

Universidad Católica de Santa María

Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica



“CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL FRUTO LIOFILIZADO DE DOS VARIEDADES ROJO Y AMARILLO DE *Anacardium occidentale* L. ‘MARAÑÓN’ AREQUIPA-2021”

Tesis presentada por las
Bachilleres:

Cardenas Pimentel, Nicole Patricia

Paye Turpo, Mariaelena Esther

para optar el título
profesional de

Químico Farmacéutico

Asesor:

Q.F Torres Vela, Fernando Antero

Arequipa – Perú

2021

UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA
Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas
y Biotecnológicas
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

Expediente N°. 20190000024391

N° Trámite en Fac. 1791-2019
Fecha 13-08-2019

FORMATO DE TITULACION PROFESIONAL

DE: *CARDENAS PIMENTEL, Nicole Patricia*
PAYE TURPO, Mariaelena Esther

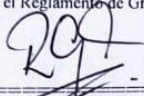
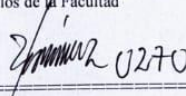
TITULO DEL PROYECTO DE TESIS:

"DETERMINACION DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS PSEUDOFRUTOS LIOFILIZADOS DE DOS VARIEDADES (amarilla y roja) DEL MARAÑON (*Anacardium occidentale*)"

DICTAMINADORES: 1) *Dra. Roxana Gutiérrez Aranibar* 2) *Q. F. Juan Ramírez Orellana*

DICTAMEN DE PLAN: Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación, como Dictaminadores del Plan de Tesis presentado por las recurrentes, se ha procedido a la revisión del mismo, sugiriendo se cambie el título a: "**DETERMINACION DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS PSEUDOFRUTOS LIOFILIZADOS DE DOS VARIEDADES DE MARAÑON "CRIOLLA" ROJA Y AMARILLA (*Anacardium occidentale* L.)**", y después de realizadas las correcciones y sugerencias correspondientes, consideramos se encuentra APTO para continuar con los trámites estipulados en el Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad

Firmas :

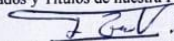
Fecha *19/09/19*

ASESOR: *Q. F. Fernando Torres Vela*

DICTAMEN DE ASESOR:

Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación se ha asesorado el presente Trabajo de Investigación y después de efectuadas las observaciones, considero que el título debe cambiar a: "**DETERMINACION DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS FRUTOS LIOFILIZADOS ROJO Y AMARILLO DEL MARAÑON (*Anacardium occidentale* L.)**" y luego de verificarlo el cumplimiento de los objetivos y de la redacción del informe con los resultados, discusión y conclusiones correspondientes considero y encuentro APTO para continuar con los trámites estipulados en el Reglamento de Grados y Títulos de nuestra Facultad.

Atentamente.



Fecha *23-12-2020*

DICTAMINADORES BORRADOR DE TESIS:

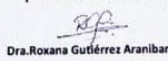
- 1) *Dra. Roxana Gutiérrez Aranibar*
- 2) *Q.F. Juan Ramirez Orellana*
- 3) *Mag. Julitza Paredes Fuentes*

DICTAMEN DE BORRADOR:

Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación hemos procedido a revisar el Borrador de Tesis presentado por las recurrentes, sugiriendo cambiar el título a: "**CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL FRUTO LIOFILIZADO DE DOS VARIEDADES ROJO Y AMARILLO DE *Anacardium occidentale* L. "MARAÑON" AREQUIPA-2021**" luego de lo cual y habiéndose cumplido con las correcciones respectivas, consideramos que el presente Trabajo de Investigación se encuentra APTO para continuar con el trámite de acuerdo al Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad.

Atentamente.

Firma


Fecha *23/09/21*

JURADOS: Presidente
Vocal
Secretario

SUSTENTACIÓN DE TRABAJO:

Fecha:

Hora:

Local: C- 402 (SUM)

DECANO

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado a Dios por regalarme la vida y la oportunidad de ser una profesional, que cuida de mí y guía mis pasos en momentos de tristeza, pero también de felicidad.

A mi madre, Yolanda que con mucho esfuerzo me ha criado y formado como persona, por la oportunidad que me ha dado al estudiar una carrera profesional, ser mi soporte y ejemplo de vida dándome consejos para seguir adelante y no decaer, quien puso su confianza en mí para ser quien soy.

A mis abuelitos, José y Melchora que me cuidaron y brindaron todo su amor durante todo este tiempo y desean verme feliz y profesional.

A toda mi familia querida por todo su apoyo va dedicada esta tesis.

NICOLE

DEDICATORIA

A Dios por brindarme salud y nunca abandonarme, por guiarme en todo momento y haber puesto en mi camino universitario a personas maravillosas

A mis padres Inés y Elvis pues ellos fueron mi principal cimiento para la construcción de mi vida profesional, forjaron en mí las bases de responsabilidad y deseo de superación, en ellos, tengo el espejo en el cual me quiero reflejar, pues sus virtudes infinitas y sus grandes corazones me llevan a admirarlos cada día más.

A mis hermanos Ricardo y Mateo, dos personas que me han ofrecido la comprensión y la calidez de la verdadera amistad.

MARIAELENA

AGRADECIMIENTOS

Nuestro agradecimiento incondicional a Dios porque sin su ayuda no estaríamos en el lugar de hoy, por tenerme guardado este momento tan esperado.

A nuestros queridos padres, por su inalcanzable apoyo en esta etapa universitaria que siempre nos alentaron con sus palabras y confiaron en nosotras, que hoy podemos agradecerles y dedicarles esta tesis para conmemorar su esfuerzo a lo largo de estos años. A ellos, nuestra más sincera gratitud y amor infinito.

Un sincero agradecimiento a todas aquellas personas, que ayudaron de una u otra manera a la realización de este proyecto.

RESUMEN

El objetivo del trabajo de investigación fue evaluar la capacidad antioxidante de *Anacardium occidentale L* “marañón”, mediante método espectofotométrico con DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) y CUPRAC (capacidad de reducción antioxidante del cobre), así también se realizó la cuantificación de compuestos fenólicos totales por método Folin-Ciocalteu y Ácido Ascórbico por método voltamperométrico.

Se utilizaron los frutos procedentes del Centro Poblado de Mávila de la Provincia de Tambopata, Departamento Madre de Dios; que se transportaron a las instalaciones del laboratorio H-102 de la Universidad Católica de Santa María, Arequipa, Perú donde las muestras se liofilizaron, determinando su porcentaje de rendimiento de 61.77 % para variedad amarilla y de 62.26 % para variedad roja.

Los principales metabolitos secundarios encontrados en el *Anacardium occidentale L*. para ambas especies son: compuestos fenólicos, terpenoides, alcaloides, azúcares reductores, y taninos por métodos cualitativos.

Se aplicó la técnica de Folin-Ciocalteu para la identificación de compuestos fenólicos dando como resultado un valor de 1064,25 mg GAE/100g en “marañón rojo” mientras que para “marañón amarillo” fue de 889,5 mg GAE/100g.

Se cuantificó el contenido de ácido ascórbico por método voltamperométrico con un valor de 899,0 mg AA/100g para “marañón rojo” y de 1049,96 mg AA/100g para “marañón amarillo”

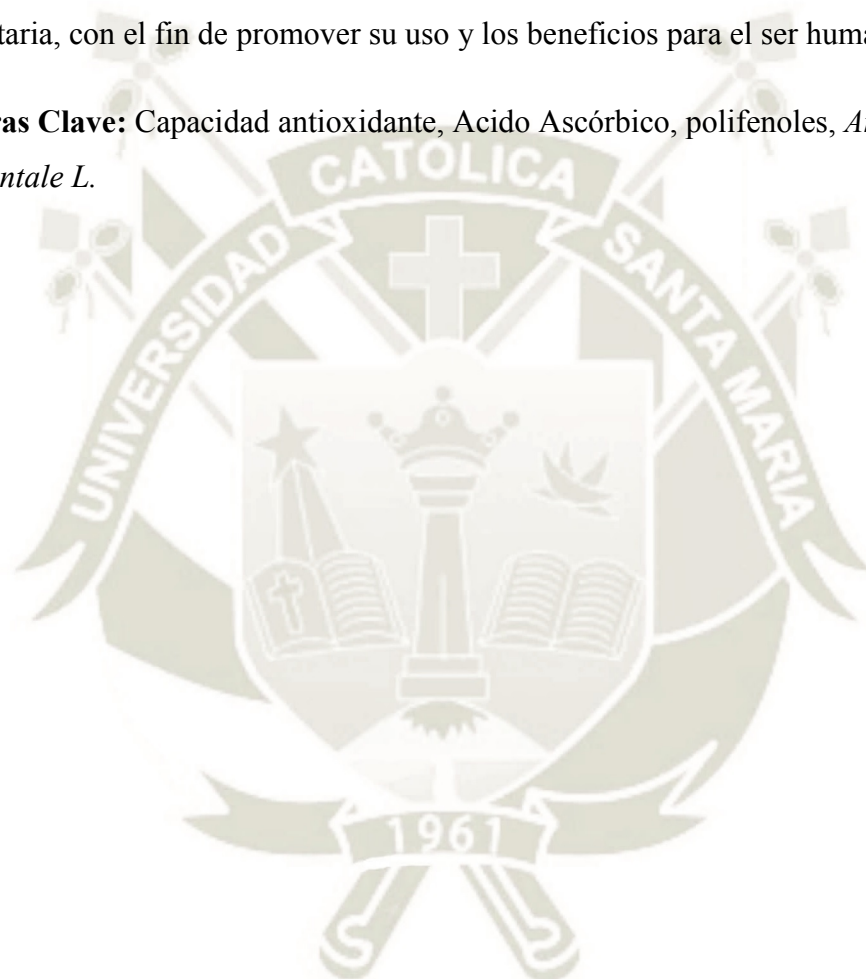
La evaluación de capacidad antioxidante desarrollada por método DPPH, determinó el porcentaje de inhibición de las muestras de *Anacardium Occidentale L* obteniéndose un porcentaje promedio en variedad roja 89,63% y para variedad amarilla de 91,04%; lo que indica una mayor capacidad antioxidante en la especie amarilla.

Mientras que, para método CUPRAC, se encontró una mayor capacidad antioxidante en la especie amarilla, donde los valores se compararon con mM equivalente Trolox (TE), donde

la variedad roja fue de 728,98 mg TE/100g y la variedad amarilla fue de 715,83 mg TE /100g

Los resultados indican que *Anacardium occidentale L* presenta capacidad antioxidante para ambas especies, lo que sugiere que incluir este fruto a nuestra dieta, podría ayudar a mejorar la calidad de vida en las personas, previniendo el envejecimiento prematuro, enfermedades degenerativas causadas por exposición a radicales libres, entre otros; además de la utilización como sustituto de antioxidantes sintéticos de gran interés para la industria alimentaria, con el fin de promover su uso y los beneficios para el ser humano.

Palabras Clave: Capacidad antioxidante, Acido Ascórbico, polifenoles, *Anacardium Occidentale L.*



ABSTRACT

The objective of the research work was to evaluate the antioxidant capacity of *Anacardium occidentale* L "cashew", using a spectrophotometric method with DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil) and CUPRAC (Copper antioxidant reduction capacity). the quantification of total phenolic compounds by the Folin Ciocalteu method and Ascorbic Acid by the voltammetric method.

Fruits were used it comes from the Mávila Town Center of the Tambopata Province, Madre de Dios Department; that were transported to the facilities of the H-102 laboratory of the Catholic University of Santa María, Arequipa, Peru where the samples were lyophilized, determining their yield percentage of 61.77% for the yellow variety and 62.26% for the red variety.

The main secondary metabolites found in *Anacardium occidentale* L. for both species are: phenolic compounds, terpenoids, alkaloids, reducing sugars, and tannins by qualitative methods.

The Folin-Ciocalteu technique was applied for the identification of phenolic compounds, resulting in a value of 1064.25 mg GAE / 100g in "red cashew" while for "yellow cashew" it was 889.5 mg GAE / 100g.

Ascorbic acid content was quantified by voltammetric method with a value of 899.0 mg AA / 100g for "red cashew" and 1049.96 mg AA / 100g for "yellow cashew".

The evaluation of antioxidant capacity developed by the DPPH method, determined the percentage of inhibition of the *Anacardium Occidentale* L samples, obtaining an average percentage of 89.63% for the red variety and 91.04% for the yellow variety; which indicates a greater antioxidant capacity in the yellow species.

While, for the CUPRAC method, a greater antioxidant capacity was found in the yellow species, where the values were compared with the equivalent mM Trolox (TE), where the red variety was 728.98 mg TE / 100g and the yellow variety was 715.83 mg TE / 100g

The results indicate that *Anacardium occidentale* L. has antioxidant capacity for both species, which suggests that including this fruit in our diet could help improve people's quality of life, preventing premature aging, degenerative diseases caused by exposure to free radicals. , among others; in addition to the use as a substitute for synthetic antioxidants of great interest to the food industry, in order to promote their use and benefits for humans.

Key Words: Antioxidant capacity, Ascorbic Acid, polyphenols, *Anacardium occidentale* L.



INDICE

RESUMEN	
ABSTRACT	
INTRODUCCION	
HIPOTESIS	
OBJETIVOS	
CAPITULO I.....	1
1. MARCO TEORICO.....	1
1.1 <i>Anacardium Occidentale</i> L. “marañón”	1
1.1.1 Variedades del fruto de <i>Anacardium Occidentale</i> L.....	2
1.1.2 Composición química	3
1.1.3 Clasificación taxonómica	4
1.1.4 Usos y aplicaciones	5
1.1.5 Distribución geográfica	5
1.1.6 Cultivo, cosecha y preservación	6
1.2Antioxidantes.....	7
1.3Compuestos fenólicos.....	9
1.3.1 Definición.....	9
1.3.2 Biosíntesis de los compuestos fenólicos.....	10
1.3.3 Clasificación de compuestos fenólicos	10
A. Flavonoides.....	10
B. Ácidos fenólicos.....	12

1.3.4	Actividad antioxidante de los compuestos fenolicos.....	13
1.4	Acido Ascórbico.....	14
1.4.1	Características fisicoquímicas del Ácido Ascórbico.....	14
1.4.2	Acción antioxidante del Ácido Ascórbico.....	15
1.4.3	Funcionalidades del Ácido Ascórbico.....	16
1.5	Método de Folin Ciocalteu para la determinación de compuestos fenolicos.....	16
1.6	Métodos utilizados para la determinación de la capacidad antioxidante.....	17
1.6.1	Método de DPPH.....	17
1.6.2	Método CUPRAC.....	18
1.7	Voltamperometría.....	18
1.7.1	Fundamento de voltamperometría.....	18
1.7.2	Partes del voltámetro.....	19
1.8	Liofilización.....	19
1.8.1	Fundamento.....	19
1.8.2	Proceso para la liofilización.....	20
1.9	Radicales libres.....	22
1.9.1	Formación de radicales libres.....	22
1.10	Estrés oxidativo.....	23
1.10.1	Factores de causan estrés oxidativo.....	24
CAPITULO II.....		25
2. MATERIAL Y METODOS.....		25
2.1 Materiales.....		25
2.1.1	Material vegetal.....	25
2.1.2	Materiales de laboratorio.....	25
2.1.3	Equipo de laboratorio.....	25
2.1.4	Reactivos.....	26
2.2	Métodos.....	26
2.2.1	Recoleccion del material vegetal.....	26

2.2.2	Tratamiento de la muestra	27
2.2.3	Proceso de liofilización	27
2.2.4	Preparación de muestras de <i>Anacardium occidentale</i> L.....	27
2.2.5	Identificación de metabolitos secundarios	30
2.2.6	Métodos para la determinación de capacidad antioxidante.....	31
A.	Método de CUPRAC	31
B.	Método DPPH	33
2.2.7	Determinación de compuestos fenólicos	34
2.2.8	Ácido Ascórbico por el método de voltamperometría.....	36
2.2.9	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	37
CAPITULO III		37
3.RESULTADOS Y DISCUSION.....		42
3.1	Recolección de muestra vegetal.....	38
3.2	Proceso de liofilización.....	39
3.3	Identificación de metabolitos secundarios.....	40
3.4	Contenido de compuestos fenólicos.....	43
3.4.1	Curva de calibración	43
3.4.2	Lectura de cuantificación de compuestos fenólicos	43
3.5	Capacidad antioxidante.....	44
3.5.1	Método CUPRAC	44
3.5.1.1	Curva de calibración	44
3.5.1.2	Procedimiento para cuantificación de capacidad antioxidante por método CUPRAC	46
3.5.2	Método DPPH	46
3.5.2.1	Curva de calibración	46
3.5.2.2	Lectura de la capacidad antioxidante por método DPPH	50
3.6	Contenido de Ácido Ascórbico.....	52
3.6.1	Estándar de Ácido Ascórbico	52

3.6.2	Lectura de contenido de Acido Ascórbico.....	52
3.7	Comparación general para estudio de capacidad antioxidante.....	53
	CONCLUSIONES.....	61
	REFERENCIA BIBLIOGRAFICA.....	62
	ANEXOS.....	70

INDICE DE FIGURAS

FIGURA 1:	Variedades de Anacardium occidentale L.....	3
FIGURA 2:	Cultivo de arboles de marañón.....	6
FIGURA 3:	Reacción enzimática frente a radical libre.....	8
FIGURA 4:	Estructura química de alfa tocoferol.....	9
FIGURA 5:	Estructura química de Ácido Gálico.....	13
FIGURA 6:	Estructura del ácido ascórbico.....	15
FIGURA 7:	Reacción de oxidación del ácido ascórbico.....	15
FIGURA 8:	Reacción química de reactivo de Folin Ciocalteu frente a especie antioxidante.....	17
FIGURA 9:	Reacción química entre el radical DPPH y la especie antioxidante.....	18
FIGURA 10:	Partes de Electrodo Gota de Mercurio.....	19
FIGURA 11:	Proceso de liofilización.....	20
FIGURA 12:	Preparación de los extractos de marañón.....	28
FIGURA 13:	Esquema de metodología para el estudio de marañón amarillo y rojo.....	29
FIGURA 14:	Marañón variedad amarilla y roja.....	38
FIGURA 15:	Muestras liofilizadas de marañón rojo y amarillo.....	39
FIGURA 16:	Identificación de terpenoides.....	42
FIGURA 17:	Identificación de saponinas.....	42
FIGURA 18:	Identificación de polifenoles.....	42
FIGURA 19:	Identificación de taninos.....	42
FIGURA 20:	Identificación de azúcares reductores.....	42

FIGURA 21: Identificación de alcaloides.....	42
FIGURA 22: Curva de calibración de Ácido Gálico por método Folin -Ciocalteu	43
FIGURA 23: Curva de calibración método CUPRAC.....	45
FIGURA 24: Preparación de patrones de trolox.	45
FIGURA 25: Preparación de patrones de trolox	47
FIGURA 26: Gráfico de calibración del método DPPH	48
FIGURA 27: Gráfico % inhibición vs concentración de trolox	49
FIGURA 28: Extractos metanólicos de marañón en presencia de solución DPPH.....	51
FIGURA 29: Potencial de pico de oxidación del estándar de ácido ascórbico	52
FIGURA 30: Grafico de cajas y bigotes para muestras de MR y MA	55
FIGURA 31: Grafico de cajas y bigotes para muestras de MR y MA	56
FIGURA 32: Gráfico de cajas y bigotes para muestras de MR y MA	56
FIGURA 33: Gráfico de cajas y bigotes para muestras de MR y MA	57
FIGURA 34: Comparación entre métodos para la determinación de capacidad antioxidante para MR.....	58
FIGURA 35: Comparación entre métodos para la determinación de capacidad antioxidante para MA	58
FIGURA 36: Comparación de contenido de Vitamina C entre MR y MA	59
FIGURA 37: Comparación de contenido de compuestos fenólicos entre MR y MA	60

INDICE DE TABLAS

TABLA 1: Compuestos fenólicos (Antocianinas y flavonoles glucosilados) de los frutos liofilizados de marañón.....	4
TABLA 2: Polifenoles presentes en alimentos.....	12
TABLA 3: Curva calibración	32
TABLA 4: Patrones para método DPPH.....	33
TABLA 5: Curva calibración para método DPPH	34
TABLA 6: Patrones para curva de calibración.....	35
TABLA 7: Parámetros voltamperométricos.....	36
Tabla 8: Características organolépticas de muestras de Anacardium occidentale L.....	38
Tabla 9: Porcentaje de rendimiento de muestras post liofilizado.....	40
TABLA 10: Resultados para identificación de metabolitos secundarios en variedades de marañón rojo y amarillo.....	41
TABLA 11: Concentración de compuestos fenólicos en los frutos liofilizados de marañón rojo y amarillo.....	44
TABLA 12: Tabla de concentración vs absorbancia.....	45
TABLA 13: Capacidad antioxidante por el método CUPRAC en los productos liofilizados de marañón rojo y amarillo.....	46
TABLA 14: Calibración del método DPPH con estándares de trolox	47
TABLA 15: Tabla de concentración (μM) vs % inhibición DPPH.....	49
TABLA 16: Concentración en mM de trolox en los frutos liofilizados de dos variedades de marañón por el método DPPH	50
Tabla 17: % Inhibición del radical DPPH para muestras de Anacardium Occidentale L	51
TABLA 18: Concentración en mg% de ácido ascórbico de frutos liofilizados de marañón rojo y amarillo	53
TABLA 19: Resultados para capacidad antioxidante.....	54
TABLA 20: Resultados para métodos de Folin-Ciocalteu y Voltamperometría.....	54

INTRODUCCION

Los antioxidantes son moléculas que poseen la capacidad de proteger a nuestro organismo de los efectos causados por los radicales libres, además de prevenir posibles enfermedades que afecten a nuestra salud.

