loche fresco posee poli fenoles analizados en una concentración de 103.869 mg ácido gálico/ 100g, la concentración de poli fenoles para zapallo loche sancochado fue de 48.000 mg ácido gálico/ 100g y al evaluar la concentración de poli fenoles de zapallo loche frito. Se reportó 43.804 mg ácido gálico/ 100g. del trabajo se pudo concluir que la capacidad antioxidante del zapallo loche sancochado, inhibió un porcentaje del 95% en comparación con el zapallo loche frito y fresco que solo alcanzaron un porcentaje de 86% y 80%. Finalmente, se puede decir que al tener una mayor cantidad de poli fenoles el zapallo loche sancochado, su potencial de inhibición de radicales libres es mayor.

Oliveira G. (2014) ⁽¹⁷⁾ en su estudio “capacidad antioxidante de un fruto de la selva poco conocido como es la carambola *Averrhoa carambola* frente a sistemas generadores de radicales libres”, el objetivo fue evaluar el contenido de antioxidantes por acción de sistemas generadores de radicales libres. Para ello, se empleó una metodología analítica experimental de tipo cuasi experimental de diseño prospectivo con enfoque transversal. Luego de obtener los frutos de carambola, se procedió a preparar los extractos acuosos empleando las hojas frescas y los frutos maduros. Posteriormente, se determinaron la concentración de

polifenoles. Flavonoides y vitamina C cuantitativamente. Luego, se sometió a procedimientos para evaluar radicales libres por el método de DPPH*, el TPTZ-Fe+3 y su capacidad para reducir el ferrocianuro de potasio. Los resultados de las evaluaciones demostraron que en el fruto se podía encontrar mayor cantidad de vitamina C que en las hojas, mientras que la presencia de flavonoides resultó igual en los frutos y en las hojas. Cuando se analizó la capacidad de reaccionar frente a la presencia de radicales libres, el fruto superó a la capacidad en las hojas según lo reportado por el método de DPPH. El método de FRAP demostró un valor más elevado de capacidad antioxidante en la hoja. “También la hoja mostró tener un mayor poder reductor que el fruto sobre el ferrocianuro de potasio”. Se puede concluir que *Averrhoa carambola* L. (carambola) en las hojas podemos encontrar una mayor capacidad antioxidante que en el fruto.

Muedas G. (2013) ⁽¹⁸⁾ en el estudio titulado “Actividad antioxidante de la *Bauhinia guianensis* var. *Kuntiana* Aubl. utilizó el método de 2,2-difenil-1-picrilhidracil (DPPH) y el método electroquímico, empleando la voltametría cíclica para evaluar la capacidad antiradicales libres de la *Bauhinia guianensis* var. *kuntiana* Aubl a travez de estos dos métodos. Se aisló el compuesto con mayor actividad, la 5,7,3',4'-tetrahidroxiflavanona (eriodictiol) con p.f 216 °C, quien ha sido identificado mediante sus espectros IR, UV, EM, RMN 1 H, RMN 13C, 1 H-1 H COSY y 1 H-13C HETCOR. De esta evaluación, los metabolitos secundarios ayados como

son flavonoide eriodictiol demostro la mayor actividad antioxidante, de 90,42 % a la concentración de 10 $\mu\text{g/mL}$ y un potencial de oxidación a ϵ_{pa1} 0,206 V. “El valor determinado para su EC50 fue de 1,81 $\mu\text{g/mL}$, lo que indica que a muy baja concentración presenta buena actividad antioxidante y es comparable con los estándares rutina y quercetina”. Las conclusiones demostraron que el grupo catecol presente en la especie vegetal se responsabiliza de la actividad antiradicales libres en la especie. actuando como potenciador redox.

Llanos M. (2009) ⁽¹⁹⁾ en su “tesis capacidad antioxidante de 3 variedades de tubérculo andino amarillo, blanco y rosado papa “*solanum tuberosum*” de la sierra central de Junín”, se determinó la capacidad antioxidante. Empleando un estudio de tipo observacional, descriptivo, transversal y prospectivo y empleando el extracto de las 3 variedades de solanum a través del método de 2,2 difenil -1- picrilhidrazil (DPPH*) se pudo evidenciar que la variedad de solanum blanca demostró la mayor capacidad antiradicales libres con un valor de 46% muy superior a la especie de solanum amarilla y rosada con un 22% y 15.9%.

Del trabajo de investigación se puede demostrar que la papa blanca y amarilla poseen mayor actividad antioxidante frente al sistema generador de radicales libres.

2.2. Base teórica

2.2.1 Radicales libres y antioxidantes

Cuando hablamos de compuestos antioxidantes, nos referimos a sustancias que químicamente poseen escasos electrones lo que los convierte en compuestos altamente inestables con una alta actividad química. Cuando un elemento tiende a estabilizarse, los compuestos desapareados, tienden a recoger electrones de otros elementos para estabilizarse (19).

Para poder actuar, estos elementos deben contar con sitios activos dentro de la molécula donde puedan conectar enlaces y los radicales libre puedan interaccionar con el sustrato Aruoma (1996). El cuerpo humano forma radicales libres a partir de todos sus procesos metabólicos, pero cuando el proceso se genera más moléculas que las que puede manejar, el organismo se deteriora, provocando daños a la síntesis de ADN. Existen factores que pueden ocasionar la liberación de radicales libres como son la exposición a la luz UV, fármacos, sustancias tóxicas, fatiga neurológica por falta de sueño (20, 21).

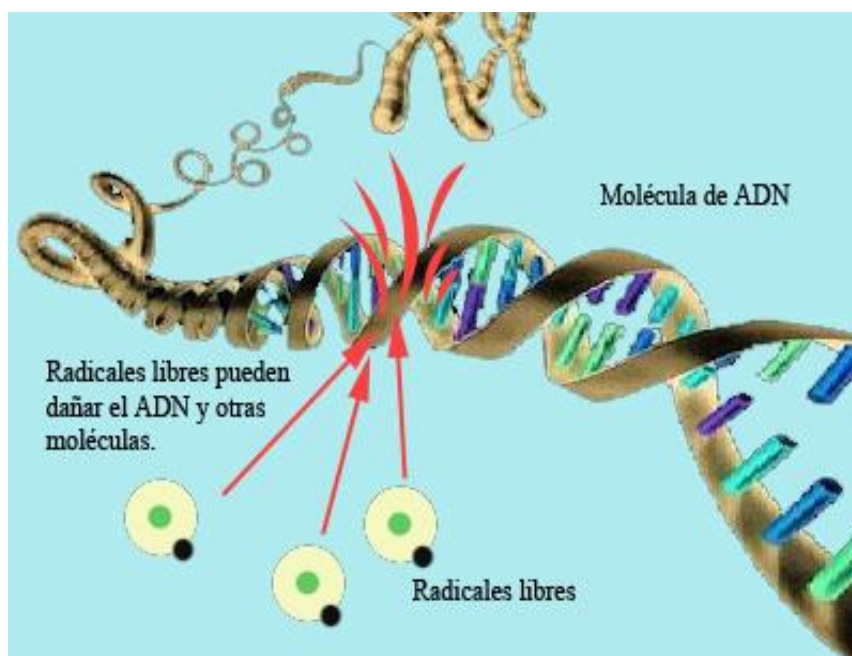


Figura 1 Acción de los radicales libres

Fuente: Murray R. y Col. Bioquímica de Harper 14ª ed. Editorial el Manual Moderno 1997

2.1.2 DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo)

Es una abreviatura común para el compuesto químico orgánico 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo. Es un polvo cristalino de color oscuro compuesto de moléculas de radicales libres estables. DPPH tiene dos aplicaciones principales, tanto en la investigación de laboratorio: una es un monitor de las reacciones químicas que implican a los radicales, sobre todo es un ensayo antioxidante común, y otro es un estándar de la posición y la intensidad de las señales electrónicas de resonancia paramagnética.

