REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS, BIOQUÍMICAS Y BIOTECNOLÓGICAS

PROGRAMA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

"DETERMINACIÓN DEL EFECTO DE LOS EXTRACTOS DE *Capsicum annuum L.* "PIMIENTO ROJO" SOBRE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE TOTAL DEL SUERO DE RATAS CON DIABETES EXPERIMENTAL, AREQUIPA 2013"

Tesis presentada por el bachiller:

Ramos Mamani, Eddy Fernando

Para optar el Título Profesional de:

Químico Farmacéutico

Asesora:

Dra. Roxana Gutiérrez Araníbar

AREQUIPA – PERÚ

2013

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

DEDICATORIA

A Dios, por haberme dado la vida y por permitirme haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional.

A mis padres Willy y Herlinda, porque son ejemplo de sacrificio. A mi hermana Sheyla por estar siempre pendiente de mí y de quien me siento totalmente orgulloso.

A mis familiares y amigos, por darme ánimos y compartir buenos y malos momentos durante toda esta etapa.

A todas las personas que colaboraron en el desarrollo de este trabajo, y que hicieron posible la culminación del mismo.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

AGRADECIMIENTOS

A mis padres por el esfuerzo que realizan día a día en guiar mi vida, por ser siempre fuentes de confianza y amor; porque gracias a ellos crecí con valores, principios y educación.

A mi asesora, la Doctora Roxana Gutiérrez Araníbar, por su constante apoyo y los consejos brindados durante la realización del presente trabajo de investigación, demostrando ser, además de una gran maestra, una gran persona.

Al Doctor Azael Paz, por su apoyo, su amistad y consejo oportuno contribuyendo a la culminación del presente trabajo de investigación.

Finalmente, a mis amigos por brindarme su apoyo y palabras de aliento, por compartir buenos y malos momentos conmigo.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

ÍNDICE

RESUMEN

ABSTRACT

I. CAPÍTULO I: GENERALIDADES

INTRODUCCIÓN 1

OBJETIVOS 4

HIPÓTESIS 5

II. CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

1. ***Capsicum annuum L.*** "Pimiento Rojo" 6

2. Ácido Ascórbico 12

3. Carotenoides 14

4. Compuestos Fenólicos 15

5. Flavonoides 18

6. Capsaicinoides 24

7. Capsinoides. 28

8. Diabetes 30

9. Procesos Oxidativos 35

10. Antioxidantes 43

11. Determinación de la Capacidad Antioxidante 52

III. CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS 61

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

IV. CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN 77

V. CAPÍTULO V: CONCLUSIONES 107

VI. CAPÍTULO VI: RECOMENDACIONES 108

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 109

VIII. ANEXOS 116

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se obtuvieron tres tipos de extractos de *Capsicum annuum L.* "pimiento rojo", los cuales se obtuvieron mediante el método de Soxhlet, usando como solventes etanol, acetato de etilo y hexano, para luego comparar los rendimientos. El mayor rendimiento se obtuvo con el solvente etanol. El menor rendimiento se obtuvo con el solvente hexano.

Primero, se determinó el efecto de *Capsicum annuum L.* "pimiento rojo" sobre la capacidad antioxidante del suero de ratas con diabetes experimental. Se utilizaron ratas albinas machos de la especie *Rattus novergicus*, de 3 meses de edad, cuyos pesos oscilaron entre 320 a 380 gramos, provenientes del Bioterio de la Universidad Católica de Santa María. La diabetes experimental fue inducida en las ratas mediante la administración de estreptozotocina en una sola dosis.

En este estudio, se trabajó con 40 ratas, distribuidas por sorteo, en dos grupos experimentales:

- ☞ Grupo Experimental 1: subdividido en los siguientes tratamientos:
  - ☑ A: Control, constituido por 5 animales.
  - ☑ B: Extracto Etanólico, constituido por 5 animales.
  - ☑ C: Extracto Acetato de Etilo, constituido por 5 animales.
  - ☑ D: Extracto Hexano, constituido por 5 animales.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

- Grupo Experimental 2: subdividido en los siguientes tratamientos:
  - ☑ A: Control, constituido por 5 animales.
  - ☑ A: Extracto Etanólico, constituido por 5 animales.
  - ☑ B: Extracto Acetato de Etilo, constituido por 5 animales.
  - ☑ C: Extracto Hexano, constituido por 5 animales.

En el grupo Experimental 1, los tratamientos fueron administrados desde el día 1 hasta el día 20 (preventivo). El día 21, las ratas son intoxicadas con estreptozotocina. Las muestras de sangre se tomaron el día 20 de administrados dichos tratamientos (antes de la intoxicación), y el día 28 (7 días después de producida la intoxicación) para determinar Glucosa y Peroxidación Lipídica. En el tratamiento "Control" de este grupo, las ratas fueron intoxicadas con estreptozotocina en una sola dosis el día 20 y no recibieron ningún tipo de tratamiento.

En el Grupo Experimental 2, las ratas fueron intoxicadas con estreptozotocina en dosis única el día 1 y los tratamientos fueron administrados durante 20 días (curativo). Las muestras de sangre que se obtuvieron fueron en el día 5, en el día 10, en el día 15, y en el día 20; así, se determinaron los valores de glicemia y peroxidación lipídica. En el tratamiento "Control" de este grupo, las ratas fueron intoxicadas con estreptozotocina en una sola dosis el día 1 y no recibieron ningún tipo de tratamiento.

En el Grupo Experimental I, el mejor tratamiento fue el Extracto de Acetato de Etilo que fue administrado durante 20 días antes de la intoxicación con estreptozotocina, ya que mostró los niveles más bajos de peroxidación lipídica después de la intoxicación. En cuanto a los niveles de glucosa, el extracto de Acetato de Etilo es el que mostró, igualmente, los niveles más bajos de glicemia después de la intoxicación. El tratamiento "Control" de este grupo alcanzó los valores más altos de glicemia y peroxidación lipídica.

En el Grupo Experimental II, el mejor tratamiento fue el Extracto de Acetato de Etilo que fue administrado durante los 20 días posteriores a la intoxicación con estreptozotocina, ya que mostró los niveles más bajos de peroxidación lipídica al

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

final de los 20 días de tratamiento. En cuanto a los niveles de glucosa, el extracto Etanólico es el que mostró los niveles más bajos de glicemia después de los 20 días de tratamiento del extracto. El tratamiento "Control" de este grupo alcanzó los valores más altos de glicemia y peroxidación lipídica.

Luego, se determinó la capacidad antioxidante de los diferentes extractos obtenidos a partir del pimiento rojo, mediante el método CUPRAC (Cupric Ion Antioxidant Capacity).

Los valores de capacidad antioxidante para los extractos oscilan entre 302.65 - 926.14 µmol de Ácido Ascórbico/g de muestra. El extracto acetato de etilo fue el que presento mayor capacidad antioxidante, mientras que el extracto hexano presentó menor capacidad antioxidante.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

ABSTRACT

In the present investigation, we obtained three kinds of extracts of *Capsicum annuum L.* "red pepper", which were obtained through Soxhlet method using ethanol, ethyl acetate and hexane, and then we compared the yields. The highest yield of the extracts was obtained with ethanol. The lowest yield of the extracts was obtained using hexane.

First, the effect of *Capsicum annuum L.* "Red Pepper" on the antioxidant capacity of the serum of rats with experimental diabetes was determined. Male albino rats of the species *Rattus novergicus*, 3 months old, whose weights ranged from 320-380 grams, which were obtained from the Animal Laboratory of the Catholic University of Santa María were used. Experimental diabetes was induced in rats by administration of streptozotocin in a single dose.

In this study, we worked with 40 rats divided, by draw, into two experimental groups:

- ☞ Experimental Group 1: divided into the following treatments:
  - ☑ A: Control, made up by 5 animals.
  - ☑ B: Ethanol extract, made up by 5 animals.
  - ☑ C: Ethyl Acetate Extract, made up by 5 animals.
  - ☑ D: Hexane extract, made up by 5 animals.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

- ☞ Experimental Group 2: divided into the following treatments:
  - ☑ A: Control, made up by 5 animals.
  - ☑ B: Ethanol extract, made up by 5 animals.
  - ☑ C: Ethyl Acetate Extract, made up by 5 animals.
  - ☑ D: Hexane extract, made up by 5 animals.

In the Experimental Group 1, the treatments were administered from 1st day to 20th day (preventive). On 21st day, rats are intoxicated with streptozotocin. Blood samples were taken on 20th day from the administration of such treatments (before intoxication) and on 28th day (7 days after intoxication), to determine glucose and lipid peroxidation. In the "Control" treatment of this group, rats were intoxicated with streptozotocin in a single dose on 20th day, and they were not treated with any of the extracts.

In the Experimental Group 2, rats were intoxicated with streptozotocin in a single dose on 1st day, and the treatments were administered during 20 days (curative). Blood samples were obtained on 5th day, 10th day, 15th day, and 20th day; in that way, the values of glycemia and lipid peroxidation were determined. In the "Control" treatment of this group, rats were intoxicated with streptozotocin in a single dose on 1st day, and they were not treated with any of the extracts.

In the Experimental Group 1, the best treatment was the Ethyl Acetate Extract, which was administered for 20 days before streptozotocin intoxication, since it showed the lowest levels of lipid peroxidation after intoxication. Regarding to glucose levels, Ethyl acetate extract showed, likewise, the lowest levels of glycemia after intoxication. The "Control" treatment of this group showed the highest values of glycemia and lipid peroxidation.

In the Experimental Group 2, the best treatment was the Ethyl Acetate Extract, which was administered during the 20 days after streptozotocin intoxication, since it showed the lowest levels of lipid peroxidation at the end of the 20 days of treatment. Regarding to glucose levels, the ethanol extract showed the lowest levels of glycemia

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

after the 20 days of treatment of such extract. The “Control” treatment of this group showed the highest values of glycemia and lipid peroxidation.

Then, the antioxidant capacity of the different extracts obtained from red pepper was determined, using the CUPRAC (Cupric Ion Antioxidant Capacity) method.

The antioxidant capacity values for extracts range from 302.65 - 926.14 µmol Ascorbic acid/g sample. The ethyl acetate extract was the one who had the highest antioxidant capacity, while the hexane extract was the one who had the lowest antioxidant capacity.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

CAPÍTULO I

GENERALIDADES

INTRODUCCIÓN

El pimiento rojo (*Capsicum annuum L.*) así como el pimentón, producto obtenido tras la molienda de pimientos rojos, maduros y sanos deshidratados, han sido usados desde la antigüedad como un colorante para mejorar y modificar el color de los alimentos. La importancia actual del pimentón radica en que existe un creciente interés en todo el mundo en la aplicación de colorantes naturales para productos alimenticios. A tal punto que se ha constituido en uno de los colorantes alimentarios naturales más ampliamente empleado.

La capacidad del pimentón de producir color y estabilidad en el tiempo está directamente relacionada con factores como la variedad de fruto empleado en su elaboración, las condiciones de cultivo, el grado de madurez, la fecha de recolección, el proceso de secado, la molienda, etc., que van a condicionar las posibilidades de obtener un buen producto final.

Por otra parte, el consumo de productos cárnicos, en particular carne de cerdo así como de productos procesados, se han relacionado con la incidencia de cáncer, enfermedades vasculares, como la hipertensión o el desarrollo de ateromas producto de la oxidación de la lipoproteína LDL, que es la que inicia el proceso de formación del ateroma en los vasos sanguíneos, por lo que el consumo de estos productos podría ser el origen de todas estas patologías incluyendo enfermedades degenerativas neurológicas, enfermedad de Parkinson, demencia de Alzheimer, la diabetes, el reumatismo, y enfermedades cardiovasculares como el infarto miocárdico y cerebral, etc.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Resultado del consumo de oxígeno para la generación de energía en los seres vivos, se producen de manera natural radicales libres, lo cual sería incompatible con la vida si es que no se producen también de manera natural antioxidantes, constituyéndose en un mecanismo de defensa contra estas especies. Esta defensa a través de antioxidantes endógenos, sustancias que en concentraciones normales poseen una afinidad mayor que cualquier otra molécula para interaccionar con un radical libre, va disminuyendo con la edad (envejecimiento normal y patológico), tienen como factor común el incremento de radicales libres (estrés oxidativo). Lo que demuestra la importancia clínica que el estrés oxidativo tiene para una amplia gama de patologías de muy alta prevalencia y su neutralización mediante la administración de antioxidantes exógenos.

Los procesos peroxidativos desempeñan un papel importante en la patogénesis de varias enfermedades, siendo el efecto tóxico más estudiado la oxidación de los ácidos grasos insaturados en las membranas biológicas. Este proceso que conduce a la formación y propagación de radicales lipídicos, así como al reordenamiento de dobles enlaces en lípidos insaturados, termina en la destrucción de los lípidos de las membranas y en la formación de productos como el malondialdehído (MDA).

Una de las patologías caracterizada por la persistencia de estrés oxidativo es precisamente la diabetes mellitus, trastorno metabólico caracterizado principalmente por la hiperglicemia. Así, numerosos estudios han demostrado que la diabetes mellitus se encuentra asociada al incremento de la formación de radicales libres derivados del oxígeno y a la disminución del potencial antioxidante del organismo, generando el daño oxidativo de algunos componentes de la célula tales como las proteínas, carbohidratos, lípidos y ácidos nucleicos.

A pesar de su eficacia y bajo costo, los antioxidantes sintéticos que inhiben y retardan la oxidación de biomoléculas tanto en medicina como en la industria alimentaria han sido puestos en observación debido a que se ha observado en algunos de ellos, actividad carcinogénica y otros efectos tóxicos, por lo que se ha incitado la búsqueda de nuevas fuentes de antioxidantes especialmente naturales para su reemplazo.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

La búsqueda de antioxidantes y en especial los naturales, constituye una prioridad mundial a la cual muchos países están abocados. El Perú, no se ha quedado atrás existiendo en la actualidad una variedad de estudios con plantas con poderes antioxidantes. Así, muchas especies del género Capsicum constituyen una importante fuente de compuestos con actividad antioxidante por lo que pueden ser utilizados con diferentes propósitos en la industria farmacéutica, cosmética y alimentaria.

El pimiento rojo (*Capsicum annuum L.*) o el pimentón, producto obtenido de la molienda del pimiento rojo, es una especie del género Capsicum que es muy utilizado en la cocina peruana, y que está siendo estudiado en Europa como conservante para la elaboración de productos cárnicos crudos curados, por su elevado grado de color, estabilidad y por sus especiales características organolépticas de sabor y aroma ahumados. Estas propiedades podrían ser algunas de ellas, atribuidas a una capacidad antioxidante la cual debe ser estudiada.

Es por ello, que en el presente trabajo se ha investigado la posible capacidad que tendría el pimiento rojo para inhibir el incremento de los radicales libres en ratas diabéticas, demostrada a través de la disminución del enranciamiento oxidativo en suero. Así, en el presente trabajo de investigación se determinó la eficacia del *Capsicum annuum L.* como agente antioxidante.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

OBJETIVOS

1. Obtener extractos de diferente polaridad de *Capsicum annuum L.* "pimiento rojo".

2. Desarrollar hiperglicemia experimental mediante la administración en una sola dosis de estreptozotocina a ratas normales.

3. Determinar el efecto de la administración de los extractos de *Capsicum annuum L.* "pimiento rojo" sobre la peroxidación lipídica en ratas con diabetes experimental.

4. Determinar el efecto antioxidante de los extractos de *Capsicum annuum L.* "pimiento rojo" por el método CUPRAC.

.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

HIPÓTESIS

Dado que la literatura refiere que el *Capsicum annuum L.* "pimiento rojo" presenta en su composición química compuestos polifenólicos, es probable que los componentes presentes en diferentes extractos de pimiento rojo, presenten capacidad antioxidante.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

1. *Capsicum annuum L.* "PIMIENTO ROJO"

1.1. Características generales

El pimiento es originario de América del Sur, de la zona de Bolivia y Perú.

Los pimientos, respecto a su clasificación científica, son frutos de las plantas pertenecientes a las especies y variedades del género Capsicum, de la familia Solanaceae (al igual que el tomate, la patata, el tabaco o la berenjena). Posee una gran variabilidad genética que lleva a que existan varias posturas con respecto a su denominación botánica. Sin embargo, la mayoría de los autores aceptan que es el *Capsicum annuum L.* la especie que engloba a casi todas las variedades cultivadas. (1)

El género Capsicum incluye 23 especies reconocidas, de las cuales sólo 5 son cultivadas: *C. annuum, C. baccatum, C. frutescens, C. pubescens* y *C. chinense*. *Capsicum annuum L.* es la especie más importante y difundida, sobre la que hay mayores trabajos de mejora genética. (2)

El fruto de esta planta ha sido y es usado ampliamente por todo el mundo, bien como alimento, como especia, por su sabor, aroma y color, o como medicina, por sus marcadas propiedades curativas de determinadas afecciones. (3)

Gran parte de la demanda de los pimientos en todo el mundo, principalmente en la zona de América Central y América del Sur, es debida al sabor picante que presentan muchas variedades de pimientos y que es debido a la presencia de capsaicinoides. Los pimientos que se comercializan para el consumo, se pueden clasificar en tres categorías en función de sus propiedades picantes: (3)

a) Las variedades cuyo sabor es muy picante, con un contenido en capsaicinoides entre el 0,3 y el 1 % en peso seco del pimiento. La producción y el comercio de estas variedades se lleva a cabo en cantidades relativamente

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

poco importantes, aunque estas variedades son las que alcanzan los mejores precios y son demandadas por su fuerte sabor picante. (3)

b) Las variedades cuyo sabor es picante, con un contenido en capsaicinoides entre 0,01 y 0,3 % en peso seco del pimiento. (3)

c) Las variedades cuyo sabor es dulce o moderadamente picante, con un contenido en capsaicinoides inferior al 0,01 % en peso seco del pimiento. Son las que constituyen el mayor volumen del comercio internacional, y sus precios son los más bajos. Son de interés tanto por sus propiedades colorantes como por su sabor.(3)

1.2. Aspectos botánicos.

La **planta** del pimiento es herbácea perenne, con ciclo de cultivo anual de porte variable entre los 0,5 metros (en determinadas variedades de cultivo al aire libre) y más de dos metros (en gran parte de los híbridos cultivados en invernadero). (3)

FIGURA N° 2.1.: Planta del pimiento *"Capsicum annuum L."* cultivado al aire libre y en invernadero.



El **sistema radicular** es pivotante y profundo (dependiendo de la profundidad y textura del suelo), con numerosas raíces adventicias que horizontalmente pueden alcanzar una longitud comprendida entre 50 centímetros y 1 metro. (3)

El **tallo** principal es de crecimiento limitado y erecto. Aunque se le considera una planta herbácea, tiene la particularidad de tener tallo leñoso. Éste puede tener forma cilíndrica o prismática angular, glabro (liso y suave al tacto), erecto y con altura variable según la variedad. A partir de cierta altura "cruz" emite 2 o 3 ramificaciones (dependiendo de la variedad) y continua ramificándose de

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

forma dicotómica hasta el final de su ciclo. Los tallos secundarios se bifurcan después de brotar varias hojas, y así sucesivamente. (3)

La **hoja** es simple, entera, lampiña y lanceolada, con un ápice muy pronunciado (acuminado) y un pecíolo largo y poco aparente. El haz es glabro y de color verde más o menos intenso (dependiendo de la variedad) y brillante. El nervio principal parte de la base de la hoja, como una prolongación del pecíolo, del mismo modo que las nerviaciones secundarias que son pronunciadas y llegan casi al borde de la hoja. La inserción de las hojas en el tallo tiene lugar de forma alterna y su tamaño es variable en función de la variedad, existiendo cierta correlación entre el tamaño de la hoja adulta y el peso medio del fruto. (3)

Las **flores** son actinomorfas, hermafroditas, con cáliz de 6 sépalos, pequeñas, con corola de color blanco verduzco o blanco amarillento y pedicelos generalmente múltiples, de 5 pétalos y 6 estambres insertos en la garganta de la corola. El estigma generalmente está al nivel de las anteras, lo que facilita la autopolinización. Aparecen solitarias en cada nudo del tallo, con inserción en las axilas de las hojas. La polinización es autógama, aunque puede presentarse un porcentaje de alogamia que no supera el 10 %. (3)

FIGURA N° 2.2.: Flor del pimiento.