Los más conocidos son compuestos fenólicos, flavonoides y vitaminas; como el ácido ascórbico; que retardan la oxidación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y estabilizan a los radicales libres. Los RL y ROS desencadenan múltiples daños a nivel DNA, causantes de enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas, envejecimiento prematuro, cáncer, etc ^[1].

Es de mucho interés el consumo de alimentos naturales que proporcionen sustancias beneficiosas a la salud, ya que nuestro organismo tiene una capacidad limitada de contrarrestar los radicales libres.

En el Perú existe una gran diversidad de especies vegetales que han sido utilizadas desde nuestros ancestros con fines curativos y nutricionales; particularmente las regiones tropicales son favorecidas por la proporción de especies medicinales teniendo en cuenta que todavía no se conoce totalmente la flora vegetal.

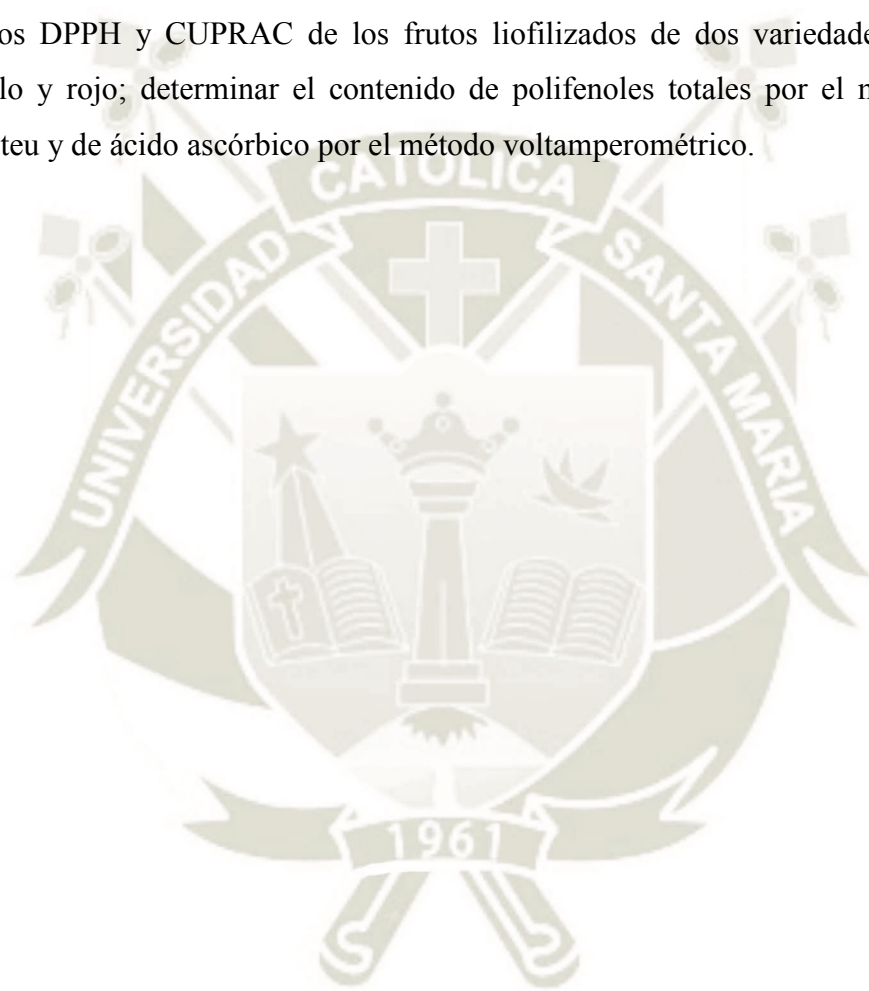
El fruto de *Anacardium occidentale* L. tiene un bajo porcentaje de exportación, aumentando la producción de cosecha junto con la semilla y no desperdiciar el fruto dándole un valor agregado como uso nutracéutico^[2].

Se ha comprobado y divulgado científicamente mediante estudios que los componentes de la dieta influyen en la calidad de vida de las personas, reduciendo el riesgo de padecer enfermedades volviéndose una tendencia mundial la búsqueda de frutos y alimentos para sus estudios respectivos.

Existen dos variedades, las de color amarillo y rojo, las cuales podrían tener un alto contenido en vitamina C y polifenoles, llevándolos así a tener propiedades antioxidantes.

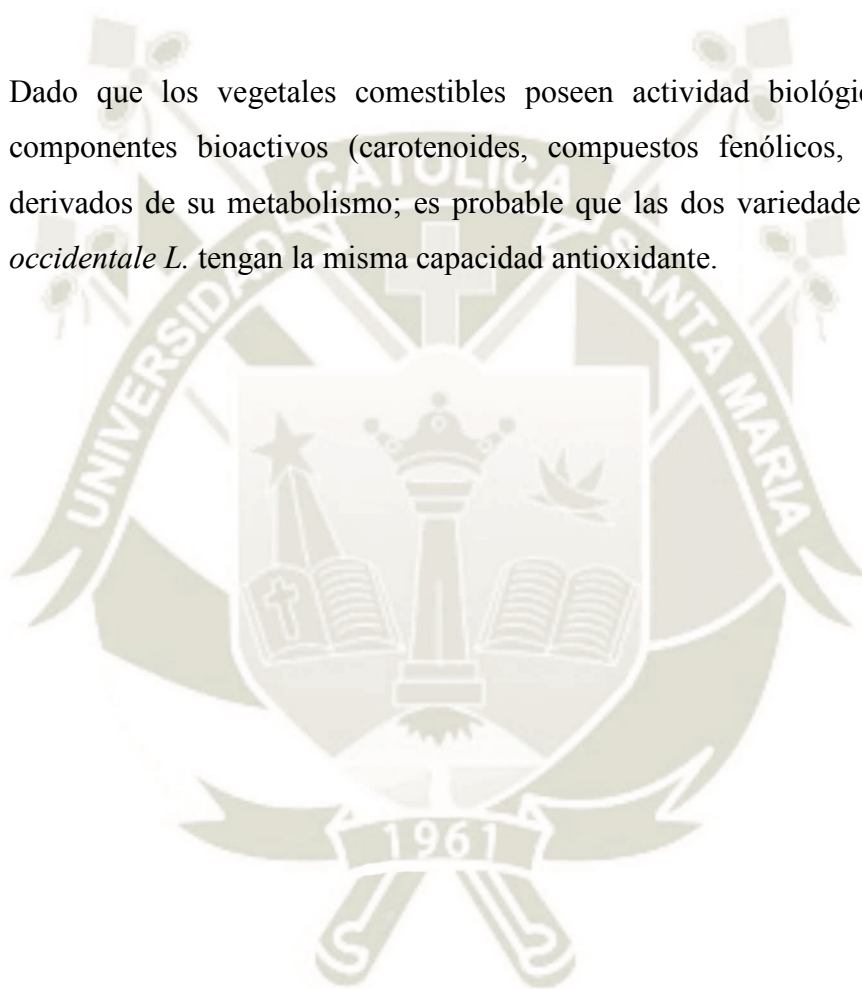
Sin embargo, el potencial de las propiedades nutraceuticas sigue aún en exploración, lo que implica mayor estudio y la posible utilización como un alimento nutraceutico con grandes beneficios para nuestra salud gracias a sus posibles propiedades antiinflamatorias, antiulcerosas, antibacterianas, antifúngicas y antitumorales.

En este contexto, dada la gran importancia del consumo del fruto de *Anacardium occidentale L.* el objetivo de este estudio fue determinar la capacidad antioxidante por los métodos DPPH y CUPRAC de los frutos liofilizados de dos variedades de “marañón” amarillo y rojo; determinar el contenido de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu y de ácido ascórbico por el método voltamperométrico.



HIPOTESIS

Dado que los vegetales comestibles poseen actividad biológica debido a sus componentes bioactivos (carotenoides, compuestos fenólicos, ácido ascórbico) derivados de su metabolismo; es probable que las dos variedades de *Anacardium occidentale* L. tengan la misma capacidad antioxidante.



OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Determinar la capacidad antioxidante en las dos variedades de *Anacardium occidentale* L. por los métodos CUPRAC y DPPH.

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Liofilizar los frutos de *Anacardium occidentale* L. en sus variedades (amarillo y rojo) con la finalidad de obtener resultados confiables
- Identificar los principales grupos de metabolitos secundarios por métodos cualitativos.
- Determinar los compuestos polifenólicos por método Folin-Ciocalteu y ácido ascórbico por método Voltamperométrico.

CAPITULO I

1. MARCO TEORICO

1.1 Anacardium occidentale L. “marañón”

El árbol de marañón pertenece a la familia anacardiácea, que puede alcanzar hasta 15m de altura en su hábitat natural y entre 12 y 20 m en plantaciones comerciales.

El fruto del anacardo se conoce como marañón y tiene una estructura similar a la de una fruta fibrosa y jugosa que es rica en ácido ascórbico, compuestos fenólicos, minerales y carotenoides y se consume ampliamente en forma de jugo, néctar, mermelada entre otros.

Se utilizan raíz, hojas, semillas y frutos para el tratamiento en diferentes enfermedades y otros usos industriales y alimentarios que le dan principalmente a los marañones ^[3,4].

Semilla

Semillas dicotiledóneas y reniformes; tienen forma de riñón con un tamaño de 2.7 a 4.0 cm de largo, grosor de 1.8 a 2.4 cm con un peso promedio de 8 a 13g. Las semillas son de color gris que contienen un pequeño embrión, rodeado por un duro pericarpio.

El tejido interno de la concha que rodea la semilla contiene una savia muy aceitosa, sumamente cáustica, de color café oscuro y sabor picante que contiene un principio tóxico denominado "cardol" ^[5].

Raíz

Esta planta posee una raíz central gruesa y raíces secundarias, que crecen rápidamente, en un lapso de 3 años alcanza 2,5 m de profundidad y a los 4 años hasta 5 m ^[4].

Tallo

Alcanza de 5 a 10 m de altura. El tronco es irregular y ramificado, exuda una resina que se emplea como goma. Su corteza interna es de color blancuzco a castaño, gruesa, amarga y astringente y contiene una savia lechosa ^[4].

Hojas

Copa amplia y densa, en formas ovaladas, elípticas o redondas de medidas de 7 a 20 cm de largo por 4 a 15 cm de ancho, color verde azulado mate ^[5].

Flores

La inflorescencia es un racimo que forman panículas terminales de 11 a 29 cm de largo por 4.5 a 24.5 cm de ancho; que puede contener más de 1600 flores, en su mayoría masculinas.

El color de la inflorescencia es verdosa o gris con un poco de tinte rosado a rojizo ^[5].

Fruto

Baya indehisciente, de 4 a 8 cm de largo por 4 - 6 cm de ancho, con promedio de peso entre 8 – 15 g; la cual está suspendida en el extremo de un pedicelo alargado y carnoso en forma de pera; cuya corteza es de color amarillo o rojo, tiene un sabor extremadamente agrio sin embargo, la variedad amarilla tienden a ser más grandes, menos firmes y astringentes que la variedad roja. Es una fruta similar a una baya muy jugosa, que contiene una semilla exterior; atribuyéndola con distintos nombres para los ciudadanos así se conoce como marañón, cajú, merey entre otros ^[6].

1.1.1 Variedades del fruto de *Anacardium Occidentale L*

Existen dos variedades de marañón, que es el rojo y amarillo (Fig 1), autóctono de zonas tropicales.

Por ejemplo, hay variedades con las siguientes características:

- Rojos, achatados, de semillas grandes y tamaño pequeño.
- Amarillos, de semillas pequeñas y formas cónicas.
- Amarillos, de semillas grandes y formas cuadradas

Comúnmente le llaman variedad Martinica a los falsos frutos de color rojo, pequeños y de tamaño pequeño, en cambio la variedad Trinidad, a los falsos frutos de color amarillo, menos astringente, formas cuadradas y semillas grandes ^[7].



FIGURA 1: Variedades de *Anacardium occidentale* L.

1.1.2 Composición química

Es una fuente natural de 77 de compuestos fenólicos y con una gran actividad antioxidante que posee una composición variada como taninos presentes en su corteza, nuez y hojas; cardol, cardanol, alcaloides, ácidos resorcinolicos, ácidos anacardicos, carotenoides (α -caroteno, β -caroteno y β -criptoxantina), ácidos grasos (oleico, linoleico y palmítico), flavonoles (quercetina y miricetina) [8].

Los componentes volátiles de marañón están compuestos por ésteres, terpenos e hidrocarburos (29 ésteres, 16 terpenos, 9 hidrocarburos, 7 ácidos carboxílicos, 7 aldehídos, 3 alcoholes, 2 cetonas, 2 lactonas y 1 norisoprenoides) [9].

El aroma dulce y afrutado de marañón maduro se debe a sustancias como metil 3 butanoato, etil 3-metil butanoato, butanoato de metilo, butanoato de etilo, trans-2-butenoato de etilo y 3-metilo de metilo de pentanoato; mientras que el olor desagradable se debe al ácido 2 -metil butanoico [9].

El jugo del marañón contiene una gran cantidad de minerales como potasio, calcio, hierro, cobre, zinc, sodio, fósforo y magnesio. Además, que la semilla posee siete de los ocho aminoácidos esenciales para el buen mantenimiento de un adulto y nueve de diez necesarios para el crecimiento de los niños como el ácido glutámico, la arginina y el ácido aspártico encontrados en mayor cantidad [10,69].

TABLA 1: Compuestos fenólicos (Antocianinas y flavonoles glucosilados) de los frutos liofilizados de marañón.

<i>FRUTOS</i>	
<i>LIOFILIZADOS DE</i>	
<i>Anacardium</i>	
<i>Occidentale L.</i>	
<i>(mg/g)</i>	
<i>COMPUESTO FENOLICOS</i>	
<i>miricetina 3 – O – galactosido</i>	<i>0.0532</i>
<i>miricetina 3 – O – glucosido</i>	<i>0.0274</i>
<i>miricetina 3 – O – xilopiranosido</i>	<i>0.0124</i>
<i>miricetina 3 – O – ramnosido</i>	<i>0.0400</i>
<i>quercetina 3 – O – galactosido</i>	<i>0.0465</i>
<i>quercetina 3 – O – glucósido</i>	<i>0.0144</i>
<i>quercetina 3 – O – xilopiranosido</i>	<i>0.0116</i>
<i>quercetina 3 – O – ramnosido</i>	<i>0.0227</i>
<i>5 – metilcianidina 3 – O – hexosido</i>	<i>0.0197</i>

FUENTE: Determinación de flavonoides de marañón por LC-DAD-ESI/MS ^[9].

Además, los flavonoides, alcaloides y taninos se consideran que poseen actividades antioxidantes elevadas. Mientras que, el jugo de manzana de anacardo es una fuente rica de vitamina C y azúcares y se ha reportado tres a seis veces más alto contenido de ácido ascórbico que la naranja ^[10,11].

1.1.3 Clasificación taxonómica

Según Coto y Amaya (2003), su clasificación es:

REINO: Plantae

CLASE: Angiosperma

ORDEN: Sapindales

FAMILIA: Anacardiaceas

GÉNERO: Anacardium

ESPECIE: Occidentale

NOMBRE CIENTIFICO: Anacardium Occidentale L.

NOMBRE COMUN: Marañón

1.1.4 Usos y aplicaciones

- La cocción de la corteza y hojas del marañón es usada para el tratamiento de cólicos estomacales, inflamaciones, insomnio, neuralgias, diabetes, diarrea, paludismo y hemorroides ^[12].
- La resina del marañón sirve para curar lesiones cutáneas y para el tratamiento del cáncer.
- La semilla es utilizada como agente antihelmíntico.
- Así también la corteza y raíz sirven como remedio hipotensor, sedativo y como un potente anticancerígeno
- La bebida fermentada ayuda a prevenir la degeneración macular, calambres musculares e insomnio ^[13].
- El jugo exprimido es muy utilizado para el tratamiento de la influenza.
- La decocción de corteza es un remedio para lesiones externas de la boca (aftas).
- El aceite (cardol) del pericarpio de la semilla es usado para cauterizar las heridas, por ejemplo, en dedos de los pies ^[14].
- También posee actividad antimicrobiana frente a S. Aureus y otras 5 bacterias Gram positivas ^[15,16].

1.1.5 Distribución geográfica

En nuestro país se puede encontrar ampliamente en zona norte, así como en Loreto, San Martín, Piura, Junín, Ucayali y Lambayeque. Además, se puede encontrar en Centroamérica, al oeste de África y Asia.

Los hábitats donde crece esta planta están caracterizados por climas extremos: calientes, secos, fríos; con temperaturas que van desde 5 hasta 46 ° C y con precipitaciones de 500 a 3750 mm anuales y altitudes de hasta 1 000 msnm. Puede desarrollarse en lugares en donde hay largas sequías intermedias, además, en gran variedad de suelos (arcilloso, profundo arenoso y degradado), aunque prefiere condiciones húmedas y crece mejor en suelos bien drenados ^[17].

1.1.6 Cultivo, cosecha y preservación

En los suelos arenosos, pedregosos y salinos crece el marañón, aunque los suelos ideales son tierras fértiles y profundas.

Se debe realizar un control esporádico de malas hierbas y aplicación de abonos orgánicos cada 6 meses para asegurar un buen desarrollo de la plantación.

La cosecha se inicia al segundo o tercer año de la plantación en frecuencia anual, durante 25 a 30 años y cuando el fruto está completamente maduro, después de los 2 a 3 meses de la floración. En la Amazonía Peruana, durante los 2 primeros años de siembra, es de 5 000 frutos/ha/año.

Las hojas, flores, corteza se desecan para su conservación, mientras que las semillas son tostadas. Los frutos son aprovechados en estado fresco, necesitando de refrigeración para retardar su deterioro ^[17].



FIGURA 2: Cultivo de árboles de marañón.

1.2 Antioxidantes

Son sustancias que cuando están presentes retardan o inhiben la oxidación de sustratos susceptibles al ataque de los radicales libres.

Los organismos poseen sistemas de defensa antioxidantes regulables, enzimáticos (superóxido dismutasa, la catalasa, la GSH-peroxidasa) y no enzimáticos (Se, Zn, vitaminas C, vitamina E, carotenoides y compuestos fenólicos) capaces de enfrentar a las ROS ^[18,19].

1.2.1 Clasificación

A. Antioxidantes enzimáticos o endógenos

El principal sistema enzimático de defensa antioxidante está compuesto por cuatro enzimas: superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa (GPx), reductasa y catalasa.

El superóxido dismutasa (SOD) es la enzima que elimina radicales peróxidos. De hecho, hay tres isoenzimas diferentes dependiendo del metal presente en su sitio activo (Mn-SOD, Fe-SOD o Cu, Zn-SOD).

El peróxido de hidrogeno (H_2O_2) puede eliminarse directamente mediante la acción de la enzima catalasa o por la acción de la ascorbato peroxidasa (APX), que utiliza ascorbato como donante de electrones), peroxidasas (POX, enzimas que son abundantes en la pared celular y en vacuolas) que eliminan H_2O_2 utilizando diferentes compuestos fenólicos como potencia de reducción; glutatión peroxidasa (que elimina H_2O_2 e hidroperóxidos que emplean GSH como potencia reductora) o peroxiredoxinas utilizando diferentes moléculas reductoras ^[20].

Además, este grupo de enzimas está apoyado por otras enzimas que actúan regeneradoras de moléculas antioxidantes empleadas por enzimas que eliminan H_2O_2 . En este grupo destacan enzimas dehidroascorbato reductasa (DHAR) y monodehidroascorbato reductasa (MDHAR) cuya acción es regenerar el ascorbato (o vitamina C), así como la glutatión reductasa (GR) regenera la reducción del glutatión (GSH) ^[21].

Es por eso que, la función de ROS es dual en nuestro metabolismo; son tóxicos para nuestras células cuando se acumulan en cantidades excesivas, pero a bajos

niveles se demuestra que, pueden funcionar como moléculas de bioseñalantes de otros procesos [22].

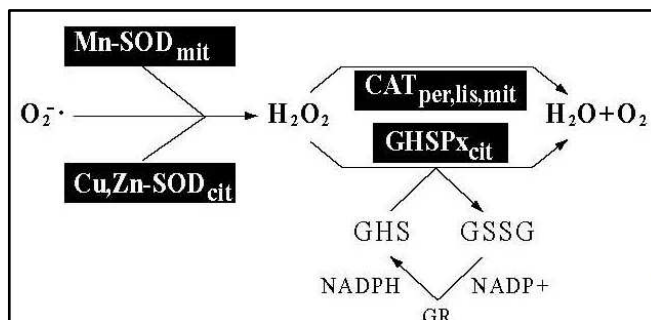


FIGURA 3: Reacción enzimática frente a radical libre.

FUENTE: Reacciones enzimáticas relacionadas con la reparación de proteínas oxidadas. Mary J., et al [22]

B. Antioxidantes no enzimáticos

También conocidos como antioxidantes exógenos son aquellos ingeridos a través de la alimentación y son los más importantes de todos, ya que son los únicos que pueden ser introducidos al organismo de forma voluntaria en función de los conocimientos sobre las propiedades saludables de los alimentos.

- Hidrosolubles

Ácido ascórbico, esencial en la participación de variadas reacciones enzimáticas y funcionalidad normal de nuestro organismo, además de ser un antioxidante que inhibe radicales libres que detienen la oxidación. La vitamina C se debe ingerir en la dieta ya que no podemos producirla; se encuentra en alimentos como: pimentón cítrico, rojo y verde, frutas y verduras [23].

- Liposolubles

La vitamina E (también conocida como tocoferol) se encuentra principalmente en las paltas y aceites de semillas como el aceite de oliva o girasol. Puede desintoxicar peróxidos lipídicos y O_2 directamente. Es uno de los principales defensores biológicos de las membranas [24].

La vitamina A está presente en una gran cantidad de alimentos, tanto de origen vegetal (zanahoria, espinosos) como de origen animal (hígado, huevos) [25].