DPPH es un radical bien conocido y una trampa ("scavenger") para otros radicales. Por lo tanto, la reducción de la velocidad de una reacción química después de la adición de DPPH se usa como indicador de la naturaleza radical de dicha reacción. Debido a una banda de absorción

fuerte centrada a aproximadamente 520 nm, el radical DPPH tiene un color violeta intenso en solución, y se vuelve incoloro o amarillo pálido cuando se neutraliza. Esta propiedad permite el control visual de la reacción y el número de radicales iniciales se puede contar a partir del cambio en la absorción óptica a 520 nm o en la señal EPR del DPPH. (22)

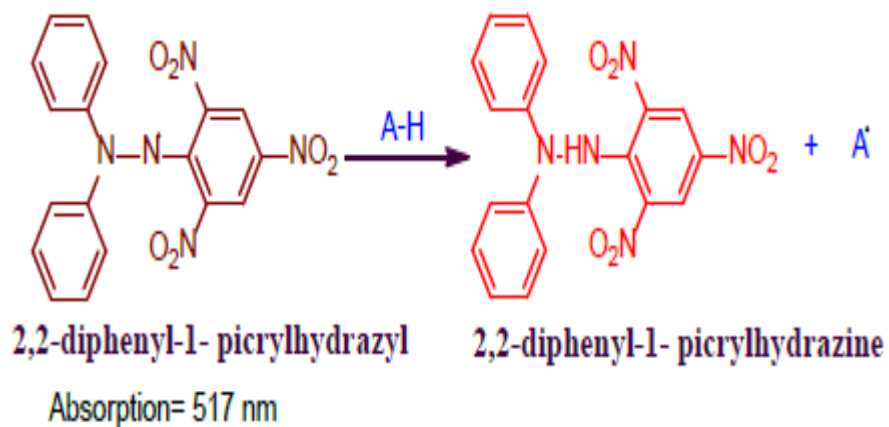


Figura 2 estructura de 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo

Fuente: Scheme Y., Ganther H, Stewart C. & Ip, C. Identificación de molecular targets associated with selenium-induced growth inhibition in human breast cells using Cdna microarrays. Cancer Res. 62, 708-714 (2002)

2.1.3 Guayaba

Reino: *Plantae.*

Subreino: *Franqueahionta.*

División: *Espermatophyta.*

Subdivisión: *Magnoliophyta.*

Clase: *Magnoliatae.*

Orden: *Mortales.*

Familia: *Myrtaceae.*

Género: Psidium.

Especie: Psidium guajava

Características de la raíz: Es de tipo leñosa, esta planta no presenta estructura como epidermis, los tallos sobresalen claramente y son rectos de gran consistencia.

Características de las hojas: las hojas son de tipo opuestas, la característica es penninervias.

Características de las flores: la forma de reproducción es Hermafroditas, adherido a la estructura ovárica se encuentra el cáliz, presenta pétalos en grupos de 3 .

Características del fruto: tiene la forma de baya, una estructura tipo encapsulada, con gran cantidad de vitamina C y vitamina B1, B2, B3, B6, ácido pantoténico, calcio, folatos, magnesio, potasio en gran cantidad, fósforo, sodio, hierro, zinc, cobre, y selenio (23).



Figura 3 Planta de Guayaba

Fuente: alimentacionpara.com

Especies de Guayaba

A.- Calvillo

Variedad de guayaba de pulpa crema, obtenida por el método de selección individual. Fruto de forma ovoide de 60 a 80 g, de 4.5 a 5.0 cm de diámetro ecuatorial, 6 a 8 mm de grosor de casco, con un promedio de 190 a 210 semillas por fruto y de 12 a 14 °Brix. La época de producción es de octubre a diciembre y un período de 145 a 155 días de flor a inicio de cosecha. La variedad Calvillo S-XXI, produce frutos similares a los del tipo “media china”, los cuales tienen una gran aceptación para consumo en fresco o bien para la agroindustria. La variedad Calvillo S-XXI fue registrada por el INIFAP ante el Catalogo Nacional de Variedades Vegetales, quedando con el registro No. GUA-005-160709.

b.- Huejucar

Variedad de guayaba de pulpa jaspeada rosa pálido crema, Fruto de forma ovoide de 80 a 100 g, de 4.8 a 5.5. cm de diámetro ecuatorial; 7 a 8 mm de grosor de pulpa, con un promedio de 175 a 200 semillas por fruto y de 12 a 14° Brix. La época de producción es de octubre a diciembre, con un periodo de 135 a 145 días de flor a inicio de cosecha. La variedad Huejucar, por su color de pulpa, representa una alternativa para la diversificación de los nichos de mercado para consumo en fresco o para la agroindustria. La variedad Huejucar fue registrada por el INIFAP ante el Catalogo Nacional de Variedades Vegetales, quedando con el registro No. GUA-001-160709.

C. HidroZac

Variedad de guayaba de pulpa rosa. Fruto de forma truncada aplanada de 90 a 110 g, de 5.0 a 5.5 cm diámetro ecuatorial, 10 a 12 mm de grosor de pulpa, de 200 a 230 semillas por fruto y de 11 a 13 °Brix. La época de producción es de noviembre a diciembre, con un período de cosecha más tardío de 170 a 185 días de flor a inicio de cosecha. La variedad HidroZac, por su tamaño de fruto y color de pulpa, representa una alternativa para la diversificación del mercado en fresco de la guayaba o bien para uso agroindustrial. La variedad HidroZac fue registrada por el INIFAP ante el Catálogo Nacional de Variedades Vegetales, quedando con el registro No. GUA-002-160709.

2.1.4 Camú Camú

Tipo: Fanerógamas

Subtipo: Angiospermas

Clase: Dicotiledóneas

Orden: Myrtales

Familia: Myrtaceae

Género: Myrciaria

Especie: *Dubia* HBK McVaugh

Nombre científico: *Myrciaria dubia* H.B.K.) Mc. Vau

Nombre común: Camu camu

Otros nombres: Capan, araca dagua (Brasil). Guayabo (Colombia)

Guayabito (Venezuela). Camuplus (USA)

Se caracteriza por tener raíces que se introducen muy profundamente en la tierra, el fruto es pintoresco, tiene una forma ovalada, de textura lisa y aspecto brillante, sus colores varían de marrón a rojizo, los frutos crecen de manera variada siendo de tamaños grandes como de 30 g y de

tamaño pequeño como de 10g. la parte apreciada del fruto es la pulpa, la cual es comestible y muy agradable con ligero sabor ácido por la presencia de vitamina C, se ha empleado también en el tratamiento de enfermedades las hojas y la corteza muy rara vez la raíz (24).



Figura 4 Planta de Camú camú
Fuente: alimentacionpara.com

Especies de Camu camu

Camu Camu arbustivo (*Myrciaria dubia* H.B.K.)

Se desarrolla en los bosques ribereños temporalmente inundados en el territorio del Amazonas a borde de los ríos de aguas negras y cochas; arbusto o árbol pequeño de 3 a 8 m de altura, se ramifica desde la base formando varios tallos secundarios que a su vez se ramifican en forma de vaso abierto. El tallo y las ramas son glabros, cilíndricos, lisos, de color marrón claro o rojizo y con corteza que se desprende de forma natural

Camu Camu arbóreo (*Myrciaria floribunda*).

El árbol crece hasta una altura de unos veinte metros. Sus ramas son de color marrón y sus flores blancas y rosadas. Produce una fruta de pequeño tamaño, poco más de un centímetro. El color de los frutos es amarillo anaranjado o rojizo, y contiene una pequeña porción de pulpa cubriendo la semilla.

Espectrofotómetro

El espectrofotómetro es un instrumento con el que se apoya la espectrofotometría para medir la cantidad de intensidad de luz absorbida después de pasar a través de una solución muestra. Con el espectrofotómetro, la cantidad de una sustancia química conocida (concentraciones) también puede determinarse midiendo la intensidad de la luz detectada. Dependiendo del rango de longitud de onda de la fuente de luz, se puede clasificar en dos tipos diferentes:

Espectrofotómetro UV-Vis: utiliza luz en el rango ultravioleta (185 – 400 nm) y rango visible (400 – 700 nm) de espectro de radiación electromagnética.

Espectrofotómetro de infrarrojos: utiliza luz en el espectro de infrarrojos (700 – 15,000 nm) del espectro de radiación electromagnética.

La estructura básica de los espectrofotómetros consiste en una fuente de luz, un colimador, un monocromador, un selector de longitud de onda, una cubeta para la solución muestra, un detector fotoeléctrico y una pantalla digital o un medidor.

El **espectrofotómetro**, en general, consta de dos dispositivos; un espectrómetro y un fotómetro.

Espectrómetro: Produce un rango deseado de longitud de onda de luz. Primero un colimador (lente) transmite un haz recto de luz (fotones) que pasa a través de un monocromador (prisma) para dividirlo en varias

componentes de longitudes de onda (espectro). Entonces un selector de longitud de onda (ranura) transmite sólo las longitudes de onda deseadas.

Fotómetro: Después de que el rango deseado de longitud de onda de luz pasa a través de la solución muestra en la cubeta, el fotómetro detecta la cantidad de fotones que se absorbe y luego envía una señal a un galvanómetro o una pantalla digital.