El **fruto** es una baya hueca, no jugosa, carnosa, semicartilaginosa y deprimida, que cuelga de la planta mediante un pedúnculo. El color del fruto es variable (verde, rojo, amarillo, naranja, violeta o blanco). Al llegar a la maduración los frutos son normalmente rojizos, aunque también los hay anaranjados y amarillos. Existe una diversidad de formas en los frutos (alargados, de 3 o 4 picos,

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

cuadrados, achatados, etc.), pero generalmente se agrupan en alargados y redondeados. Su tamaño es variable, pudiendo pesar desde escasos gramos hasta más de 500 gramos. Los frutos son sabrosos y su sabor puede ser dulce o picante [(3)]. La dimensión no es un criterio muy seguro, pero en general, los frutos de menor tamaño son los que presentan un sabor picante más intenso. (4)

FIGURA N° 2.3.: Diversos tipos de pimientos.



Las **semillas** generalmente son redondeadas, ligeramente reniformes, lisas de coloración amarillenta o blanco amarillenta y longitud variable entre 3 y 5 milímetros. Se encuentran insertas en una placenta cónica de disposición central. El porcentaje de germinación es alto y puede mantenerse por 4 o 5 años bajo buenas condiciones de conservación. (4)

Los pimientos son utilizados como una parte de la dieta por diferentes razones en muchas partes del mundo. Son consumidos como frutos frescos, en conservas, como constituyentes de condimentos y salsas, y como polvos secos (pimentón) usados como especias y condimentos. Los pimientos también han sido ampliamente utilizados en alimentación como colorantes y por sus propiedades picantes. Los pimientos picantes se utilizan como aditivos alimenticios y son muy valorados por sus atributos sensoriales del color, picor y aroma. (4)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

1.3. Taxonomía: (5)

El pimiento está clasificado botánicamente de la siguiente forma:

- Reino: Plantae.
- División: Magnoliophyta.
- Clase: Magnoliopsida.
- Orden: Solanales.
- Familia: Solanaceae.
- Género: Capsicum.
- Especie: *Capsicum annuum L.*

1.4. Composición Química:

Los pimientos presentan una enorme variedad de compuestos, muchos de ellos con unas marcadas propiedades antioxidantes e importantes efectos biológicos (6). Los niveles de estos compuestos pueden variar dependiendo de la variedad de pimiento de que se trate, del estado de maduración que presente o de las condiciones de crecimiento que haya tenido. (7)

El componente mayoritario de los pimientos está representado por los hidratos de carbono. También contiene proteínas en pequeña cantidad y muy pocos lípidos (grasas). Además, el pimiento posee un porcentaje muy elevado de agua (aproximadamente un 90%). (7)

Los pimientos rojos constituyen una fuente impresionante de vitamina C, vitamina A y licopeno, constituyéndose en uno de los alimentos desintoxicantes más importantes. Los pimientos, especialmente los pimientos rojos maduros, constituyen una fuente excelente de vitamina C. De hecho, si lo comparamos con los cítricos (naranjas, limones, pomelos, etc.), el pimiento nos proporciona más del doble de esta vitamina, por peso de fruto, siendo una de las plantas del mundo que posee más cantidad, después de la acerola o del escaramujo. También son una fuente vegetal rica en vitamina A y, en menor medida, en otras como E, B1 y ácido fólico. (7)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Pero además, su característico color rojo nos indica también que es un alimento rico en carotenos. Algunos de ellos, como el β-caroteno, pueden ser transformados en vitamina A. De igual manera, y especialmente cuando está bien maduro y rojo, contiene, junto a los tomates, un componente denominado licopeno que constituye, al lado de la vitamina C, uno de los mejores antioxidantes. (7)

Como las verduras en general, los pimientos son ricos en fibra dietética. Entre los minerales, esta hortaliza contiene principalmente fósforo, potasio, magnesio, hierro y calcio, con cantidades muy bajas de sodio. (7)

Entre los compuestos con marcadas propiedades biológicas que aparecen en los pimientos destacamos los siguientes grupos de compuestos: (7)

- **Carotenoides** entre los que destacan: xantofilas, □-caroteno, luteina, capsantina, capsorrubina, criptoxantina, zeaxantina, anteraxantina, violaxantina, neoxantina. (7,8)
- **Vitamina A**. (9)
- **Vitaminas (B):** tiamina (B1), riboflavina (B2), niaciana (B3), piridoxina (B6). (10)
- **Ácido ascórbico** (**vitamina C**), que se encuentra en concentraciones desde 40 a 250mg/100g de pimiento fresco. (11)
- Tocoferol (**vitamina E**), (12,13) que se encuentra en concentraciones desde 3 a 250mg/100g de pimiento seco.
- **Ácidos fenólicos libres** (protocatéquico, clorogénico, cumárico, ferúlico, cinámico, cafeico, etc.). (14)
- **Ácidos orgánicos** (málico, oxálico, cítrico, fumárico, quínico, etc.). (15)
- **Azúcares solubles** (glucosa, fructosa, etc.). (16)
- **Flavonoides** (quercetina, luteolina, etc.). (17,18)
- **Lípidos**. (19)
- **Compuestos volátiles** (aldehídos, cetonas, alcoholes, pirazinas, etc.). (20,21)
- **Capsaicinoides** (capsaicina, dihidrocapsaicina, entre otros). (22)
- **Capsinoides** (capsiato, dihidrocapsiato, entre otros). (23)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

2. ÁCIDO ASCÓRBICO

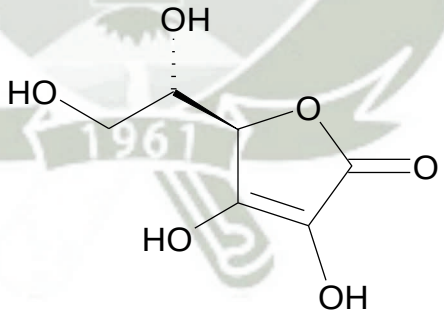
2.1. Generalidades:

- El ácido ascórbico es reconocido por su acción antioxidante, se lo puede encontrar en varias frutas y vegetales, ya que éste puede ser sintetizado a partir de glucosa y galactosa en las plantas. La deficiencia de esta sustancia en el organismo de los seres vivos causa el escorbuto. La dosis diaria de ácido ascórbico recomendada para prevenir el escorbuto es de 60mg. (24)
- Además, el ácido ascórbico actúa directamente con varias especies reactivas del oxígeno, además regenera a otros antioxidantes, por ejemplo a la vitamina E. (25)
- El ácido ascórbico es la defensa más importante de los antioxidantes contra los radicales libres. (26) Adicionalmente, se conoce que le ácido ascórbico puede absorber la radiación ultravioleta y proteger así a las plantas de dicha radiación. (27)

2.2. Estructura

La estructura del ácido ascórbico corresponde a una lactona de seis carbonos como se muestra en la Figura N° 2.4. (28)

FIGURA N° 2.4.: Ácido ascórbico.



Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

El ácido ascórbico es un ácido ligeramente más fuerte que el ácido acético, puesto que su pKa es de 4.2, frente a 4.8 del ácido acético (28,29); al mismo tiempo, se lo considera como un reductor fuerte. Dicha propiedad se debe a la presencia de un enediol y además a que el grupo hidroxi, presente en el carbono 3, puede ceder su protón. (28, 27)

2.3. Propiedades

La Tabla N° 2.1. muestra algunas propiedades físico-químicas del ácido ascórbico. (28)

Tabla N° 2.1. Propiedades físico-químicas del ácido ascórbico.

Propiedad	Descripción
Fórmula Molecular	$C_6H_8O_6$
Masa Molecular	176,12g/mol
Apariencia y olor	Sólido blanco o amarillo, inodoro
Densidad	$1.65g/cm^3$
Punto de Fusión	190-192°C
Solubilidad en agua	80%, a 100°C; 40%, a 45°C

Fuente: Oro, J. y Donnamaría, M., 2006, "Acción Farmacológica, Biofisicoquímica y Estructura Dinámica de la Vitamina C" (28)

2.4. Usos del Ácido Ascórbico

El ácido ascórbico es utilizado como un indicador de la calidad nutricional de los alimentos procesados, esto se debe a su fácil degradación, por lo que se entiende que si en un alimento procesado existe la presencia de ácido ascórbico, todos los demás nutrientes estarán en buen estado. (24)

El ácido ascórbico es un aditivo ampliamente utilizado en la industria alimenticia, por ejemplo, se añade a las conservas de frutas para que éstas no se oscurezcan, además que evita la corrosión de los envases metálicos (30). También es utilizado en suplementos vitamínicos distribuidos por la industria farmacéutica (28).

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

3. CAROTENOIDES

3.1. Generalidades:

- El grupo de los carotenoides comprende varios cientos de moléculas tetraterpénicas formadas por el encadenamiento de ocho unidades isoprénicas. (31)
- Su cromóforo característico – al menos diez dobles enlaces conjugados – explica su coloración amarilla o anaranjada y su enorme sensibilidad a la oxidación. (31)
- Cuando la molécula es un hidrocarburo, se habla, colectivamente, de **caroteno**; cuando posee funciones hidroxilo, se habla de **xantofila**. (31)
- Los carotenoides puede ser acíclicos (ejemplo: licopeno) o poseer uno o dos ciclos penta u hexacíclicos en uno de sus extremos (ejemplo: β,¥-caroteno) o bien en sus dos extremos, (ejemplo: β,β-caroteno). (31)

3.2. Distribución

Los carotenoides son pigmentos ampliamente distribuidos en la naturaleza, que se encuentra en tejidos fotosintéticos y no fotosintéticos como raíces, flores y frutos. Los humanos y animales no pueden sintetizarlos, sin embargo, son capaces de absorberlos con modificaciones en su estructura básica (32). Los carotenoides de vegetales y animales son usualmente encontrados en fracciones lipídicas, ligados a proteínas o esterificados con ácidos grasos. (33)

3.3. Funciones:

- Los carotenoides se localizan en los complejos proteicos de los fotosistemas de membrana de los tilacoides, e intervienen en la fotosíntesis: su sistema poliénico de electrones deslocalizados permite la captura y transmisión de cuantos azul-verde (450-500nm) de energía lumínica. (31)
- Son también (y parece ser que sobre todo) fotoprotectores frente a radiaciones nocivas (reaccionan con el oxígeno singlete y previenen la foto oxidación). (31)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

- Los carotenoides son capaces de captar la energía luminosa, energía que es luego transferida a las clorofilas para ser transformada durante la fotosíntesis. (33)
- La conjugación de los dobles enlaces de estas moléculas hace de ellas muy eficaces captadores del oxígeno singlete monomolecular que se produce a lo largo de los procesos fotoquímicos. (31)
- Por otra parte, se trata de moléculas susceptibles de actuar como antioxidantes: captan el radical peroxi que se adiciona al polieno e impide que se produzcan diversos productos oxigenados. (31)
- Los carotenoides actúan como potenciadores positivos de la respuesta inmune (34).
- Los pigmentos carotenoides juegan un papel importante en la prevención de enfermedades degenerativas como arterioesclerosis, cáncer, envejecimiento, cataratas, degeneración macular relacionada con la edad, etc. (35)

4. COMPUESTOS FENÓLICOS

Los fenoles son uno de los mayores grupos de componentes no esenciales en la dieta que han sido asociados con la inhibición de la aterosclerosis y cáncer. La bioactividad de los fenoles ha sido relatada por su comportamiento antioxidante, el que es atribuido a sus habilidades para quelar metales, inhibir lipooxigenasas y remover radicales libres. Los radicales fenoxilo formados, son intermediarios bastante estables y no es fácil que inicien una nueva reacción en cadena. La eficiencia de los compuestos polifenólicos como antioxidantes depende en gran parte de su estructura química. El fenol por sí mismo es inactivo como antioxidante, sin embargo, los compuestos orto y para-difenólicos poseen actividad, la cual se incrementa con la sustitución de sus átomos de hidrógeno por grupos etil- o n-butil. (36, 37)

Algunos de estos compuestos fenólicos con efecto antioxidante presentes en alimentos de origen vegetal son los ácidos cinámicos, benzoicos y sus derivados, el ácido felúrico y el cumárico. Los flavonoles, flovononas, etc,; se pueden encontrar en forma de agliconas, pero sobre todo formando glicósidos; los más

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

abundantes son la Quercetina, Kaempferol, Miricetina y sus glicósidos y diglicósidos. (37)

En la Tabla N° 2.2. se muestran los principales tipos de compuestos fenólicos presentes en las plantas de acuerdo al número de átomos de carbono. (38)

TABLA N° 2.2. Principales tipos de compuestos fenólicos en plantas.

ÁTOMOS DE CARBONO	ESQUELETO	TIPO
6	C_6	Fenoles Simples Benzoquinonas
7	$C_6 – C_1$	Ácidos Fenólicos
8	$C_6 – C_2$	Derivados de Tirosina Ácidos Fenilacéticos
9	$C_6 – C_3$	Ácidos cinámicos Fenilpropenos Cumarinas
10	$C_6 – C_4$	Naftoquinonas
13	$C_6 – C_1 – C_6$	Xantonas
14	$C_6 – C_2 – C_6$	Estilbenos Antraquinonas
15	$C_6 – C_3 – C_6$	Flavonoides Isoflavonoides
18	$(C_6 – C_3)_2$	Lignanos Neolignanos
30	$(C_6 – C_3 – C_6)_2$	Bioflavonoides
n9	$(C_6 – C_3)_n$	Ligninas
n6	$(C_6)_n$	Melaninas catecólicas
n15	$(C_6 – C_3 – C_6)_n$	Taninos condensados

FUENTE: Polifenoles del vino y salud humana. Antioxidantes y calidad de vida. Leighton. Federico: Urquiaga. Inés. (38)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

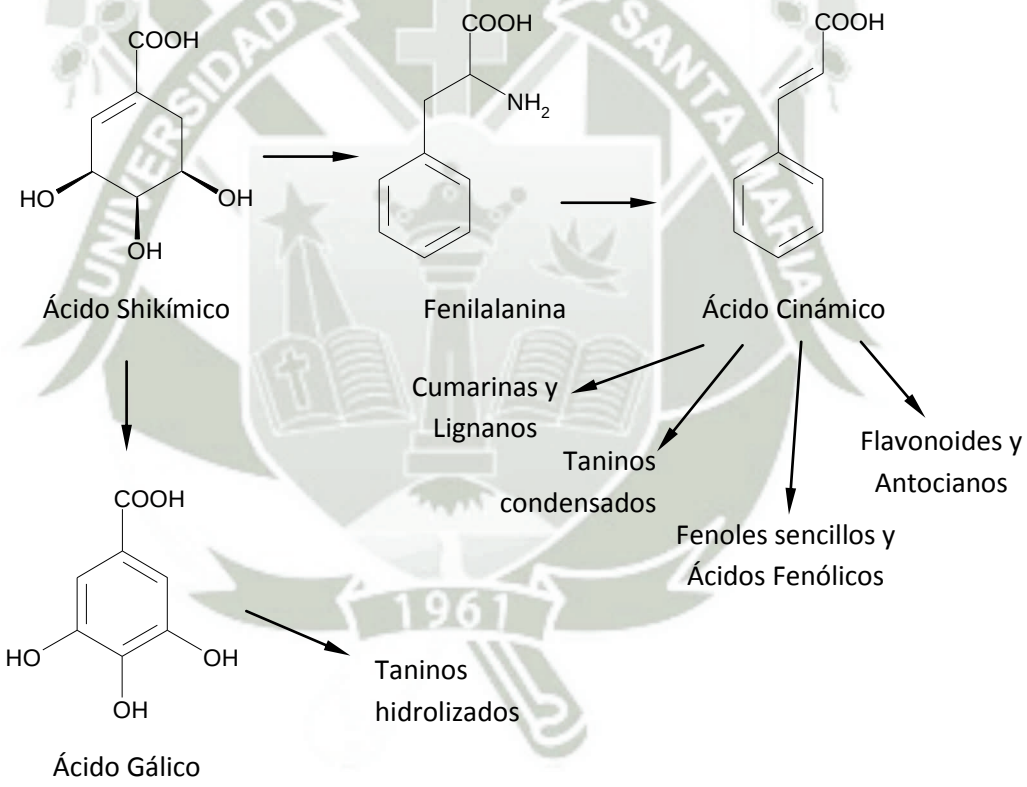
REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Las estructuras fenólicas son metabolitos secundarios que pueden proceder de la ruta del ácido shikímico o de la ruta del acetato. (39)

- Proceden de la ruta del ácido shikímico: Los fenoles sencillos, ácidos fenólicos (benzoicos, cinámicos, etc.), cumarinas, lignanos, flavonoides, antocianos y taninos. (39)
- Proceden de la ruta de los acetatos o ruta del ácido mevalónico, los siguientes derivados fenólicos: antraquinonas y heterósidos antracénicos. (39)

FIGURA N° 2.5.: Origen biosintético de diferentes compuestos fenólicos.



Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

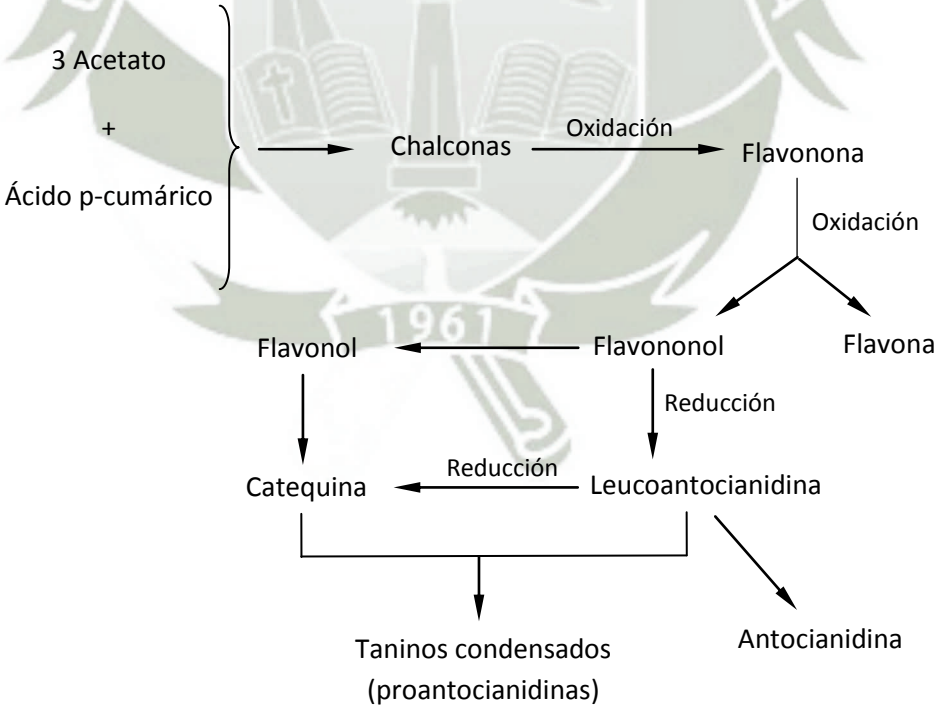
REPOSITORIO DE TESIS UCSM
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

5. FLAVONOIDES:

Los flavonoides son pigmentos casi universales en los vegetales. Casi siempre hidrosolubles, son responsables de la coloración de las flores, frutos y a veces de las hojas; así ocurre con los flavonoides amarillos (chalconas, auronas, flavonoles amarillos); con los antocianósidos rojos, azules ó violetas. Si no son directamente visibles, contribuyen a la coloración por su papel de copigmentos: así ocurre con las flavonas y flavonoles incoloros que copigmentan y protegen a los antocianósidos. (31)

Los flavonoides y los compuestos relacionados (antocianos, catequinas y leucoantocianidinas) proceden del metabolismo secundario de los vegetales a través de la ruta del ácido shikímico y la ruta de los poliacétidos. (39)

FIGURA N° 2.6.: Origen biosintético de flavonoides y compuestos relacionados.



Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

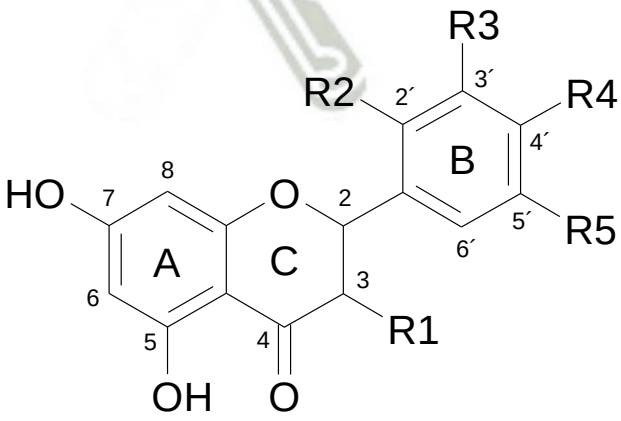
5.1. Estructura:

Los flavonoides son estructuras de tipo C6-C3-C6, con dos anillos aromáticos (bencénicos) unidos entre sí por una cadena de 3 carbonos ciclada a través de un oxígeno. Se considera que su estructura deriva de la γ-cromona (o benzo-γ-pirona) con un fenilo en posición 2. Así pues, son 2-fenil-γ- cromonas. Todos los flavonoides poseen un carbonilo en la posición 4 y las variaciones se producen en las posiciones 1, 2 y 3 de la unidad C3 y en el anillo B. Son estructuras hidroxiladas (OH) en el anillo aromático y por lo tanto son polifenólicas. Se pueden encontrar como agliconas libres o en forma de O-heterósidos ó C-heterósidos, unidos generalmente a glucosa, que es el azúcar más frecuente. (39)

Las agliconas son sólidos solubles en solventes de mediana o baja polaridad, cristalizan y funden sin descomposición; las más conjugadas tienen coloraciones del amarillo al rojo y hasta el azul. Los glicósidos son sólidos solubles en solventes muy polares, amorfos y funden con descomposición. Los que presentan más conjugación de enlaces dobles son más coloreados. (40)

De los tres anillos, el anillo A se biosintetiza a través de la ruta de los poliacétidos y el anillo B y la unidad C3 (que forma el anillo C) proceden de la ruta del ácido shikímico. (39)

FIGURA N° 2.7.: Estructura básica de los Flavonoides. (41)



Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

En la Tabla N° 2.3., se muestran las diferentes sustituciones en los cinco radicales indicados en la figura que dan lugar a la formación de las diferentes flavonas y flavonoides. (41)

TABLA N° 2.3.: Sustitución de radicales necesarios para la formación de flavonas y flavonoides. (41)

	R_1	R_2	R_3	R_4	R_5
Flavonas					
Apigenina	H	H	H	OH	H
Crisina	H	H	H	H	H
Luteonina	H	H	OH	OH	H
Flavonoides					
Datiscetina	OH	H	OH	OH	H
Quercetina	OH	H	OH	OH	H
Miricetina	OH	H	OH	OH	OH
Morina	OH	OH	H	OH	H
Kaempferol	OH	H	H	OH	H

FUENTE: Antioxidantes de los alimentos. Aplicaciones prácticas. Pokorny, Jan; Yanishlieval, Nedyalka; Gordon, Michael. (41)

5.2. Clasificación:

Los flavonoides se clasifican en base a sus variaciones estructurales. (39)

Con doble enlace entre las posiciones 2 y 3:

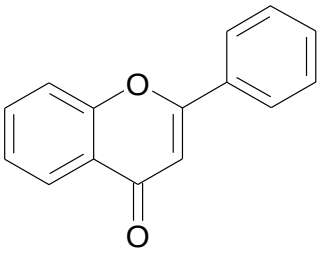
Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

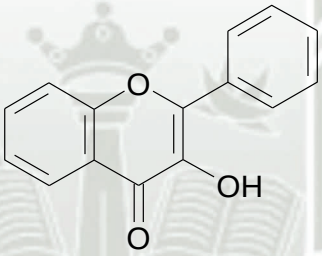
a. Flavonas: con H en la posición 3. (39)

FIGURA N° 2.8.: Estructura de Flavonas.



b. Flavonoles: con OH en la posición 3. (39)

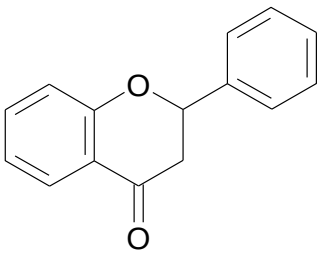
FIGURA N° 2.9.: Estructura de Flavonoles.



Sin doble enlace entre las posiciones 2 y 3. (39)

a. Flavononas: con H en la posición 3. (39)

FIGURA N° 2.10.: Estructura de Flavononas.



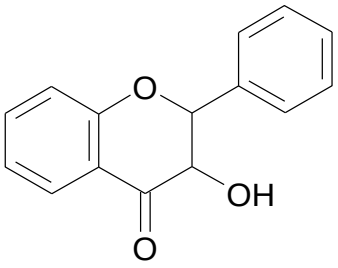
Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

b. Flavononoles: con OH en la posición 3. (39)

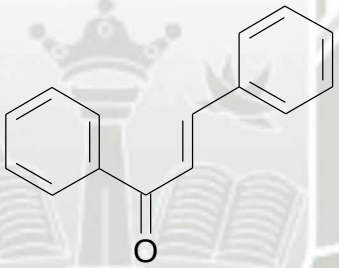
FIGURA N° 2.11.: Estructura de Flavononoles.



Otros como:

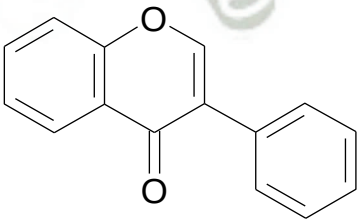
a. Chalconas: con el anillo C abierto. (39)

FIGURA N° 2.12.: Estructura de Chalconas.



b. Isoflavonoides: con el anillo B en la posición 3 (3-fenil-γ-cromona). (39)

FIGURA N° 2.13.: Estructura de Isoflavonoides.



Existen también dímeros de flavonoides denominados diflavonoides. (39)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Las flavonas y los flavonoles se encuentran en prácticamente cualquier tipo de planta, especialmente en hojas y pétalos siendo las flavonas las más habituales. Algunos ejemplos de compuestos flavonoides son la Apigenina, Crisina, Luteonina, Datiscetina, Quercetina, Miricetina, Morina y Kaempferol. (41)

5.3. Acción Antioxidante de los Flavonoides

El creciente interés en los flavonoides se debe a la apreciación de su amplia actividad farmacológica. Pueden unirse a los polímeros biológicos, tales como enzimas, transportadores de hormonas, y ADN; quelar iones metálicos (de transición), tales como Fe^{+2}, Cu^{+2}, Zn^{+2}; catalizar el transporte de electrones, y depurar radicales libres. Los flavonoides retiran oxígeno reactivo especialmente en forma de aniones superóxidos, radicales hidroxilos, peróxidos lipídicos o hidroperóxidos; de esta manera bloquean la acción deletérea de dichas sustancias sobre las células. (42)

Diversos flavonoides han mostrado su eficiencia para eliminar los procesos de peroxidación lipídica del ácido linoleico o de los fosfolípidos de las membranas, la peroxidación de los glóbulos rojos o la autooxidación de los homogeneizados de cerebro. (42)

Debido a este hecho se han descrito efectos protectores en patologías tales como diabetes mellitus, cáncer, cardiopatías, infecciones víricas, úlcera estomacal y duodenal, e inflamaciones. Otras actividades que merecen ser destacadas son sus acciones antivirales y antialérgicas, así como sus propiedades antitrombótica y antiinflamatoria. (42)

Los criterios químicos para establecer la capacidad antioxidante de los flavonoides son: (42)

- Presencia de estructura o-dihidroxi en el anillo B; que confiere una mayor estabilidad a la forma radical y participa en la deslocalización de los electrones. (42)
- Doble ligadura, en conjunción con la función 4-oxo del anillo C. (42)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

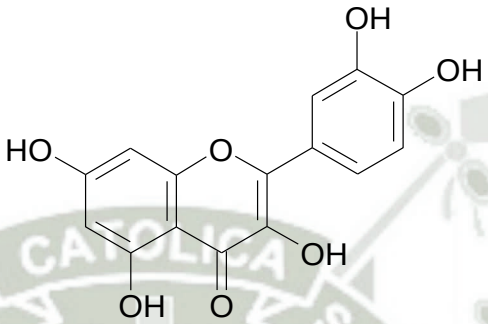
REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

- Grupos 3- y 5-OH con función 4-oxo en los anillos A y C necesarios para ejercer el máximo potencial antioxidante. (42)

La Quercetina presenta las tres características, mientras que la Catequina sólo presenta la segunda y la Diosmetina la primera. (42)

FIGURA N° 2.14.: Quercetina.



6. CAPSAICINOIDES

Los capsaicinoides son los compuestos que le dan el sabor picante al pimiento, los cuales son un grupo de amidas ácidas formados a partir de la vanillilamina y ácidos grasos de 8 a 13 átomos de carbono, entre los cuales destacan dos, la capsaicina, (*E*)-*N*-[(4-hidroxi-3-metoxifenil)metil]-8-metil-6-nonenamida, y la dihidrocapsaicina, que es el 6,7-dihidroderivado de la capsaicina. Estos dos capsaicinoides mayoritarios representan por lo general el 90% de los capsaicinoides totales presentes en las variedades picantes de pimientos. (43)

Por lo general, la capsaicina es el capsaicinoide mayoritario presente en las variedades picantes de pimientos, pero no es extraño encontrar variedades de pimientos en las cuales el capsaicinoide más abundante sea la dihidrocapsaicina. (43)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

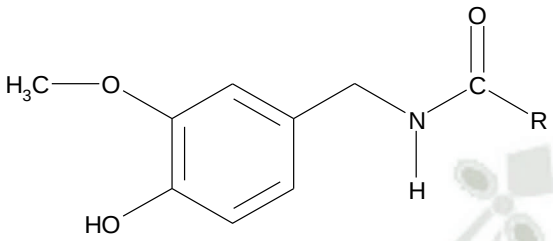
REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

6.1. Estructura:

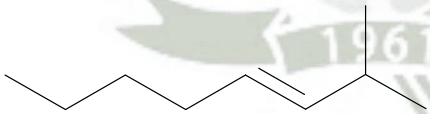
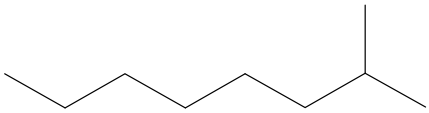
El esqueleto base de los capsaicinoides tiene la siguiente estructura: (43)

FIGURA N° 2.15.: Estructura básica de los Capsaicinoides.



Dependiendo del número de carbonos de la cadena lateral (R) o de si poseen o no insaturaciones podemos tener los distintos capsaicinoides naturales que existen, tal como vienen recogidos en la Tabla N° 2.4. en la que se representan las cadenas más abundantes presentes en los capsaicinoides en la naturaleza: (43)

TABLA N° 2.4.: Cadenas laterales (R) de Capsaicina y Dihidrocapsaicina.

R =	NOMBRE
	Capsaicina
	Dihidrocapsaicina

FUENTE: Fernández Barbero, Gerardo: Extracción, Análisis, Estabilidad y Síntesis de Capsaicinoides. Tesis Doctoral de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Cádiz. (43)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Las concentraciones de capsaicinoides en las variedades picantes de pimientos varían muy significativamente unas de otras. Las variedades poco picantes de pimientos tienen concentraciones de capsaicinoides que van desde los 0,003 % a 0,01 % en peso seco del pimiento. Las concentraciones de capsaicinoides de las variedades picantes suaves van desde 0,01 % a 0,3 %, y las variedades fuertemente picantes se caracterizan por tener un contenido superior al 0,3 % en capsaicinoides del peso seco total, pudiendo llegar a alcanzarse el 1 %. (43)

6.2. Acción Antioxidante de los Capsaicinoides

Los pimientos son una magnífica fuente de antioxidantes susceptibles de ser utilizados en la dieta. Presentan no sólo compuestos antioxidantes muy extendidos en el mundo vegetal como pueden ser flavonoides, ácidos fenólicos, carotenoides, vitamina A, ácido ascórbico, tocoferoles, sino también constituyentes antioxidantes específicos como los capsaicinoides y los capsinoides. (43)

Los capsaicinoides presentan una actividad antioxidante muy interesante. Se conoce que la capsaicina y la dihidrocapsaicina son capaces de inhibir la peroxidación lipídica catalizada por cationes Fe^{3+} y la oxidación de lipoproteínas de baja densidad producida por cationes cobre. Este efecto es atribuido a la capacidad de estos compuestos para formar complejos con estos metales reducidos, actuando además como donadores de hidrógenos. (43)

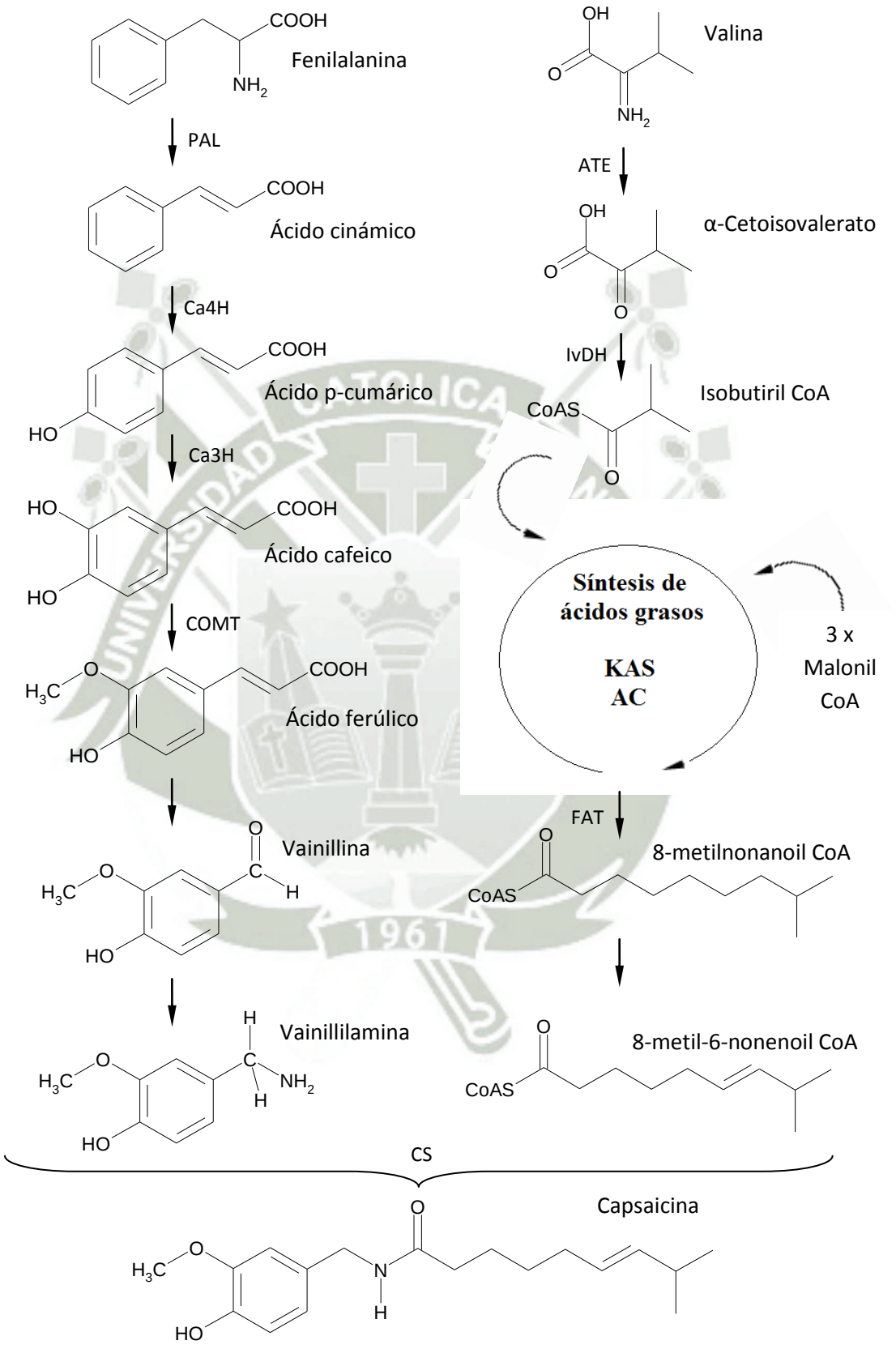
La capsaicina puede también prevenir la oxidación del ácido oleico a altas temperaturas54 al igual que previene la formación de hidroperóxidos lipídicos provenientes de la auto-oxidación del ácido linoleico. (43)

A pesar de estas magníficas propiedades, el uso de los capsaicinoides como antioxidantes en alimentos o en tratamientos farmacéuticos está obviamente limitado por su marcado carácter picante y sus consiguientes propiedades molestas. (43)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

FIGURA N° 2.16.: Biosíntesis de la capsaicina. (44)



Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

7. CAPSINOIDES:

Los capsinoides también llamados “Capsaicinoid-like substances (CLS)”, por su semejanza con los capsaicinoides, son compuestos naturales que se encuentran en algunas variedades de pimientos dulces. Su máximo interés reside en la demostrada actividad biológica que exhiben. El interés de los capsinoides es tan alto que ya se ha registrado su patente con posibles usos en bebidas “saludables” del capsiato y del nordihidrocapsiato, además de su uso en analgésicos y en alimentos. Por todo ello es especialmente interesante la búsqueda de nuevos compuestos de estructuras similares y de mayor actividad biológica. (43)

Los capsinoides químicamente son ésteres formados a partir de la condensación del alcohol vaníllico y ácidos grasos similares a los que intervenían en la formación de los capsaicinoides. La única diferencia estructural que presentan los capsinoides con respecto a los capsaicinoides es el tipo de enlace que presenta el esqueleto bencénico con la cadena carbonada de la molécula. En los capsinoides este enlace es tipo éster, mientras que en los capsaicinoides el enlace es tipo amida. La principal diferencia sensorial que presentan estas dos familias de compuestos es que mientras los capsaicinoides presentan unas marcadas características picantes, los capsinoides no presentan de ninguna manera estas propiedades picantes. A pesar de esta diferencia, los capsinoides presentan muchas funciones fisiológicas similares a los capsaicinoides, causando una estimulación mucho menos dañina de la que causan éstos últimos. Por lo tanto el que no presenten estas características picantes, les hace muy útiles para un amplio uso tanto en alimentación como en medicina. (43)

7.1. Estructura Química:

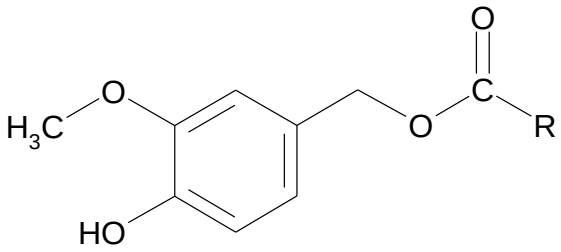
El esqueleto base de los capsinoides tiene la siguiente estructura: (43)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

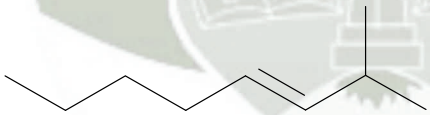
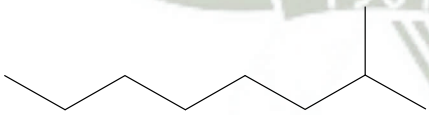
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

FIGURA N° 2.17.: Estructura básica de los capsinoides. (43)



Al igual que ocurría con los capsaicinoides, dependiendo del número de carbonos de la cadena lateral (R) o de si poseen o no insaturaciones podemos tener los distintos capsinoides que se conocen, tal como se representa en la Tabla N° 2.5.: (43)

TABLA N° 2.5.: Cadenas laterales (R) de Capsiato y Dihidrocapsiato.