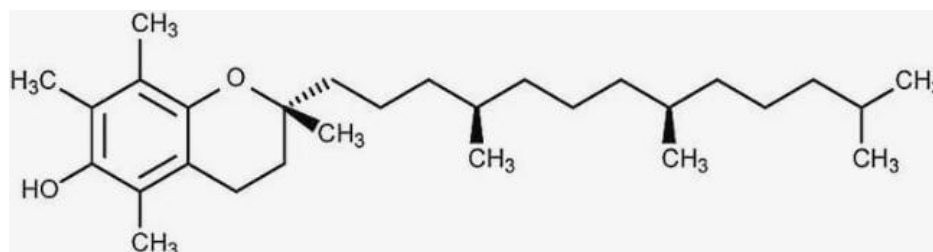


FIGURA 4: Estructura química de alfa tocoferol

- Carotenoides

Los carotenos son considerados precursores de la vitamina A y son capaces de eliminar directamente O_2 . Algunos alimentos ricos en beta caroteno son la zanahoria, el tomate, la calabaza, los camotes, el mango, la papaya, el pimentón rojo, el melocotón, los albaricoques, el melón entre otros. Las verduras verdes también poseen caroteno, aunque estos pigmentos no se aprecien por la clorofila: espinacas, acelga y berros, y algunos tipos de algas [67].

Los compuestos fenólicos son uno de los principales metabolitos secundarios de las plantas y que están presentes en casi todos los alimentos de origen vegetal. Los alimentos ricos en fenoles son el vino tinto, el cacao, la cebolla, el té, o el aceite virgen de oliva, uvas, arándanos, etc. Estos compuestos pueden eliminar directamente H_2O_2 y los hidroxilos [26].

1.3 Compuestos fenólicos

1.3.1 Definición

Las plantas sintetizan una gran variedad de productos secundarios que contienen en su estructura a un grupo fenol además suelen aparecer en formas conjugadas, con uno o más restos azúcar enlazados al grupo hidroxilo o directamente al anillo aromático, aunque también se pueden asociar a otros compuestos.

Dentro de estos compuestos existen moléculas sencillas como ácidos fenólicos hasta polímeros complejos como la lignina o taninos condensados.

Los flavonoides, otra clase de compuestos fenólicos, forman un grupo de alrededor de 3000 moléculas con estructura química similar, que poseen propiedades altamente funcionales e importantes en nuestra dieta diaria, por tanto, la estructura de los polifenoles determina su capacidad antioxidante, por la presencia de sustituyentes hidroxilo aumenta la capacidad antioxidante como, por ejemplo, la quercetina. Por otro lado, la glucosilación de los flavonoides reduce su capacidad antioxidante en relación a las correspondientes agliconas [27,73].

1.3.2 Biosíntesis de los compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos derivan del ácido shikimico en la llamada “ruta de los fenilpropanoides o ácido shikimico”, por lo cual, las especies vegetales biosintetizan a más de 8000 compuestos fenólicos y polifenólicos cuya característica de más importancia, es su comportamiento antioxidante.

A continuación, en las siguientes figuras, se puede observar algunas rutas de biosíntesis de estos grupos y/o metabólicos secundarios pertenecientes a los compuestos fenólicos o polifenoles [28,29].

1.3.3 Clasificación de compuestos fenólicos

A. Flavonoides

- **Isoflavonas**, son químicamente similares a los estrógenos capaces de unirse a los receptores de estas hormonas, por lo que se clasifican como fitoestrógenos. Las principales isoflavonas son la genisteína, daidzeina y gliciteína, y se encuentran casi exclusivamente en las plantas leguminosas, siendo como fuente principal la soja y sus productos derivados [75,76].

- **Antocianidinas**, (pelargonidina, malvidina, cianidina) son pigmentos solubles responsables de la mayoría de los colores rojo, azul y púrpura de las frutas, verduras, flores y otros tejidos o productos vegetales.

Las antocianidinas se encuentran en las plantas en forma de glicósidos (antocianinas), ya que la aglicona es altamente inestable.

Las antocianidinas están presentes en el vino tinto, cereales y verduras, principalmente en las frutas son especialmente abundantes, además que contenido de antocianidinas en los alimentos es proporcional a la intensidad del color ^[81].

- **Las flavanonas** se caracterizan por presentar una cadena saturada de tres átomos de carbono y un átomo de oxígeno en C4. Los alimentos que contienen flavanonas en altas concentraciones son los cítricos, tomates y menta. Entre los diversos miembros de las flavanonas se conocen la naringenina, presente en el pomelo, el eriodictiol, en el limón y la hesperetina, en la naranja ^[81].
- **Las flavonas** son los flavonoides menos comunes en el reino vegetal y están formadas principalmente por glicósidos de luteolina y apigenina, como ejemplos, el perejil y apio las más importantes. Además, la piel de las frutas contiene grandes cantidades de flavonas (tangeretina, nobiletina y sinensetina) ^[81].
- **Los flavonoles** constituyen el grupo de flavonoides más importante en los alimentos de origen vegetal, siendo la quercetina como ejemplo. Se encuentran en los alimentos en forma glicosilada, siendo la ramnosa o la glucosa los principales azúcares a los que se asocian. La cebolla es el alimento más rico en flavonoles, col rizada, brócoli y arándanos.
- **Los flavanoles** están presentes en la naturaleza en forma de monómeros (catequinas) y de polímeros (proantocianidinas o taninos condensados). Los flavanoles son los únicos que no aparecen en forma glicosilada en los alimentos y se conocen dos clases:
Las catequinas y epicatequinas son los flavanoles más comunes en las frutas, mientras que las proantocianidinas son responsables de la

astringencia de algunas frutas (uvas, manzanas, bayas, etc.) y bebidas (vino, sidra, té, cerveza, etc.), así como del amargor del chocolate [77,76,81].

En la siguiente tabla se puede encontrar algunos ejemplos de alimentos que contienen diferentes clases de flavonoides:

TABLA 2: Polifenoles presentes en alimentos

<i>CLASE</i>	<i>FLAVONOIDE</i>	<i>ALIMENTO</i>
<i>Flavonol</i>	<i>Quercetina</i> <i>Miricetina</i> <i>Kaempferol</i>	<i>Cebolla, brócoli, tomate, frutos rojos, té, vino tinto</i>
<i>Flavona</i>	<i>Luteolina</i> <i>Apigenina</i> <i>Diosmina</i>	<i>Pimiento, tomillo, apio, perejil, limón, uva</i>
<i>Flavanol</i>	<i>Epigallocatequina</i> <i>Catequina</i> <i>Epicatequina</i>	<i>Chocolate, té, vino tinto, cocoa, albaricoque, pera</i>
<i>Flavanona</i>	<i>Naringenina</i> <i>Hesperidina</i>	<i>Pomelo, naranja, limón, tomate</i>
<i>Isoflavona</i>	<i>Genisteina</i> <i>Daidzeina</i>	<i>Soja, legumbres</i>
<i>Antocianina</i>	<i>Delfinidina</i> <i>Pelargonidina</i> <i>Cianidina</i> <i>Peonidina</i>	<i>Frutas rojas, pera, fresa, naranja, uva</i>

FUENTE: “Flavonoides: Apuntes generales y aplicación en la industria de alimentos”, Ochoa I., Ayala A., (2004) [81].

B. Ácidos fenólicos

Los ácidos hidroxibenzoicos como el ácido protocateico y el ácido gálico (Fig 5), están presentes en plantas frutas y verduras y se le atribuyen varios efectos biológicos como actividad antiinflamatoria, antioxidante y antibiótica [80].

Los ácidos hidroxicinámicos en cambio, son más comunes que los ácidos hidroxibenzoicos. Los principales son el ácido cafeico, ácido cumárico y ácido ferúlico; habitualmente, estos ácidos se encuentran glicosilados o formando ésteres con el ácido quínico, ácido shikimico o ácido tartárico en los alimentos.

La combinación del ácido cafeico y el ácido quínico da lugar al ácido clorogénico (CGA), que se encuentra especialmente en el café; el ácido cafeico es el ácido hidroxicinámico más abundante en las frutas como los kiwis^[76].

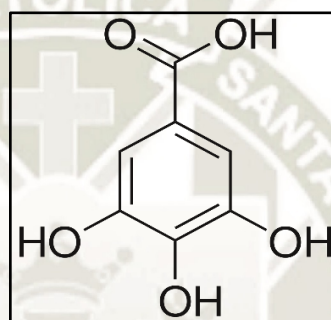


FIGURA 5: Estructura química de Ácido Gálico

FUENTE: “Determinación de Polifenoles Totales, Actividad Antioxidante y Antocianinas de jugo de Murtila (*Ugni molinae* Turcz) obtenido por condensación de Vapor”, Cofre A. (2015)^[80].

1.3.4 Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos

El comportamiento antioxidante de los compuestos fenólicos parece relacionarse con su capacidad para quelar metales de transición (cobre, zinc, hierro) que inician reacciones de oxidación, captar radicales libres e inhibir las lipoxigenasas, aunque en ocasiones también pueden promover reacciones de oxidación in vitro.

Un compuesto fenólico como antioxidante cumple dos condiciones básicas: a) proporcionar protección contra la oxidación (pérdida de electrones) mediante la transferencia de electrones a las moléculas oxidadas con el fin de reducirlos y restaurar un ambiente no tóxico y no oxidado; es decir una molécula estable y b) un buen antioxidante no debe ser tóxico en su forma oxidada y debe ser capaz de regenerarse o auto reciclarse para recuperar sus electrones de otra fuente^[30].

Muchos estudios sugieren que los flavonoides, son una familia de compuestos con una estructura de esqueleto C6-C3-C6, poseen actividades biológicas que, principalmente depende por la posición de y el número de los grupos hidroxilo dentro de su estructura [78].

Por tanto, la capacidad antioxidante de una sustancia se define por la capacidad para recoger especies reactivas de oxígeno y electrofilicos. La formación de estas especies son procesos normales en el organismo, aunque la acumulación de estos, conduce a enfermedades como el cáncer [31].

Se han descrito que los polifenoles poseen efectos con acción antialérgica, antitumoral, antiviral, antiinflamatoria, actividad antioxidante, antiapoptótica, además, de propiedades vasodilatadoras, antitrombóticas, antiterotogénicas y antilipémicas; que favorecen el efecto cardioprotector [32,80].

1.4 Acido Ascórbico

1.4.1 Características fisicoquímicas del Ácido Ascórbico

El ácido ascórbico o comúnmente llamado vitamina C es una molécula presente en la naturaleza, especialmente en el azúcar de las frutas, vegetales y menor grado en proteínas.

Su aspecto es polvoriento o cristal amarillento, incoloro e inodoro, además, posee un pH 2,1 a 2,6.

Es soluble en agua, se oxida fácilmente en solución, en especial cuando está expuesto al calor, esta oxidación se acelera por presencia de hierro, cobre o a un pH alcalino.

El ácido ascórbico puede ser sintetizado a partir de galactosa y glucosa por las plantas y muchos mamíferos, pero no por el hombre, es absorbido en el intestino en un 90 %; pero dietas ricas en pectina o zinc puede disminuir la absorción [33,34].

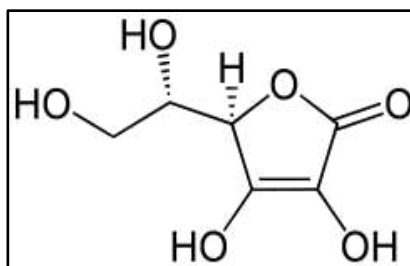


FIGURA 6: Estructura del ácido ascórbico [33].

1.4.2 Acción antioxidante del Ácido Ascórbico

La estructura molecular es una lactona, en la que sus oxidrilos asociados al doble enlace que cumplen el requisito de potentes reductores, además que participan en la directa reducción del oxígeno, siendo el ácido ascórbico sustrato donante en las reacciones de peroxidasas [35].

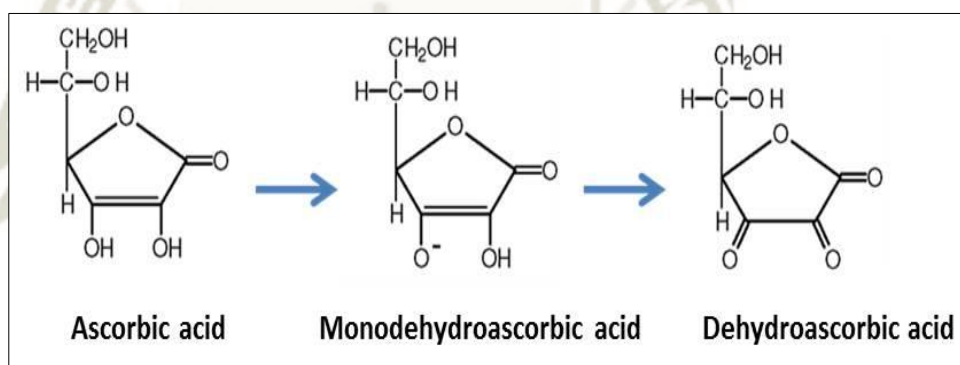


FIGURA 7: Reacción de oxidación del ácido ascórbico [33].

Esta molécula puede neutralizar radicales hidroxilos (OH), peróxido de hidrógeno (H₂O₂), superóxido (O₂⁻), oxígeno singlete (O₂), pero también puede reparar moléculas orgánicas oxidadas, como alfa-tocoferol o vitamina E.

La Fig. 7 se observa la reacción de oxidación del ácido ascórbico a ácido dehidroascorbato, el cual se puede regenerar fácilmente mediante la acción de reductasas específicas y con la ayuda de otras moléculas como el NADH, el NADPH o el GSH en el llamado ciclo glutatión-ascorbato (ASC-GSH) [36,37].

1.4.3 Funcionalidades del Ácido Ascórbico

- El ácido ascórbico posee funciones muy importantes como coenzima y por tanto, participa en varias funciones del metabolismo humano: ayuda a metabolizar colesterol, ácidos biliares, aminoácidos e hidratos de carbono.
- Estimular la formación de colágeno, una sustancia proteica de que depende la integridad de la estructura celular de todos los tejidos fibrosos, como el tejido conectivo, la piel, los tendones, la dentina de los dientes, entre otros. Por estas razones, está relacionada con la recuperación de fracturas, heridas y hemorragias [38].
- El consumo de ácido ascórbico también se asocia como protector contra infecciones y virus, además de ser un coadyuvante efectivo en la absorción del hierro y fortalecimiento del sistema óseo.
- Ayuda a mejorar la elasticidad de tendones, ligamentos y vasos sanguíneos, previene la coagulación y aporta a la vasodilatación; es así que ayuda a personas con arterioesclerosis e hipertensión evitando problemas isquémicos.

Las frutas y verduras son una fuente rica de vitamina C siendo estas beneficiaras para la salud, además de que su carencia produce la enfermedad del escorbuto [39,40].

1.5 Método de Folin - Ciocalteu para la determinación de compuestos fenólicos

El ensayo Folin-Ciocalteu se utiliza como medida del contenido en compuestos fenólicos totales en productos vegetales. Se basa en la capacidad de los fenoles para reaccionar con agentes oxidantes, como el reactivo de Folin-Ciocalteu, que contiene molibdato y tungsteno sódico, que reaccionan con cualquier tipo de fenol, formando complejos fosfowolfrámico y fosfomolibdico a pH básico medido a una longitud de onda de 760 nm [74].

El complejo fosfowolfrámico - molibdico (formado por las dos sales en el medio ácido), de color amarillo, al ser reducido por los grupos fenólicos da

lugar a un complejo de color azul intenso (Fig. 8), cuya intensidad es proporcional este color al número de grupos hidroxilo de la molécula presentes en los compuestos fenólicos de la muestra [74,75].

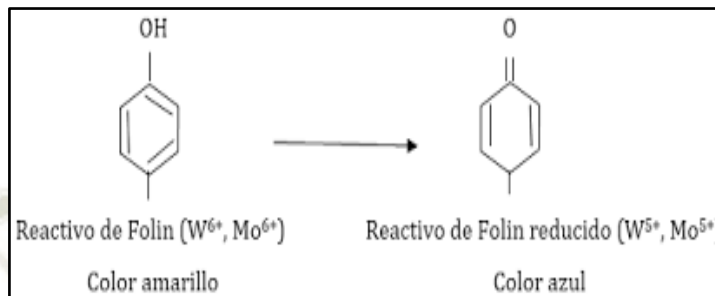


FIGURA 8: Reacción química de reactivo de Folin Ciocalteu frente a especie antioxidante [74].

1.6 Métodos utilizados para la determinación de la capacidad antioxidante

Los ensayos basados en la transferencia de un solo electrón (SET), son aquellos basados en la medida de la capacidad de un compuesto en reducir un oxidante, que cambia de color cuando se reduce [41].

Los siguientes son:

- CUPRAC (Capacidad de reducción antioxidante del cobre)
- ABTS (Ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)
- DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazilo)
- FRAP (Poder de reducción antioxidante del hierro) DMPD (N, N-dimetil-p-fenilendiamina)

1.6.1 Método de DPPH

El método consiste en una reacción química, el radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracil) es el que sustrae un átomo de hidrógeno procedente de un antioxidante (donador), por tanto, se produce un cambio de color violeta a amarillo (Fig. 9), como significativo de la disminución de la concentración del radical libre, que es leída en el espectrofotómetro después de 30 minutos de reacción a un máximo de absorbancia a 515 nm [42].

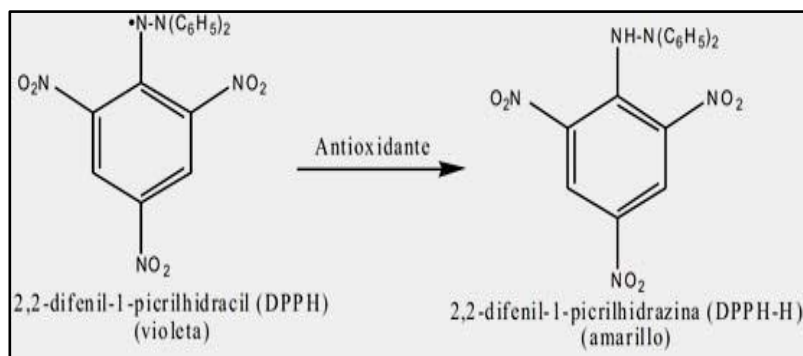


FIGURA 9: Reacción química entre el radical DPPH y la especie antioxidante

FUENTE: “Evaluación de la actividad antioxidante del pisco peruano mediante voltametría cíclica”, Adolfo La Rosa Toro G. et al (2011) [42].

1.6.2 Método CUPRAC

El cromóforo CUPRAC con carga equivalente ($\text{Cu}(\text{Nc})^{2+}$) es soluble en disolventes acuosos y orgánicos, lo que permite la determinación simultánea de hidrófilos y lipófilos antioxidantes [43].

En este método, el reactivo de cobre (II) neocuproina (2,9-dimetil-1,10-fenantrolina) puede oxidar compuestos antioxidantes que son solubles en agua o aceite, reduciéndose al complejo de quelato de cobre (I) neocuproina coloreado.

El método puede reaccionar con un antioxidante líder del grupo tiol, GSH y que además mide la capacidad antioxidante a pH fisiológico (es decir, pH 7), por lo que simula mejor la acción fisiológica de estos antioxidantes [66].

1.7 Voltamperometría

1.7.1 Fundamento de voltamperometría

Método electroanalítico que mide la intensidad de corriente frente al potencial aplicado sobre el analito para que ocurra una reacción redox la cual produce un flujo de corriente eléctrica [57-59].

Tiene dos etapas:

- Pre concentración donde el analito en la solución se encuentra en su estado de oxidación cero y su máxima concentración esta sobre la superficie del electrodo de trabajo ^[60].
- Redisolución electroquímica donde se aplica un barrido de potencial en sentido contrario a la inicial sobre el electrodo de trabajo produciendo una reacción de óxido reducción que produce un pico de corriente eléctrica versus el potencial aplicado y la altura de cada pico es directamente proporcional a la concentración del analito ^[44].

1.7.2 Partes del voltámetro

El Electrodo de Gota de Mercurio consiste en un capilar (0.06-0.08 mm de diámetro interno, 10-15 cm de longitud) conectado a un depósito de mercurio, por cuyo extremo caen las gotas del metal a una velocidad constante. La ventaja de un amplio dominio en reducción y la superficie del electrodo se renueva en cada gota ^[45].

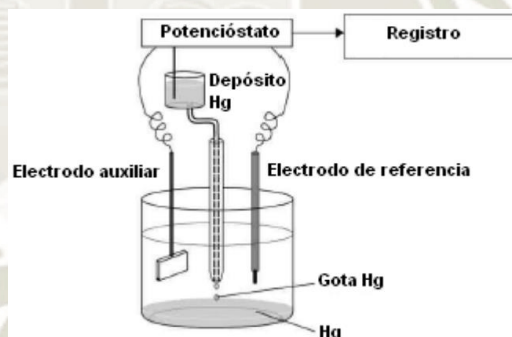


FIGURA 10: Partes de Electrodo Gota de Mercurio

1.8 Liofilización

1.8.1 Fundamento

El método de liofilización se define como un proceso de estabilización en el cual primero se congela y se concentra el solvente, comúnmente el agua, reduciéndolo mediante sublimación y desorción, a niveles que no sostendrán

más el crecimiento biológico o reacciones químicas. Consta de tres fases: sobre congelación, desecación primaria y desecación secundaria [46,47] .

Por tanto, consta de tres procesos: congelar el producto, segundo paso el producto es secado por sublimación directa del hielo bajo presión reducida y el último el secado secundario por evaporación y resorción del agua en la matriz; cómo se puede observar en la Fig. 11 [48] .