Para la fuente de luz se tiene que puede ser:

Deuterio

Las lámparas de arco de deuterio proporcionan una luz potente y estable en la región UV, 190-370 nm. Produce una buena intensidad continua en la región UV y proporciona una intensidad útil en el visible. Con el tiempo, la intensidad de la luz de una lámpara de arco de deuterio disminuye constantemente. Dicha lámpara tiene típicamente una vida media (el tiempo que dura la intensidad hasta caer a la mitad de su valor inicial) de aproximadamente 1,000 h. En espectrofotómetros de mayor especificación se utiliza el diseño especial de lámpara de deuterio para maximizar la vida útil sin reducir la salida, llamada tecnología “pulsar para leer” (Pulso). Esto puede aumentar la vida de la lámpara hasta 3 veces la de una lámpara de deuterio convencional. Las lámparas de deuterio se emparejan con lámparas de tungsteno para permitir la cobertura del espectro visible.

Tungsteno

Las lámparas de tungsteno dan luz estable en las áreas visibles y cercanas a las infrarrojas del espectro, cubriendo 320 – 1,100 nm. Las lámparas de tungsteno también emplean “pulsar para leer” (Pulso) para prolongar la vida útil de la lámpara.

Xenón

Las lámparas de flash de xenón son una fuente de luz de alta energía que emite luz a través de los rayos UV, Vis y cerca espectro IR. Se conocen como lámparas de flash, hasta 80 veces por segundo. Las lámparas de xenón tienen una vida útil muy larga, pero no proporcionan la estabilidad óptica del deuterio/tungsteno establecido en los sistemas de mayor especificación. Típicamente tiene una vida útil de 10,000 h.

LED

Se utiliza para aplicaciones de longitud de onda única, como la medición de cultivos celulares. Los LED son estables, de bajo costo y ofrecen una larga vida útil.

Según la tecnología del haz de luz, puede ser:

De haz simple

Se refiere al hecho de que la luz sólo pasa a través del soporte de la muestra al detector. Se requiere una referencia inicial para estandarizar el instrumento antes de poder comenzar con el análisis. Los instrumentos de haz único son generalmente muy simples y económicos de comprar.

De haz dividido

La luz de la fuente se divide en dos trayectorias, con aproximadamente el 30% de la energía siendo desviado de la trayectoria principal en un detector de realimentación. El 70% se pasa a través de un monocromador, a través del compartimiento de la muestra a un detector. El detector de realimentación es utilizado para corregir variaciones en la energía emitida por la lámpara. Se requiere una muestra de referencia al comienzo de cada ensayo para corregir la absorción de la cubeta y del solvente.

De doble haz

La luz se divide en dos caminos, cada uno de los cuales pasa a través de un soporte de celda en su propio detector. Un soporte de celda es para la muestra y el segundo es para una referencia. La referencia debe contener el mismo tipo de cubeta y solvente que la muestra. La absorción de la trayectoria de referencia se resta de la de la trayectoria de la muestra. Cada medición tiene su propia referencia, dando resultados más fiables.

2.3. Formulación de Hipótesis

2.3.1 Hipótesis general

La pulpa del fruto de guayaba y Camú camú presentan actividad antioxidante.

2.3.2 Hipótesis específica

- 1.- Existen metabolitos secundarios presentes de la pulpa del fruto de guayaba y Camú camú.
- 2.- si existe actividad antioxidante por el método de captura de electrones DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo), en la pulpa del fruto de guayaba y Camú camú.

2.4. Operacionalización de variables e indicadores

VARIABLES	DIMENSIONES	ITEM	INSTRUMENTO	INDICADOR	ESCALA
VI Pulpa del fruto de guayaba y Camú camú	a. Identificación Física b.- Identificación de Metabolitos secundarios	a.- Taxonomía b.- Solubilidad c.-Metabolitos Flavonoides Fenoles Taninos Saponinas Leucoantocianinas Lactonicos Triterpenos Quinonas Alcaloides	a.- Ficha Taxonómica b.- Ficha de datos de solventes de diferentes polaridades c.- ficha de recopilación de datos para Metabolitos secundarios Rx de shinoda Rx de fecl3 Rx de proteínas Met. de espuma Rx rosenheim Rx de legal Rx de liebermann-Burchard Rx de bomtranger Rx de dragendorff –mayer	Raíz, Tallo. Hoja Solubilidad Coloración Rojiza Azul, verde, negro Blanco Espuma Rojo Rojo oscuro Verde, azul Rojo en fase acuosa Anaranjado-blanco- crema	SI / NO Muy soluble Soluble Poco soluble Insoluble +/- +/- +/- +/- +/- +/- +/- +/- +/- +/-
VD Actividad antioxidante	Determinación de la actividad antioxidante	Método de captura de electrones DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo	Espectrofotómetro Uv-vis	% de inhibición	Absorbancia de la muestra

2.5. Definición de términos

Fruto

Órgano agradable muchas veces comestible que se obtiene de la flor en la cual se encuentran las semillas que son las células de reproducción. Muchas veces con cascara y ricas en vitaminas y minerales (28).

Antioxidante

Un antioxidante es cualquier molécula capaz de retardar o evitar la oxidación de otras moléculas (26).

Oxidación

Puede definirse como aquella reacción química en la cual hay un viraje de electrones, es decir una oxidación que trae como consecuencia la formación de radicales libres (26).

Metabolitos

A nivel celular se define como metabolito al compuesto formado por síntesis en una reacción química y que a nivel celular le sirve para sus mecanismos de acción (26).

Pulpa

Es la estructura carnosa y succulenta que se extrae de las frutas y que aporta nutrientes y le da la calidad alimenticia y nutricional al fruto (30).

Radical libre

Se puede definir como aquellos radicales de átomos que se encuentran faltos de electrones y por ende están desapareados lo que trae como consecuencia la producción de oxidación celular y deterioro celular, pueden ser provocados durante el metabolismo celular, por la plantas durante síntesis, pero también desde el exterior de los organismos vivientes como son la misma naturaleza, factores climáticos y meteorológicos. Las sustancias de desecho también producen radicales libres (30).

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

3.1 Tipo de Investigación

a) Según su tendencia

La investigación es cuantitativa, porque se determina el porcentaje de la actividad antioxidante de la Pulpa del fruto de guayaba y Camú camú y los resultados a obtener son reales, tangible, observables y medibles.

Se pretende dar un aporte científico sobre la efectividad antioxidante de la Pulpa del fruto de Guayaba y Camú camú (31).

b) Según la Orientación

Es aplicada orientada a lograr un nuevo conocimiento sobre la actividad antioxidante de Pulpa del fruto de guayaba y Camú camú (31).

c) Según el tiempo de ocurrencias de los hechos investigados

Nuestra investigación es transversal, ya que se puede observar y cuantificar el efecto de la actividad antioxidante de Pulpa del fruto de guayaba y Camú camú (31).

3.2 Diseño de investigación

Esta investigación se basó por su diseño fue cuasi experimental .

3.3 Población y Muestra de la investigación

Población:

Los frutos de guayaba y Camú camu fueron recolectados en la provincia de Padre Abad departamento de Ucayali, el Camu camu es un árbol pequeño de 3 metros de alto, se cultivan aproximadamente 1112.27 Ha de Camu-camu, y en esta provincia, se concentra el 25% de la producción, por su parte, el árbol de guayaba alcanza hasta los 5 metros de alto crecen alrededor de 160 a 200 árboles por hectárea.

Muestra:

Se recolectó 5 kilos frutos de guayaba y Camu camu, los cuales fueron seleccionados, lavados y secados en la Facultad de Ciencias Farmacéuticas e la Universidad Inca Garcilaso de la Vega. Se obtuvo 500g de pulpa para realizar la parte experimental.

3.4 Técnica e instrumento de recolección de datos

Técnica: método químico de DPPH

Instrumento: Fichas de registro de resultados, el cual contendrá los datos obtenidos de las reacciones analíticas desarrolladas de la actividad antioxidante.

3.4.1 Equipos y materiales

- ❖ Beaker de 250 mL
- ❖ Buretas de 25 mL
- ❖ Matraz de Erlenmeyer 125, 250 mL
- ❖ Tubos de ensayo
- ❖ Pinzas de mariposa

- ❖ Soporte universal
- ❖ Frascos de boca ancha de vidrio
- ❖ Pipetas de 3. 5. 10 mL

3.4.2 Reactivos

- ❖ DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo)
- ❖ Rx de Sonnenshein
- ❖ Rx de Shinoda
- ❖ Rx de FeCl₃
- ❖ Rx de Proteinas
- ❖ Met. de Espuma
- ❖ Rx Rosenheim
- ❖ Rx de Legal
- ❖ Rx de Liebermann
- ❖ Rx de Borntranger
- ❖ Rx de Dragendorff –Mayer

3.5 Plan de procesamiento y análisis de datos

Las pruebas se desarrollaron en el laboratorio de Bromatología de la Universidad Inca Garcilaso de la Vega en la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas donde se efectuaron todas las pruebas para determinar la actividad antioxidante.

La información fue reportada en la ficha de recolección de datos, donde se organizaron y se sometieron a fórmulas matemáticas para determinar los resultados.