R =	NOMBRE
	Capsiato
	Dihidrocapsiato

FUENTE: Fernández Barbero, Gerardo: Extracción, Análisis, Estabilidad y Síntesis de Capsaicinoides. Tesis Doctoral de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Cádiz. (43)

La cadena carbonada del capsiato y del dihidrocapsiato son las mismas que en la capsaicina y la dihidrocapsaicina respectivamente, diferenciándose tan solo en la

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

porción aromática, la cual no es la vanillilamina como en los capsaicinoides, sino el alcohol vaníllico. (43)

7.2. Acción Antioxidante de los Capsinoides

Como se sabe desde hace tiempo, los capsaicinoides presentan unas marcadas propiedades antioxidantes, pero su uso como antioxidantes tanto en alimentación como en productos farmacéuticos queda muy limitado debido al marcado carácter picante que presentan. En cambio, los capsinoides son inofensivos y carecen de características picantes. (43)

Los capsinoides aumentan la secreción adrenal de catecolaminas al igual que la capsaicina. Tanto la capsaicina como el capsiato producen un incremento en la temperatura corporal y estudios recientes sugieren que el capsiato puede promover el metabolismo energético y suprimir la acumulación de grasas en el organismo de la misma manera en que lo hace la capsaicina. (43)

Los capsinoides y sus análogos han demostrado un elevado poder como antioxidantes. Este efecto es debido a su capacidad para donar átomos de hidrógeno y deslocalizar el radical libre que se forma. (43)

Por lo tanto se ha comprobado que tanto el capsiato como el dihidrocapsiato poseen una actividad antioxidante comparable a la que presentan sus correspondientes capsaicinoides (capsaicina y dihidrocapsaicina). La diferencia está en que tanto el capsiato como el dihidrocapsiato no presentan las propiedades picantes que presentan los capsaicinoides, lo que los hace ser compuestos muy interesantes para ser utilizados como antioxidantes en la alimentación. (43)

8. DIABETES

La diabetes es una enfermedad metabólica crónica caracterizada por un déficit total o parcial, de insulina que provoca un mal aprovechamiento de los Hidratos de Carbono que da lugar al aumento de los niveles de glucosa en la sangre y a la eliminación de la misma por la orina, afecta por igual a ambos sexos y razas.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Puede aparecer a cualquier edad, aunque la incidencia aumenta considerablemente con la edad. (45)

La Diabetes Mellitus (DM) describe un desorden metabólico de etiología múltiple, caracterizado por hiperglicemia crónica con disturbios en el metabolismo de los carbohidratos, grasa y proteínas, que resulta de trastornos en la secreción y/o en la acción de la insulina. (45)

8.1. Clasificación de la Diabetes

Los nuevos criterios para su diagnóstico y clasificación fueron desarrollados casi simultáneamente por un Comité de expertos de la Asociación Americana de diabetes (ADA) y por un comité asesor de la Organización Mundial de la Salud (OMS). (45)

Su clasificación se basa fundamentalmente en la etiología y características fisiopatológicas, pero adicionalmente describe la etapa de su historia natural en la que se encuentra el paciente diabético. (45)

Dependiendo de diversos factores, como pueden ser causa, edad de aparición o tratamiento necesario, podemos clasificar la diabetes en: (45)

A. Diabetes Mellitus Tipo 1: Insulinodependiente.

Generalmente aparece antes de los 30 años. La mayor frecuencia de presentación está entre los 12 y los 16 años. Representa el 10-15% de todas las formas de diabetes, aparición súbita, generalmente en personas jóvenes. El comienzo es brusco, con síntomas muy llamativos (hiperglucemia, poliuria, polidipsia, polifagia, cetosis, etc.). Sin embargo al comienzo de la enfermedad puede presentarse un período de recesión, que puede dar lugar a falsas esperanzas de curación, cuya duración depende de las reservas de insulina que tenga el páncreas del paciente. (45)

Se produce un adelgazamiento acentuado al inicio de los síntomas. Comen mucho pero no aprovechan la energía, porque la glucosa no se metaboliza, al no utilizarse el azúcar, se queman las grasas y disminuye el peso. El páncreas no produce insulina, por lo que es necesario administrarla, la herencia

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

genética no influye de forma determinante en su aparición. Es una enfermedad autoinmune asociada a los anticuerpos HLA que precisa de un factor desencadenante, generalmente una infección o una situación de estrés. Tiene un comienzo brusco y con síntomas muy evidentes. (45)

B. Diabetes Mellitus Tipo II: No Insulinodependiente.

Generalmente aparece después de los 40 años. La mayor frecuencia de presentación se sitúa a partir de los 60 años. Es la forma más frecuente de diabetes, representa más del 85% de los casos. La incidencia está en progresivo aumento gracias a la mayor esperanza de vida. Los factores que provocan su aparición son: genético, disminución del número de receptores celulares de insulina, agotamiento pancreático y factores ambientales como obesidad, sedentarismo y dietas ricas en hidratos de carbono. El comienzo en lento y gradual con síntomas poco llamativos, pudiendo pasar inadvertida hasta que se descubre en un análisis de rutina. Cursa generalmente con obesidad y suele faltar el adelgazamiento cuando aparece. Otros síntomas frecuentes son: somnolencia (postprandial), nicturia, prurito, mala cicatrización (mala irrigación), visión borrosa (alteración de los vasos de la retina), calambres musculares. El páncreas sigue produciendo insulina pero de forma insuficiente, pudiéndose tratar en un principio con régimen. (45)

8.2. Inducción de diabetes

La inducción de la diabetes se ha logrado por medio de diversas técnicas experimentales. En 1889, Von Mering y Minkowski produjeron diabetes experimental en perros mediante la remoción quirúrgica del páncreas. Desde entonces, la pacreatomía total se usa en muchas especies, con el propósito de crear modelos experimentales. (46)

El uso de agentes químicos para producir diabetes, permite realizar estudios detallados de los eventos bioquímicos y morfológicos que ocurren durante y después de la inducción de un estado diabético. Los agentes más utilizados son la aloxona y la estreptozotocina. Estos compuestos en dosis diabetogénicas actúan específicamente sobre las células β del páncreas. (46)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

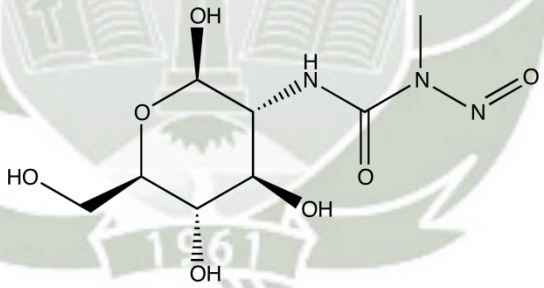
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

8.3. Estreptozotocina:

La estreptozotocina (STZ), 2-deoxi-2-({[metil(nitroso)amino]carbonil}amino)-β-D-glucopiranosa, es una sustancia relativamente selectiva para las células beta, que en ciertas especies causa diabetes permanentemente. La fijación a la membrana, a semejanza con la aloxona, es el primer evento en el proceso patológico. (46)

Algunas evidencias indican que la toxicidad de la estreptozotocina esta medida por el reconocimiento específico de algunos receptores sobre la célula β. Se cree que provoca un decremento en los niveles del dinucleótido de nicotinamida y adenina (NAD), ya que puede disminuir tanto su síntesis como incrementar su hidrólisis. La nicotinamida protege a los animales contra la citotoxicidad tanto de estreptozotocina como de aloxona. Empero, los efectos de esta última pueden ser prevenidos por algunos carbohidratos; 3-O-metilglucosa es la más efectiva. (46)

FIGURA N° 2.18.: Estreptozotocina
2-deoxi-2-({[metil(nitroso)amino]carbonil}amino)-β-D-glucopiranosa



8.3.1. Mecanismo de acción en la inducción de la diabetes

La estreptozotocina, 2-deoxi-2-({[metil(nitroso)amino]carbonil}amino)-β-D-glucopiranosa, se sintetiza por el *Streptomycetes achromogenes*, y se utiliza para inducir diabetes mellitus; cuando se inyectan 50 mg/kg de estreptozotocina por vía intravenosa en ratas, 2 semanas después, la glucosa

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

sanguínea alcanza valores de 15mmol/L, y podemos considerar entonces, que la rata presenta diabetes. La estreptozotocina altera primero la oxidación de la glucosa para ser captada por las células, para después disminuir la biosíntesis y secreción de insulina. Las células β del páncreas captan la estreptozotocina a través del transportador GLUT2, por lo que cuando se reduce la expresión de este transportador, se previene la acción diabetogénica de la estreptozotocina. Este fármaco ocasiona cambios intracelulares en las células beta, fragmentación y alcalinización de DNA, hasta producir muerte. (46)

8.4. Tratamiento de la Diabetes Mellitus: (45)

Podemos esquematizar el tratamiento de esta enfermedad en los siguientes pasos: (45)

I. Dieta: Es el factor fundamental para el control metabólico de los pacientes.
II. Ejercicio Físico: Importante para mantener un control glucémico adecuado.
III. Antidiabéticos Orales: Fármacos utilizados en el tratamiento e aquellos pacientes DM tipo 2 que no pueden controlarse exclusivamente con la dieta.
IV. Insulina: Actualmente ya es insulina humana, de varios tipos y pautada de forma individual en los pacientes insulinodependientes.

8.5. Estrés oxidativo y Diabetes Mellitus

La diabetes es una enfermedad crónica caracterizada por una relativa incapacidad para incorporar glucosa desde la sangre a los tejidos, al ingesta de carbohidratos produce en individuos diabéticos un aumento por sobre lo normal en el nivel de glucosa en la sangre (hiperglicemia). (45)

La condición crónica de hiperglicemia está asociada a un daño directo y progresivo en el tiempo, de órganos y/o tejidos de los sistemas cardiovascular (ateroesclerosis), renal (disfunción), y nervioso (retinopatía y neuropatía). Si bien la diabetes es una enfermedad multifactorial, diversas evidencias científicas indican que tanto su génesis, como la progresión de sus complicaciones, estarían asociadas a fenómenos de estrés oxidativo. Esto último implica que en el organismo de los diabéticos, la enfermedad se encontraría asociada a una aumentada velocidad de generación de radicales libres y de otras especies oxidantes. (45)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Aunque el significado de la asociación entre diabetes y estrés oxidativo es aún controversial, ésta se basa en observaciones que indican que individuos diabéticos exhiben, por una parte, una disminuida capacidad de defensa antioxidante (expresada como reducidos niveles de antioxidantes fisiológicos en el plasma, ejemplo: glutation, vitaminas C y E y la enzima superóxido dismutasa), y por otra parte, un aumentado nivel de aquellos parámetros que mejor dan cuenta de daño oxidativo a lípidos (TBARS, isopranos), proteínas (carbonilos) y ácidos nucleicos (8-deoxi-guanosina). Se considera que el daño que afecta a tales componentes, de ser sostenido, se debe a una secreción no regulada de insulina y/o a su acción disminuida sobre el transporte y metabolismo de la glucosa. (45)

En el marco de tal escenario, diversos estudios han explorado la utilidad que podría tener un mayor consumo de antioxidantes (como una forma de lidiar con el estrés oxidativo) sobre el desarrollo de la diabetes y de sus complicaciones. A la fecha, la mayor parte de los estudios experimentales, conducidos en modelos animales, indican que mientras el estrés oxidativo acelera o agrava la condición diabética, la administración de ciertos antioxidantes resulta efectiva en prevenir al menos parcialmente el desarrollo de la enfermedad, y revertir algunos de los parámetros de estrés oxidativo típicamente observados en los animales en los cuales la diabetes ha sido inducida. (45)

9. PROCESOS OXIDATIVOS

9.1. Radicales Libres y Metabolitos Reactivos:

Radicales libres son átomos, moléculas o sus fragmentos, con uno o más electrones desapareados capaces de tener una existencia independiente por un corto período de tiempo. Pueden ser tanto neutrales como tener un carácter aniónico o catiónico. (47)

Al poseer un electrón desapareado, son muy reactivos ya que tienden a robar un electrón de moléculas estables con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica. (47)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Esto causa la oxidación de las moléculas cuyo electrón fue robado, por lo que los radicales libres son llamados oxidantes. Así mismo, otros metabolitos muy reactivos pueden ser formados a partir de los radicales libres. A menudo, estos pueden ser más reactivos o tóxicos que sus moléculas madre. Pudiendo así, crearse reacciones en cadena que den lugar a efectos biológicos lejos del sistema que originó el primer radical; un ejemplo lo constituye la peroxidación lipídica. (47)

Existen radicales libres derivados del oxígeno, nitrógeno o varios compuestos orgánicos. En la siguiente Tabla N° 2.6., se mencionan los principales radicales libres: (47)

TABLA N° 2.6.: Principales Radicales Libres en el Organismo.

Tipo	Radical Libre
Especies reactivas del Oxígeno	Anión superóxido (O_2) Radical hidroxil (HO-) Peróxido de hidrógeno (H_2O_2) Ácido hipocloroso (HOCl) Oxígeno singlete (O_2) Ozono (O_3)
Especies reactivas del Nitrógeno	Nitróxido (NO) Dióxido de nitrógeno (NOO) Peroxinitrito (ONOO)
Radicales orgánicos	Radical alcoxil (RO) Radical peroxil (ROO)

FUENTE: Nieto Bobadilla, María Susana: Validación de una Técnica Analítica por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) para Cuantificar Cinamaldehído en Aceite Esencial obtenido de la Corteza del Cinnamomum spp "Canela" y Comparación de su Capacidad Antioxidante". Tesis de Bachiller en Farmacia y Bioquímica. Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas de la UCSM. Arequipa 2011. (47)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Estas especies reactivas de oxígeno (ERO) son producidas en su mayoría por la mitocondria, ya que la respiración celular se realiza a ese nivel. El 90% del total del oxígeno inhalado se consume en la mitocondria y alrededor del 2% del oxígeno reducido se transforma en el radical superóxido (O_2). Otra fuente de este radical son los fagocitos activados que producen el superóxido como mecanismo protector frente a agentes u organismos extraños. Por otros mecanismos, el superóxido se transforma en el radical hidroxilo (HO), que es aún más reactivo que el anterior. Otro radical libre fisiológico es el nitróxido (NO), que se produce en el endotelio vascular como factor relajante. Este puede transformarse en peroxinitrito (ONOO) que contribuye en gran medida a lesiones de tipo oxidativo en múltiples enfermedades. (47)

Los radicales libres se forman en reacciones bioquímicas de oxidación-reducción que ocurren en el metabolismo celular normal, muy influenciados por factores ambientales externos, tales como: (47)

- Los componentes del humo del cigarro.
- Los contaminantes ambientales.
- Las radiaciones Gamma.
- La luz ultravioleta.
- Compuestos tóxicos.
- Dietas desbalanceadas o pobres.
- Dietas hipercalóricas e hiperlipídicas.
- Ejercicio o trabajo extenuante.

El efecto de los radicales libres en los sistemas biológicos depende mayormente de la presencia de oxígeno. Por un lado, el oxígeno es esencial para la vida porque su reducción a agua es fundamental para la síntesis de un compuesto energéticamente rico en el organismo: ATP. Por otro lado, el oxígeno puede ser una fuente de producción de metabolitos reactivos extremadamente tóxicos. Los radicales libres y metabolitos reactivos pueden reaccionar rápidamente con moléculas biológicamente importantes, como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, causando un daño primario. (47)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

De este modo, es importante que la formación y efecto de los radicales libres en procesos fisiológicos esté bajo el control de varios sistemas protectores, con el fin de evitar la actividad de los radicales libres en el lugar equivocado y dañar las propias moléculas importantes del cuerpo. (47)

Para ejercer este control, los sistemas protectores reducen la toxicidad de los metabolitos reactivos y radicales libres de la siguiente manera: (47)

- Mecanismos que previenen la formación de radicales libres.
- Sistemas que eliminan los radicales libres y metabolitos reactivos ya formados (antioxidantes).
- Sistemas de reparación que eliminan moléculas oxidadas dañadas.

9.2. Estrés Oxidativo:

El estrés oxidativo se puede definir como una perturbación del equilibrio entre prooxidantes y antioxidantes, con un desplazamiento a favor de los primeros, de modo tal que esta alteración da lugar a cambios en las biomoléculas y de hecho, a modificaciones funcionales en los lugares donde éstas se encuentren en un momento dado. (47)

El estrés oxidativo puede resultar de diversas condiciones: (47)

- Producción aumentada de radicales libres, como en la hiperoxia; o la exposición a metabolitos tóxicos reactivos, como la activación de neutrófilos durante una inflamación.
- Niveles disminuidos de antioxidantes, por ejemplo elevada exposición de toxinas que llevan a la depleción de fuentes de antioxidantes.

Cuando alguno de los sistemas protectores del organismo contra la toxicidad de los radicales libres falla, la acción de los radicales libres se vuelve descontrolada, resultando en daño de moléculas, células y órganos, y potencialmente en la muerte del organismo. (47)

A continuación se detallan los daños que pueden sufrir las principales biomoléculas del organismo: (47)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

A. Daño a Proteínas: (47)

Las proteínas son modificadas de diferente manera por las ERO. Los radicales libres de oxígeno, por ejemplo, pueden reaccionar directamente con el ligando metálico de muchas metaloproteínas. Se ha comprobado que el hierro de la oxihemoglobina puede reaccionar con el radical superóxido o el peróxido de hidrógeno para formar metahemoglobina. Debido a la reactividad de los radicales libres con las moléculas insaturadas o que contienen azufre, las proteínas con proporciones elevadas de triptófano, tirosina, fenilalanina, histidina, metionina y cisteína pueden sufrir modificaciones aminoacídicas mediadas por radicales libres. En este sentido, se ha observado que enzimas tales como la papaína, la gliceraldehído-3-fosfato deshidrogenasa e incluso la superóxido dismutasa, que dependen todas ellas de estos aminoácidos para presentar actividad, se inhiben en presencia de radicales libres. Las reacciones de los radicales libres al reaccionar con aminoácidos dan lugar también a alteraciones estructurales en las proteínas provocando entrecruzamientos y fenómenos de agregación, que se ven favorecidos por la formación de puentes disulfuro intra e intermoleculares. Los enlaces peptídicos también son susceptibles de ser atacados por los radicales libres. Estos enlaces pueden romperse tras la oxidación de residuos de prolina por radicales hidroxilo o superóxido. Finalmente, la reacción de los radicales libres con las proteínas también puede generar subproductos que amplificarían el daño inicial.