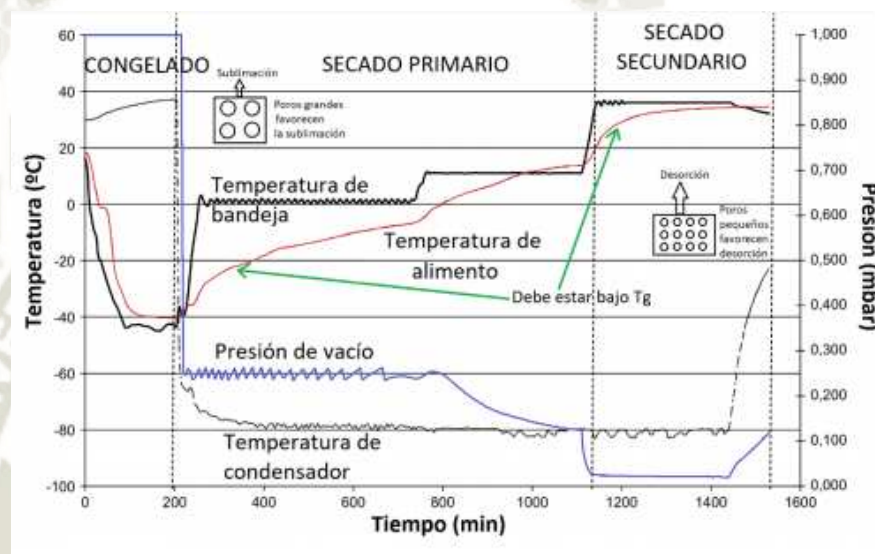


FIGURA 11: Proceso de liofilización

FUENTE: Ulloa M., Jaime Salvador (2018), “Aplicación de micro perforación utilizando laser CO₂ en el proceso de liofilización de alimentos: efecto en el tiempo de secado” [48] .

1.8.2 Proceso para la liofilización

Proceso de congelación

Según C.E. Orrego A. (2004), indica que cada producto debe congelarse de una manera tal que garantice que sufrirá pocas alteraciones en el proceso posterior de sublimación. Se debe conocer con precisión:

- La temperatura en la que ocurre la máxima solidificación
- La velocidad óptima de enfriamiento
- La temperatura mínima de fusión incipiente

Se busca que el producto ya congelado tenga la estructura sólida sin intersticios en los que haya líquido concentrado para propiciar que todo el secado ocurra por sublimación.

Una velocidad de enfriamiento menor a $1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ resulta en cristales de hielo grandes en ubicaciones extracelulares que puede llevar a un daño grande en el tejido de la matriz. Además, un enfriado rápido produce cristales pequeños y uniformes dentro y fuera de las células, obteniendo mejor calidad del producto; así que, la obtención de cristales más grandes es más deseada ya que producen un mayor tamaño de poro y por tanto un más rápido proceso de sublimación [47,48].

Secado primario

En el secado primario el hielo se retira de la muestra mediante sublimación desde la fase sólida a la gaseosa. Mientras se disponga de un sistema que constantemente retire este vapor, el proceso de secado por sublimación continuará hasta que se agote el hielo presente. Este papel lo cumple en un liofilizador el condensador, elemento del equipo que ofrece una superficie suficientemente fría como para que el vapor de agua pase nuevamente a la fase sólida.

La fuerza impulsora que mantiene la sublimación es el gradiente de presión de vapor entre la superficie congelada del producto y el condensado [49].

Secado secundario

La evaporación en la segunda etapa es posible ya que las porciones remanentes de agua no congelada en la matriz del alimento, que no se hayan sublimado en la primera etapa de secado lo harán por acción de la evaporación.

En caso de matrices cristalinas, el proceso de secado es la desorción y evaporación de agua desde la superficie cristalina, en cambio en sustancias amorfas de hasta 40% de agua preponderante es la difusión de agua a través de la fase vítrea, que hace prolongado el secado secundario.

Las partes secas de la muestra que se liofiliza pueden comenzar su secado secundario, aunque haya presencia en el alimento de hielo que sublima en fase primaria; mientras estas dos fases coexistan, y debido que el hielo que sublima enfría la estructura, permanece controlada la temperatura del alimento.

Cuando desaparece la última porción de hielo se presenta un incremento de la temperatura ^[50] .

1.9 Radicales libres

Los radicales libres o llamados especies reactivas de oxígeno, son átomos o moléculas que contienen uno o más electrones no apareados en el orbital más externo, lo que produce una gran reactividad en dicha estructura ^[50] .

Por tanto, su gran reactividad es la causante de su toxicidad, ya que intervienen con gran eficacia y rapidez en un sinnúmero de procesos bioquímicos a nivel celular que daña proteínas, lípidos, y DNA; además de causar inflamación en las células conduciendo a una variedad de problemas de salud y enfermedades cardiovasculares ^[52,53] .

1.9.1 Formación de radicales libres

Las Especies Reactivas de Oxígeno (ROS) y radicales libres son moléculas dañinas para las células que surgen de los procesos metabólicos normales del cuerpo humano de fuentes exógenas, por tanto, la producción de estos en las células es la consecuencia de procesos continuos de reacciones enzimáticas y no enzimáticas ^[54] .

La mitocondria es el principal productor de las ROS, se sabe el 90% del total del oxígeno celular sirve como aceptor de electrones en la fosforilación oxidativa. Sin embargo, algunos electrones pueden escapar de la cadena de transporte de electrones y reaccionar con oxígeno molecular que se transforma en el radical superóxido ($O_2\cdot$) lo que conduce a la generación de oxi-radicales que pueden causar peroxidación de lípidos en la membrana mitocondrial. Además, es causado por la acción de oxidasas (amino ácido oxidasas, citocromo oxidasas, monoaminas oxidasas, xantinas oxidasas), autooxidación de metales de transición (principalmente hierro y cobre). Es así que la generación de RL se origina durante el metabolismo aeróbico ^[55,56,57] .

Otras fuentes de este radical son reacciones del metabolismo de los prostanoïdes, la autooxidación de las catecolaminas, la actividad de la xantina, la activación de los fagocitos que producen el superóxido como mecanismo protector frente a agentes u organismos extraños. Por otros mecanismos el superóxido se transforma en el radical hidroxilo ($\text{OH}\cdot$), que es aún más reactivo que el anterior [58].

Otro radical libre fisiológico es el óxido nítrico ($\text{NO}\cdot$), que puede generar especies de nitrógeno reactivo que son neurotóxicas para el sistema nervioso central, como peróxido nítrico (ONOO), que contribuye en gran medida a lesiones de tipo oxidativo en múltiples enfermedades [68].

Son generadas en condiciones fisiológicas durante el metabolismo aeróbico. Estos radicales libres cumplen funciones fisiológicas y patológicas en el desarrollo celular, diferenciación y envejecimiento, y es el resultado de un balance entre la producción de estos y el sistema de defensa antioxidante [59].

Algunas fuentes externas generadoras de radicales libres son: el humo del cigarrillo, la radiación, ozono, medicamentos, contaminantes ambientales, pesticidas.

1.10 Estrés oxidativo

El estrés oxidativo se produce por el exceso de radicales libres (moléculas que presentan al menos un electrón desapareado en su orbital más externo y son altamente reactivos). Por tanto, hay un desequilibrio entre la producción de oxidantes y la capacidad de detoxificar rápidamente los radicales libres producidos [60].

El estrés oxidativo altera la funcionalidad celular, contribuyendo al desarrollo de enfermedades degenerativas como la aterosclerosis, cardiomiopatías, enfermedades neurológicas y cáncer, por lo que es un agente causante de muchas enfermedades humanas.

Los productos de las interacciones entre radicales libres con ácidos nucleicos, proteínas y lípidos son utilizados como índices del daño oxidativo, como el caso de los ácidos grasos polinsaturados, mayores componentes de fosfolípidos de membrana y cuyos niveles se utilizan para medir el daño peroxidativo ^[61] .

Por ejemplo, el cerebro es más sensible al ataque de ROS, debido a su alto consumo de oxígeno, bajos niveles de enzimas antioxidantes y alto contenido de ácidos grasos ^[62] .

1.10.1 Factores de causan estrés oxidativo

Los antioxidantes evitan las reacciones de oxidación; por consiguiente, estas sustancias sintéticas o naturales se añaden a un producto para impedir su deterioro causado por acción del oxígeno en el aire ^[63] .

En reacciones bioquímicas de oxidación-reducción que ocurren en el metabolismo celular normal, muy influenciados por factores ambientales externos y/o internos por ejemplo: los contaminantes ambientales, radiaciones gamma, luz ultravioleta, dietas poco balanceadas o pobres, componentes del humo de cigarro, dietas hipercalóricas y ejercicio o trabajo extenuante ^[81] .

CAPITULO II

2. MATERIAL Y METODOS

2.1 Materiales

2.1.1 Material vegetal

- *Anacardium occidentale L.* variedad roja y amarilla

2.1.2 Materiales de laboratorio

- Fiolas de 5mL, 10 mL, 50 mL y 100mL
- Vaso precipitado de 100 mL, 250 mL, 500 mL
- Pipeta graduada 1mL, 2 mL, 5mL, 10 mL
- Pipeta volumétrica 1mL, 5mL, 10mL
- Micropipetas de 20uL-25uL-100uL- 200uL-250 uL
- Papel filtro
- Frascos ámbar
- Bagueta
- Tubos de ensayo
- Tubos falcón
- Propipetas
- Gradilla
- Tips para pipetas
- Espátula

2.1.3 Equipo de laboratorio

- Agitador vortex
- Liofilizador modelo “Labconco”
- Balanza analítica Sartorius
- Sonicador modelo Branson 2510-E
- Centrifuga modelo EBA 20 Hettich zentrifugen
- Espectrofotómetro modelo CARY60 UV-VIS
- Microcelda de cuarzo (90 uL)

- Voltámetro 797 VA Computrace “Metrohn”
- Potenciómetro Metrohn 825 pHlab

2.1.4 Reactivos

- Metanol (CH₃OH) Merck
- Reactivo de Fehling A
- Reactivo de Fehling B
- Etanol (C₂H₅OH) P.A
- Cloruro férrico (FeCl₃)
- Reactivo de Dragendorff
- Reactivo Trolox P.A (calcibiochem)
- Ácido ascórbico (C₆H₈O₆) (Sigma)
- Buffer acetato de sodio
- Reactivo de Folin Ciocalteu
- Buffer acetato de amonio 1M
- Neocuproína P.A (Merck)
- Reactivo DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) P.A (Sigma)
- Cloruro Cúprico (liq)
- Agua ultra pura
- Ácido gálico P.A (C₇H₆O₅)
- Agua destilada
- Carbonato de sodio 5%

2.2 Métodos

2.2.1 Recolección del material vegetal

Se recolectó 0.5 kg de material vegetal; Centro Poblado de Mávila de la Provincia de Tambopata, Departamento Madre de Dios ; por cada variedad de marañón, se almacenó en un cooler y se trasladó hasta la ciudad de Arequipa.

2.2.2 Tratamiento de la muestra

Se hicieron cortes pequeños que se licuaron con 250 mL de agua destilada por 30 segundos, hasta obtener una masa homogénea como se puede observar en el anexo V

2.2.3 Proceso de liofilización

Se tomó cuidadosamente 4 ml de cada variedad de *Anacardium occidentale L.* y se colocó en viales previamente esterilizados, se colocaron en la bandeja e introdujeron al liofilizador para comenzar el proceso.

El proceso de Pre- freezer tomo alrededor de 6 hrs.

El estadio 1, en un rango de tiempo de 10 hrs, las muestras estuvieron a una temperatura -50°C .

El estadio 2, en un rango de tiempo de 16 hrs, las muestras estuvieron a una temperatura 10°C .

El estadio 3 en un rango de tiempo de 10 hrs, las muestras estuvieron a una temperatura 5°C .

Terminado el proceso de liofilización, se dejaron en secador para posteriores estudios.

2.2.4 Preparación de muestras de *Anacardium Occidentale L*

Se pesaron 250 mg en tubo falcon para cada variedad de fruto liofilizado.

Se disolvió las muestras con 3 mL de metanol y se colocó en el vortex durante 10 min y luego se centrifugó a 5000 rpm por 10 min; finalmente se recolectó el sobrenadante en una fiola de 10 mL, se extrajo 3 veces y se enrasó con metanol.

En la Fig. 12 se muestra el procedimiento grafico para la preparación de las muestras y posterior estudio para capacidad antioxidante, cuantificación de polifenoles y Ácido Ascórbico.

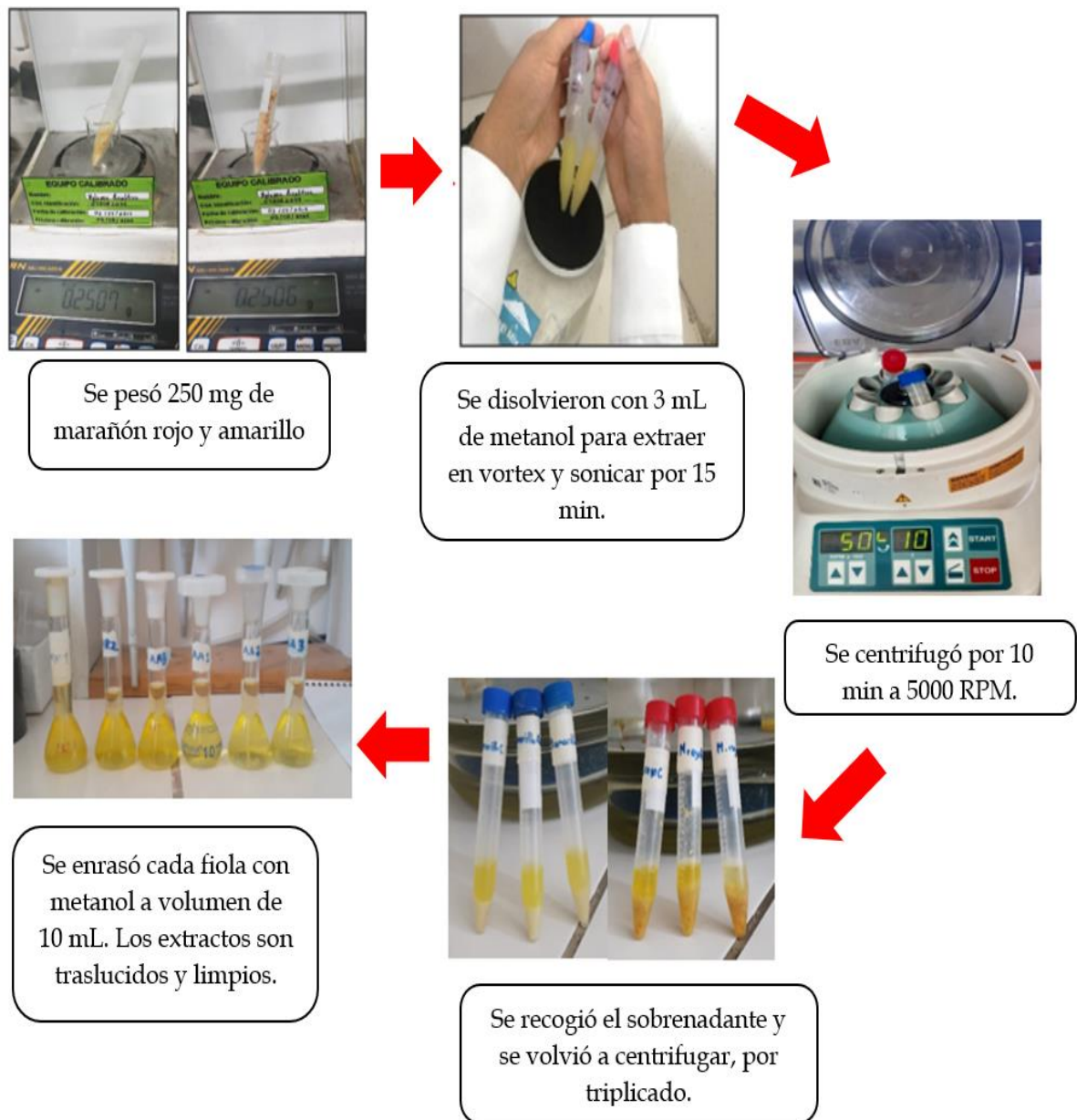


FIGURA 12: Preparación de los extractos de marañón.

Se describe en la Fig. 13, la metodología realizada para todo el estudio de investigación en el fruto de marañón.

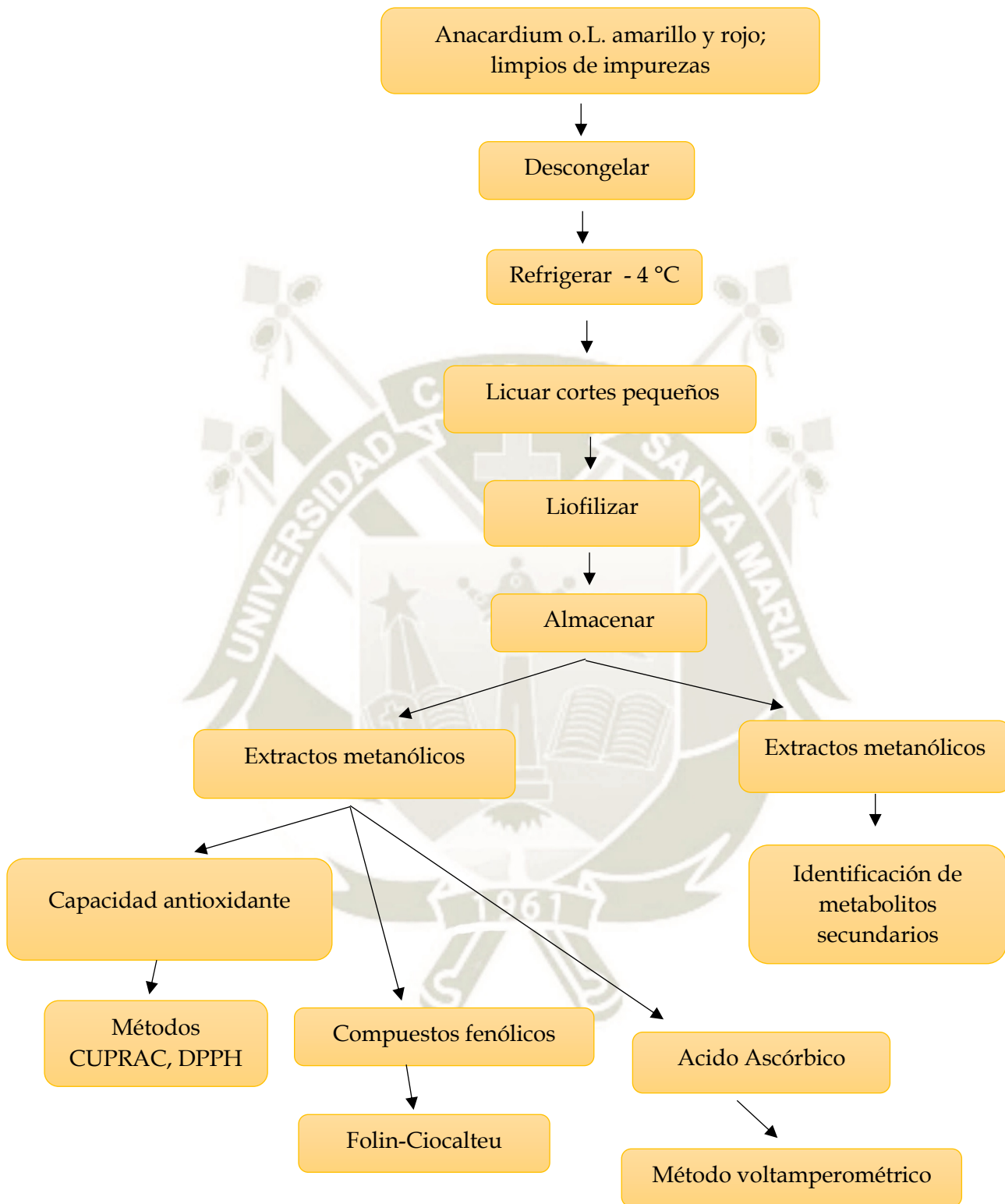


FIGURA 13: Esquema de metodología para el estudio de marañón amarillo y rojo

2.2.5 Identificación de metabolitos secundarios ^[81] .

A. Compuestos fenólicos

Permite reconocer la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos en un extracto vegetal. En el ensayo, se tomó una alícuota del extracto alcohólico y se le añadió 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 5%

Se agitó el tubo y se esperó el cambio de coloración a verde negruzco como prueba positiva para compuestos fenólicos.

B. Saponinas

Se tomó en un tubo de ensayo 0.5 g de muestra y se añadió 10 mL de agua destilada, se agitó vigorosamente por 30 segundos y se dejó reposar por 5 minutos.

La aparición de espuma persistente por más de 3 minutos, indica la presencia de saponinas.

C. Alcaloides

Este ensayo permite conocer la presencia de alcaloides en un extracto a través de la adición de ácido clorhídrico al 1% y el reactivo de Dragendorff.

Al extracto acuoso se le añadió 1 gota de ácido clorhídrico concentrado que se dejó enfriar; que después, se le añadió 2 gotas del reactivo de Dragendorff.

D. Azúcares reductores

Se tomó un matraz de 50 mL y se colocó 1mL de extracto acuoso de la muestra más 1 mL de reactivo de Fehling A y B previamente preparados al momento del estudio; se echó 20 mL de agua destilada y se colocó a hervir la solución.

El ensayo es positivo si se observa precipitado rojo ladrillo al fondo del matraz, formándose un complejo de cobre reducido por la acción de los azúcares en muestra.

E. Terpenoides

El ensayo de Liebermann-Buchard reconoce la presencia de triterpenos y/o esteroides, al poseer un núcleo del androstano insaturado en el anillo B y la posición 5-6.

Para el ensayo se evaporó el extracto en baño de agua y el residuo se redisolvió en 1 mL de cloroformo. Luego se añadió 1 mL de anhídrido acético y se mezcló bien. Finalmente, se deja resbalar por la pared del tubo de ensayo, 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar; interpretándose como prueba positiva, un cambio de coloración a rosado azul, verde intenso u oscuro.