3.5.1 Extracción de las pulpas de Guayaba y Camu Camu

Materia prima: Las muestras de guayaba y Camu Camu fueron recolectados en la provincia de Padre Abad, departamento de Ucayali

Pesado: se procedió a pesar la materia prima con la que se inició la obtención de la pulpa de las frutas, para ello se utilizó una balanza semianalítica para realizar la operación.

Obtención de la pulpa: se peló la fruta y luego fueron cortadas por la mitad. Luego con ayuda de una cuchara se procedió a extraer la pulpa.

Almacenamiento: una vez obtenida la pulpa de las frutas, se procedió a almacenarlas en bolsas de plástico con cierre de seguridad. Se pesó nuevamente para determinar el rendimiento y luego se guardó en un taper ámbar para evitar la luz y se llevó a refrigerar hasta su uso posterior.

3.5.2 Reconocimiento fitoquímico

Una vez obtenida la pulpa del fruto de la guayaba y el Camu camu, separó 1ml de esta muestra y se depositó en un tubo, a ella se agregó cada reactivo para su reconocimiento (25).

Reactivo de Dragendorff

Reactivo de Bouchart

Reactivo de Bertrand

Reactivo de Mayer

Reactivo de Poppof

Reactivo de Sonnenshein

Reactivo de Shinoda

Reactivo de FeCl₃

Se desarrollaron los siguientes ensayos:

a) Determinación de taninos

Solución de gelatina en suero fisiológico. Se tomó 0.99 mL de muestra y agregó 2.90 mL del reactivo preparado recientemente. Se sometió a la acción de la centrifuga. Si la fuerza centrífuga forma un precipitado de aspecto blanquecino determinará que la reacción es positiva para metabolitos de taninos, otra coloración o aspecto es negativo (29).

Solución de cloruro o aluminio férrico. Se tomó 0.99 ml de Muestra y agregó 2.90 mL del reactivo preparado recientemente. La coloración de aspecto azulado determinará que la reacción es positiva para metabolitos de ácido pirogálico y la coloración de aspecto verde para catequinas; otra coloración o aspecto es negativo (29).

b) Determinación de flavonoides

Magnesio metálico y ácido clorhídrico "R. Shinoda". Se tomó 0.99 mL de muestra y agregó el reactivo preparado recientemente (ácido clorhídrico densidad 1.19 g/mL 4 gotas y virutas de magnesio). La reacción es positiva para metabolitos de flavonoides si toma una coloración o aspecto naranja inicialmente terminando a anaranjado intenso después de unos minutos (29).

c) Determinación de cumarinas

Se tomó 0.99 mL de muestra y se extendió sobre papel filtro de tipo Whatman o tiras de algodón sin pelusas. Se agregó 2.90 mL del reactivo de hidróxido de sodio al 10% preparado recientemente. Se sometió a la acción de la lámpara U.V. de 365nm (nanómetro) de onda de longitud. La reacción es positiva para metabolitos de cumarinas si la coloración es verde amarillento; otra coloración o aspecto es negativo (29).

d) Determinación de quinonas

Se tomó 0.99 mL de muestra y se agregó reactivo preparado recientemente. Se sometió a la acción de 0.5 mL del hidróxido de sodio al 5%. El viraje de color propondrá la presencia de metabolitos quinoicos. A la misma cantidad de muestra, se le somete a la acción de NaOH 5% reacción de Bornträger en caliente. Se filtró, enfrió y aciduló con HCl 20%, se añadió benceno, se agitará y se deja en reposo. Luego se separará la fase bencénica a la cual se le añadió NH₄OH. La formación de una coloración rosada a roja, indicará la presencia de antraquinonas (29).

e) Determinación de alcaloides

Reactivo de Dragendorff. Se tomó 0.99 mL de muestra y agregó 2.90 mL del reactivo preparado recientemente. La formación de un precipitado de aspecto naranja a rojo determinó que la reacción es positiva para metabolitos de alcaloides, otra coloración o aspecto es negativo (29).

Reactivo de Mayer. Se tomó 0.99 mL de muestra y agregó 2.90 mL del reactivo preparado recientemente. La formación de un precipitado de aspecto blanco a crema, determinó que la reacción fue positiva para metabolitos de alcaloides. (29).

Bertrand (ácido silíceo). Se tomó 0.99 mL de muestra y agregó 2.90 mL del reactivo preparado recientemente. La formación de un precipitado de aspecto blanco, determinó que la reacción es positiva para metabolitos de alcaloides, otra coloración o aspecto es negativo (29).

Sonnenschein (ácido fosfomolibdico) Se tomó 0.99 mL de muestra y agregó 2.90 mL del reactivo preparado recientemente. La formación de un precipitado de aspecto amarillo verdoso, determinará que la reacción es positiva para metabolitos de alcaloides, otra coloración o aspecto es negativo (29).

f) Carbohidratos

Molish. Se tomó 0.99 mL de muestra y agregó 2.90 mL del reactivo preparado recientemente. La formación de una solución con anillo violeta, determinara que la reacción es positiva para metabolitos de carbohidratos, otra coloración o aspecto es negativo (29).

Antrona. Se tomó 0.99 mL de muestra y agregó 2.90 mL del reactivo preparado recientemente. La formación de una solución verde, determinara que la reacción es positiva para metabolitos de carbohidratos, otra coloración o aspecto es negativo (29).

Fehling. Se tomó 0.99 mL de muestra y agregó 2.90 cc del reactivo preparado recientemente, calentar. La formación rojo ladrillo, determinará que la reacción es positiva para azucares reductoras (29).

g) Aminoácidos libres y grupos amino

Ninhidrina se tomó 0.99 mL de muestra y agregó 2.90 mL del reactivo preparado recientemente, calentar en baño María. La formación de una solución con color violacea, determinará que la reacción es positiva para metabolitos de aminoácidos libres, otra coloración o aspecto es negativo (29).

h) Triterpenoides y esteroides

Lieberman- Burchard. Se tomó 0.99 mL de muestra y agregó 2.90 mL del reactivo preparado recientemente. La formación de una solución de color verde azulado determinará la presencia de esteroides, la presencia de una coloración rojo naranja determinará la presencia de triterpenoides. otra coloración o aspecto es negativo (29).

l) Saponinas

Generación de espuma. - Se tomó 0.99 mL de muestra y agregó 2.90 mL del reactivo preparado recientemente. Agitar fuertemente por espacio de 2 minutos. La formación de espuma en la solución, determinará que la reacción es positiva (29).

J) Glicósidos

Baljet Se tomó 0.99 mL de muestra y agregó 2.90 mL del reactivo preparado recientemente. La formación de una solución de coloración anaranjada determinará que la reacción es positiva para metabolitos de glicosidos, otra coloración o aspecto es negativo (29).

3.5.3 Determinación de la Capacidad antioxidante

Para evaluar la actividad antioxidante, se utilizó el método desarrollado por Brand-Williams y colaboradores (1995) (27).

Se utilizó la prueba del radical libre 1,1-difenil-2- picril-hidrazilo (DPPH).

Se preparó una solución de DPPH con metanol el cual nos sirvió de blanco, se sometió a la lectura del espectrofotómetro ultra violeta visible a una longitud de 517nm. Posteriormente se prepararon muestras problemas a diferentes concentraciones, la solución de DPPH (975 μ) se mezcló con la pulpa de Guayaba y Camu camu, (25 μ) con la ayuda de una micro pipeta y fueron leídas también en el espectrofotómetro a la misma longitud de onda hasta que la absorbancia se volviera estable (27).

La determinación de la capacidad antioxidante, se determinó por el método de captura de electrones DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo). Este método principalmente establecido por Brand-Williams y colaboradores (1995), es un método colorimétrico simple, que reacciona directamente con el compuesto, por lo cual la reacción depende de la conformación estructural del compuesto (27). El fundamento de ésta prueba consiste en que el radical libre presenta un electrón de nitrógeno desapareado, y se

muestra de color azul-violeta, y cuando este radical libre se reduce por acción del antioxidante y se estabiliza su acción oxidativa, su color se va decolorando hasta quedar de color amarillo pálido (26). Según los estudios de Brand-Williams y colaboradores (1995), el DPPH es un radical estable donde la reacción es:



Los resultados se pueden observar entre 515 y 517nm, pasados unos 20 minutos aproximadamente, siendo que el cambio del color del radical se puede observar en el pico de absorbancia de DPPH (25). La eficiencia del antioxidante es medida a temperatura ambiente, de tal manera que se elimina el riesgo de degradación térmica de las moléculas (27). El método utilizado es lo suficientemente sensible para captar la actividad antioxidante sobre el radical (27).