B. Daño a Lípidos: (47)

Las membranas biológicas típicamente consisten de una bicapa de fosfolípidos con ácidos grasos poliinsaturados (PUFAS), y otros componentes lipídicos como el colesterol.

Las cadenas laterales de los fosfolípidos son susceptibles al ataque de radicales libres, la peroxidación lipídica está caracterizada por un mecanismo de reacción en cadena, que tiene los siguientes pasos:

- Paso 1: ***Iniciación:*** Los oxidantes atacan un grupo metileno (-CH2-) y remueve átomos de hidrógeno de la cadena lateral de PUFA. El carbono, del

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

cual el átomo de hidrógeno fue removido, tiene ahora un electrón desapareado, convirtiéndolo en un radical libre. En ausencia de oxígeno, el radical de carbono sufre un reajuste molecular para formar un dieno conjugado. Sin embargo, en presencia de oxígeno, se combina con éste y produce un radical peroxil.

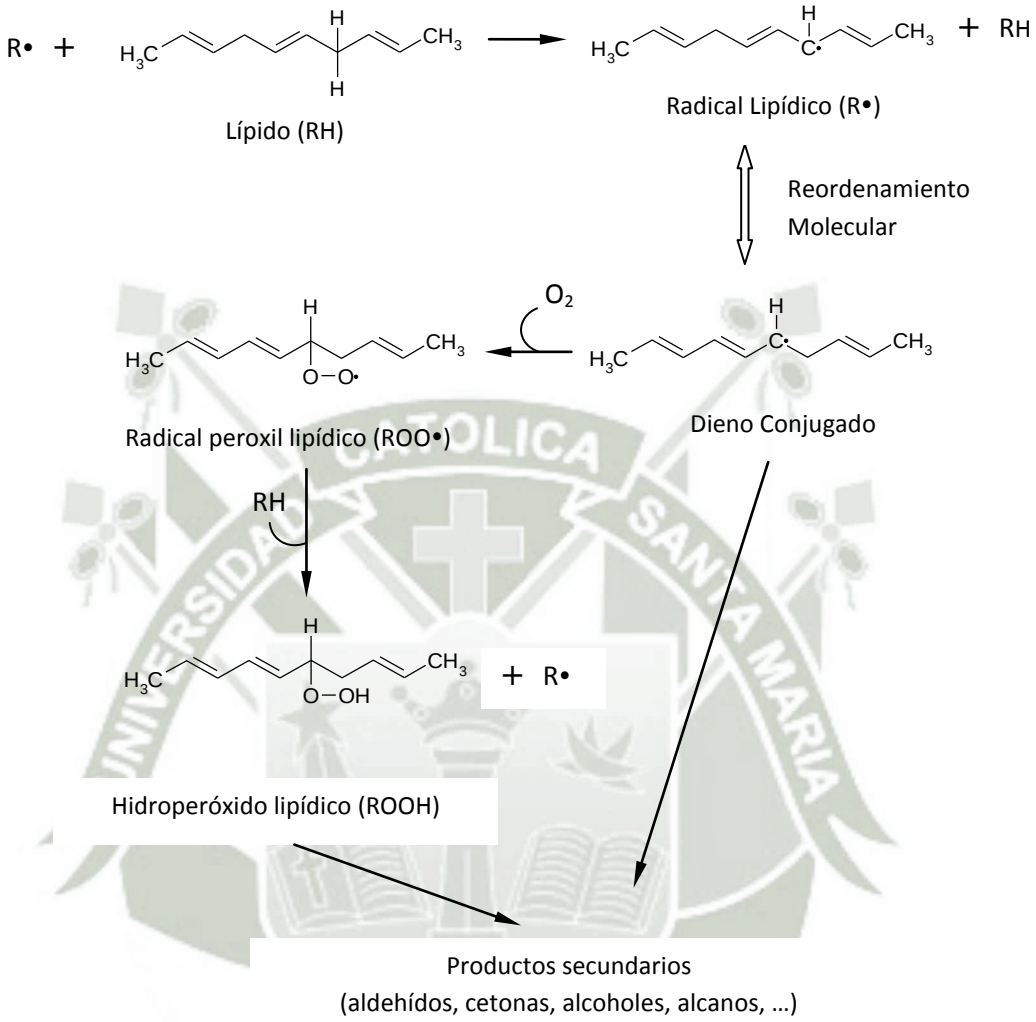
- Paso 2: ***Propagación:*** Los radicales peroxil altamente reactivos pueden oxidar otros lípidos insaturados o atacar otras moléculas celulares como proteínas. El radical peroxil es capaz de sustraer hidrógenos de otra molécula lipídica y dar una variedad de hidroperóxidos lipídicos y peróxidos cíclicos. Los hidroperóxidos son relativamente hidrofílicos y pueden migrar a la superficie de la membrana para interaccionar con el agua, disrumpiendo así su estructura y fluidez. Disminuyen la actividad de enzimas ligadas a la membrana, alteran la actividad de receptores membranales, y la debilitan. Los hidroperóxidos son luego degradados para formar diversos productos incluyendo hidrocarbonos, alcoholes, éteres, epóxidos y una variedad de aldehídos.
- Paso 3: ***Terminación:*** La reacción en cadena se termina por interacciones entre los mismos radicales, o entre radicales y antioxidantes, dando lugar a productos no-radicales o radicales no-reactivos. Generalmente, cualquier clase de radical alquil (radicales lipídicos libres) pueden reaccionar con un radical peroxil y originar una especie no-iniciadora y no- propagadora. También se acepta que la terminación de la peroxidación lipídica se logra por la reacción de un radical peroxilo con un alfa-tocoferol, el cual es la principal molécula lipofílica que “rompe cadenas” en las membranas celulares. Además también pueden ocurrir enlaces entre peróxidos lipídicos y proteínas de membrana.

En la Figura N° 2.20. mostrada a continuación se esquematiza el mecanismo de la peroxidación lipídica:

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

FIGURA N° 2.19.: Mecanismo de la Peroxidación Lipídica.



C. Daño a Ácidos Nucleicos: (47)

Los ácidos nucleicos también pueden ser atacados por los radicales libres. Realmente la citotoxicidad de estas especies químicas, en gran parte, es una consecuencia de las aberraciones cromosómicas producidas por las modificaciones químicas que sufren las bases y los azúcares del DNA al reaccionar con los radicales libres, especialmente con el HO. Las modificaciones químicas de los nucleótidos provocan, en muchos casos, la

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

ruptura de las hebras del DNA. Si el daño que se origina es tan grande que no puede ser reparado, se produce una mutación, o bien, la célula muere.

D. Daño a Carbohidratos: (47)

Los carbohidratos son dañados por los radicales libres en menor proporción que otras moléculas. Azúcares tales como la glucosa, el manitol o ciertos desoxiazúcares pueden reaccionar con el radical HO para producir sustancias reactivas. Así mismo, los polisacáridos pueden sufrir el ataque de los radicales libres, en este caso, fragmentándose a unidades más sencillas. Se ha demostrado que el ácido hialurónico se despolimeriza en presencia de concentraciones elevadas de radicales hidroxil, provocando un descenso de la viscosidad del líquido sinovial de las articulaciones.

Una mayor o menor intensidad del stress oxidativo durante la vida puede influenciar negativa o positivamente en el envejecimiento del organismo, dependiendo de la disposición genética, así como de los factores dietéticos y del estilo de vida. (47)

Un fuerte stress oxidativo en el organismo puede participar en el principio o desarrollo de muchas enfermedades. Por ejemplo: enfermedades neurodegenerativas, Parkinson, Alzheimer, aterosclerosis, enfermedades cardiovasculares, cáncer, diabetes mellitus, enfermedad de Crohn, artritis reumatoide, retinopatía, enfermedades psíquicas, etc. (47)

Se ha postulado que la inducción o inhibición de la proliferación celular depende del balance entre oxidantes y antioxidantes en la célula. Un ambiente más reductor en la célula (balance a favor de los antioxidantes) estimula la proliferación, característico de células cancerígenas. Un ambiente oxidante lleva a apoptosis, y si es más oxidante aún, a necrosis. (47)

La comprensión de los mecanismos por los cuales se mantiene una “capacidad buffer redox” intracelular, podría contribuir al desarrollo de drogas cancerígenas preventivas y terapéuticas. (47)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

10. ANTIOXIDANTES

Un antioxidante es una sustancia capaz de neutralizar la acción oxidante de los radicales libres, mediante la liberación de electrones en nuestra sangre, los que son captados por los radicales libres. (48)

Halliwell, define los antioxidantes como un grupo de sustancias las que, en muy bajas concentraciones, tienen la capacidad de retardar significativamente el proceso de oxidación molecular mediante su propia oxidación. Son sustancias que captan radicales libres, neutralizándolos, de esta manera, ayudan a reducir la incidencia de las enfermedades y daños causados por el estrés oxidativo. Los vegetales, plantas y especias, constituyen una fuente muy rica en antioxidantes, que pueden incluirse en la dieta diaria. (48)

10.1. Clasificación de Antioxidantes

Existen muchos tipos de clasificación de antioxidantes, pero para simplificar dicha clasificación, se definen tres tipos de antioxidantes que engloban las demás clasificaciones que se mencionarán más adelante: (48)

- *Antioxidantes Preventivos*, son los que evitan la iniciación de la propagación de la reacción del radical en la cadena. Pertenecen a este grupo, los metales quelantes y descomponedores de peróxido.
- *Antioxidantes Rompe-cadenas (chain-breaking)*, reaccionan con un compuesto reactivo, ya formado y lo transforman en uno menos reactivo; poniendo fin a la reacción en cadena.
- *Antioxidantes reparadores*, actúan una vez producido el daño, se encuentran dentro de este grupo las fosfolipasas, proteasas, enzimas reparadoras de ADN y transferasas. Reparan el daño y reconstituyen tejidos.

Existen también otro tipo de clasificaciones más específicas, como las que se mencionan a continuación: (49)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

1. **Según su naturaleza: (49)**
   a. Antioxidantes Enzimáticos
      - Superóxido dismutasa (SOD)
      - Catalasa (CAT)
      - Glutation peroxidasa (GPx)
      - Glutation reductasa (GR)

   b. Antioxidantes No Enzimáticos
      i) Antioxidantes Metabólicos
         - Glutation reducido (GSH)
         - Ácido Lipoico
         - L-arginina.
         - Coenzima Q10
         - Melatonina
         - Ácido Úrico
         - Bilirrubina
         - Proteínas quelantes de metales
         - Transferrina, etc.

      ii) Antioxidantes con función nutritiva
         - Vitamina E.
         - Vitamina C ó ácido ascórbico
         - Carotenoides.
         - Trazas de metales (Selenio, Manganeso, Zinc)
         - Flavonoides
         - Omega-3
         - Omega-6
         - Ácidos grasos, etc.

2. **Según su fuente de origen (49)**
   a. Antioxidantes de origen endógeno
      - Bilirrubina

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

- Glutation
- Ácido Lipoico
- N-acetil cisteína
- NADPH y NADH
- Coenzima Q10
- Ácido Úrico
- Enzimas (SOD, CAT, GPx, GR)

b. Antioxidantes de origen exógeno
   - Vitamina C
   - Vitmaina E
   - Betacaroteno y otros carotenoides
   - N-acetil cisteína
   - Flavonoides (polifenoles)

c. Proteínas captadoras de metals
   - Albúmina
   - Ceruloplasmina
   - Ferritina
   - Mioglobina
   - Transferrina

3. Según su mecanismo de acción (49)

a. Sistemas catalíticos para neutralizar o desviar los ROS
   - SOD
   - CAT
   - GPx

b. Captación o Inactivación de iones metálicos previniendo la producción de ROS, mediante la reacción de Haber-Weiss
   - Ferritina
   - Ceruloplasmina

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

c. Auto-suicida y rompedores de cadena, destruyendo los ROS
   - Vitamina C
   - Vitamina E
   - Ácido Úrico
   - Glutation
   - Flavonoides

d. Captación de los ROS
   - Carotenoides
   - Antocianinas

A continuación se mencionan algunos mecanismos de acción de diferentes tipos de antioxidantes: (48)

a. Superóxido dismutasa (SOD)

Es una enzima que se encuentra en el citosol, mitocondria y a nivel extracelular. En el hombre esta enzima presenta tres isoformas SOD1, SOD2 y SOD3, tiene como cofactores al zinc, cobre y manganeso. (48)

Produce la dismutación del radical superóxido convirtiéndolo en peróxido de hidrógeno y oxígeno molecular, como se muestra en la ecuación a continuación: (48)

$$2O_2^{\cdot -} + 2H^+ \rightarrow O_2 + H_2O_2$$

b. Catalasa (CAT)

Es una enzima que está presente en los peroxisomas, participa en la dismutación del peróxido de hidrógeno, para descomponerlo en oxígeno molecular y agua. (48). Como se muestra en la siguiente ecuación: (48)

$$H_2O_2 \rightarrow O_2 + H_2O$$

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

c. Glutation Peroxidasa (GPx)

Es una enzima que se encuentra en el citosol y la mitocondria de las células, reduce el peróxido de hidrógeno y otros hidroperóxidos, convirtiéndolos en agua y oxígeno molecular. (48)

El glutation (GSH) es un tripéptido no proteínico, que está presente en altas concentraciones en la mayoría de las células, en el citosol. Es esencial para la vida y se regenera él mismo, mediante la enzima glutation reductasa (GR), que cataliza la reducción de glutation oxidado (GSSG) a glutation reducido. Destruye las toxinas y/o radicales libres que ingresan a nuestro organismo y las elimina, a diferencia de otros sistemas antioxidantes, no se convierte en una radical menos reactivo y es activo frente a muchos tipos de radicales. El GSH es capaz de eliminar radicales libres directamente o enzimáticamente a través de la GPx, previene el daño de tejidos. (48)

$$2GSH + H_2O_2 \rightarrow GSSG + 2H_2O$$

d. Ácido Úrico

Es un producto del metabolismo de las purinas, se encuentra ampliamente distribuido, es un poderoso antioxidante y un secuestrante del oxígeno singulete y otros radicales como el superóxido, hidroxilo. (48)

e. Cisteína

Es un aminoácido y también está ampliamente distribuido, es un componente vital para la síntesis del glutation y puede reducir compuestos orgánicos, donando electrones de sus grupos tiol –SH. La N-acetil-L-cisteína, es un derivado de la cisteína y también es un precursor de glutation, capta el peróxido de hidrógeno y otros peróxidos. (48)

f. Coenzima Q10 (CoQ10)

También es llamada ubiquinona, es sintetizada en las células humanas y también puede encontrarse en alimentos, como el salvado de trigo y pescado. Inhibe la

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

peroxidación lipídica y reduce el estrés oxidativo mitocondrial, también es capaz de reciclar o regenerar la vitamina E. (48)

g. Transferrina

Es la mayor proteína transportadora de hierro en el organismo. Se une a las sales de hierro, que podrían ser generadoras de radicales libres. (48)

h. Lactoferrina

Es una proteína de la leche que se encuentra extracelularmente. Tiene un mecanismo de acción similar a la transferrina, de unión al hierro. (48)

i. Ceruloplasmina

Es una proteína extracelular que se une a metales, como el cobre. Cataliza la oxidación del Fe^{2+} a Fe^{3+}, ya que el Fe^{2+} da lugar a la formación de radicales libres. (48)

j. Bilirrubina

Es un producto del catabolismo del grupo “hemo”, a bajas concentraciones in vitro es eficiente en capar el radical peróxido y protege la unión de la albúmina con el ácido linoleico de la peroxidación inducida por radicales. Se encuentra en la sangre, tejidos, plasma y lugares extravasculares. Al igual que la vitamina E o α-tocoferol, la bilirrubina tiene acción sinérgica con la vitamina C o ácido ascórbico. (48)

k. Vitamina C

Capta los radicales superóxido, hidroxilo y neutraliza el oxígeno singulete; al captar los radicales libres, los neutraliza y se transforma en el radical dehidroascorbato, mucho menos reactivo, que los radicales ya mencionados. Existen sistemas enzimáticos intracelulares para regenerar este radical dehidroascorbato a su forma original, usando como poder reductor el NADH (semidehidroascorbato reductasa o GSH (dehidroascorbato reductasa). La vitamina C regenera la forma oxidada de la vitamina E. Esta vitamina a su vez

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

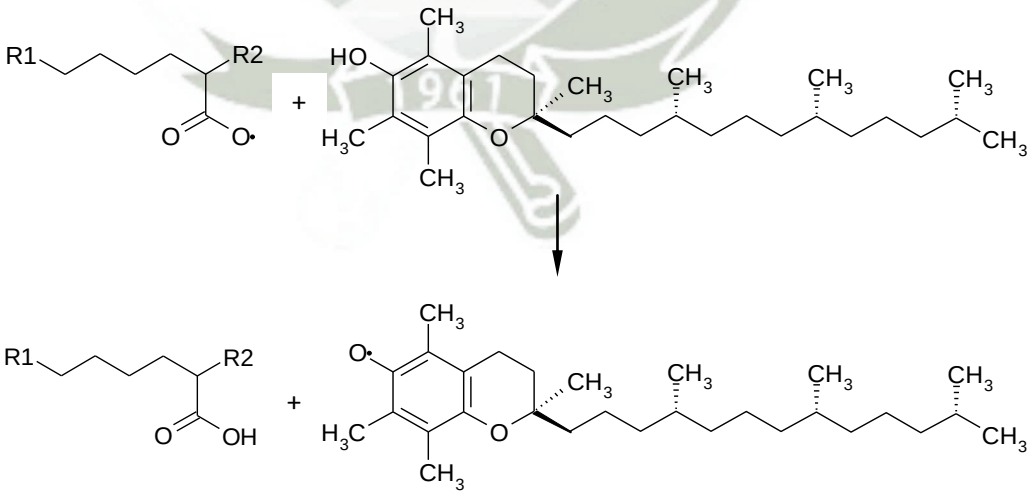
también puede actuar como prooxidante en presencia de metales como el hierro o el cobre, por tener la habilidad de convertir al Fe^{3+} a Fe^{2+}, siendo éste último un potente generador de radicales libres. (48)

l. Vitamina E

Capta directamente el radical superóxido e hidroxilo, neutraliza el oxígeno singulete y los peróxidos. Regula las enzimas antioxidantes y rompe las cadenas de lípidos en la peroxidación, por tener un carácter altamente lipofílico. La vitamina E, cede un hidrógeno al radical libre, convirtiéndolo en una molécula estable, para evitar la continuación de esta reacción en cadena, convirtiéndose en un radical "tocoferil", pero tiene la ventaja que este radical puede volver a reducirse con la ayuda de otras sustancias, como la vitamina C. (48)

La vitamina E o alfa-tocoferol, se encuentra en las membranas biológicas, debido a su hidrofobicidad, en donde desempeña un rol muy importante, protegiendo a las LDL de procesos oxidativos. Se ha determinado que cada molécula de vitmaina E es capaz de proteger 500 moléculas de fosfolípidos que se encuentran dentro de las LDL. Algunas fuentes de vitamina E son los aceites vegetales, cereales integrales, frutos secos, frutas, huevos, carne, etc. (48)

FIGURA N° 2.20.: Reacción del α-tocoferol con un radical peroxilo.



Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

m. Carotenoides

Su actividad antioxidante está basada en su capacidad de neutrlaizar el oxígeno singulete. Los carotenoides pueden captar radicales peroxilo, mediante transferencia de electrones o sustracción de átomos de hidrógeno, mecanismos que llevan a la formación de una gran variedad de carotenoides radicálicos. Los carotenoides se usan para disminuir el riesgo de enfermedades cardiovasculares, cataratas, VIH y ciertos tipos de cáncer. (48)

n. Flavonoides

Se encuentran también en diversas frutas, vegetales y especias; captan los radicales superóxido, hidroxilo y lípido peróxido. Tienen importantes efectos en la salud. (48)

10.2. Antioxidantes Sintéticos

Los antioxidantes sintetizados químicamente, son aquellos que no están presentes en la naturaleza y se usan para prevenir la peroxidación lipídica en diferentes productos. Los más empleados en alimentos, son el BHT y BHA que tienen una buena actividad antioxidante, por separado, pero cuando se usan ambos potencian la misma. (49)

Estos antioxidantes son ampliamente usados, pero su empleo ha sido cuestionado desde hace varios años, por ser productos de origen sintético, a los que se les atribuye potenciales efectos carcinogénicos. Si bien es cierto, han demostrado inocuidad para el ser humano, a bajas concentraciones, pero nunca serán del todo aceptados y tolerados, al no ser compatibles con nuestro organismo, por ser de origen químico. Es por ello, que hoy en día ha aumentado el interés de parte de industrias y consumidores, por el uso y consumo de sustancias de origen natural, en este caso, antioxidantes. (49)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

10.2.1. Clasificación de Antioxidantes Sintéticos (48)

TABLA N° 2.7.: Antioxidantes Sintéticos.

Antioxidantes Sintéticos	
Antioxidantes Sintéticos Primarios Previenen la formación de radicales libres.	- Eliminadores de Radicales libres. Ej.: BHA, BHT, TBHQ, propilgalato. - Captadores de Oxígeno. Ej.: Sulfitos, glucosa oxidasa, ascorbil palmitato. - Agentes Quelantes. Ej.: EDTA, ácido tartárico, ácido cítrico.
Antioxidantes Sintéticos Secundarios Descomponen los hidroperóxidos formados durante la oxidación de lípidos, convirtiéndolos en productos estables.	- Ej.: Ácido Tiodipropiónico, Dilauril tiodipropionato.

FUENTE: Zea Linares, Andrea: "Determinación de la Capacidad Antioxidante de las Oleorresinas y Extractos Alcohólicos de Curcuma longa L. (Palillo) y Rosmarinus officinalis (Romero)". (48)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

11. DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

Los diferentes métodos para determinar la capacidad antioxidante, se basan en comprobar cómo un agente oxidante, induce daño oxidativo en un sustrato oxidable, daño que será inhibido o reducido en presencia de una sustancia antioxidante. Esta inhibición es proporcional a la capacidad antioxidante del compuesto a determinar. (48)

Existen diversos métodos para medir o determinar la capacidad antioxidante de un compuesto; éstos difieren en el agente oxidante o sustrato que utilicen, en la medida del punto final, en la técnica de instrumentación utilizada y en las posibles interacciones de la muestra con el medio de reacción. Además los objetivos de los métodos son diversos, por ejemplo, se mide la resistencia de un alimento a la oxidación, la evaluación cuantitativa del aporte de sustancias antioxidantes o la evaluación de la capacidad antioxidante en plasma una vez ingerido el alimento. (48)

Los métodos in vitro, comparan la capacidad antioxidante de diferentes muestras de alimentos, pero muchos de ellos presentan como inconveniente, que no reflejan la situación fisiológica, ya que usan radicales que no están presentes en el organismo. Por otra parte, la actividad antioxidante de un alimento in vivo difiere de su efecto antioxidante in vitro, ya que una vez ingerido el alimento sufre transformaciones metabólicas, que muchas veces modifican su capacidad, pudiendo ser ésta, mucho mayor en algunos casos. (48)

El creciente interés por los posibles efectos beneficiosos de los antioxidantes ha hecho que se desarrollen una gran capacidad de métodos para determinar la capacidad antioxidante de extractos de alimentos. Sin embargo, es difícil que llegue a ser posible evaluar la capacidad antioxidante de una muestra por un solo método, en vez de por la combinación de varios, como se hace en la actualidad. Los antioxidantes pueden ejercer su acción mediante mecanismos muy diversos (pueden suprimir la generación de los primeros radicales que inician el daño oxidativo, capturar radicales libres, quelar metales, formar complejos, reducir algunos compuestos, inducir la actividad de sistemas biológicos antioxidantes...)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

y en un mismo alimento puede haber mezclas de diferentes antioxidantes con distintos mecanismos de acción y entre los que, además, se pueden establecer reacciones sinérgicas, por lo que serán necesarios distintos análisis para poder considerar los posibles mecanismos de acción de todos los antioxidantes presentes en un alimento. (52, 53, 50)

Por todas estas razones, un gran número de autores han planteado la necesidad de combinar más de un método de medida en la determinación de la capacidad antioxidante de un alimento (50, 54, 55, 51).

Aunque, como se ha explicado, existen una gran cantidad de mecanismos por los que los antioxidantes alimentarios pueden ejercer su acción, entre aquellos compuestos que reaccionan directamente con los radicales libres, como pueden ser los polifenoles, deteniendo el proceso en cadena de oxidación lipídica (chain-breaking), esta reacción se puede llevar a cabo por dos posibles vías: (51)

- Reacciones de transferencia de un átomo de H (Hidrogen Atom Transfer, HAT).

  En las reacciones HAT, la reacción sería de este tipo, siendo X• el radical libre y AH el antioxidante: (51)

  $$X\bullet + AH \rightarrow XH + A\bullet$$

  El nuevo radical formado es mucho más estable que el inicial. (51)

  Las reacciones HAT vienen determinadas por la entalpía de disociación, de manera que un compuesto que la tuviera baja facilitaría la abstracción del átomo de H. Así mismo, se ha observado que ciertos aspectos estructurales, como la presencia de un grupo hidroxilo en posición orto o la posible formación de enlaces intermoleculares entre distintos sustituyentes, pueden contribuir a reducir la entalpía de disociación, facilitando la formación de un radical estable. Por el contrario, las reacciones SET dependen del potencial de ionización. (56)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

- Reacciones de transferencia de un electrón (Single Electron Transfer, SET).

  En las reacciones SET el antioxidante transfiere un electrón para reducir un compuesto, incluyendo metales, carbonilos y radicales, y serían reacciones de este tipo, siendo de nuevo X• el radical libre y AH el antioxidante: (51)

$$X^{\bullet} + AH \rightarrow X^{-} + AH^{\bullet+}$$

$$AH^{\bullet} + H_2O \leftrightarrow A^{\bullet} + H_3O^{+}$$

$$X^{-} + H_3O^{+} \rightarrow XH + H_2O$$

$$M(III) + AH \rightarrow AH^{+} + M(II)$$

  En principio, estas reacciones dependen mucho más del disolvente que las HAT; sin embargo, se ha visto que el disolvente puede ejercer una influencia clara en el ORAC y el ABTS, a pesar de ser métodos HAT. (57, 58)

  Estas reacciones son también dependientes del pH. Son métodos muy sensibles al ácido ascórbico y al ácido úrico, que juegan un papel importante en el mantenimiento del status redox del plasma. Algunos elementos traza y contaminantes (sobre todo metales) pueden interferir con estos métodos, resultando en una alta variabilidad y una baja reproducibilidad y consistencia de los resultados. (57, 58)

A continuación, se describen brevemente algunos de los principales métodos para la determinación de la capacidad antioxidante:

11.1. Ensayos que utilizan el mecanismo HAT:

11.1.1. ORAC (Capacidad de absorbancia de radicales de oxígeno)

Este método es aplicado con frecuencia para determinar la capacidad antioxidante en plasma y muestras biológicas, pero también en alimentos. Se basa en la inhibición del radical peroxil inducido por el [2-2´-azobis(2-amidinopropane)-dihydrochloride] (AAPH), que es un compuesto de tipo

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

"azo". Esta inhibición si mide por la permanencia de la fluoresceína. De tal modo que el antioxidante actúa protegiendo la fluoresceína, mediante la inhibición de los radicales peroxilo. (51)

11.1.2. TRAP (Potencial total de atrapamiento de radicales peróxido)

Al igual que el método ORAC, determina la captación de radicales peroxilo son generados a partir del AAPH y se mide el oxígeno consumido, mediante un electrodo de oxígeno. (59)

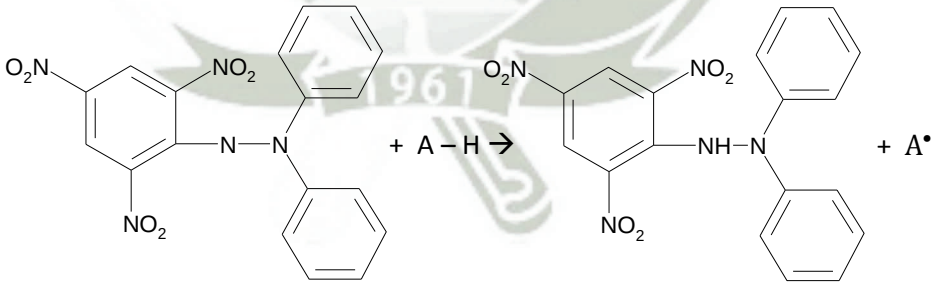
Existen otros métodos dentro de este grupo como el de inhibición de la absorción del oxígeno (IOU), la decoloración de la crocina (CBA), inhibición de la oxidación de las LDL e inhibición de la oxidación del ácido linoleico. (59)

11.2. Ensayos que utilizan el mecanismo SET:

11.2.1. DPPH (2,2´-difenil-1-picrilhidrazilo)

Es un método colorimétrico basado en la disminución en la absorbancia que se mide a 515nm. El radical es captado por el antioxidante y produce un cambio de color del reactivo (de violeta a amarillo) y por lo tanto, la disminución de la absorbancia ya mencionada. (59)

FIGURA N° 2.21.: DPPH (morado) y DPPH (incoloro).



DPPH (color morado, 517nm) DPPH-H (incoloro)

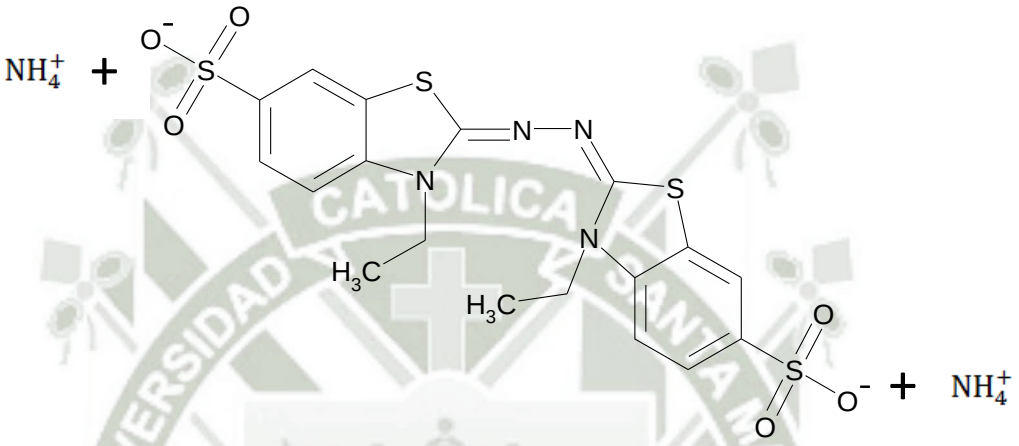
Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

11.2.2. ABTS [ácido-2,2´-azinobis-(3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)]

Se basa en la capacidad del antioxidante para capturar el radical catiónico ABTS, esta captura se evidencia mediante la decoloración y la disminución de la absorbancia que se mide a 734nm. (60)

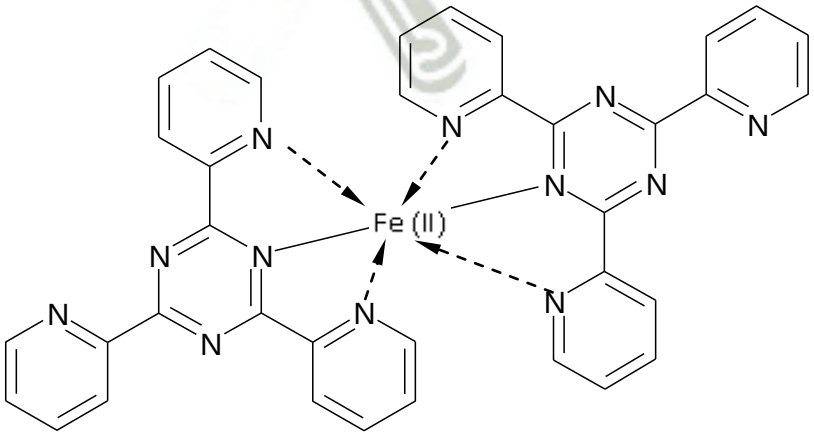
FIGURA N° 2.22.: Sal de ABTS (ácido-2,2´-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico)



11.2.3. FRAP (Potencial antioxidante para reducir al hierro)

Se basa en la reducción del complejo tripiridiltriazina férrica a su estado ferroso por un antioxidante en medio ácido. Esta reacción produce un cambio de color que es medido espectrofotométricamente mediante la absorbancia a una longitud de onda de 595nm. (61)

FIGURA N° 2.23:FRAP:$[Fe(II)(TPTZ)_2]^{2+}$(Catión Ferroso de Tripiridiltriazina)



Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

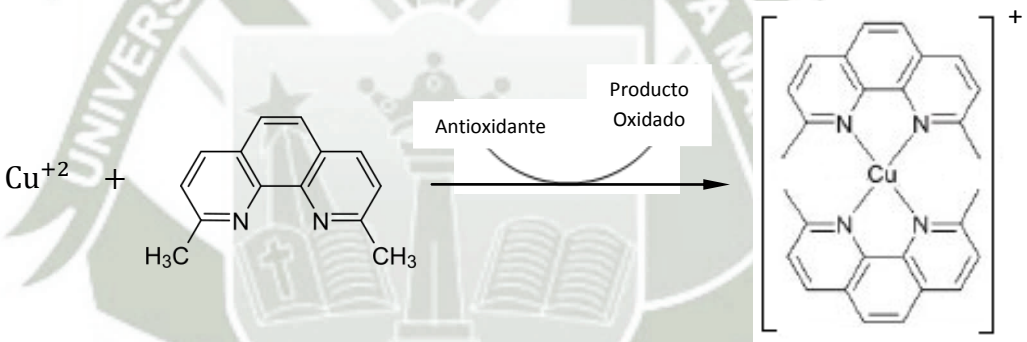
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

11.2.4. CUPRAC (Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity)

Este método, utiliza el Cu^{+2} y la neocuproína, para reaccionar con el compuesto en estudio formando un quelato coloreado de Cu^{+1}: [Cu^{+1}-Nc], el cual es soluble en agua y en medios orgánicos. Esta reacción se lleva a cabo a pH 7, controlado por el buffer acetato de amonio. El quelato formado con el cobre reducido es medido a 450nm. Normalmente, la formación de este complejo se completa en 30 minutos. Sin embargo, antioxidantes de reacción lenta necesitan de incubación a temperatura elevada para completar su oxidación (50°C por 20 minutos). (47)

El mecanismo de acción del método CUPRAC se explica a continuación en la Figura 3.3.: (47)

FIGURA N° 2.24: Mecanismo de acción del método CUPRAC.



El método CUPRAC presenta ventajas sobre otros métodos para evaluar la capacidad antioxidante: (47)

i. El reactivo CUPRAC es lo suficientemente rápido para oxidar antioxidantes que otros métodos no detectan, como lo son los antioxidantes que poseen grupos tiol.
ii. El reactivo CUPRAC es más estable y accesible que otros reactivos de radicales cromogénicos.
iii. El equipo usado para la lectura de los resultados está disponible en la mayoría de laboratorios.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

iv. La reacción redox que da lugar al complejo coloreado de Cu+1 es relativamente insensible a parámetros adversos como el aire, luz solar, tipo de solvente y pH, los cuales afectan a reactivos como el DPPH.

v. Las gráficas de concentración vs. Absorbancia del método CUPRAC son perfectamente lineales dentro de un amplio rango de concentración, a diferencia de otros métodos que generan curvas polinomiales.

vi. Los valores de Actividad Antioxidante Total (TAC) encontrados por CUPRAC son perfectamente aditivos. Por ejemplo: la TAC de una mezcla polifenólica es igual a la suma de la TAC de sus constituyentes fenólicos.

vii. Este método involucra una mínima preparación de muestra, por lo que el procedimiento experimental es flexible para la automatización.

viii. La reacción redox se lleva a cabo a un pH cercano al fisiológico y los protones liberados son tamponados por el buffer acetato de amonio.

ix. El método puede medir simultáneamente antioxidantes hidrofílicos y lipofílicos.

x. Dado que el ión Cu^{+1} producido como producto de la reacción redox está en estado quelado (Cu^{+1}-Nc), no puede actuar como un pro-oxidante, por lo tanto no se podría producir un error negativo en la determinación antioxidante por efectos del Cu^{+1}.

11.3. TBARS (Thiobarbituric Acid Reactive Substances)

La utilización de la reacción con TBA para medir la peroxidación lipídica se remonta al año 1944 cuando Kohn y Liversedge (1944) observaron que tejidos animales incubados aeróbicamente con TBA producían un color rosado. Bernheim y colaboradores (1948) descubrieron que el color rosado se debía a un complejo formado por productos de oxidación de ácidos grasos no saturados y TBA. Yu y Sinnhuber (1957) reportaron que malondialdehído (MDA) era la principal sustancia reactiva al TBA aunque más tarde otros investigadores informaron que otros productos de oxidación podían estar involucrados, como aldehídos no saturados (por ej.: 4-hidroxialquenales) y varios precursores de estas sustancias no volátiles no identificados. (62)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

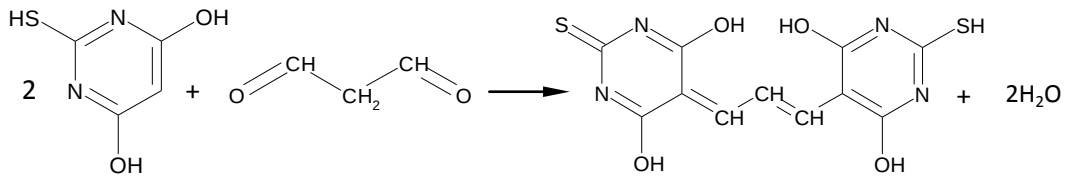
REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

La principal sustancia reactiva al TBA, el malondialdehído, es un dialdehído de tres carbonos altamente reactivo, generado como uno de los principales bioproductos de la peroxidación de ácidos grasos polinosaturados y también durante el metabolismo de ácido araquidónico para la síntesis de prostaglandinas. MDA puede combinarse con diversos grupos funcionales de proteínas, lipoproteínas, ARN y ADN. La determinación de los niveles de MDA en materiales biológicos es un método conveniente, sensible y ampliamente utilizado para estimar cuantitativamente la extensión de la peroxidación lipídica. Se han descripto diversas técnicas para determinar MDA, como el ensayo de TBA espectrofotométrico, HPLC y cromatografía gaseosa. La determinación de MDA por este último precisa de su derivatización. (62)

El método espectrofotométrico del TBA es el más comúnmente utilizado para la cuantificación de MDA. La reacción ocurre por ataque del MDA sobre el grupo metileno activo del TBA (Figura N° 2.25.). Un mol de MDA reacciona con dos moles de TBA en medio ácido y a alta temperatura. La velocidad de esta reacción depende de la concentración de TBA, la temperatura y el pH. El pigmento generado posee un pico máximo de absorbancia a 532-535nm y otro secundario a 245-305 nm. El ensayo de TBA puede determinarse también por un procedimiento espectrofluorométrico dado que el espectro de excitación del pigmento TBA-MDA posee un máximo a 532 nm. La especificidad de este método es similar al del método espectrofotométrico, debido a que otros compuestos originados en la degradación de peróxidos lipídicos también pueden generar fluorescencia (62).