F. Taninos

A una alícuota de extracto acuoso se le adicionó acetato de sodio para neutralizar y luego 3 gotas tricloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica.

La aparición de color verde es derivada de catequinas, en cambio un color negro azulado indica la presencia de taninos los derivados del ácido pirogálico.

G. Cumarinas

La prueba de Baljet reconocer la presencia de compuestos cumarínicos, aunque también otros compuestos lactónicos. Para ello, si la alícuota del extracto se evaporó el disolvente en baño de agua y se redisolvió en un 1mL de alcohol. Luego se adicionó 1mL del reactivo, considerándose un ensayo positivo la aparición de coloración o precipitado rojo.

2.2.6 Métodos para la determinación de capacidad antioxidante

A. Método de CUPRAC

Preparación de reactivos

Se preparó la solución metanólica de cloruro de cobre, pesando 0.017g de CuCl_2 llevándose a un volumen de 10 mL obteniéndose una concentración de 0.01 M

También, se preparó una solución metanólica de neocuproína a 0,0075 M, pesando 0.0156 g del reactivo y enrasando a una fiola de 10 mL; además, de una solución buffer acetato de amonio 1M ajustado a pH 7

Solución Stock de trolox

Para la preparación de solución de trolox, se pesó 0,0025 g del reactivo, se disolvió en metanol a un volumen de 50 mL obteniéndose una concentración de 2×10^{-4} M

Curva de calibración

Se preparó 5 patrones a diferentes concentraciones en fioles de 10 mL, se deja reposar por media hora y se realiza la lectura a 450 nm. Se resume el procedimiento en la siguiente tabla:

TABLA 3: Curva calibración

<i>N° patron</i>	<i>Cc [mM]</i>	<i>Trolox [uL]</i>	<i>CuCl2 [mL]</i>	<i>Buffer [mL]</i>	<i>Neocuproína [mL]</i>
<i>1</i>	<i>0.008</i>	<i>200</i>	<i>2</i>	<i>2</i>	<i>2</i>
<i>2</i>	<i>0.016</i>	<i>400</i>	<i>2</i>	<i>2</i>	<i>2</i>
<i>3</i>	<i>0.024</i>	<i>600</i>	<i>2</i>	<i>2</i>	<i>2</i>
<i>4</i>	<i>0.032</i>	<i>800</i>	<i>2</i>	<i>2</i>	<i>2</i>
<i>5</i>	<i>0.040</i>	<i>1000</i>	<i>2</i>	<i>2</i>	<i>2</i>
<i>Blanco</i>	<i>0</i>	<i>0</i>	<i>2</i>	<i>2</i>	<i>2</i>

Fuente: elaboración propia

Se dejó en reposo por media hora y se lee a 450 nm de longitud de onda en el espectrofotómetro (CARY60 UV – VIS, Agilent Technologies).

Ensayo en muestras

Se tomó una fiola de 10 ml y se recogió 400 μ L de la muestra preparada tal como en la sección 4.2.4 añadiéndose 1 mL de CuCl_2 y 1 mL de Neocuproína, se dejó en reposo por media hora y se midió a 450 nm de longitud de onda en el espectrofotómetro (CARY60 UV – VIS, Agilent Technologies).

B. Método DPPH

Reactivo de DPPH (2-2-difenil-picrilhidrazilo)

Se preparó una solución de radical DPPH al 300 μM en metanol por lo que se pesó 3 mg en una fiola de 25 mL protegiéndola de la luz.

Solución stock de trolox

La solución stock de trolox tiene una concentración de 1598 μM que se preparó con metanol pesándose 4 mg del reactivo y que se enrasó en una fiola de 10 mL.

Preparación de patrones

Se preparó 5 patrones de trolox a diferentes concentraciones (20 μM , 40 μM , 60 μM , 80 μM y 100 μM); tomando una alícuota de 25 μL ; 50 μL ; 75 μL ; 100 μL y 125 μL respectivamente para cada concentración.

TABLA 4: Patrones para método DPPH

<i>N° Patron</i>	<i>Vol. solución stock de Trolox (μL)</i>	<i>Concentración (μM)</i>
<i>1</i>	25	20
<i>2</i>	50	40
<i>3</i>	75	60
<i>4</i>	100	80
<i>5</i>	125	100

Fuente: elaboración propia

Curva de calibración

Se preparó 5 estándares en fiolas de 10 mL como se muestra en la tabla resumen, agregando 2,4 mL de los patrones preparados a partir de la solución stock de trolox, 3 mL de radical DPPH y enrasando con metanol hasta 10 mL. Además de preparar un blanco de 5 mL con DPPH y metanol.

TABLA 5: Curva calibración para método DPPH

<i>N°</i>	<i>Cc</i>	<i>patrones</i>	<i>DPPH</i>	<i>Metanol</i>	<i>Vol</i>
<i>St</i>	<i>[uM]</i>	<i>[mL]</i>	<i>[mL]</i>	<i>[mL]</i>	<i>final[mL]</i>
<i>1</i>	20	2,4	3	4,6	10
<i>2</i>	40	2,4	3	4,6	10
<i>3</i>	60	2,4	3	4,6	10
<i>4</i>	80	2,4	3	4,6	10
<i>5</i>	100	2,4	3	4,6	10
<i>Blanco</i>	0	0	5	5	10

Fuente: elaboración propia

Se dejó en reposo en oscuridad por 30 min y se lee a 515 nm de longitud de onda en el espectrofotómetro (CARY60 UV – VIS, Agilent Technologies).

2.2.7 Determinación de compuestos fenólicos

El método espectrofotométrico desarrollado por Folin - Ciocalteu ^[10], para la determinación de fenoles totales, se fundamenta en su carácter reductor y es el más empleado. Se utiliza como reactivo una mezcla de ácidos fosfowolfrámico y fosfomolibdico en medio básico, que se reducen al oxidar los compuestos fenólicos, originando óxidos azules de wolframio (W_8O_{23}) y molibdeno (Mo_8O_{23}). La absorbancia del color azul desarrollado se mide a 760 nm. Los resultados se expresan en mg de ácido gálico por 100 g de pulpa de frutos.

Solución stock de ácido gálico

Se preparó una solución de 100 ppm, para ello se pesó 10 mg de ácido gálico, disolviéndose en 1 mL de etanol 96 %. Se enrasó con agua destilada a 100 mL. A partir de la solución madre se preparó 5 estándares a diferentes concentraciones entre 2-10 ppm y se enrasó a fiolas de 2 mL con agua destilada.

Preparación de reactivos

El carbonato de sodio previo a la preparación de la solución se llevó a desecar a la mufla 24 horas a una temperatura 70 °C luego se preparó una solución al 20 % de carbonato de sodio anhidro, para ello se pesó 2 g de reactivo en una fiola 10 mL y se enrasó con agua destilada.

Curva de calibración

Se preparó 5 patrones en fiolas de 2 mL, agregándose estándares de ácido gálico preparados a partir de la solución madre de ácido gálico, agua, reactivo Folin- Ciocalteu, se dejó reposar 5 min en oscuridad, luego se agregó carbonato de sodio al 20 % y se enrasó a 2 mL con agua destilada, como se muestra en la Tabla 6. Se dejó reposar por 2 horas a oscuridad y finalmente se midió la absorbancia a 760 nm.

TABLA 6: Patrones para curva de calibración

<i>Patrones</i>	<i>Concentración (ppm)</i>	<i>Volumen de estándares (uL)</i>	<i>Agua (uL)</i>	<i>Rx Folin Ciocalteu (uL)</i>	<i>Carbonato de sodio 20% (uL)</i>
<i>1</i>	2	40	460	200	800
<i>2</i>	4	80	420	200	800
<i>3</i>	6	120	380	200	800
<i>4</i>	8	160	340	200	800
<i>5</i>	10	200	300	200	800
<i>Blanco</i>	0	0	1000	200	800

Fuente: elaboración propia

Ensayo en muestras

Se tomó 1 mL de cada muestra metanólica de marañón y procedió con la misma metodología (reemplazando a estándar de ácido gálico) realizándose lecturas por triplicado de cada muestra a una longitud de onda 760 nm.

2.2.8 Ácido Ascórbico por el método de voltamperometría

Preparación del buffer Acetato de Sodio 0.1M

Se preparó 500 mL de buffer de acetato de sodio 0.1 M, se midió 3,20 mL de ácido acético glacial, ajustado a pH 4.64 con perlas de hidróxido de sodio y que se enrasó con agua ultrapura, determinándose el pH con el potenciómetro (Metrohn 825pHlab).

Parámetros de medición

El funcionamiento del voltámetro se compone del electrodo auxiliar de platino, electrodo de mercurio multimodo (DME), electrodo de referencia Ag/AgCl con solución interna y los parámetros voltamperométricos con las que se trabajaron fueron las siguientes:

TABLA 7: Parámetros voltamperométricos

<i>Velocidad de barrido</i>	<i>0.0099 V/seg</i>
<i>Tiempo de purga</i>	300 segundos
<i>Tiempo de deposición</i>	15 segundos
<i>Potencia de deposición</i>	0.55

Fuente: elaboración propia

Estándar de ácido ascórbico

Se preparó el estándar a una concentración de 10 ppm disolviéndose en agua ultrapura en una fiola para 10 mL, se refrigera hasta su uso.

Se vertió 10 mL de buffer acetato de sodio y 1000 μ L de estándar de ácido ascórbico, se purgo con gas inerte de nitrógeno y se detectó el potencial pico de oxidación, finalmente se realizaron 2 adiciones más de 1000 μ L del estándar a la celda.

La concentración del contenido de ácido ascórbico es mg de ácido ascórbico/ L de muestra que posteriormente se convirtió a mg de ácido

ascórbico/ 100 g de fruta liofilizada para ambas especies vegetales en estudio.

Ensayo en muestras

Las muestras se prepararon tal como especifica la sección 4.2.4

Se tomaron 10 mL del buffer de acetato de sodio pH 4.6 con 1mL de muestra y se colocaron en la celda del voltámetro Metrohn 797 VA Computrace; luego se realizaron 2 mediciones de estándar de 1000 μ L cada una.

Se realizaron mediciones por triplicado para cada muestra.

2.2.9 ANALISIS ESTADISTICO

Los resultados experimentales se presentaron como la media del triplicado de las mediciones realizadas. El test estadístico para el estudio fue T student analizados por el software estadístico IBM SPSS (versión 22) para determinar si existe diferencia significativa entre los valores obtenidos de polifenoles, métodos de CUPRAC, DPPH y ácido ascórbico para cada variedad de marañón.

El nivel de significancia será de $p=0.05$

CAPITULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSION

3.1 Recolección de muestra vegetal

Se recolectó 0.5 kg de *Anacardium occidentale L.* rojo y amarillo respectivamente en el centro poblado Mavila perteneciente a la Provincia de Tambopata, en el Departamento de Madre de Dios, se lavó, limpio de impurezas y almacenó en refrigeración a - 4°C hasta su posterior estudio (fig. 14) además se observó que ambas muestras presentan como características comunes el sabor agridulce y olor sui géneris, y en diferencia el color y tamaño siendo el marañón amarillo más grande que el marañón rojo.

Tabla 8: Características organolépticas de muestras de *Anacardium occidentale L*

Características organolépticas	Marañón rojo	Marañón amarillo
Tamaño, forma	Ovalada	Redondeada
Color	Rojo	Amarillo
Olor	Sui generis	Sui generis
Sabor	agridulce	Agridulce

Fuente: elaboración propia



FIGURA 14: Marañón variedad amarilla y roja

3.2 Proceso de liofilización

Las muestras fueron cortadas en cuatro y licuadas con 100 mL de agua destilada hasta consistencia homogénea, tanto como para la variedad roja y amarilla.

Se tomaron viales ámbar esterilizados previamente y solo se colocaron 4 mL de cada fruto tratado en la bandeja del liofilizador triad “LABCONCO”.

Se recogieron las muestras liofilizadas de características pulverulentas, poco densas, de color amarillo y rojo dependiendo a la variedad de marañón..

Se almacenaron los viales en un secador (25°C) hasta posteriores estudios.

(fig. 15)



FIGURA 15: Muestras liofilizadas de marañón rojo y amarillo

Además, se realizó el porcentaje de rendimiento para ambas muestras de estudio, tomando como referencia los pesos de muestras en fresco y pesos de muestra liofilizada como indica la tabla 9. y la ecuación 3.1

$$\% \text{ Rendimiento} = \frac{\text{peso de muestras seca}}{\text{peso de muestra fresca}} \times 100$$

Ecuación 3.1 Calculo del porcentaje de rendimiento

Tabla 9: Porcentaje de rendimiento de muestras post liofilizado

MUESTRA	PESO MUESTRA FRESCA	PESO MUESTRA LIOFILIZADO	PORCENTAJE DE RENDIMIENTO
<i>Anacardium Occidentale L rojo</i>	4.0211 g	2.4881g	62.26 %
	4.0371 g	2.5322 g	
	4.0642 g	2.5270 g	
<i>Anacardium Occidentale L amarillo</i>	4.1225 g	2.6067 g	61.77 %
	4.1368 g	2.6159 g	
	4.1073 g	2.470 g	

Fuente: elaboración propia

Mientras que en el estudio de Valdez (2011), para el subproducto de bagazo en marañón rojo; indica un rendimiento de 60 %, el porcentaje de rendimiento en la presente investigación es un 62.26% y 61.77% para marañón rojo y marañón amarillo.

Los resultados de rendimiento confirman el principio de repetitibilidad en las mediciones liofilizadas de marañón rojo y amarillo.

3.3 Identificación de metabolitos secundarios

A. Prueba para terpenoides

En la fig. 16, se observó una coloración rojiza para ambas muestras, por lo que la prueba fue positiva presentando terpenoides.

B. Prueba para saponinas

En la fig. 17, tanto el marañón rojo y amarillo presentaron espuma menor a un centímetro (< a 1cm) observado en un lapso de tiempo determinado, la espuma ocasionada desapareció en instantes, por lo que la prueba no indicó la presencia de saponinas.

C. Prueba para polifenoles

En la fig. 18, se observó el cambio de coloración a azul verdoso para ambas variedades de marañón, lo que significa la presencia de compuestos fenólicos.

D. Prueba para taninos

En la fig. 19, ambas variedades de marañón rojo y amarillo presentaron cambio de coloración a azul verdoso oscuro, prueba positiva para la presencia de taninos.

E. Prueba para alcaloides

En la fig. 20, ambas muestras de marañón presentaron cambio de coloración y además de precipitación amarilla revelada con el cloruro férrico, lo que fue indicio de presencia de alcaloides.

F. Prueba para azúcares reductores

En la fig. 21, las variedades de marañón rojo y amarillo presentaron cambio de coloración de azul a rojo ladrillo, que es una reacción oxidativa del cobre en presencia de los azúcares reductores de ambas muestras.

Se muestra en la tabla 10, el resumen del screening fitoquímico de los extractos etanólicos realizados para marañón rojo y marañón amarillo donde se evidencia la presencia de compuestos fenólicos, alcaloides, azúcares y taninos.

TABLA 10:

Resultados para identificación de metabolitos secundarios en variedades de marañón rojo y amarillo.

<i>PRUEBA DE IDENTIFICACION</i>	<i>Anacardium Occidentale L ROJO</i>	<i>Anacardium Occidentale L AMARILLO</i>
<i>Compuestos fenólicos</i>	Positivo	Positivo
<i>Terpenoides</i>	Positivo	Positivo
<i>Saponinas</i>	Negativo	Negativo
<i>Alcaloides</i>	Positivo	Positivo
<i>Azúcares reductores</i>	Positivo	Positivo
<i>Taninos</i>	Positivo	Positivo

Fuente: elaboración propia



FIGURA 19:
Identificación
de terpenoides

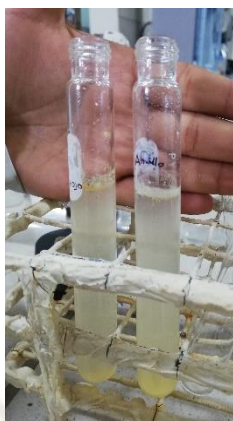


FIGURA 18:
Identificación de
saponinas



FIGURA 16:
Identificación de
polifenoles



FIGURA 17:
Identificación de
taninos



FIGURA 20: Identificación de
azúcares reductores



FIGURA 21:
Identificación de
alcaloides

Mukunthan y colaboradores realizaron un screening fitoquímico del extracto crudo del fruto de marañón e identificaron la presencia carbohidratos, proteínas, fitoesteroles, taninos, flavonoides, y alcaloides; siendo los tres últimos mencionados poseedores de una alta actividad antioxidante ^[9,10] .

Comparando con el presente estudio también se identificó taninos, triterpenos, flavonoides y alcaloides como muestra la tabla 10.

Martínez y colaboradores realizaron una tintura de las hojas de marañón al 20% utilizando alcohol 70%, en la cual detectaron cumarinas y en menores proporciones flavonoides, saponinas, terpenos y taninos; tampoco se identificaron quinonas ni alcaloides; lo que contrasta con nuestro estudio en la que no se logró identificar cumarinas o saponinas en los frutos de marañón, esto podría deberse en la diferente composición fitoquímica en las partes de la planta.

3.4 Contenido de compuestos fenólicos

3.4.1 Curva de calibración

Se realizó la curva de calibración a partir de 5 patrones a la concentración de 20ppm, 40ppm, 60ppm, 80ppm y 100ppm; que se muestra en la Fig. 22

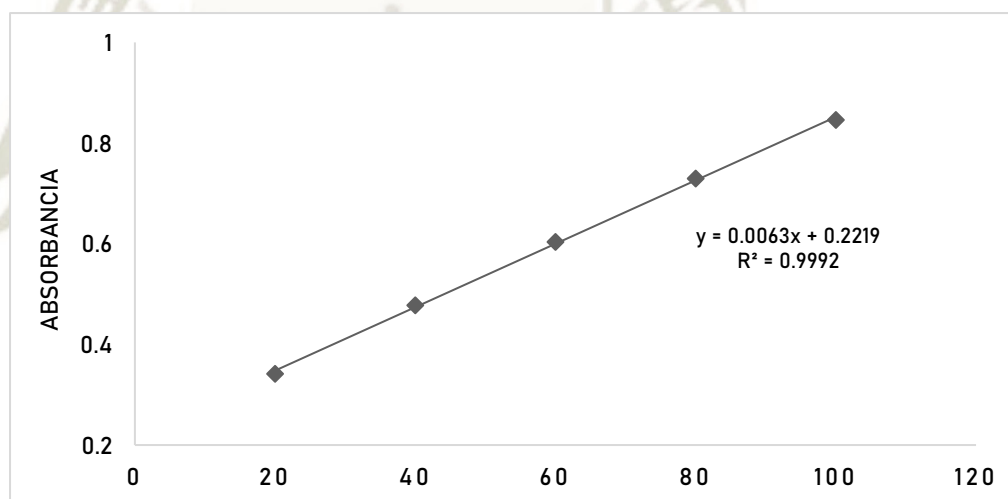


FIGURA 22: Curva de calibración de Ácido Gálico por método Folin - Ciocalteu

Los puntos corresponden a los 5 patrones de medición experimental, la línea corresponde al ajuste matemático representado por la ecuación de la recta y con una linealidad, $r^2=0.9992$

3.4.2 Lectura de cuantificación de compuestos fenólicos

Se interpola la cantidad de compuestos fenólicos mediante la ecuación de regresión de la curva de calibración para ambas muestras de marañón, que se observa en la siguiente tabla:

TABLA 11: Concentración de compuestos fenólicos en los frutos liofilizados de marañón rojo y amarillo.

<i>Muestra</i>	<i>Absorbancia</i>			<i>Media</i>	<i>St. Dev.</i>	<i>Concentracion * F.D.</i>
	<i>Rep. 1</i>	<i>Rep. 2</i>	<i>Rep. 3</i>			
<i>Anacardium o.L amarillo</i>	0,4291	0,4843	0,4759	0,4631	0,029	889,50 mg
<i>Anacardium o. L Rojo</i>	0,4929	0,4859	0,5654	0,5147	0,044	1064,25 mg

Fuente: Elaboración Propia.

Varios estudios sugieren que los compuestos polifenólicos están relacionados con la actividad antioxidante, y al evaluar el contenido de polifenoles totales en el marañón se encontró un contenido de 889,49 mg GAE/100g de muestra liofilizada para variedad amarilla y 1064,25 mg GAE/100g de muestra liofilizada en variedad roja, que son valores mayores, con lo encontrado por Valdez (2011), reportando 270 mg GAE/100 mL en el extracto de bagazo de marañón rojo, además de la concentración indicada por Vasudeva and Rajini (2007) en la cáscara de nuez de 243 mg GAE/100 g.

Como se observa, el contenido de marañón de ambas variedades presenta un alto contenido compuestos fenólicos, siendo una fuente accesible de antioxidantes naturales.

3.5 Capacidad antioxidante

3.5.1 Método CUPRAC

3.5.1.1 Curva de calibración

Se prepararon 5 patrones a diferentes concentraciones 0.008mM; 0.016mM; 0.024mM; 0.032mM; 0.040mM; las cuales se dejaron en reposo por media hora y que midieron como se muestra en la fig. 23.