3.6 Técnicas para el procedimiento de datos

Se utilizó el sistema estadístico SPSS y análisis de varianza (ANOVA) para determinar la diferencia significativa de cada prueba

CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN Y ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

4.1. Procesamiento de datos

4.1.1 Prueba de solubilidad

Tabla 1 Resultados de la prueba de solubilidad de la pulpa del fruto de guayaba (*Psidium guajava*)

Reactivos	Pulpa
Etanol	(+)
Cloroformo	(-)
Éter etílico	(-)
Butanol	(-)
Metanol	(+)
Agua destilada	(+++)
Acetato de etilo	(-)

Fuente: Elaboración propia, 2018.

En la tabla 1, se observa que la pulpa del fruto de guayaba (*Psidium guajava*) es muy soluble en agua (+++) y soluble en ciclohexano (++) .

Tabla 2 Resultados de la prueba de solubilidad de la Pulpa del fruto de Camu camu (*Myrciaria dubia*)

Reactivos	Pulpa
Etanol	(+)
Cloroformo	(-)
Éter etílico	(-)
Butanol	(-)
Metanol	(+)
Agua destilada	(+++)
Acetato de etilo	(-)

Fuente: Elaboración propia, 2018.

En la tabla 2 se observa que la pulpa del fruto de Camu Camu (*Myrciaria dubia*) es muy soluble en agua (+++) soluble en ciclohexano (++) y metanol (++)

Leyenda: Muy soluble (+++), soluble (++) , poco soluble (+), insoluble (0)

4.1.2 Marcha fitoquímica

Tabla 3 Resultados de metabolitos secundarios de la marcha fitoquímica se encuentran en la Pulpa del fruto de Guayaba (*Psidium guajava*)

COMPUESTOS	REAC. POSITIVA	RESULTADO
COMPUESTOS DERIVADOS DE FENÓLES	Coloración verde o azul	(++)
COMPUESTOS DERIVADOS DE TANINOS	Precipitado denso blanco	(++)
COMPUESTOS DERIVADOS DE FLAVONOIDES	<i>Chalconas, auronas, isoflavanonas:</i> No hay coloración.	(+)
	<i>Isoflavanonas:</i> Amarillo rojizo.	(-)
	<i>Flavanonoles:</i> Rojo a magenta.	(-)
	<i>Flavonas y flavonoles:</i> Amarillo a rojo	(-)
COMPUESTOS DERIVADOS DE ANTOCIANINAS Y FLAVONOIDES CATÉQUICOS	Coloración rojo oscuro	(-)
COMPUESTOS DERIVADOS DE ALCALOIDES	Precipitado naranja	(-)
	Precipitado blanco	(-)
	Precipitado blanco	(-)
	Precipitado amarillo-verdoso	(-)
COMPUESTOS DERIVADOS DE NAFTAQUINONAS, ANTRAQUINONAS Y ANTRANONAS	Coloración roja	(-)
COMPUESTOS DERIVADOS DE TRITERPENOIDES Y ESTEROIDES	<i>Esteroides:</i> verde-azul	(-)
	<i>Triterpenoides:</i> rojo-naranja	(+)
COMPUESTOS DERIVADOS DE CUMARINAS	Fluorescencia celeste	(+)

Fuente: Elaboración propia, 2018.

Legenda: Bastante (+++), Regular (++) , Poco (+), Ausente (-)

En la tabla 3, se observa que la pulpa del fruto de Guayaba (*Psidium guajava*) presenta los siguientes compuestos: fenólicos, taninos, cumarinas.

Tabla 4 Resultados de metabolitos secundarios de la marcha fitoquímica se encuentran en la pulpa del fruto de Camu camu (*Myrciaria dubia*)

COMPUESTOS	REACCIÓN POSITIVA	RESULTADO
COMPUESTOS DERIVADOS DE FENÓLES	Coloración verde o azul	(-)
COMPUESTOS DERIVADOS DE TANINOS	Precipitado denso blanco	(+) (-) (-) (-)
COMPUESTOS DERIVADOS DE FLAVONOIDES	<i>Chalconas, auronas, isoflavanonas</i> : No hay coloración. <i>Isoflavanonas</i> : Amarillo rojizo. <i>Flavanonoles</i> : Rojo a magenta. <i>Flavonas y flavonoles</i> : Amarillo a rojo	(+) (-) (-) (-)
COMPUESTOS DERIVADOS DE ANTOCIANINAS Y FLAVONOIDES CATÉQUICOS	Coloración rojo oscuro	(-)
COMPUESTOS DERIVADOS DE ALCALOIDES	Precipitado naranja	(-)
	Precipitado blanco	(-)
	Precipitado blanco	(-)
	Precipitado amarillo-verdoso	(-)

Fuente: Elaboración propia, 2018.

Leyenda: Bastante (+++), Regular (++) , Poco (+), Ausente (-)

En la tabla 4, se observa que la pulpa del fruto de Camu Camu (*Myrciaria dubia*) presenta los siguientes compuestos: fenólicos, flavonoides, alcaloides.

Tabla 5 Resultados de la determinación de la capacidad antioxidante para la Pulpa del fruto de Guayaba (*Psidium guajava*) Absorbancia a 517 nm

	BLANCO	MUESTRA 25%	MUESTRA 50%	MUESTRA 75%
DPPH	1.876 A	-	-	-
DPPH +GUAYABA	-	0.702 A	0.745 A	0.801 A
% DE INHIBICION		37.42%	39.71%	42.69%
DPPH+ MeOH	1.700 A	-	-	-
DPPH+MeOH+ GUAYABA	-	0.677 A	0.701 A	0.788 A
% DE INHIBICION		39.82%	41.23%	46.35%

Fuente: Elaboración propia, 2018.

Los porcentajes de actividad antioxidante se obtuvieron aplicando la siguiente formula:

$$\text{Actividad antioxidante (\%)} = \left(\frac{AC - AM - AB}{AC} \right) \times 100$$

donde:

AM es la absorbancia de la muestra + DPPH
 AB es la absorbancia del blanco (muestra + etanol)
 AC es la absorbancia del blanco del reactivo (DPPH + etanol).

Procedimiento: en tres tubos de ensayo marcados como B (blanco) S (Estándar) MP (muestra problema) colocar:

	B	S	MP
DPPH	--	975 μ	975 μ
Muestra	--	--	25μ
Agua C.S.P.	1ml	1ml	1ml

	B	S	MP
DPPH+Metanol	--	975 μ	975 μ
Muestra	--	--	25μ
Metanol C.S.P.	1ml	1ml	1ml

Fuente: Elaboración propia, 2018.

Esperar por espacio de 20 minutos. Luego leer en el **Espectrofotómetro UV-Vis • Shimadzu • UV-1800** a 517nm (barrido: 490-530nm) llevando el aparato a cero con el blanco.

Tabla 6 Resultados del cálculo del porcentaje de inhibición de la capacidad antioxidante para la Pulpa del fruto de Guayaba (*Psidium guajava*) Absorbancia a 517 nm

DPPH + GUAYABA	DPPH + MeOH + GUAYABA
% de inhibición = Abs de la muestra / Abs del DPPH x 100	% de inhibición = Abs de la muestra / Abs del DPPH x 100
Muestra al 25% = 0.702 / 1.876 x 100 = 37.42	Muestra al 25% = 0.677 / 1.700 x 100 = 39.82
Muestra al 50% = 0.745 / 1.876 x 100 = 39.71	Muestra al 50% = 0.701 / 1.700 x 100 = 41.23
Muestra al 75% = 0.801 / 1.876 x 100 = 42.69	Muestra al 75% = 0.788 / 1.700 x 100 = 46.35

Fuente: Elaboración propia, 2018.

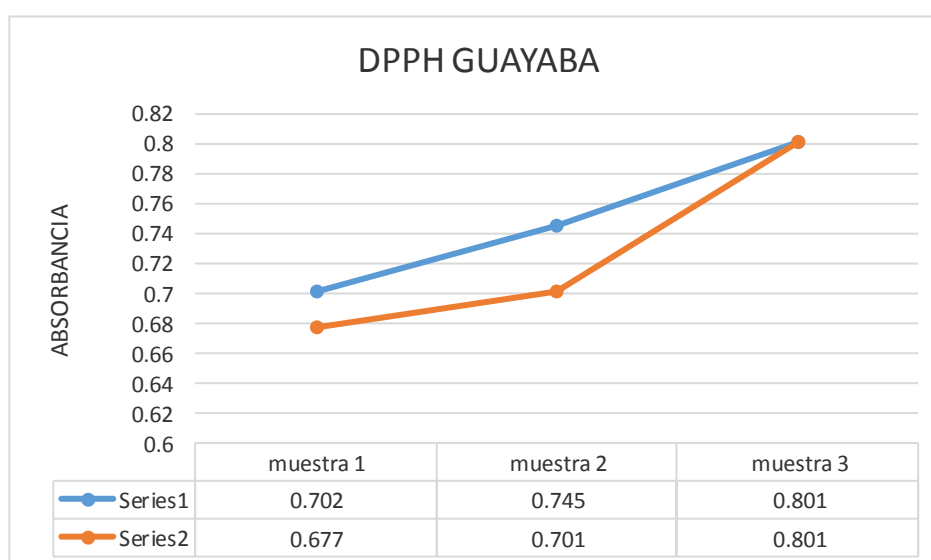


Figura N5 ABSORBANCIAS DE LAS MUESTRAS DE GUAYABA

La muestra tratada con el DPPH exhibió los siguientes resultados: Al 25%, reportó 37.42% de capacidad de inhibición, al 50%, un 39.71, y al 75%, un 42.69% de capacidad de inhibición. La muestra tratada con DPPH y metanol reportó al 25% un 39.82%, al 50%, un 41.23%; y al 75%, un 46.35%. **Estos resultados fueron obtenidos Espectrofotómetro UV-Vis • Shimadzu • UV-1800 a una Absorbancia a 517 nm**

Fuente: Elaboración propia, 2018.