FIGURA N° 2.25.: Esquema de la reacción entre malondialdehído y ácido tiobarbitúrico.



Ácido Tiobarbitúrico Malondialdehído MDA-TBA

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

El principal problema con el ensayo de TBARS es su falta de especificidad. TBA reacciona con una variedad de aldehídos, no sólo con aquellos formados como resultado de la peroxidación lipídica sino también con glucosa, desoxirribosa, ácido ascórbico, homocisteína y algunos aminoácidos tales como, prolina, arginina y glutamato, por esta razón el análisis en fluidos biológicos por este método resulta complejo. Otra limitación del ensayo de TBA es que el MDA y otros productos de cadena corta no son estables por largos períodos de tiempo. Esto se debe a que la oxidación de estos compuestos genera alcoholes y ácidos orgánicos que no son determinados por el ensayo de TBA. (62)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

1. CAMPO DE INVESTIGACIÓN

1.1. Ámbito Geográfico

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo durante los meses de abril a septiembre del 2013, en el Centro de Investigación y Desarrollo Científico de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa y en el Laboratorio de Control de Calidad de la Universidad Católica de Santa María.

1.2. Unidades de Estudio

En el presente trabajo de investigación se utilizó como unidades de estudio:

- **Unidad Biológica:** Para efectuar el presente trabajo, se utilizaron un total de 40 ratas albinas machos, adultas jóvenes, de la especie *Rattus novergicus*, cuyos pesos oscilan entre 320 y 380 gramos, y de 3 meses de edad, aparentemente sanas, las cuales fueron obtenidas del Bioterio de la Universidad Católica de Santa María, y criadas en el Bioterio de la Universidad Nacional de San Agustín (UNSA).

  Los animales se colocaron en jaulas independientes manteniéndose las condiciones ambientales adecuadas.

  Todos los animales fueron sometidos a un proceso de estandarización por una semana, ubicándolas en un lugar en donde todos tuvieran las mismas condiciones ambientales y alimenticias para luego dividirlos posteriormente en 8 grupos por sorteo, tal como se señala en el siguiente esquema:

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

TRATAMIENTO	GRUPO EXPERIMENTAL I	GRUPO EXPERIMENTAL II
I	Extracto Etanólico 05	Extracto Etanólico 05
II	Extracto Acetato de Etilo 05	Extracto Acetato de Etilo 05
III	Extracto Hexano 05	Extracto Hexano 05
IV	Control 05	Control 05

- **Unidad Vegetal:** Frutos de *Capsicum annuum L.* "pimiento rojo", que fueron recolectados y lavados al medio ambiente antes del inicio de los experimentos.

1.3. Estrategia de recolección de datos

Las ratas albinas machos se obtuvieron del Bioterio de la Universidad Católica de Santa María, y el pimiento rojo se obtuvo del mercado San Camilo de la ciudad de Arequipa, en el mes de abril.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

2. MATERIALES

2.1. Materiales de Laboratorio

- Baguetas.
- Balones de vidrio de 100mL.
- Buretas de 25 y 50mL.
- Capilares sin anticoagulante (Marca TECNON).
- Embudos.
- Embudo de pesada (Pesafiltro).
- Eppendorfs.
- Fiolas de 25y 50mL (Marca FORTUNA).
- Frascos ámbar tapa rosca.
- Micropipetas de 10 y 200µL (Marca TRANSFERPETTE).
- Papel Aluminio.
- Papel filtro (Marca WHATMAN).
- Parafilm.
- Pipetas de 0.5, 1, 2, 5 y 10mL (Marca HIRSCHMANN).
- Pipetas volumétricas de 1, 2, 5 y 10mL (Marca HIRSCHMANN).
- Probetas de 50, 100 y 500mL.
- Termómetro.
- Tubos de ensayo con tapa.
- Vasos de precipitados de 10 y 100mL (Marca PIREX).

2.2. Equipos

- Balanza analítica (Marca OHAUS Pioner TM).
- Baño termostático.
- Centrífuga (Marca STANTON UNIMATIC CL41).
- Equipo de Soxhlet.
- Espectrofotómetro UV/V (Marca SHIMADZU).
- Estufa.
- Rotavapor (Marca BUCHI)
- Sistema de refrigeración.
- Vórtex.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

2.3. Reactivos Químicos

- Acetato de Amonio.
- Acetato de Etilo (MERCK).
- Ácido Ascórbico (MERCK).
- Ácido clorhídrico (MERCK).
- Ácido tiobarbitúrico.
- Agua destilada.
- Butilhidroxitolueno.
- Cloruro de Cobre (II) (MERCK)
- Etanol (MERCK)
- Hexano.
- n-butanol.
- Neocuproína (MERCK)

FIGURA N° 3.1.: MATERIALES DE LABORATORIO



3. MÉTODOS:

3.2. Obtención de los extractos: Etanólico, Acetato de Etilo y Hexánico

3.2.1. Extracción de los frutos secos de *Capsicum annuum L.* "Pimiento Rojo"

La extracción es una de las operaciones de mayor importancia, dado que a través de ella se consigue los principios activos de una manera más concentrada. Mediante la extracción de los componentes solubles contenidos en el material

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

vegetal se disuelven en un solvente adecuado, llamado "solvente extractor" y forman un extracto el cual se purifica por filtración.

El proceso de extracción que se utilizó en el presente trabajo de investigación es el de extracción por disolvente, que se realizó en el equipo Soxhlet. En las extracciones se seleccionaron solventes con polaridades variables, para determinar el porcentaje de rendimiento y el mejor solvente.

3.2.2. Obtención de los extractos:

a) Método: Extracción continua- sistema SOXHLET.

b) Fundamento:

Este método se fundamenta en la extracción por agotamiento de sustancias activas de la planta usando sustancias volátiles.

Este sistema de extracción sólido – líquido se realiza en un aparato que consta de una matraz de fondo plano, un cuerpo extractor y un refrigerante. En el cuerpo extractor se coloca la materia prima, generalmente envuelta en un material poroso que permita el contacto con el disolvente. En el matraz se coloca el solvente, se lleva a ebullición y los vapores del solvente ascienden por el tubo lateral y llegan al refrigerante donde condensan y caen sobre la materia prima situada en el cuerpo extractor del Soxhlet. Cuando el cuerpo extractor se llena de líquido extractivo, éste se vacía por el sifón lateral interno y desemboca en el matraz inferior. El solvente se va reciclando durante el proceso mientras que los principios activos se van concentrando en el matraz inferior.

c) Procedimiento:

Se pesó 10 gramos de frutos de Capsicum annuum L. "Pimiento Rojo" previamente estabilizadas y pulverizadas y se envolvió con papel filtro formando pequeños paquetes que luego fueron colocados al Soxhlet, en el balón se colocaron 150mL del solvente, se llevó a Baño María controlando que la temperatura no excediera el punto de ebullición del solvente.

El disolvente llega hasta su punto de ebullición, ascendiendo por el tubo lateral al estado gaseoso para luego llegar hasta el refrigerante, donde se condensa y cae hasta ponerse en contacto con la muestra (paquete de papel filtro con 10 gramos

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

de *Capsicum annuum L.*), cubriendo el disolvente toda la muestra, una vez que el disolvente alcance el nivel del tubo lateral interno desciende por el mismo en este momento las sustancias activas extraídas por el disolvente caen al balón que inicialmente contenían el solvente puro, este procedimiento se repite cuantas veces fueran necesarias, con el fin de extraer la mayor cantidad de sustancias activas que contiene la planta.

El extracto es de color rojo anaranjado intenso.

- Extracción con etanol: Se realizó por 4 horas a temperatura de 78°C siendo el punto de ebullición del solvente.
- Extracción con acetato de etilo: Se realizó por un tiempo aproximado de 4 horas a 77°C que es el punto de ebullición del solvente.
- Extracción con hexano: Se realizó por 5 horas a temperatura de ebullición del solvente (69°C).

FIGURA N° 3.2.: Obtención los extractos etanólico, de acetato de etilo y de hexano usando el equipo de Soxhlet.



Después de transcurrido el tiempo establecido para cada una de las extracciones, se obtienen los extractos, recuperando un volumen de extracto igual al volumen de solvente, que se añadió a la muestra en un principio. El extracto se recolecta en frascos ámbar y se almacenarán bajo refrigeración, en frascos bien cerrados.

Para eliminar el solvente presente en los extractos, se someten los extractos al rotavapor, y luego a Baño María hasta la eliminación completa.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

FIGURA N° 3.3.: Eliminación del solvente por Rotavapor.



Una vez obtenidos los extractos libres de solvente, se conservan bajo refrigeración, en frascos ámbar bien cerrados; para ser procesadas después.

FIGURA N° 3.4.: Extractos etanólico, de acetato de etilo y de hexano, de pimiento rojo.



3.2.3. Determinación del rendimiento de la extracción

a) Método: Método Gravimétrico.

b) Fundamento:

La determinación del porcentaje de sólidos solubles conocido como %RE (de porcentaje de rendimiento de extracción) se basa en el método gravimétrico. El

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

cuál consiste en la determinación de la diferencia de peso al evaporar todo el solvente del extracto obtenido.

c) Procedimiento:

El extracto obtenido contenido en un beaker, previamente pesado, se llevó a baño maría hasta su sequedad total a peso constante. Luego se vuelve a pesar el extracto y así determinar mediante la siguiente fórmula, el rendimiento por diferencia de peso.

$$\%Rendimiento = \frac{Peso\ del\ vaso\ lleno - Peso\ del\ vaso\ vacío}{Peso\ de\ la\ muestra} \times 100$$

3.3. Producción de Diabetes Experimental

3.3.1. Preparación de la solución de estreptozotocina.

La estreptozotocina fue obtenida de Sigma, la cual está disponible como polvo esterilizado, conocido el peso de cada animal, se administró 60mg/kg de peso disuelto en suero fisiológico (NaCl 0.9%). Esta dosificación se determinó mediante los ensayos piloto realizados previamente.

3.3.2. Administración de la solución de estreptozotocina.

Para la administración de la solución de estreptozotocina primero se anestesió a los animales con Pentobarbital sódico (6mg/100g de peso) en dosis única vía intraperitoneal, luego se administró la dosis anteriormente señalada de estreptozotocina según el peso de cada animal vía intravenosa (vena safena). Se dejó a los animales tranquilos en sus jaulas durante 7 días, finalizado el tiempo, se determinó glucosa a los tres grupos de animales en estudio.

3.3.3. Producción de hiperglicemia

Conocidos los pesos de los animales se procedió a determinar en todos ellos, la glucosa basal. A continuación se administró la estreptozotocina para inducir

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

diabetes experimental. Después de 7 días de administrada la estreptozotocina, se realizaron dosajes de glucosa a los tres grupos de animales en estudio para comprobar la hiperglicemia.

3.3.4. Determinación de la glicemia

Para la determinación de glicemia se extrajo sangre del ángulo interno del ojo mediante el empleo de un capilar, el método usado fue el método enzimático por ser el más adecuado en este tipo de mediciones.

a. Fundamento del método

La glucosa reacciona con el reactivo enzimático que contiene una mezcla de las enzimas Glucosa Oxidasa (GOD) y Peroxidasa (POD). En la primera etapa la Glucosa es oxidada a Ácido Glucónico por la acción de la enzima GOD, liberándose como producto H_2O_2, el cual en una reacción mediada por la enzima POD, reacciona con el Ácido p-hidroxibenzoico y 4-aminoantipirina produciéndose un compuesto coloreado con un máximo de absorción a 505nm, en cantidad proporcional a la cantidad de glucosa presente en la muestra.

El esquema de reacción es como sigue:

$$Glucosa \longrightarrow \text{Ácido } D-Glucónico + H_2O_2$$

$$H_2O_2 + p-HBA + 4-AAP \longrightarrow H_2O + Complejo\ Coloreado$$

Las condiciones de la reacción son:

- Longitud de onda: 505nm
- Temperatura de reacción: 37°C
- Tiempo de reacción: 10 minutos
- Volumen de muestra: 10µL
- Volumen de reactivo: 1mL

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

b. Procedimiento:

- En tres tubos de fotocolorímetro marcados B (Blanco), S (Estándar) y M (Muestra) colocar:

TABLA N° 3.1.: PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACIÓN DE GLICEMIA

	Blanco	Estándar	Muestra
Muestra (mL)	-	-	0.010
Estándar (mL)	-	0.010	-
Reactivo (mL)	1.00	1.00	1.00

FUENTE: Elaboración propia.

- Mezclar e incubar por 10 minutos a 37°C.
- Luego leer en el espectrofotómetro a 505nm.
- Cálculos.

3.4. Determinación de los Niveles de Peroxidación Lipídica en Ratas con Diabetes Experimental

Para evaluar los niveles de peroxidación lipídica en ratas con diabetes experimental se ha elegido el método de TBARS (Tiobarbituric Acid Reactive Substances). Mediante este método se determinó los niveles de malondialdehído en el suero de ratas. Las muestras de sangre se extrajeron del ángulo interno del ojo mediante el empleo de un capilar.

Los diferentes extractos fueron administrados antes de la producción de diabetes experimental en el Grupo Experimental 1, y fueron administrados después de la producción de diabetes experimental en el Grupo Experimental 2.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

3.4.1. Preparación de los extractos secos para su administración vía orogástrica

La solución a administrarse se preparó empleando 1g de cada extracto seco diluido en 10mL de dimetilsulfóxido (DMSO) al 40% éste último, empleado como vehículo. La concentración final de cada extracto fue de 100mg/mL.

Para el tratamiento se administró cada extracto de *Capsicum annuum L.* vía orogástrica a una dosis de 40mg/100g de peso.

Se utilizó el dimetilsulfóxido como solvente de los extractos secos debido a que éstos no eran completamente solubles en agua pero sí se disolvieron en DMSO, el cual es un solvente orgánico, no tóxico utilizado en medicina veterinaria.

3.4.2. Determinación de los Niveles de Peroxidación Lipídica

a. Fundamento:

Los ácidos grasos, altamente insaturados, son muy susceptibles a la oxidación siendo los productos primarios de esta oxidación, los lípidos hidroperóxidos que pueden ser detectados por métodos químicos, según Yagi y Ohkawa. Durante los estados posteriores de la oxidación generalmente están presentes los productos secundarios de la oxidación y, por lo tanto, indican una historia de oxidación.

Estos productos comprenden aldehídos, cetonas, ácidos grasos de cadena corta y otros; muchos de los cuales tienen olores y sabores desagradables. Algunos de los productos secundarios de la oxidación aldehídica reaccionan con el ácido tiobarbitúrico, formando un producto de coloración rojiza que puede ser determinado mediante espectrofotometría.

Usando este principio, pueden medirse las sustancias que reaccionan con el ácido tiobarbitúrico (TBA-RS) tales como los compuestos carbonílicos como el malondialdehído (MDA). La determinación de estas sustancias reactivas al TBA (TBA-RS) como el malondialdehído, basado en que el ácido Tiobarbitúrico (TBA) reacciona con el grupo aldehído del malondialdehído, forma un aducto (TBA- MDA) cromóforo rosado que presenta un máximo de absorción a 532nm. Este es el método más usado para la estimación de la degradación de lípidos en

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

alimentos y sistemas biológicos y constituye el patrón de oro, cuando se trata de probar el papel de los oxidantes en algún tipo de daño celular.

El malondialdehído es un dialdehído volátil generado por descomposición de los hidroperóxidos, aldehídos y otros derivados carbonílicos.

b. Procedimiento

La medición del nivel de los lipohidroperóxidos en plasma, nos determinarán el estado antioxidante total que refleja el equilibrio dinámico entre el sistema antioxidante y la producción de especies reactivas de oxígeno.

Así, 500µL de suero extraído mediante centrifugación a 3000 rpm durante 10 minutos, será incubado con una mezcla de 45µL de Butilhidroxitolueno (2%), 500 µL de ácido tiobarbitúrico (1%), y 500 µL de ácido clorhídrico (25%). A la solución calentada durante 20 minutos en baño María a 100°C, se llevará a un baño de hielo, posteriormente se le adicionará 1.5 mL de n-butanol procediéndose a su centrifugación a 4000 rpm durante 10 minutos. La absorbancia del sobrenadante será leída a 532 nm contra un blanco de n-butanol.

3.5. Determinación de la Capacidad Antioxidante del Pimiento Rojo "*Capsicum annuum L.*"

Existen diversos métodos que permiten evaluar la capacidad antioxidante de muestras naturales o sintéticas. Se ha elegido el método de CUPRAC (Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity).

3.5.1. Reactivos

- Cloruro de Cobre Dihidratado: solución 1 x 10^{-2} M en etanol.
- Neocuproína: solución 7.5 x 10^{-3} M en etanol.
- Acetato de Amonio: solución buffer 1 M a pH 7.
- Extracto Etanólico de pimiento rojo: solución al 0.4% P/V en etanol.
- Extracto Acetato de Etilo de pimiento rojo: solución al 0.4% P/V en etanol.
- Extracto Hexánico de pimiento rojo: solución al 0.4% P/V en etanol.
- Ácido ascórbico: solución 2 x 10^{-4} M en etanol.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

3.5.2. Preparación de la Curva de Calibración de Ácido Ascórbico

a. Procedimiento:

- Se dispuso de una batería de 6 tubos y se colocó en cada uno de ellos las siguientes soluciones en el orden mencionado: 2 mL de la solución de cloruro de cobre, 2 mL del buffer acetato de amonio, 2 mL de la solución de neocuproína.
- Se añadió 0.5 mL, 1 mL, 2 mL, 3 mL y 4 mL de la solución de ácido ascórbico a los tubos 1, 2, 3, 4 y 5, respectivamente.
- Se añadió 4 mL, 3.5 mL, 3 mL, 2 mL y 1 mL de agua a los tubos Blanco, 1, 2, 3 y 4, respectivamente.
- El tubo blanco no contiene ácido ascórbico.

La Tabla 3.2. presentada a continuación esquematiza este procedimiento:

TABLA N° 3.2: PREPARACIÓN DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN DE ÁCIDO ASCÓRBICO

Reactivos	Tubos de Ensayo					
	Blanco	**1**	**2**	**3**	**4**	**5**
Buffer CH_3COONH_4	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL
$CuCl_2$	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL
Neocuproína	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL
Ácido Ascórbico 0.0002M	-	0.5 mL	1 mL	2 mL	3 mL	4 mL
Agua	4 mL	3.5 mL	3 mL	2 mL	1 mL	-

FUENTE: Elaboración propia.

- Se dejó reposar la batería de tubos a temperatura ambiente y en la oscuridad, por 30 minutos.
- Se leyeron las absorbancias a 450 nm en el espectrofotómetro.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

3.5.3. Preparación de las muestras

Se prepararon soluciones a partir de los diferentes extractos de pimiento rojo (etanólico, acetato de etilo y hexánico). Así, se prepararon soluciones de los diferentes extractos de pimiento rojo de concentración 4000 ppm (mg/L); cada una de ellas con los cuidados adecuados, protegidas de la luz, en frascos ámbar y almacenadas bajo refrigeración.