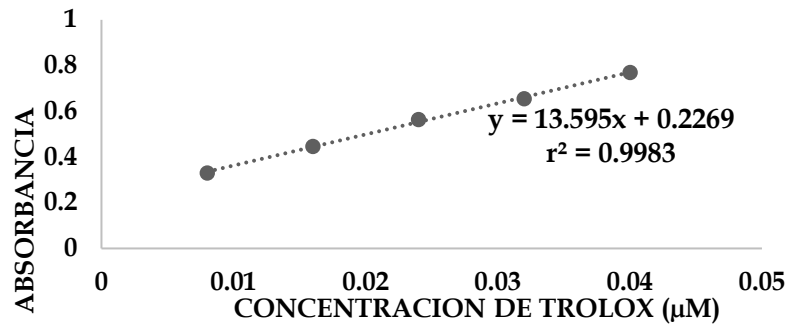


FIGURA 23: Curva de calibración método CUPRAC

Los puntos corresponden a los 5 patrones de medición experimental, la línea corresponde al ajuste matemático representado por la ecuación de la recta y con una linealidad, $r^2=0.9983$



FIGURA 24: Preparación de patrones de trolox.

TABLA 12: Tabla de concentración vs absorbancia

<i>Concentración</i> <i>(mM)</i>	<i>Absorbancia*</i>
0,008	0,3303
0,016	0,4465
0,024	0,5641
0,032	0,6549
0,040	0,7699

* media del triplicado de absorbancias de trolox

Fuente: Elaboración propia

3.5.1.2 Procedimiento para cuantificación de capacidad antioxidante por método CUPRAC

La tabla 13 resume el análisis estadístico que se realizaron a las lecturas de absorbancia por triplicado en cada variedad de marañón, además de calcular la concentración de trolox.

Las lecturas por triplicado se asemejan entre sí, por tanto, su desviación estándar muestra la correlación entre absorbancias

TABLA 13: Capacidad antioxidante por el método CUPRAC en los productos liofilizados de marañón rojo y amarillo.

Muestra	Absorbancia			Media	St. Dev.	Concentración * F.D.
	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3			
<i>Anacardium o. L rojo</i>	0,541	0,545	0,545	0,544	0,002	2,91 mM trolox
<i>Anacardium o. L amarillo</i>	0,549	0,546	0,522	0,539	0,003	2,86 mM trolox

La capacidad antioxidante de los frutos de *Anacardium occidentale L* rojo y amarillo se obtuvieron en concentración de mM (milimolar) de trolox, dando como resultado 2,91 mM para marañón rojo y 2,86 mM para marañón amarillo, y consecuentemente ser expresados en mg de trolox/100g de fruto liofilizado obteniéndose 726,88 mg TE/100g en la variedad roja y 731,18 mg TE /100 g en la variedad amarilla, lo que indica mayor cantidad de componentes antioxidantes que en la muestra de marañón amarilla.

3.5.2 Método DPPH

3.5.2.1 Curva de calibración

En la figura N° 25 se muestra los patrones traslúcidos de trolox para realizar la curva de calibración.

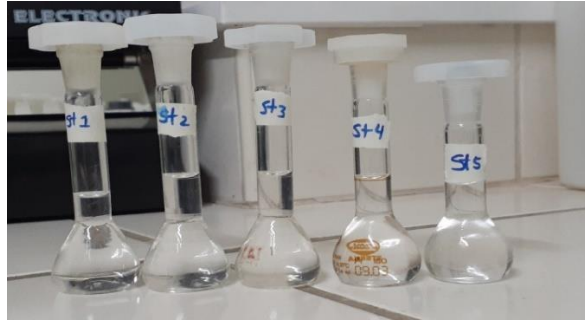


FIGURA 25: Preparación de patrones de trolox

La tabla 14 se muestra las 5 diferentes concentraciones de trolox en μM , y sus respectivas absorbancias realizadas por triplicado.

TABLA 14: Calibración del método DPPH con patrones de trolox

Concentración (μM)	Absorbancia*
20	0,852
40	0,738
60	0,597
80	0,485
100	0,349

* media del triplicado de absorbancias de trolox

Fuente: Elaboración propia

A partir de la concentración y la absorbancia que son presentadas en la tabla 14 de los patrones de trolox, se realizó el gráfico de calibración que muestra la fig. 26

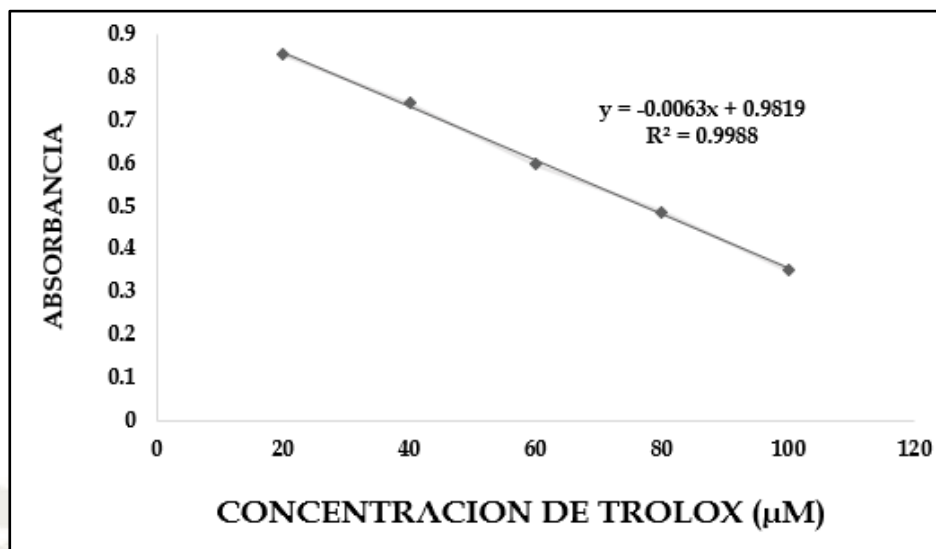


FIGURA 26: Gráfico de calibración del método DPPH

Los puntos corresponden a los 5 patrones de medición experimental, la línea corresponde al ajuste matemático representado por la ecuación de la recta y con una linealidad, $r^2 = 0.9988$

Además, se realizó un análisis de regresión lineal del porcentaje de inhibición de DPPH de los estándares respecto a la concentración de estos, tomando en cuenta la absorbancia del blanco (1.673) como 100 %

La actividad antioxidante es expresada como el porcentaje de inhibición o de captación del radical DPPH. En la siguiente tabla se observan los valores obtenidos reemplazando la fórmula dada a continuación:

$$\% \text{ INHIBICION} = \left(1 - \frac{Ax}{Ab}\right) \times 100$$

Dónde:

Ax = Absorbancia de la muestra

Ab = Absorbancia de solución a tiempo 0

Los resultados de este análisis se muestran en la siguiente tabla:

TABLA 15: Tabla de concentración (μM) vs % inhibición DPPH

Concentración (μM)	% Inhibición DPPH
20	49.07
40	55.88
60	64.31
80	71.01
100	79.14

Fuente: elaboración propia

A partir de la concentración de trolox vs porcentaje de inhibición del radical DPPH se interpoló los datos en un gráfico de calibración, como muestra la Fig. 27

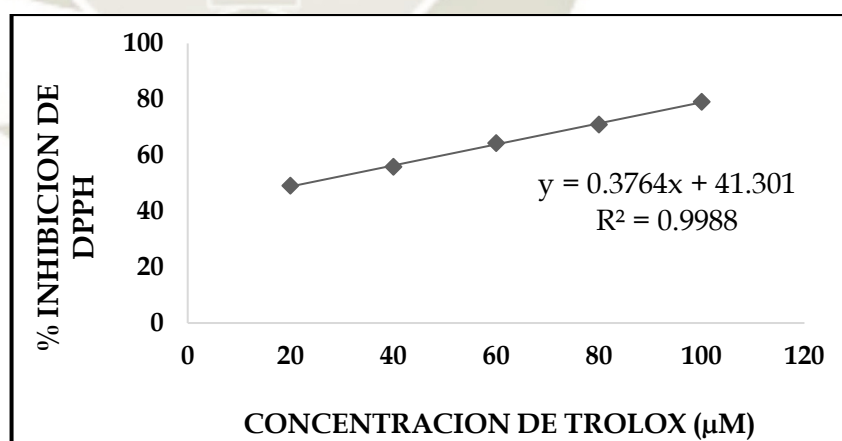


FIGURA 27: Gráfico % inhibición vs concentración de trolox

Los puntos corresponden a los 5 puntos de % inhibición de DPPH, la línea corresponde al ajuste matemático representado por la ecuación de la recta y con una linealidad, $r^2 = 0.9988$

3.5.2.2 Lectura de la capacidad antioxidante por método DPPH

Las lecturas de absorbancia de ambas muestras de marañón se interpolan utilizando la ecuación de la regresión lineal según la Fig. 27 para calcular la concentración de trolox en mM.

Los datos procesados se presentan en la Tabla 16.

TABLA 16: Concentración en mM de trolox en los frutos liofilizados de dos variedades de marañón por el método DPPH

<i>Muestra</i>	<i>Absorbancia</i>			<i>Media</i>	<i>St. Dev.</i>	<i>Concentración * F.D.</i>
	<i>Rep. 1</i>	<i>Rep. 2</i>	<i>Rep. 3</i>			
<i>Anacardium o. L Rojo</i>	0,1720	0,1720	0,1750	0,1730	0,001	4.28 mM trolox
<i>Anacardium o.L amarillo</i>	0,1480	0,1480	0,1500	0,1490	0,001	4.41 mM trolox

St. Dev: Desviación estándar. C.V. %: Coeficiente de variación porcentual. F.D: 33.33

Fuente: Elaboración propia

La capacidad antioxidante de los frutos de marañón rojo y amarillo se obtuvieron en concentración de mM de trolox, dando como resultado 4.28 mM para marañón rojo y 4.41 mM para marañón amarillo, y consecuentemente ser expresados en mg de trolox/100g de fruto liofilizado obteniéndose 994 mg TE/100g para marañón rojo y 1166 mg TE /100 g para marañón amarillo, apreciándose la mayor capacidad antioxidante por este método para la variedad amarilla.

Se interpoló la concentración de trolox de las muestras de marañón rojo y amarillo a porcentaje de inhibición del radical DPPH; utilizando la ecuación de regresión lineal.

Tabla 17: % Inhibición del radical DPPH para muestras de Anacardium Occidentale L

Muestra	% Inhibición DPPH			Media	St. Dev.	C.V.%
	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3			
<i>Anacardium o. L. rojo</i>	89,69	89,69	89,51	89,63	10,3	0,1
<i>Anacardium o. L. amarillo</i>	91,12	91,00	91,00	91,04	6,9	0,1

St. Dev: Desviación estándar. C.V. %: Coeficiente de variación.

Fuente: Elaboración propia

La capacidad antioxidante y el porcentaje de inhibición del radical DPPH para las muestras de marañón rojo fue de 4.28 mm trolox (89.63 %) y para la muestra de marañón amarillo fue de 4.41 mm trolox (91.04 %) respectivamente, que fueron expresados en mg TE/100 g de fruto liofilizado, 1069,57 mg TE/100 g en la variedad roja y 1102,11 mg TE/100 g en la variedad amarilla.



FIGURA 28: Extractos metanólicos de marañón en presencia de solución DPPH

En la Figura 28, se observa como el color violeta característico de la solución de DPPH se va decolorando en presencia de un antioxidante (marañón) hasta llegar a un color amarillo, guardando una relación inversa con la actividad antioxidante, es así a menor coloración mayor es la actividad antioxidante, y a mayor coloración, la actividad antioxidante es menor.

3.6 Contenido de Acido Ascórbico

3.6.1 Estándar de Acido Ascórbico

Se observa en la figura 29, la celda electroquímica con 1 mL de estándar y 10 mL de buffer el cual se le adicionó dos veces 100 μ L de estándar de ácido ascórbico por el método de adición de estándar.

Se determinó el potencial pico de oxidación de la solución de estándar de ácido ascórbico descrito anteriormente en el punto 2.6.8.3, que se observa en la Fig. 29

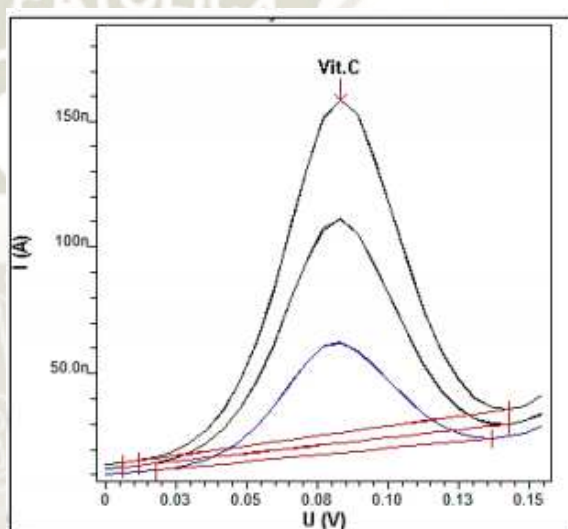


FIGURA 29: Potencial de pico de oxidación del estándar de ácido ascórbico

Fuente: propia

3.6.2 Lectura de contenido de Ácido Ascórbico

Se realizó el mismo procedimiento según el punto 3.6.1 reemplazando el estándar de ácido ascórbico por las muestras en estudio, observándose en el anexo VII, las diferentes gráficas del pico de oxidación de ácido ascórbico en los extractos de marañón rojo y amarillo.

Se muestra en la tabla 18, el contenido de ácido ascórbico de las muestras de marañón rojo y amarillo.

TABLA 18: Concentración en mg% de ácido ascórbico de frutos liofilizados de marañón rojo y amarillo

<i>Muestra</i>	<i>Acido Ascórbico</i>			<i>Media</i>	<i>C.V.%</i>
	<i>Rep. 1</i>	<i>Rep. 2</i>	<i>Rep. 3</i>		
<i>Anacardium o. L. rojo</i>	240,455	221,496	205,509	222,487	5,0
<i>Anacardium o. L. amarillo</i>	258,187	260,107	271,294	263,196	14,0

Fuente: Elaboración propia

Se observa en la tabla 18, los resultados de la cuantificación de vitamina C por método voltamperométrico para ambas variedades de Marañón, que luego fueron expresados en mg AA/100g de muestra liofilizada, obteniéndose 1049,96 mgAA/100g para la variedad amarilla y 899,34 mg AA/100g para la variedad roja.

Assuncao y Mercadante (2003) comparo el contenido de AA en las variedades roja y amarilla de Marañón procedentes de la región norte (Piauí) y sur (Sao Paulo) de Brasil, siendo de mayor concentración en la variedad amarilla para ambas regiones en estudio con 121 mgAA/100g y 109 mgAA/100g respectivamente; mientras que en el presente estudio se reportó niveles más altos de AA y que también la variedad amarilla presenta mayor contenido de AA respecto a la variedad roja ^[8].

3.7 Comparación general para estudio de capacidad antioxidante

Al finalizar los métodos ensayados para las muestras liofilizadas de marañón rojo y marañón amarillo, se realizó un cuadro comparativo de los resultados expresados en mg TE/100g de muestra para la determinación de capacidad antioxidante (CUPRAC Y DPPH), mg AG/100g de muestra para determinación de compuestos fenólicos por método Folin-Ciocalteu y finalmente mg AA/100g de muestra para la determinación de Vitamina C por método voltamperométrico; expresados en la tabla 19.

TABLA 19: Resultados para capacidad antioxidante

CAPACIDAD ANTIOXIDANTE		
Muestra	Método DPPH (mg TE/100g)	Método CUPRAC (mg TE/100g)
<i>Anacardium Occidentale L rojo</i>	1069,57 mg	726,88 mg
<i>Anacardium Occidentale L amarillo</i>	1102,11 mg	734,18 mg

Fuente: elaboración propia

Los resultados obtenidos para cuantificación de polifenoles y ácido ascórbico expresados en porcentaje de muestra liofilizada se muestran en la tabla 20.

TABLA 20: Resultados de valores medidos de compuestos fenólicos y Ácido Ascórbico

Muestra	Compuestos fenólicos (mg GAE/100g)	Acido Ascorbico (mg AA/100g)
<i>Anacardium occidentale L rojo</i>	1064,25 mg	899,34 mg
<i>Anacardium occidentale L amarillo</i>	889,49 mg	1049,96 mg

Fuente: elaboración propia

La fig. 30, describe el gráfico de cajas y bigotes comparando resultados de capacidad antioxidante por método CUPRAC entre marañón amarillo y rojo.

La variedad amarilla tiene mayor capacidad antioxidante que la roja ya que los resultados medidos, en el marañón amarillo se obtuvo 734,18 mg TE/ 100 g mientras que el marañón rojo se obtuvo 726,88 mg TE/ 100 g de fruta liofilizada; como lo muestra la Tabla 20.

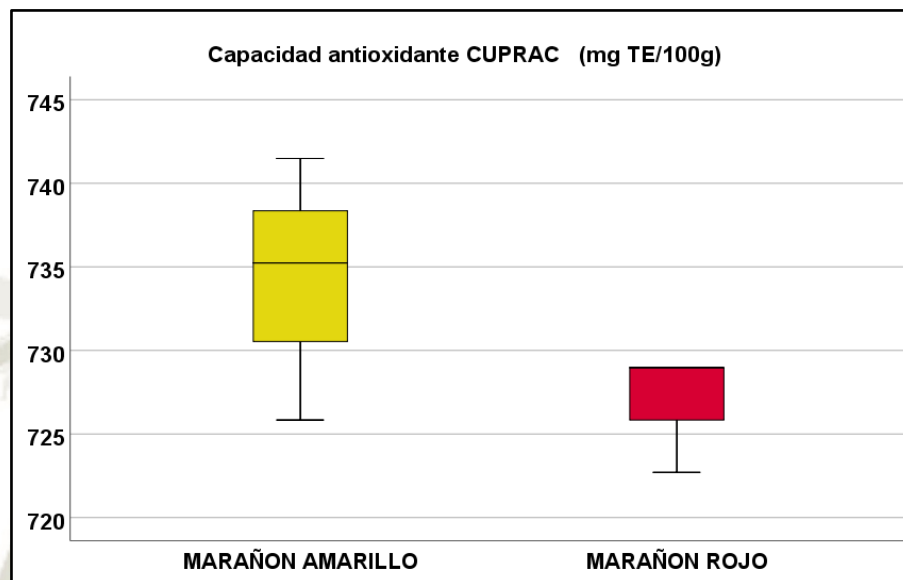


FIGURA 30: Grafico de cajas y bigotes para muestras de MR y MA

En la Figura 31, se observa por medio de un gráfico de cajas y bigotes, que el marañón amarillo tiene mayor capacidad antioxidante que el marañón rojo por el método de DPPH, ya que los resultados medidos, en la variedad amarilla se obtuvo 1102,11 mg TE/ 100 g mientras que el marañón rojo se obtuvo 1069,57 mg TE/ 100g

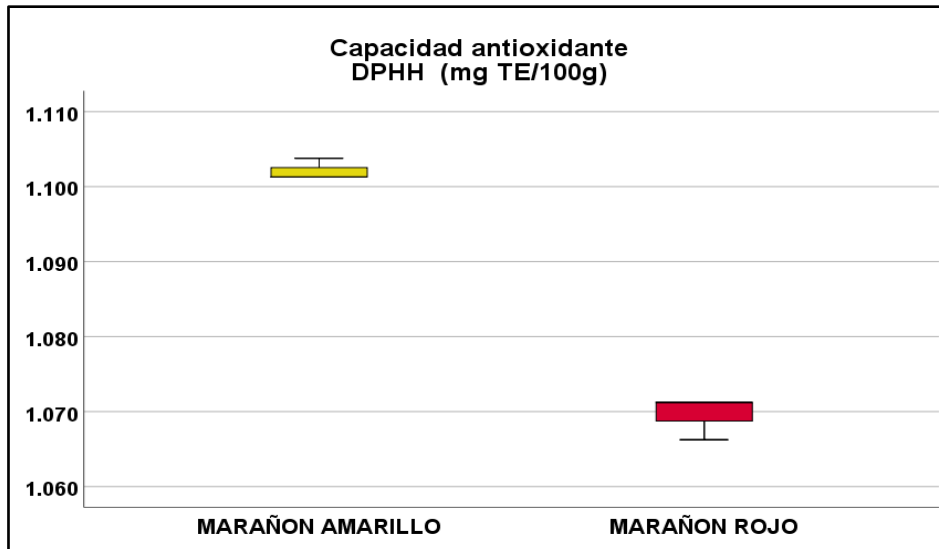


FIGURA 31: Grafico de cajas y bigotes para muestras de MR y MA

En la Figura 32, se observa por medio de un gráfico de cajas y bigotes, que el marañón amarillo tiene mayor cantidad de polifenoles totales que el marañón rojo por el método de Folin Ciocalteu, ya que se cuantifico 889,49 mg TE/ 100 g para la variedad amarilla mientras que la variedad roja obtuvo 1064,25 mg TE/ 100 g

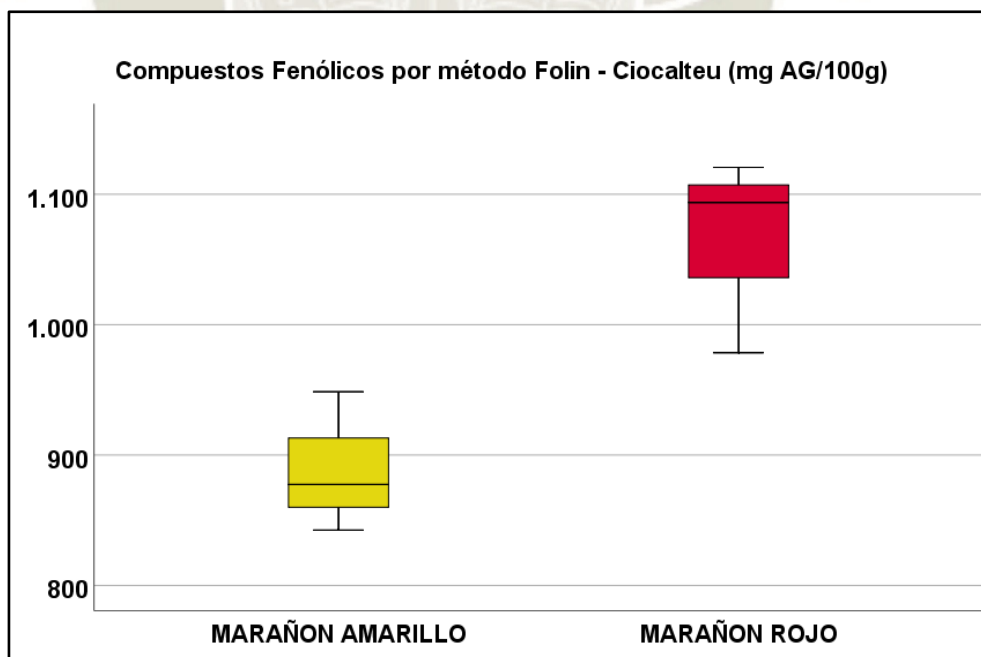


FIGURA 32: Gráfico de cajas y bigotes para muestras de MR y MA

En la Figura 33, se observa por medio de un gráfico de cajas y bigotes, la concentración de vitamina C, expresados en mgAA/100g de muestra, donde la variedad de marañón amarillo tiene mayor contenido de AA con un valor de 1103,78 mg TE/ 100 g mientras que, la variedad de marañón rojo se obtuvo 1071,24 mg TE/ 100 g