Tabla 7 Los resultados de la determinación de la capacidad antioxidante para la Pulpa del Fruto de Camu camu (*Myrciaria dubia*) Absorbancia a 517 nm

	BLANCO	MUESTRA 25%	MUESTRA 50%	MUESTRA 75%
DPPH	1.876 A	-	-	-
DPPH +CAMU CAMU	-	0.904 A	0.965 A	0.991 A
% DE INHIBICION		48.18%	51.43%	52.82%
DPPH+ MeOH	1.700 A	-	-	-
DPPH+MeOH+ CAMU CAMU	-	0.857 A	0.877 A	0.908 A
% DE INHIBICION		50.41%	51.88%	53.41%

Fuente: Elaboración propia, 2018.

Procedimiento: en tres tubos de ensayo marcados como B (blanco) S (Estándar) MP (muestra problema) colocar:

	B	S	MP
DPPH	--	975 µ	975 µ
Muestra	--	--	25µ
Agua C.S.P.	1ml	1ml	1ml

	B	S	MP
DPPH+Metanol	--	975 µ	975 µ
Muestra	--	--	25µ
Metanol C.S.P.	1ml	1ml	1ml

Esperar por espacio de 20 minutos. Luego leer en el **Espectrofotómetro UV-Vis • Shimadzu • UV-1800** a una Absorbancia a 517 nm (barido 490-530nm) llevando el aparato a cero con el blanco.

Fuente: Elaboración propia, 2018.

Tabla 8 Los resultados del cálculo del porcentaje de inhibición de la capacidad antioxidante para la Pulpa del Fruto de Camu camu (*Myrciaria dubia*) Absorbancia a 517 nm

DPPH + CAMU CAMU	DPPH + MeOH + CAMU CAMU
% de inhibición = Abs de la muestra / Abs del DPPH x 100	% de inhibición = Abs de la muestra / Abs del DPPH x 100
Muestra al 25% = 0.904 / 1.876 x 100 = 48.18	Muestra al 25% = 0.857 / 1.700 x 100 = 50.41
Muestra al 50% = 0.965 / 1.876 x 100 = 51.43	Muestra al 50% = 0.877 / 1.700 x 100 = 51.88
Muestra al 75% = 0.991 / 1.876 x 100 = 52.82	Muestra al 75% = 0.908 / 1.700 x 100 = 53.41

Fuente: Elaboración propia, 2018.

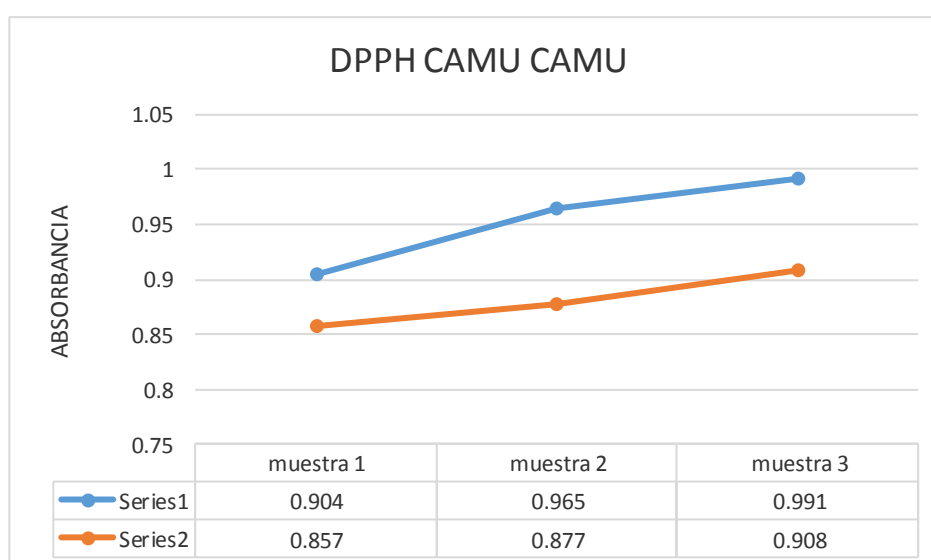


Figura N6 ABSORBANCIAS DE LAS MUESTRAS DE CAMU CAMU

La muestra tratada con el DPPH exhibió los siguientes resultados: Al 25%, reportó 48.18% de capacidad de inhibición, al 50% un 51.43, y al 75%, un 52.82% de capacidad de inhibición. La muestra tratada con DPPH y metanol reportó al 25% un 50.41%. al 50% un 51.88% y al 75% un 53.41% **Estos resultados fueron obtenidos Espectrofotómetro UV-Vis • Shimadzu • UV-1800 a una Absorbancia a 517 nm**

Fuente: Elaboración propia, 2018.

4.2. Discusión

Los metabolitos secundarios presentes en la pulpa del fruto de guayaba son compuestos fenólicos, taninos flavonoides del tipo chalconas y cumarinas. Los metabolitos secundarios presentes en la pulpa del fruto de Camu camu fueron compuestos fenólicos y flavonoides. Estos hallazgos son muy similares a los encontrados por Pérez C, (2017), y Camelo D, (2016), quienes realizaron la actividad antioxidante por DPPH y las muestras poseían los compuestos-, fenólicos, flavonoides .

Las diferentes concentraciones de la pulpa del fruto de guayaba y Camu camu presentaron porcentajes de actividad antioxidante al ser evaluado por el método de la captura de electrones DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo), siendo las concentraciones de guayaba al 75% diluidas en el reactivo DPPH 42.69% y en metanol más el reactivo DPPH 46.35% los que más alto porcentaje alcanzaron. Lo mismo ocurre con la pulpa del fruto de Camu camu que a la misma concentración 75% alcanzan concentraciones de 52.82% y 53.41% respectivamente. Las otras concentraciones al 50% y al 25% también presentaron actividad antioxidante. Estos resultados son comparados con los de Tovar del Rio J, (2013) y Martínez J, (2007), quienes emplearon el mismo método para su estudio determinó que la prueba de DPPH es una técnica útil y confiable para la determinación de la actividad antioxidante en especies vegetales.

CAPÍTULO V: CONCLUSION Y RECOMENDACIONES

5.1. Conclusiones

1.- La pulpa de guayaba presenta metabolitos fenólicos, taninos, flavonoides del tipo chalconas y cumarinas, la pulpa del fruto de Camu camu: compuestos fenólicos, alcaloides y flavonoides.

2.- La pulpa del fruto de guayaba y Camu camu presentaron capacidad antioxidante, la guayaba con el metanol más el reactivo DPPH obtuvo 46,35 % y en la pulpa del fruto de Camu camu fue 53,41 %.

5.2. Recomendaciones

Realizar estudios sobre otras especies de guayaba y Camu camu de diferentes regiones del país a fin de determinar la variación de concentraciones de antioxidantes.

Realizar estudios de estabilidad de la pulpa de fruto de guayaba y Camu camu a fin de prevenir el deterioro de la capacidad antioxidante por oxidación.

Proponer el consumo de estas frutas para aquellas personas que están expuestas a estrés oxidativo y recomendarlas sobre todo en aquellas épocas del año donde están más económicas para su adquisición.

BIBLIOGRAFÍA

1. - Dawes J, Rowley J “**All natural and nutraceutical. Prepared Foods**”. (1997) Num.166, pag. 32-38.
2. - Caragay C. “**Cancer-preventive foods and ingredients. Food Technol. A.B**”. (1992) Num. 46, pag. 65-68.
3. - Dufrense C. “**A Review of latest research findings on the health promotion proprieties of tea**”. E.R.A. J. Nutr. Biochem (2001) J. Nutr. Biochem. Vol 4, Núm. 12, pág. 404-412.
4. - Pérez C, Sánchez W, Murillo W. Méndez J. “**Acción antioxidante conjunta de extractos etanólicos de Mollinedia lanceolata, Croton leptostachyus y Siparuna sessiliflora**” Acad. Colomb. Cienc. (2017) Vol. 41, Núm. 158 pág. 45-49.
DOI: <http://dx.doi.org/10.18257/raccefyn.425>
- 5.- Camelo Munevar D. “**Estudio fitoquímico de frutos de syzygium paniculatum (g.) y evaluación de su actividad antioxidante**” [Tesis para optar el título de Licenciado en Química] Universidad Distrital Francisco José de Caldas Facultad de Ciencias y Educación; 2016
- 6.- Gallego Iradi M. “**Estudio de la actividad antioxidante de diversas plantas aromáticas y/o comestibles**” [Tesis para optar el título de Licenciado en Química] Universidad Politécnica de Catalunya Barcelona; 2016.
- 7.- Tovar del Rio J. “**Determinación de la actividad antioxidante por DPPH y ABTS de 30 plantas recolectadas en la ecorregión cafetera**” [Tesis para optar el título de Químico Industrial] Universidad Tecnológica de Pereira Facultad de Tecnología Escuela de Tecnología Química; 2013.
- 8.- Hernández Domínguez S. “**Relación entre la capacidad antioxidante y composición fenólica en vinos tintos**” [Tesis para optar al grado de magister en enología y vitivinicultura] Facultad de ciencias agrónomas. Universidad de Chile; 2012
- 9.- Rodas Cardona E. “**Evaluación de la actividad antioxidante de extractos frutales como alternativa a los antioxidantes sintéticos en preparaciones cosméticas tipo emulsión**” [Tesis para optar al título de Químicos Farmacéuticos] Universidad de San Carlos. Guatemala; 2010
- 10.- Barrón Yañez R. “**Glicósidos de Flavonoides y actividad antioxidante y citotóxica de Calia secundiflora (ort.) Yakovlev**” [Tesis para optar el grado de doctor en Biotecnología]. Universidad Autónoma Chapingo. México; 2011
- 11.- Martínez Vasquez J. “**Evaluación de la actividad antioxidante de extractos orgánicos de semillas de Helicarpus terebinthaceus**” [Tesis que para obtener el título de ingeniero en alimentos] Universidad tecnológica de la mixteca. México; 2007
- 12.- Paladino Cristina S. “**Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos contenidos en las semillas de la vid (vitis vinifera l.)**” [Tesis para optar el grado de maestría en Alimentos] Universidad Nacional de Cuyo. Argentina; 2007
- 13.- Muller Tito K. “**Capacidad antioxidante y contenido de flavonoides entre las “semillas de chía negra (salvia nativa) y chía blanca (salvia hispánica l.)**” [Tesis para optar el grado de

licenciado en Nutrición humana] Universidad nacional del altiplano facultad de ciencias de la salud escuela profesional de nutrición humana. Peru; 2015.

14.- Durand Placencia M. **“Evaluación de la capacidad antioxidante en pulpa fresca y pulpa pasteurizada de guanábana (*annona muricata* L.) producida en la provincia de chanchamayo”** [Tesis para optar el título profesional de ingeniero agroindustrial] Universidad Nacional del Centro Facultad de Ciencias Aplicadas. Tarma. Perú; 2015.

15.- Villanueva Bautista E. **“Contenido de betalainas. y determinación de la actividad antioxidante de accesiones de *Chenopodium quinoa* Willd. "quinua" del distrito de Tambillo – Ayacucho”** [Tesis para obtener el título profesional de bióloga con mención en la especialidad de Microbiología] Universidad Nacional de San Cristóbal de Huamanga Facultad de Ciencias Biológicas. Ayacucho. Perú; 2015

16.- Henderson Negrillo C. **“Determinación de la cantidad de Polifenoles y su Actividad Antioxidante en el Zapallo Loche (*Cucurbita moschata* Duchesne) fresco, sancochado y frito procedente del departamento de Lambayeque”** [Tesis para optar el Título de licenciado en nutrición y dietética]. Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas Facultad de Ciencias de la Salud Carrera de Nutrición y Dietética. Perú. 2014

17.- Oliveira Bardales G. **“Capacidad antioxidante de *averrhoa carambola* L. (*carambola*) frente a sistemas generadores de radicales libres”** [tesis para optar el Grado Académico de Magister en Nutrición con mención en Aspectos Biológicos de la Nutrición] Universidad Nacional Mayor de San Marcos Facultad de Medicina Humana. Perú; 2014.

18.- Muedas Taipe G. **“Estudio químico y de actividad antioxidante de la *Bauhinia guianensis* var. *kuntiana* Aubl.”** [Tesis para optar el grado académico de Magister en Química] Pontificia Universidad Católica. Perú. 2013.

19.- Llanos Cordova E. **“Capacidad antioxidante de tres variedades de papa (*Solanum tuberosum*) con y sin cáscara: blanca, amarilla y rosada”** [Tesis Para optar el título profesional de Licenciada en Nutrición]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos Facultad de Medicina Humana E. A. P. de Nutrición. Peru; 2009.

20. – Brand W.; Cuvelier, M. (2008) **“Use of a Free Radical Method To Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensm. Wiss*”** Num. 2 Vol 28. Pag. 25-30

21. - Fukumoto, L. R. & Mazza, G. 2000. **“Assesing Antioxidant and Prooxidant Activities of Phenolic Compounds. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*”** ” Num. 5 Vol 48. Pag. 3597-3604

22. – Choi C. Kim, S. Hwang, S. Choi, B. 2002. **“Antioxidant activity and free radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoid by assay-guided comparision. *Plant science*”**. Vol. 163 Pag. 1161- 1168.

23.- Ministerio Salud, Instituto Nacional de Salud, Centro Nacional de Alimentación y Nutrición. 2009. Tablas de Composición de la guayaba y de Alimentos Peruanos. X. Lima. Perú.

24.- Fujita, A.; Sarkar, D.; Wu, S.; Kennelly, E.; Shetty, K.; Genovese, M. 2015. Evaluation of phenolic-linked bioactives of camu-camu (*Myrciaria dubia* Mc. Vaugh (Myrtaceae)) for antihyperglycemia, antihypertension, antimicrobial properties and cellular rejuvenation. *Food Research International* 77(2): 194-203

25.- Lock de Ugaz O. Investigación fitoquímica. **Métodos de estudio de productos naturales** 2º ed. Perú: 1994

26.- Abasto K, Aviles E, Cespedes G, Claros E, Guillen V. **Plantas medicinales y sus usos.** Revista científica Burbuja Universitaria [Revista en internet] citado el 24 de mayo del 2010 [http// www. Univalle.edu/publicaciones//burbuja17](http://www.Univalle.edu/publicaciones//burbuja17).

27.- Sepulveda G.. **La participación de los metabolitos secundarios en defensa de las plantas.** Instituto Politécnica Nacional Yautepec México

28.- Diccionario de la lengua española. Real Academia de la Lengua Española. Madrid 2014

Disponible en: [http//Lema.rea.es/drae2001/srv](http://Lema.rea.es/drae2001/srv)

29.- Durafford C, Lapraz J. 1983 **Cuaderno de Fitoterapia Clínica.** Editorial Masson S.A. Barcelona

30.- Bertran G. **Farmacología Basica y Clínica.** Editorial Mc Graw.12va edición 2013.

ANEXOS

Anexo 1 PROCESAMIENTO DELAS FRUTAS

Pesado de las frutas de Guayaba y Camú Camú



Despues de lavar, se procede a pesar las frutas



Se utilizó una balanza de triple brazo para pesar las frutas

Anexo 2 MÉTODO DE SEPARACIÓN

Separacion de la fruta por el metodo organoleptico



Se escogió aquellas frutas que tengan las mejores características organolepticas



Anexo 3 MÉTODO DE EXTRACCIÓN

Extaccion de la pulpa de las frutas

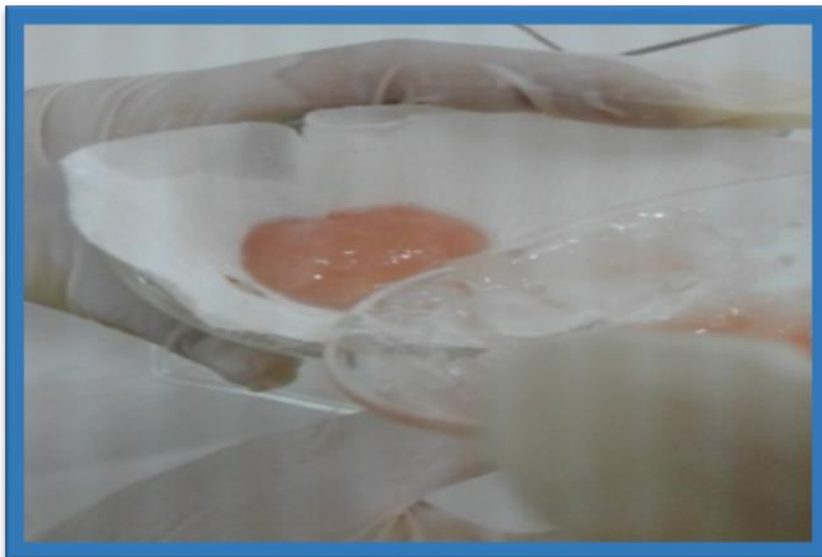


Se procedio a extraer la pulpa de la fruta con una cuchara y almacenarla en un beacker