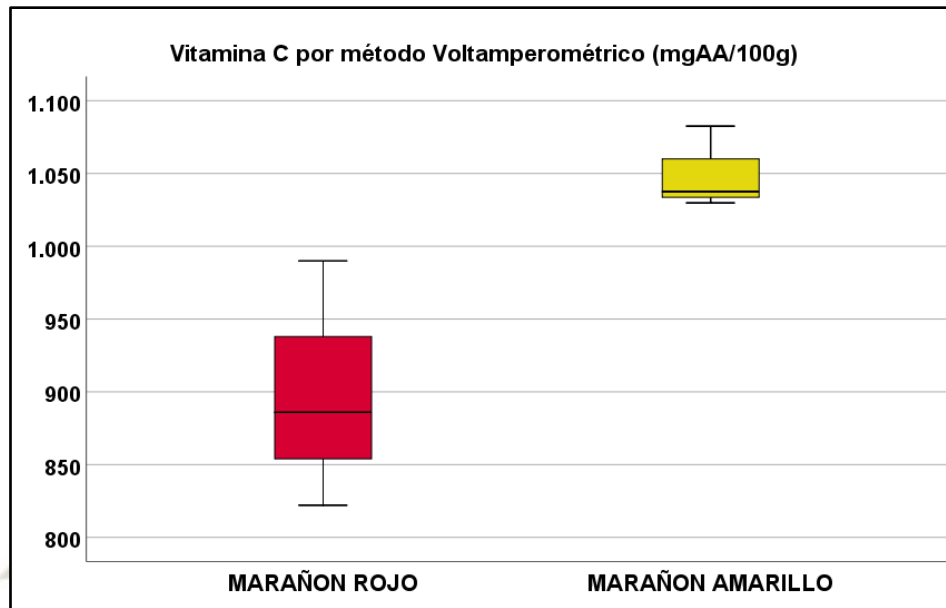


FIGURA 33: Gráfico de cajas y bigotes para muestras de MR y MA

En la figura 34, se muestra mediante grafico de barras la comparación de resultados expresados en mgTE/100g en la variedad de marañón rojo, el método de DPPH con 1069,57 mgTE/100g a comparación de 726,88 mgTE/100g para el método CUPRAC.

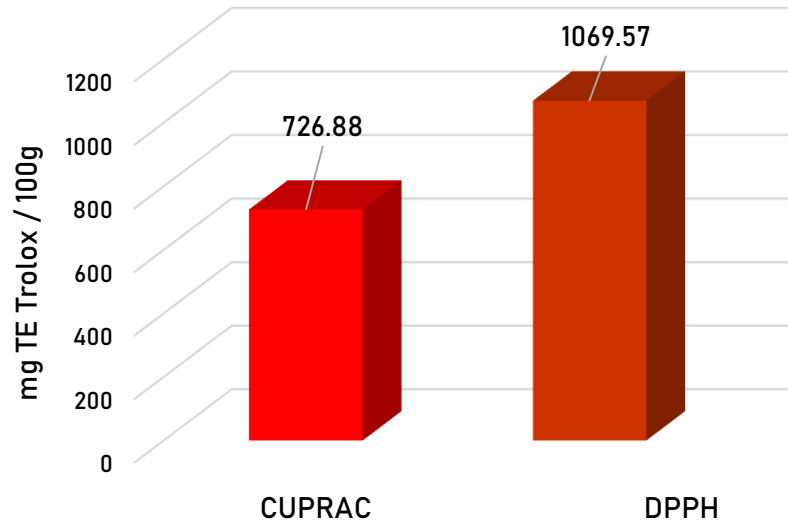


FIGURA 34: Comparación entre métodos para la determinación de capacidad antioxidante para MR

En la figura 35, se muestra mediante gráfico de barras la comparación de resultados expresados en mgTE/100g, el método de DPPH con 1102,11 mgTE/100g es mayor en comparación de 734,18 mgTE/100g para el método CUPRAC.

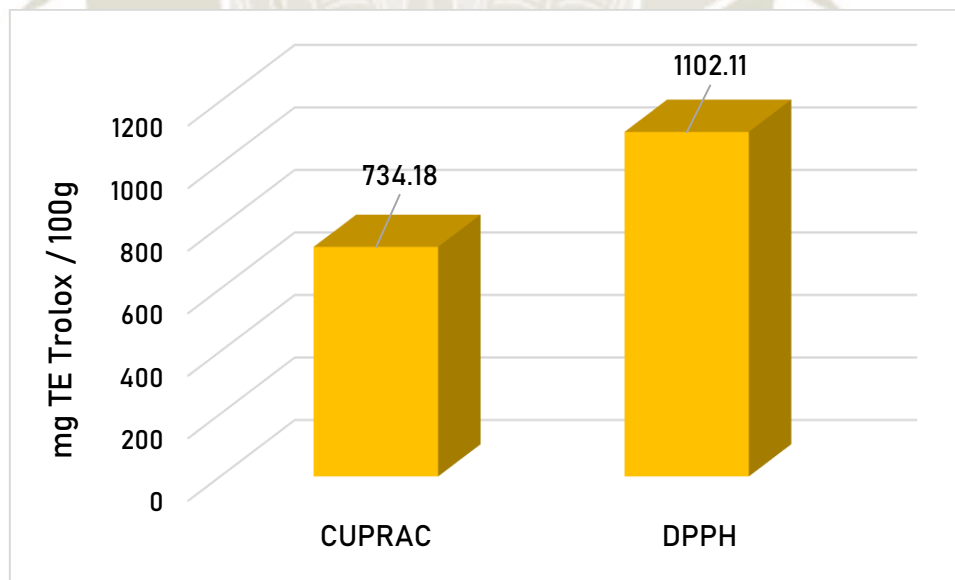


FIGURA 35: Comparación entre métodos para la determinación de capacidad antioxidante para MA

En la figura 36, se muestra mediante grafico de barras la comparación de resultados expresados en mgAA/100g que la variedad de marañón amarilla posee mayor contenido de AA (1049,96 mgAA/100g) mientras que la variedad de marañón rojo obtuvo un contenido menor de AA (899 mgAA/100g).

Falade J.A. (1981), reportaron una mayor cantidad de contenido de AA en la variedad roja que en la amarilla siendo 338 mgAA/100g y 318 mgAA/100g respectivamente, además que en el presente estudio se obtuvo mayores concentraciones de AA para ambas variedades que es lo que se espera por la diferencia de suelos, clima y región geográfica para la variación de los resultados. [71]

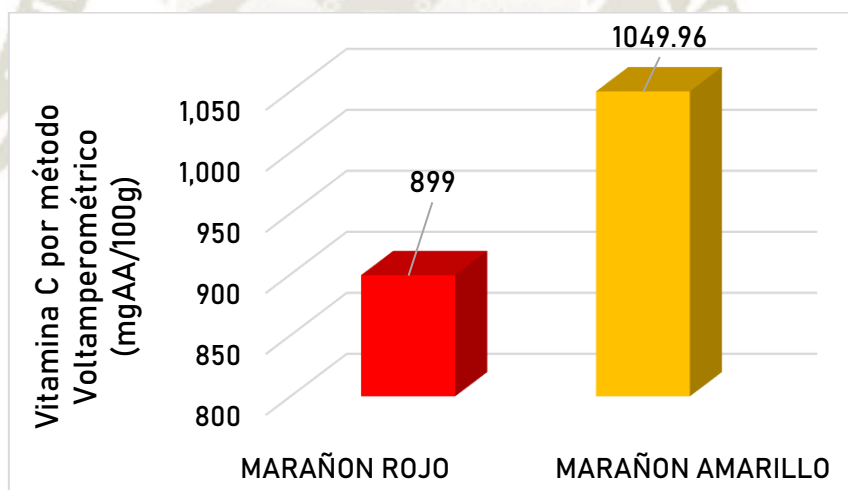


FIGURA 36: Comparación de contenido de Vitamina C entre MR y MA

La mayor capacidad antioxidante en las muestras de marañón fue la especie amarilla en comparación a la especie roja, que se le puede atribuir su alta concentración en Vitamina C, además de presentar flavanoles como derivados glicosilados de quercetina y mirecetina, kaempferol como principales compuestos fenólicos, que en comparación en diferentes estudios que demuestran a las antocianinas como principal agente causante de la capacidad antioxidante en ensayos realizados por Hassimoto et al [78]; en hojas de col roja, mullberry, frijol negro y lechuga roja.

Tal como en la figura 37, el marañón rojo evidencia mayor cantidad de polifenoles totales en comparación a la especie amarilla.

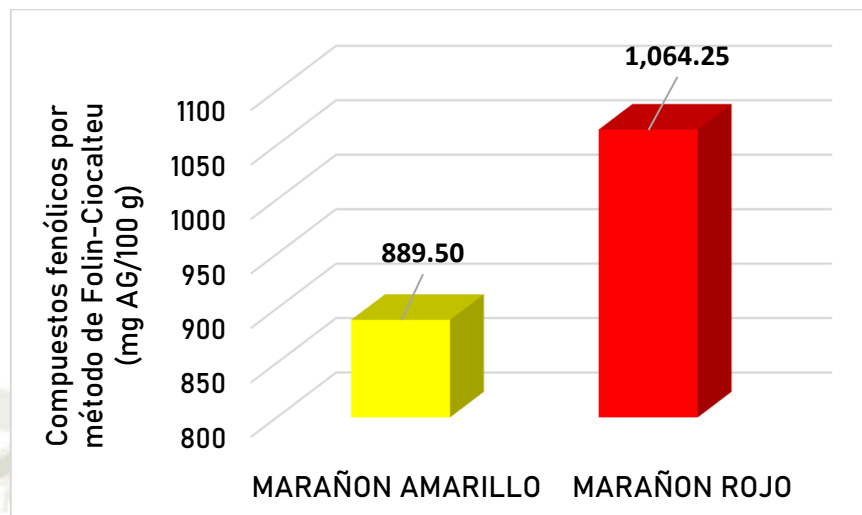


FIGURA 37: Comparación de contenido de compuestos fenólicos entre MR y MA

Además, que ambas especies de marañón deben su capacidad antioxidante provienen de componentes hidrosolubles que liposolubles, es decir, que vitamina C y los polifenoles totales presentan mayor capacidad antioxidante que los beta caroteno, vitamina E y carotenoides totales, que poseen una baja concentración en su composición. [79]

Es así, que el fruto amarillo podría deberse su mayor capacidad antioxidante por su alta concentración en vitamina C mientras que el fruto rojo a su alto contenido en polifenoles.

Las diferencias de las concentraciones de polifenoles y vitamina C entre las especies podrían deberse a que son especies diferentes, el comportamiento pro oxidante de la vitamina C en estudios de acerola; en los que reporto niveles alto de antocianidinas, pero que su capacidad antioxidante fue baja, por tanto, se podría comparar con los resultados de capacidad antioxidante en marañón rojo que se obtuvieron en este estudio [71,78].

CONCLUSIONES

1. Se liofilizaron los frutos de *Anacardium occidentale* L con un porcentaje de rendimiento de liofilización de 62.26 % para la variedad rojo y 61.77 % para la variedad amarilla.
2. Se identificó los principales grupos de metabolitos secundarios para ambas variedades de “*marañón*” como taninos, azúcares, alcaloides, fenoles y quinonas.
3. Se determinó los compuestos fenólicos por método Folin – Ciocalteu, siendo los valores para la variedad amarilla 889,49 mg eq AG/100g y para la variedad roja 1064,25 mg eq AG/100g
4. Se determinó el contenido de ácido ascórbico por método voltamperométrico, donde se obtuvo 1049,96 mg TE/100g en la variedad amarilla y 899,34 mg TE/100g en la variedad roja.
5. Se determinó la capacidad antioxidante por método DPPH, donde se obtuvo 1102,11 mg TE/100g en la variedad amarilla y 1069,57 mg TE/100g en la variedad roja.
6. Se determinó la capacidad antioxidante por método CUPRAC, donde se obtuvo 734,18 mg TE/100g en la variedad amarilla y 726,88 mg TE/100g en la variedad roja.

REFERENCIA BIBLIOGRAFICA

- [1] Halliwell B., (2006) Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiology* 141, 310–322.
- [2] Martínez Y, Martínez O, Escalona A, Soto F, Valdivié M. Composición química y tamizaje fitoquímico del polvo de hojas y retoños del *Anacardium Occidentale L.* (marañón). *Rev Cubana Plant Med.* 2012, 65-72
- [3] Moura, C. F. H. Quality of 62 clones from irrigated precocious dwarf cashew trees (*Anacardium Occidentale L* Master's thesis, Federal University of Ceara, Fortaleza, Brazil, 1998.
- [4] Tedong, L., Madiraju, P., Martineau, L. C., Vallerand, D., Arnason, J. T., Desire, D. D. P., Haddad, P. S. (2010). Hydro-ethanolic extract of cashew tree (*Anacardium Occidentale L*) nut and its principal compound, anacardic acid, stimulate glucose uptake in C2C12 muscle cells. *Molecular Nutrition & Food Research*, 54(12), 1753–1762.
- [5] Trevisan, M. T. S., Pfundstein, B., Haubner, R., Würtele, G., Spiegelhalter, B., Bartsch, H., & Owen, R. W. (2006). Characterization of alkyl phenols in cashew (*Anacardium Occidentale L*) products and assay of their antioxidant capacity. 42, 16-23
- [6] Michodjehoun-Mestres L, Souquet J-M, Fulcrand H, Bouchut C, Reynesa M, Brillouet J-M (2009) Monomeric phenols of cashew apple (*Anacardium occidentale L.*). *Food Chem* 112:851–856
- [7] Coto Amaya, O. M. 2003. Guía técnica del marañón. La Libertad, El Salvador. Consultado 20 enero 2020. [http:// www.centa.gob.sv Guía %20maranon%202003.pdf](http://www.centa.gob.sv/Guía%20maranon%202003.pdf) pag 7-11
- [8] Assuncao, R. B., & Mercadante, A. Z. (2003). Carotenoids and ascorbic acid from cashew apple (*Anacardium Occidentale L* variety and geographic effects. *Food Chemistry*, 81, 495–502.
- [9] Vasquez Reategui J., Plantas medicinales de la amazonia peruana. Estudio de su uso y cultivo, Iquitos (Peru); pag 77,78,79

- [10] Lowor ST, Agyente-Badu CK (2009) Mineral and proximate composition of cashew apple (*Anacardium Occidentale L* juice from Northern Savannah, forest and Coastal Savannah regions in Ghana. *Am J Food Technol* 4:154–161
- [11] Kubo, J.; Lee, J. R.; Kubo, I. Anti-Helicobacter pylori agents from the cashew apple. *J. Agr. Food Chem.* 1999, 47, 533–537. 10.
- [12] Madhuri, S.; Pandey, G. Some anticancer medicinal plants of foreign origin. *Curr. Sci.* 2009, 96(6), 779–783
- [13] Orrego A., Carlos E., 2004 Apuntes del Curso Procesamiento de Alimentos: línea de profundización, Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ingeniería y Arquitectura – Sede Manizales. 15-Sept-2004
- [14] Correia da Costa J.M. , Milô de Freitas E.F. , Arraes G. , Ferreyra F.F & Montenegro I. Brasil (2008), Production and Characterization of the cashew apple (*Anacardium Occidentale L*) and guava (*Psidium Guajava l.*) Fruit powders, 24(2),301-308
- [15] Kaprasob, R., Kerdchoechuen, O., Laohakunjit, N., Thumthanaruk, B., & Shetty, K. (2018). Changes in physico-chemical, astringency, volatile compounds and antioxidant activity of fresh and concentrated cashew apple juice fermented with *Lactobacillus plantarum*. *Journal of Food Science and Technology*.
- [16] Souza, N. C., de Oliveira, J. M., Morrone, M. da S., Albanus, R. D., Amarante, M. do S. M., Camillo, C. da S.; Pasquali, M. A. de B. (2017). Antioxidant and Anti-Inflammatory Properties of *Anacardium Occidentale L* Leaf Extract. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2017, 1–8.
- [17] Floegel A, Kim DO, Chung SJ, Koo SI, Chun OK. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of Food Composition and Analysis*. 2011;24(7):1043,1051.
- [18] Villanueva J., Condezo L., Asquieri E., Antocianinas, ácido ascórbico, polifenoles totales y actividad antioxidante, en la cáscara de camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K) McVaugh). *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas. 2010;30(1):151,160.
- [19] Kuskoski EM, Asuero AG, Troncoso AM. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Cien. Tecnol. Aliment.* 2005;25(4):726-32.

- [20] Naranjo M, Velez LT, Rojano B. A. Antioxidant activity of different grades of Colombian coffee. *Rev Cubana Plant Med.* 2011;16:164-173.
- [21] Sousa de Brito E. , Pessanha de Araujo M., Lin L.Z, Harnly J., Determination of the flavonoid components of cashew apple (*Anacardium Occidentale L*) by LC-DAD-ESI/MS, 2007, 1113-1117
- [22] Mary J., Vouquier S., Picot C., Perichon M., Petropoulos I., Friguet B. Enzymatic reactions involved in repair of oxidized proteins. *Exp Gerontology* 2004; 39: 1117
- [23] González A., R. Nutrición, Estrés Oxidativo y Envejecimiento. *Avances Médicos de Cuba*, Centro Internacional de Restauración Neurológica, C. Habana, Cuba, p38-43, 2000
- [24] Ángel Gil Hernández. *Tratado de Nutrición: Composición y Calidad Nutritiva de los alimentos*, Tomo II. 2ª ed. Editorial médica panamericana, 2010.
- [25] Kim, D.-O., & Lee, C. Y. (2002). Extraction and Isolation of Polyphenolics. *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, 6(1), 11.2.1–11.2.12.
- [26] Geigy D. “Tablas Científicas.” Ed. Sadagcolor. 7 Ed. Barcelona 1975, 56-62
- [27] Avalos, A., & Pérez, E. (2009). Metabolismo secundario de plantas. *REDUCA (Biología)*, 2(4).
- [28] Jovanovic, L. (2006). New synthetic approaches to 8, 5'-neolignans
- [29] Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., Troncoso, A. M., Mancini-Filho, J., & Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 25(4), 726–732.
- [30] Diane L. Tribble. Antioxidant Consumption and Risk of Coronary Heart Disease: Emphasis on Vitamin C, Vitamin E, and β -Carotene: A Statement for Healthcare Professionals From the American Heart Association. *Circulation* 1999, 99:591-595
- [31] Queiroz, C., Lopes, M. L. M., Fialho, E., & Valente-Mesquita, V. L. (2011). Changes in bioactive compounds and antioxidant capacity of fresh-cut cashew apple. *Food Research International*, 44(5), 1459–1462.