Anexo 4 MÉTODO DE FILTRACIÓN

Filtrado de las Pulpas



Se procede a filtrar con una gasa fina para obtener el jugo de las frutas

Anexo 5 MÉTODO DE ALMACENAMIENTO



Almacenamiento de las pulpas filtradas



Anexo 6 MÉTODO DE ACONDIONADO

Acondicionamiento de las pulpas de frutas



Prueba de solubilidad de la pulpa del fruto de Guayaba y Camu camu

Reactivos utilizados



Marcha de solubilidad para guayaba

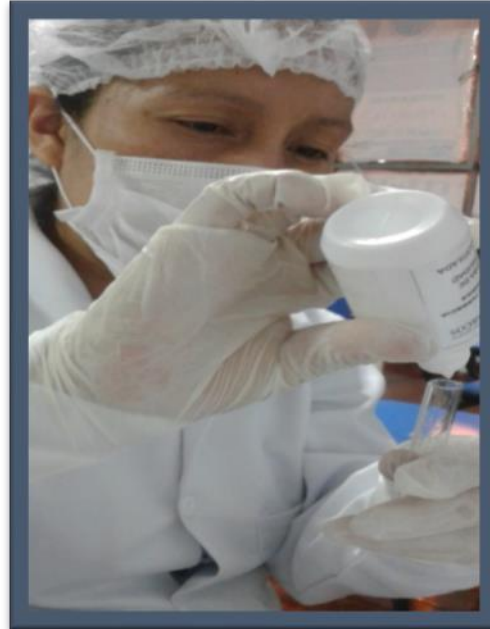


Marcha de solubilidad para camu camu



Anexo 7 Marcha fitoquímica de la pulpa del fruto de Guayaba y Camu camu

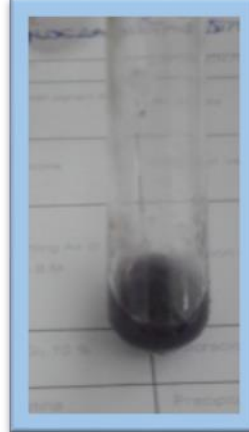
Reactivos usados en la marcha fitoquímica



Resultados de la marcha fitoquímica

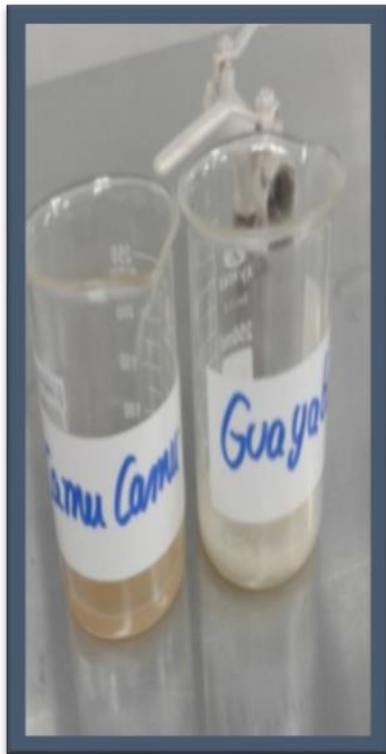


Resultados de la marcha fitoquímica



Anexo 8 Prueba de la actividad antioxidante

Diluciones de las frutas





MATRIZ DE CONSISTENCIA

TITULO: ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LA PULPA DEL FRUTO DE GUAYABA (*Psidium guajava*) Y CAMU CAMU (*Myrciaria dubia*) POR EL METODO DE QUÍMICO DE DPPH

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPOTESIS GENERAL	VARIABLE INDEPENDIENTE
¿Cuál es la actividad antioxidante de la pulpa del fruto de guayaba (<i>Psidium guajava</i>) y Camu camu (<i>Myrciaria dubia</i>)?	Determinar la actividad antioxidante de la pulpa del fruto de guayaba y del Camu camu	La pulpa del fruto de Guayaba y Camú Camú presenta actividad antioxidante	Pulpa del fruto de Guayaba y Camú Camú
PROBLEMA ESPECIFICO	OBJETIVO ESPECIFICO	HIPOTESIS ESPECIFICA	VARIABLE DEPENDIENTE
<p>1.- ¿Existen metabolitos secundarios presentan la pulpa del fruto de guayaba y camu camu?</p> <p>2.- ¿Exsisten actividad antioxidante presenta la pulpa del fruto de guayaba y Camu camu a través del método de captura de electrones DPPH(1,1-difenil-2-picril-hidrazilo)?</p>	<p>1.- Determinar cualitativamente los principales metabolitos producidos por la pulpa del fruto de guayaba y Camu camu.</p> <p>2.- Determinar la actividad antioxidante en la pulpa del fruto de guayaba y Camu camu a través del método de captura de electrones DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo).</p>	<p>Existen metabolitos secundarios presentes de la pulpa del fruto de guayaba y Camú camú.</p> <p>si existe actividad antioxidante por el método de captura de electrones DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo), en la pulpa del fruto de guayaba y Camú camú.</p>	Actividad antioxidante

MATRIZ DE OPERACIONALIZACION DE VARIABLES

TITULO: ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LA PULPA DEL FRUTO DE GUAYABA (<i>Psidium guajava</i>) Y CAMU CAMU (<i>Myrciaria dubia</i>) POR EL METODO DE QUIMICO DE DPPH								
VARIABLE INDEPENDIENTE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	DIMENSIONES	ITEM	INSTRUMENTO	INDICADORES	ESCALA	METODOLOGIA
Pulpa del fruto de Guayaba y Camú Camú	Pulpa es la parte comestible de las frutas es el producto pastoso, no diluido, ni concentrado, ni fermentado, obtenido por la desintegración y tamizado de la fracción comestible de frutas frescas sanas, maduras y limpias.	producto obtenido de la separación de las partes comestibles carnosas de los frutos mediante procesos tecnológicos adecuados.	Identificación Macroscópica	Fruto de guayaba Fruto de Camú Camú	Ficha Taxonómica	Forma Color Tamaño Textura Corteza Pulpa semillas	(si – no) (si – no) (si – no) (si – no) (si – no) (si – no)	<p>Diseño Cuasi experimental Tipo: Básica</p> <p>Nivel: Correlacional Explicativa</p> <p>Población y muestra: 5 tipos de Pulpa de frutos de Guayaba y Camú Camú</p> <p>Instrumentos de recolección de datos: Ficha de recolección de datos</p> <p>Instrumentos Reactivos Materiales de laboratorio Estufas Lámpara ultravioleta</p> <p>Técnica: Método Químico de DPPH</p> <p>Procesamiento y análisis de datos: SPSS y ANOVA simple (una vía) y una prueba “t” de Student para comparaciones entre Guayaba y Camú Camú</p>
			Identificación Física	Solubilidad	Sistema de Solventes	Grado de solubilidad	POCO SOLUBLE) (SOLUBLE) (MUY SOLUBLE)	
			Identificación Química	Flavonoides Fenoles Taninos Saponinas Leucoantioic. Lactonicos Triterpenos Quinonas Alcaloides	Rx de Shinoda Rx de FeCl3 Rx de Proteinas Met. de Espuma Rx Rosenheim Rx de Legal Rx de Liebermann Rx de Borntranger Rx de Dragendorff – Mayer	Rojiza Azul, Verde Blanco Espuma Rojo Verde, Azul Rojo en fase H2O Anaranjado-Blanco- Crema	(+ / -) (+ / -) (+ / -) (+ / -) (+ / -) (+ / -) (+ / -)	
VARIABLE DEPENDIENTE	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	DIMENSIONES	ITEM	INSTRUMENTO	INDICADORES	ESCALA	
Actividad antioxidante	Se conoce por actividad antioxidante a las capacidades que tienen las sustancias de neutralizar radicales libre	Actividad antioxidante de la Pulpa del fruto de Guayaba y Camú Camú	Inhibición de radicales libre	% de capacidad antioxidante	método de captura de electrones DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo)	% de captura de radicales libres con DPPH	% de actividad antioxidante	