- [32] Moreno, E., Ortiz, B. L., & Restrepo, L. P. (2015). Contenido total de fenoles y actividad antioxidante de pulpa de seis frutas tropicales. *Revista Colombiana de Química*, 43(3), 41–48.
- [33] Yew W. S., Gerlt J. A., (2002) Utilization of L-ascorbate by *Escherichia coli* K-12: assignments of functions to products of the *yjf-sga* and *yia-sgb* operons. *Journal of Bacteriology* 184, 302–306.
- [34] Cubero N., Monferrer A., Villalta J., Colección tecnología de alimentos: Aditivos Alimentarios. Grupo Mundi-Prensa. 2002.
- [35] Gordon A., Friedrich M., Martins da Matta V., Herbster C., Marx F., Changes in phenolic composition, ascorbic acid and antioxidant capacity in cashew apple (*Anacardium Occidentale L.*) during ripening, 2012, 1-7
- [36] Gest N, Gautier H, Stevens R (2013) Ascorbate as seen through plant evolution: the rise of a successful molecule. *Journal of Experimental Botany* 64, 33-53.
- [37] Foyer CH, Noctor G (2011) Ascorbate and glutathione: the heart of the redox hub. *Plant Physiology* 155, 2–18.
- [38] Sudha J., Devaki and Reshma Lali Raveendran (August 2nd 2017). Vitamin C: Sources, Functions, Sensing and Analysis, 4(76), 54-64
- [39] Smirnoff N., (2000) Ascorbic acid: metabolism and functions of a multi-faceted molecule. *Current Opinion in Plant Biology* 3, 229–235.
- [40] Nuria Cubero, Albert Monferrer, Jordi Villalta. Colección tecnología de alimentos: Aditivos Alimentarios. Grupo Mundi-Prensa. 2002.
- [41] Bartolo R., Chávez C. Determinación de la capacidad antioxidante in vitro del decocto de la coronta de *Zea mays L.* (variedad morada) del Distrito de Cajabamba, departamento de Cajamarca 2010. Disponible en la Biblioteca de la Facultad de Farmacia y Bioquímica la Universidad Nacional de Trujillo.
- [42] La Rosa A., Toro G., Vigo F., Muedas G., “Evaluación de la actividad antioxidante del pisco peruano mediante voltametría cíclica”, pág. 3-4 (2011)

- [43] Özyürek M., Güçlü, K., & Apak, R. (2011). The main and modified CUPRAC methods of antioxidant measurement. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 30(4), 652–664. Doi:10.1016/j.trac.2010.11.016
- [44] Carracedo Pinal Ambel. (1999) “Desarrollo de técnicas electroanalíticas aplicables a metales en fluidos biológicos de interés biosanitario. Determinación de Cu en LCR (líquido cefalorraquídeo)”[tesis doctoral], Universidad de Extremadura..
- [45] Murphy, D. M., & Koop, T. (2005). Review of the vapour pressures of ice and supercooled water for atmospheric applications. *Q. J. R. Meteorol. Soc*, 1539-1565.
- [46] Duan, X., Zhang, M., Mujumdar, A. S., & Wan, S. (2010). Microwave freeze drying of sea cucumber (*Stichopus japonicus*). *Journal of Food Engineering* 96, 491-497.
- [47] King, J. (1974). Application of freeze drying to food products, en *Freeze drying and advanced food technology*, S.A. Goldblith, L. Rey, y W. W. Rothmayr, Editores. Academic Press: London, p. 333 – 349
- [48] Ulloa M., Jaime Salvador (2018), “Aplicacion de microperforacion utilizando laser CO₂ en el proceso de liofilizacion de alimentos: Efecto en el tiempo de secado” [tesis de título y maestría], Universidad Tecnica Federico Santa Maria.
- [49] Devahastin, S. (2007). Review of: “Industrial Drying of Foods” edited by Christopher G.J. Baker Blackie Academic & Professional, London, UK 1997, 309 pages. *Drying Technology* 16(3-5), 917-918.
- [50] Ochse, Soule, Dykman, Wehburg. 1991. Cultivo y mejoramiento de plantas tropicales y subtropicales. Ed. Limusa. México. 56-61
- [51] Velardi, S. A., & Barresi, A. A. (2008). Development of simplified models for the freeze-drying process and investigation of the optimal operating conditions. *Chemical engineering research and design*, 86, 9-22.
- [52] Ou B., Hampsch-Woodill M., Prior R.L., Development and validation of an improved oxygen radical absorbance capacity assay using fluorescein as the fluorescent probe.J. *Agric Food Chem*. 2001;49:4619-26.
- [53] Andari V., MS. La Importancia de los Antioxidantes en la Salud Cardiovascular. *Childhooh matters*, 2012, pág. 43-55

- [54] Gonzales MC, Soto M. Actividad antioxidante de flavonoides del tallo de orégano Mexicano. Rev. Fitotec. Mex. 2007;30(1):43,49
- [55] Mahadik S, Scheffer R. Oxidative injury and potential use of antioxidants in schizophrenia. Prostagland, Leukotr and Essenc Fat Ac 1996; 44-54.
- [56] Mahadik S, Mukherjee S. Free radical pathology and antioxidant defense in schizophrenia: a review. Schizophr Res 1996; 19: 1-17.
- [57] De Lima, A. C. S., Soares, D. J., da Silva, L. M. R., de Figueiredo, R. W., de Sousa, P. H. M., & de Abreu Menezes, E. (2014). In vitro bioaccessibility of copper, iron, zinc and antioxidant compounds of whole cashew apple juice and cashew apple fiber (*Anacardium Occidentale L.*) following simulated gastro-intestinal digestion. Food Chemistry, 161, 142–147.
- [58] Prior RL, Wu X, Schaich K. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. J. Agric. Food Chem. 2005; 53:4290-4302.
- [59] Hammami, C., & René, F. (1997). Determination of Freeze-drying Process Variables for Strawberries. Journal of Food Engineering 32, 133-154.
- [60] Veiga E, Aguilar JA, Clavo B, Llanes L. Radicales libres, formación y daño celular. El sistema antioxidante como protector frente a los radicales libres. Análisis Clínicos 1997; 22: 201-216.
- [61] Olajide, O. A., Aderogba, M. A., Adedapo, A. D. A., & Makinde, J. M. (2004). Effects of *Anacardium occidentale* stem bark extract on in vivo inflammatory models. Journal of Ethnopharmacology, 95(2-3), 139–142.
- [62] Vanderlinde, F. A., Landim, H. F., Costa, E. A., Galdino, P. M., Maciel, M. A. M., Anjos, G. C. dos, Rocha, F. F. da. (2009). Evaluation of the antinociceptive and anti-inflammatory effects of the acetone extract from *Anacardium occidentale L.* Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, 45(3), 437–442.
- [63] Floyd R. Antioxidants, oxidative stress and degenerative neurological disorders. PSEBM 1999; 222: 236-245

- [64] Moo-Huchin, V. M., Moo-Huchin, M. I., Estrada-León, R. J., Cuevas-Glory, L., Estrada-Mota, I. A., Ortiz Vázquez, E., Sauri-Duch, E. (2015). Antioxidant compounds, antioxidant activity and phenolic content in peel from three tropical fruits from Yucatan, Mexico. *Food Chemistry*, 166,17-22.
- [65] Falkowski PG (2006) Evolution. Tracing oxygen's imprint on earth's metabolic evolution. *Science* 311, 1724–1725.
- [66] Apak R, Güçlü K, Demirata B, Özyürek M, Celik SE, Bektasoglu B, Berker KI, Ozyurt D. Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules* 2007; Pág. , 43-46 .
- [67] Rufino, M. S. M., Alves, R. E., Brito, E. S., Pérez-Jiménez, J., Saura-Calixto, F., & Mancini-Filho, J. (2010). Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. *Food Chemistry*, 121(4), 996–1002
- [68] Raymond J, Segre D (2006) The effect of oxygen on biochemical networks and the evolution of complex life. *Science* 311, 1764–1767.
- [69] Méndez Natera, J. R. y M. A. Salam. 1997b. Comportamiento agronómico de 18 cultivares de merey (*Anacardium occidentale* L.) en la Estación para la Investigación del Merey en Madakkathara, estado de Kerala, India en el periodo 1995-96. *Oriente Agropecuario* 22: 115-127
- [70] Singleton V L, Orthofer R, Lamuela-Raventós RM. “Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin- Ciocalteau reagent” *Methods of Enzymology*, 299 (1999) 152-78
- [71] Falade, J. A. (1981). Vitamin C and Other Chemical Substances in Cashew Apple. *Journal of Horticultural Science*, 56(2), 177–179
- [72] Nagaraja, K. V., Bhuvaneshwari, S., & Swamy, K. R. M. Biochemical characterization of cashew (*Anacardium occidentale* L.) apple juice and pomace in India.

Organizacion de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentacion, Roma (Italia) pág. 7-14; 2011.

[73] Rice-Evans CA, Miller NJ, Paganga G. “Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids” *Free Radical of Biology and Medicine*, Pag. 719-726; 1996

[74] Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. *American journal of enology and Viticulture*. 1965, 16 154-168.

[75] Samaniego C. Estudio y evaluación de la capacidad antioxidante de aceites de oliva virgen extra. Implicación en la salud. (Tesis doctoral), Universidad de Granada; pág. 54-65; 2006.

[76] Bravo, L. Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutr. Rev.* 56, 317-333 (1998).

[77] Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Remesy, C. & Jimenez, L. Dietary polyphenols and the prevention of diseases. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.* 45, 287-306 (2005)

[78] Hassimotto, N. M. A., Genovese, M. I., & Lajolo, F. M. (2005). Antioxidant Activity of Dietary Fruits, Vegetables, and Commercial Frozen Fruit Pulps. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(8), 2928–2935


[79] Gardner, P. T., White, T. A. C., McPhail, D. B., & Duthie, G. G. (2000). The relative contributions of vitamin C, carotenoids and phenolics to the antioxidant potential of fruit juices. *Food Chemistry*, 68(4), 471–474

[80] Cofre A. “Determinación de Polifenoles Totales, Actividad Antioxidante y Antocianinas de Jugo de Murtilla (*Ugni molinae* Turcz) Obtenido por Condensación de Vapor”, (Tesis para optar título de Ingeniero Químico), Universidad Austral de Chile (2015), pág. 20-24

[81] Ochoa I., Ayala A., “Flavonoides: Apuntes generales y aplicación en la industria de alimentos”, (Tesis doctoral), Universidad del Valle, Colombia (2004), pág. 3-8

ANEXOS

I. Constancia de identificación taxonómica de *Anacardium occidentale* L. rojo



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE BIOLOGÍA
HERBARIUM AREQVIPENSE (HUSA)



CONSTANCIA N° 089-2019-HUSA

El Director del *Herbarium Arequipense* (HUSA) de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa.

HACE CONSTAR:

Que la muestra preservada del espécimen presentada por **Mariaelena Esther Paye Turpo y Nicole Patricia Cardenas Pimentel Bachilleres** de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Ciencias Farmaceuticas, Bioquimicas y Biotecnologicas de la Universidad Católica de Santa María, para la ejecución de su Tesis "**Determinación de la capacidad antioxidante de los pseudofrutos liofilizados de dos variedades (amarilla y roja) de marañón (*Anacardium occidentale*)**". La muestra fue traída al Laboratorio de Botánica al estado fenológico preservado, para su determinación en el *Herbarium Arequipense* (HUSA) y corresponde a la siguiente clasificación y especie.

Reino	Plantae
Division	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Sapindales
Familia	Anacardiaceae
Genero	<i>Anacardium</i>
Especie	<i>Anacardium occidentale</i> L. Var. roja

Se expide la presente a solicitud del interesado para los fines que se estimen convenientes.

Arequipa 21 de noviembre del 2019.




Blgo. Leoncio Mariño Herreño
 DIRECTOR
Herbarium Arequipense (HUSA)

Avenida Daniel Alcides Carrión s/n cercado
 Teléfono: (054) 237755 / 993659045
 Apartado Postal: 0028
 AREQUIPA – PERÚ

II. Constancia de identificación taxonómica de *Anacardium occidentale* L. variedad amarilla



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN
FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE BIOLOGÍA
HERBARIUM AREQVIPENSE (HUSA)



CONSTANCIA N° 090-2019-HUSA

El Director del *Herbarium Arequipense* (HUSA) de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa.


HACE CONSTAR:

Que la muestra preservada del espécimen presentada por **Mariaelena Esther Paye Turpo y Nicole Patricia Cardenas Pimentel Bachilleres** de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Ciencias Farmaceuticas, Bioquimicas y Biotecnologicas de la Universidad Católica de Santa María, para la ejecución de su Tesis "**Determinación de la capacidad antioxidante de los pseudofrutos liofilizados de dos variedades (amarilla y roja) de marañón (*Anacardium occidentale*)**". La muestra fue traída al Laboratorio de Botánica al estado fenológico preservado, para su determinación en el *Herbarium Arequipense* (HUSA) y corresponde a la siguiente clasificación y especie.

Reino	Plantae
Division	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Sapindales
Familia	Anacardiaceae
Genero	<i>Anacardium</i>
Especie	<i>Anacardium occidentale</i> L Var. amarilla

Se expide la presente a solicitud del interesado para los fines que se estimen convenientes.

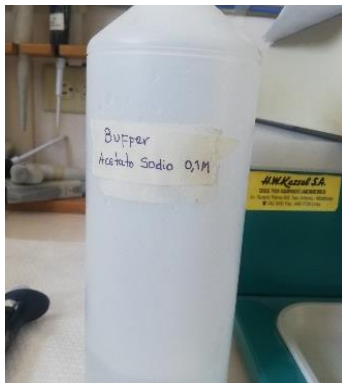
Arequipa 21 de noviembre del 2019.


Blgo. Leoncio Mariño Herrera
DIRECTOR
Herbarium Arequipense (HUSA)



Avenida Daniel Alcides Carrión s/n cercado
Teléfono: (054) 237755 / 993659045
Apartado Postal: 0028
AREQUIPA - PERÚ

III. Reactivos



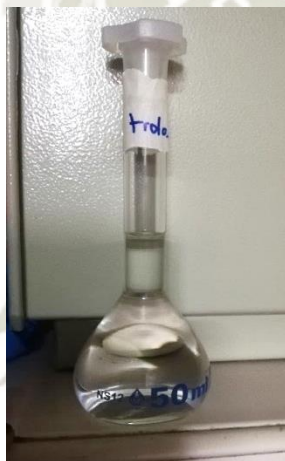
Buffer acetato de sodio 0.1 M



Metanol



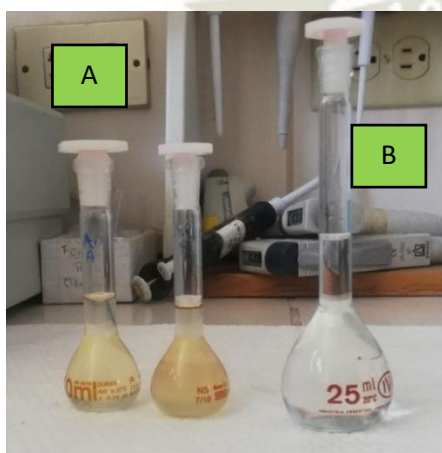
Reactivo DPPH



Estándar de trolox 0.4 M



Reactivos para identificación cualitativa de metabolitos secundarios



A (extractos metanolicos de Marañón rojo y amarillo) y B (Estándar de ácido ascórbico)



IV. Equipos de laboratorio



Muestras en el liofilizador



Medición del pH del buffer a Ph 4.6



Voltámetro

V. Tratamiento de la muestra



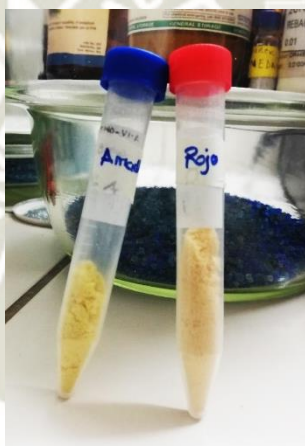
Materia vegetal lavada y removida de impurezas



Marañón rojo



Marañón amarillo



Aspecto muestra vegetal liofilizada



Muestra vegetal en almacenamiento

VI. Identificación de metabolitos secundarios

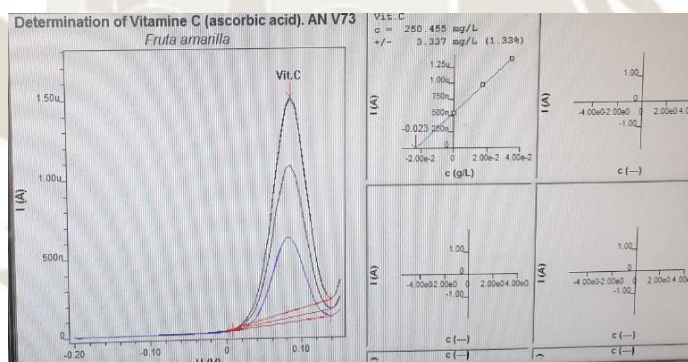


Preparación de extractos metanolicos

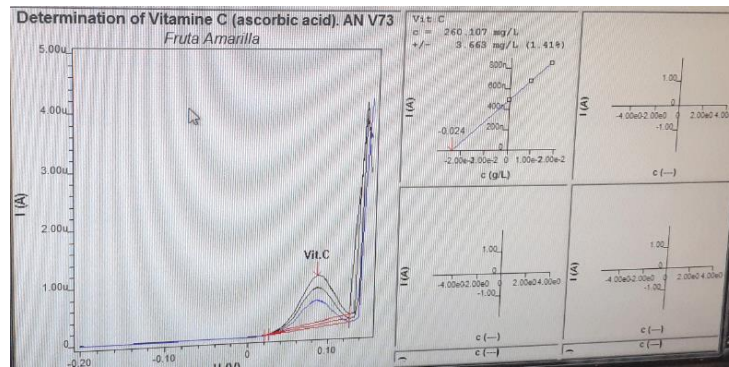


Resumen de identificación de metabolitos

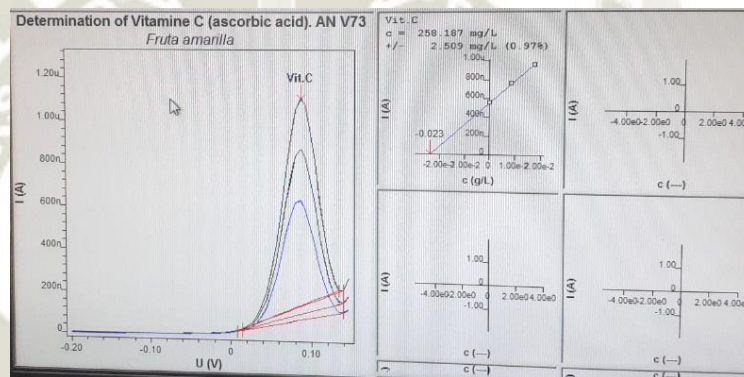
VII. Picos de oxidación de ácido ascórbico por método voltamperométrico en las muestras de *Anacardium occidentale* L. rojo y amarillo



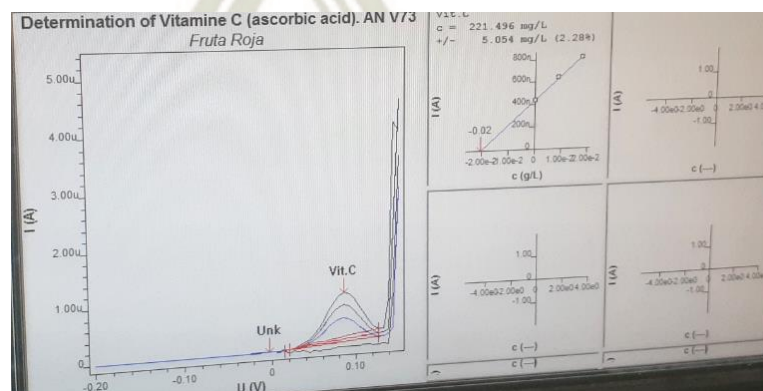
Pico de oxidación de vitamina C en muestra de MA1



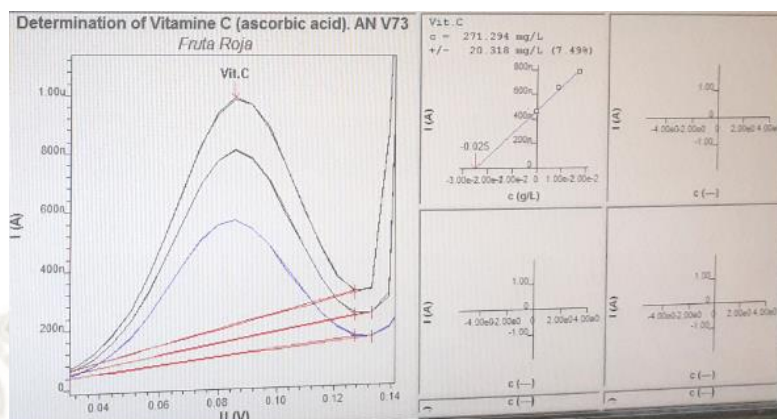
Pico de oxidación de vitamina C en muestra de MA2



Pico de oxidación de vitamina C en muestra de MA3



Pico de oxidación de vitamina C en muestra de MR1



Pico de oxidación de vitamina C en muestra de MR2

VIII. Pruebas estadísticas

TEST F PARA METODO CUPRAC

	Marañón rojo	Marañón amarillo
Media	726.88	734.18
Varianza	13.062	61.97
Tamaño de muestra	3	3
Grados de libertad	2	2
F	0.21	
Valor crítico para F (una cola)	0.05	

PRUEBA T PARA METODO DE CUPRAC

	Marañón rojo	Marañón amarillo
Media	726.88	734.18
Tamaño de muestra	3	3
Grados de libertad	3	
Estadístico t	-1.45	
P(T<=t) una cola	0.12	
Valor crítico de t (una cola)	2.35	
P(T<=t) dos colas	0.24	
Valor crítico de t (dos colas)	3.18	

PRUEBA F PARA METODO DE DPPH

	Marañón Rojo	Marañón Amarillo
Media	1069.57	1102.11
Varianza	8.33	2.08
tamaño de muestra	3	3
Grados de libertad	2	2
F	4	
Valor crítico para F (una cola)	19	

PRUEBA T PARA METODO DE DPPH

	Marañón rojo	Marañón amarillo
Media	1069.57	1102.11
Tamaño de muestra	3	3
Grados de libertad	4	
Estadístico t	-17.46	
P(T<=t) una cola	3.15668E-05	
Valor crítico de t (una cola)	2.131846786	
P(T<=t) dos colas	6.31336E-05	
Valor crítico de t (dos colas)	2.776445105	

PRUEBA F PARA METODO FOLIN - CIOCALTEU

	ANACARDIUM OCCIDENTALE L ROJO	ANACARDIUM OCCIDENTALE L AMARILLO
Media	889.49	1064.25
Varianza	2922.06	5696.32
Tamaño de muestra	3	3
Grados de libertad	2	2
F	0.51	
P(F<=f) una cola	0.33	
Valor crítico para F (una cola)	0.05	

PRUEBA F PARA METOD

FOLINO VOLTAMPEROMETICO

	Marañón Rojo	Marañón Amarillo
Media	899.34	1049.96
Varianza	7186.50	812.29
Tamaño de muestra	3	3
Grados de libertad	2	2
F	8.84	
Valor crítico para F (una cola)	19	

PRUEBA T PARA METODO VOLTAMPEROMETICO

	Marañón Rojo	Marañón Amarillo
Media	899.34	1049.96
Varianza	7186.50	812.29
Tamaño de muestra	3	3
Grados de libertad	2	
Estadístico t	-2.91	
P(T<=t) una cola	0.05	
Valor crítico de t (una cola)	2.92	
P(T<=t) dos colas	0.10	
Valor crítico de t (dos colas)	4.30	