3.5.4. Determinación de la Capacidad Antioxidante de las Muestras (Extractos Etanólico, Acetato de Etilo y Hexánico de pimiento rojo)

- Se dispuso de una batería de 4 tubos y se colocó en cada uno de ellos las siguientes soluciones en el orden mencionado: 2 mL de la solución de cloruro de cobre, 2 mL del buffer acetato de amonio, 2 mL de la solución de neocuproína.
- Se añadió 0.1 mL de cada extracto en los tubos correspondientes.
- Se añadió 3.9 mL de agua a los tubos Etanol, Acetato de Etilo y Hexano; y finalmente se añadió 4mL de agua al tubo Blanco.
- El tubo blanco no contiene ningún tipo de extracto.

TABLA N° 3.3. Preparación de las muestras

Reactivos	Tubos			
	Blanco	Etanol	Acetato de Etilo	Hexano
Buffer CH_3COONH_4	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL
$CuCl_2$	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL
Neocuproína	2 mL	2 mL	2 mL	2 mL
Extracto de pimiento 0.04% P/V	-	0.1 mL	0.1 mL	0.1 mL
Agua	4 mL	3.9 mL	3.9 mL	3.9 mL

FUENTE: Elaboración propia.

- Se utilizó un método espectrofotométrico, en el que se realizarán mediciones a una longitud de onda de 450nm, las que se harán después de 30 minutos de reposo de los tubos en la oscuridad.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

FIGURA N° 3.5.: Determinación de la Capacidad Antioxidante de Pimiento Rojo a una longitud de onda de 450nm.



3.5.5. Expresión de resultados:

Los resultados serán expresados como la Capacidad Antioxidante Equivalente de Ácido Ascórbico (AAEAC), que se reporta como µmol de ácido ascórbico por gramo de sustancia (extracto de pimiento rojo).

En primer lugar, se construye una gráfica de calibración de ácido ascórbico, con las respuestas ploteadas en el eje Y, y las concentraciones de ácido ascórbico en el eje X. Se calcula la ecuación de regresión lineal para la gráfica de calibración obtenida: Y = a + bx. Donde:

a → intercepto de la curva de calibración.

b → pendiente de la curva de calibración.

3.6. Análisis Estadístico de los Resultados

Los resultados obtenidos se procesarán mediante un programa estadístico, IBM SPSS Statistics 21, para determinar si existe diferencia significativa entre los niveles de peroxidación lipídica en ratas, y también para determinar si existe diferencia significativa entre los valores resultantes de capacidad antioxidante para cada uno de los extractos de pimiento rojo.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Calculándose los siguientes estadígrafos:

- Medidas de tendencia central: media y desviación estándar.
- T de Student para muestras emparejadas, para hallar la diferencia entre dos medias independientes.
- El Análisis de Varianza (ANOVA) permitirá determinar si existe diferencia significativa entre los niveles de peroxidación lipídica en ratas, y entre los valores de capacidad antioxidante de los extractos de pimiento rojo.
- La Prueba de Tukey permitirá determinar el tratamiento de mayor efectividad, y el extracto de mayor capacidad antioxidante.

Las diferencias se consideraron como:

- No significativas $p>0.05$
- Significativas $p<0.05$
- Altamente significativas $p< 0.01$

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

CAPÍTULO IV

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el presente trabajo de investigación se determinó el efecto de los tres tipos de extractos obtenidos de *Capsicum annuum L.* "pimiento rojo" sobre la capacidad antioxidante del suero de ratas con diabetes experimental, mediante la determinación de los niveles de peroxidación lipídica utilizando el método TBARS (Sustancias Reactivas al Ácido Tiobarbitúrico).

Posteriormente, se determinó la capacidad antioxidante de dichos de extractos de pimiento rojo mediante el método de CUPRAC (Capacidad Antioxidante de Reducción del Ión Cúprico).

1. DETERMINACIÓN DEL PORCENTAJE DE RENDIMIENTO (%R) DE LOS DIFERENTES EXTRACTOS OBTENIDOS DE *Capsicum annum L.* "PIMIENTO ROJO".

Se obtuvieron los extractos etanólico, acetato de etilo, y hexano de pimiento rojo, mediante el método de Soxhlet, y se calcularon los porcentajes de rendimiento para cada uno de ellos.

$$\%Rendimiento = \frac{Peso\ del\ vaso\ lleno - Peso\ del\ vaso\ vacío}{Peso\ de\ la\ muestra} \times 100$$

Después de haber obtenido los diferentes extractos, se obtuvieron los porcentajes de rendimiento para dichos extractos, mediante el modelo matemático por gravimetría; en la Tabla N° 4.1 y en la Figura N° 4.1 puede observarse que el extracto etanólico presentó un mayor rendimiento (19.04%) y el extracto hexano es el que presentó el menor rendimiento (9.6%). En el caso del mayor rendimiento los componentes del pimiento tuvieron mayor afinidad por el etanol, por este motivo el rendimiento fue mayor, este rendimiento más alto podría deberse a la

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

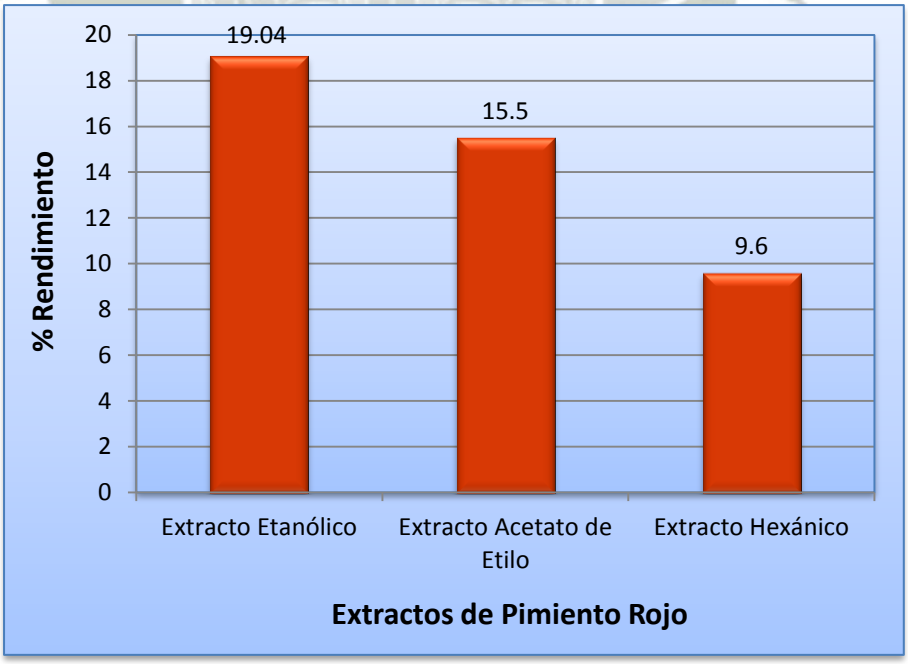
extracción de principios activos con capacidad antioxidante del pimiento, como los flavonoides, compuestos polifenólicos y ácido ascórbico, dando como resultado un mayor porcentaje de rendimiento. El menor porcentaje de rendimiento se obtuvo con el uso de un solvente de tipo apolar, como el hexano, de tal modo que los componentes del pimiento tuvieron menor afinidad por este tipo de solvente, por ello dicha extracción presentó un menor rendimiento.

TABLA N° 4.1.: Porcentaje de Rendimiento de los extractos obtenidos de *Capsicum annuum L.* "pimiento rojo".

% Rendimiento de los Extractos de Pimiento Rojo	
Extracto Etanólico	19.04% ± 0.03
Extracto Acetato de Etilo	15.5% ± 0.05
Extracto Hexano	9.6% ± 0.02

FUENTE: Elaboración propia.

FIGURA N° 4.1: Porcentaje de Rendimiento de los extractos obtenidos de *Capsicum annuum L.* "pimiento rojo"



Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

2. DETERMINACIÓN DE LOS NIVELES DE PEROXIDACIÓN LIPÍDICA EN RATAS CON DIABETES EXPERIMENTAL

2.1. GRUPO EXPERIMENTAL 1

2.1.1. GLICEMIA

Los niveles de glicemia fueron expresados en mg Glucosa/dL.

En la Tabla N° 4.2 y en la Figura N° 4.1 se presentan los resultados obtenidos para glicemia, correspondientes a los niveles encontrados antes y después de la intoxicación con estreptozotocina.

Las muestras sanguíneas antes de la intoxicación con estreptozotocina indican un promedio global de 69.75 mg/dL, presentando el mayor nivel el tratamiento "Extracto Hexano" con 71.40 mg/dL y el menor nivel el tratamiento "Extracto Etanólico" con 68.20 mg/dL.

A los siete días después de producida la intoxicación con estreptozotocina, se aprecia un promedio global de 292.09 mg/dL, habiéndose registrado el mayor nivel con el tratamiento "Control" con 318.96 mg/dL y el menor nivel con el tratamiento "Extracto Acetato de Etilo" con 276.60 mg/dL.

En todos los tratamientos podemos apreciar que, existe diferencia significativa entre los niveles de glicemia antes y después de la intoxicación con estreptozotocina, lo que indica que el modelo de hiperglicemia experimental ha sido el adecuado. Refiriéndonos a los tratamientos con los extractos, también observamos que, después de la intoxicación, se registró el mayor nivel de glicemia con el tratamiento "Extracto Hexano", y el menor nivel de glicemia con el tratamiento "Extracto Acetato de Etilo", por lo tanto podemos deducir que el Extracto Acetato de Etilo ha sido el más eficiente previniendo el aumento de dichos niveles séricos.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

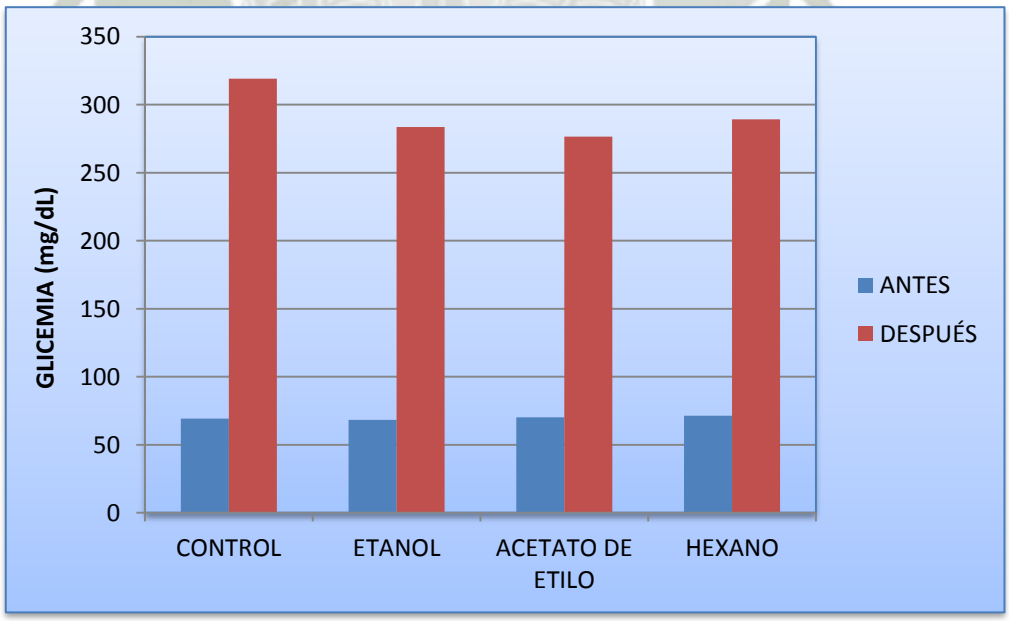
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

TABLA N° 4.2.: Niveles de glicemia (mg/dL) antes y después de la intoxicación con estreptozotocina.

CONDICIÓN		Extracto Etanol	Ext. Acetato de Etilo	Ext. Hexano	Control
Antes	x	68.20	70.20	71.40	69.20
	S	± 5.02	± 7.66	± 6.73	± 5.12
Después	x	283.60	276.60	289.20	318.96
	s	± 20.08	± 17.05	± 25.86	± 24.30
p - value		p<0.01	p<0.01	p<0.01	p<0.01
n		5	5	5	5

FUENTE: Elaboración propia.

FIGURA N° 4.2.: Niveles de glicemia (mg/dL) antes y después de la intoxicación con estreptozotocina.



FUENTE: Elaboración propia.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

2.1.2. PEROXIDACIÓN LIPÍDICA

Los niveles de peroxidación lipídica fueron expresados en nmol Malondialdehído/mL

Podemos observar en la Tabla N° 4.3 y en la Figura N° 4.3 los resultados obtenidos para peroxidación lipídica, correspondientes a los niveles encontrados antes y después de la intoxicación con estreptozotocina.

Las muestras sanguíneas antes de la intoxicación con estreptozotocina indican un promedio global de 1.09 nmol/mL, presentando el mayor nivel el tratamiento "Extracto Etanólico" con 1.11 nmol/mL y el menor nivel el tratamiento "Extracto Hexano" con 1.07 nmol/mL.

A los siete días después de producida la intoxicación con estreptozotocina, se aprecia un promedio global de 3.04 nmol/mL, habiéndose registrado el mayor nivel con el tratamiento "Control" con 4.24 nmol/mL y el menor nivel con el tratamiento "Extracto Acetato de Etilo" con 1.91 nmol/mL.

En todos los tratamientos podemos apreciar que, existe diferencia significativa entre los niveles de peroxidación lipídica antes y después de la intoxicación con estreptozotocina, a excepción del tratamiento con el extracto de Acetato de Etilo.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

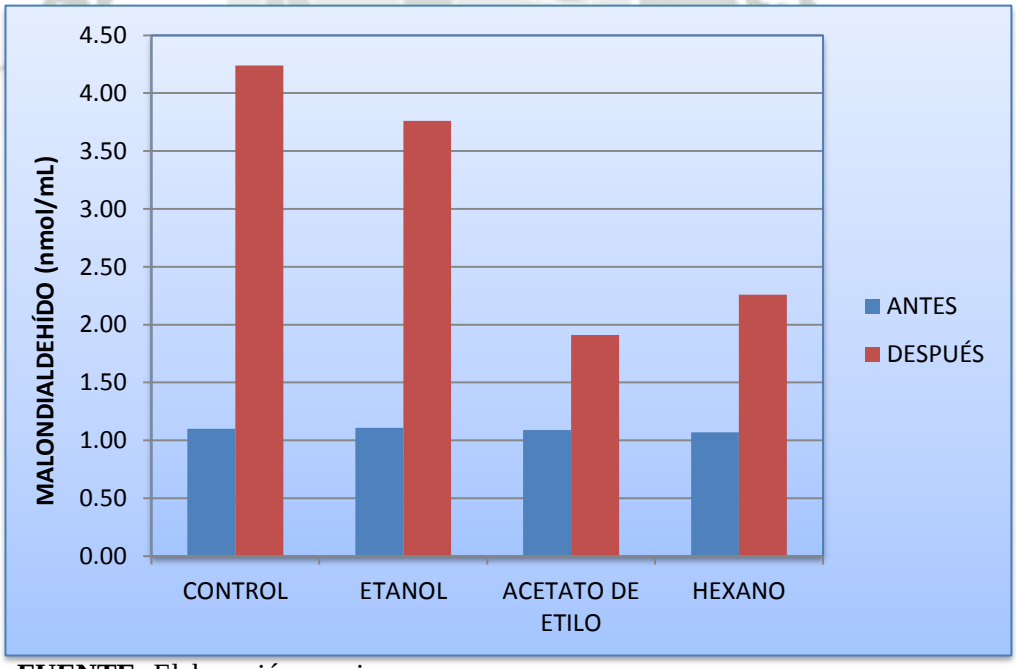
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

TABLA N° 4.3.: Niveles de peroxidación lipídica (nmol/mL) antes y después de la intoxicación con estreptozotocina.

CONDICIÓN		Extracto Etanol	Ext. Acetato de Etilo	Ext. Hexano	Control
Antes	x	1.11	1.09	1.07	1.10
	s	± 0.81	± 0.90	± 0.74	± 0.76
Después	x	3.76	1.91	2.26	4.24
	s	± 0.50	± 0.60	± 0.77	± 0.87
P - value		p<0.01	p>0.05	p<0.01	p<0.01
n		5	5	5	5

FUENTE: Elaboración propia.

FIGURA N° 4.3.: Niveles de peroxidación lipídica (nmol/mL) antes y después de la intoxicación con estreptozotocina.



FUENTE: Elaboración propia.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Para evaluar estos resultados, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para determinar si existe diferencia significativa entre los promedios de los diferentes tratamientos antes de la intoxicación, como lo muestra la Tabla y Figura N° 4.4.

TABLA N° 4.4: Niveles de peroxidación lipídica (nmol/mL) en los diferentes tratamientos antes de la intoxicación – Grupo Experimental 1

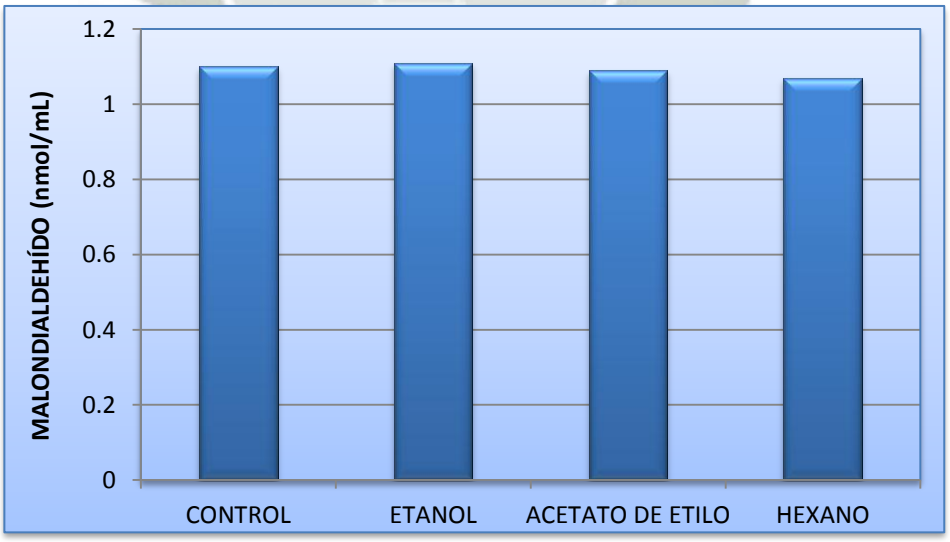
TRATAMIENTO	UNIDAD EXPERIMENTAL					x
	RATA 1	RATA 2	RATA 3	RATA 4	RATA 5	
Control	0.50	0.20	2.00	1.70	1.10	1.10
Extracto Etanólico	0.44	0.20	1.11	2.10	1.70	1.11
Extracto Acetato de Etilo	1.98	2.00	0.20	0.20	1.09	1.09
Extracto Hexano	1.07	0.30	0.40	2.00	1.60	1.07

FUENTE: Elaboración propia.

ANÁLISIS DE VARIANZA

Fuente de Variabilidad	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	0,003	3	0,001	0,002	1,000
Intra-grupos	10,337	16	0,646		
Total	10,340	19			N.S.

FIGURA N° 4.4: Niveles de peroxidación lipídica (nmol/mL) en los diferentes tratamientos antes de la intoxicación – Grupo Experimental 1



FUENTE: Elaboración propia.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Posteriormente, se realizó un análisis de varianza (ANOVA) para determinar si existe diferencia significativa entre los promedios de los diferentes tratamientos después de la intoxicación, como lo muestra la Tabla y Figura N° 4.5.

TABLA N° 4.5.: Niveles de peroxidación lipídica (nmol/mL) en los diferentes tratamientos después de la intoxicación – Grupo Experimental 1

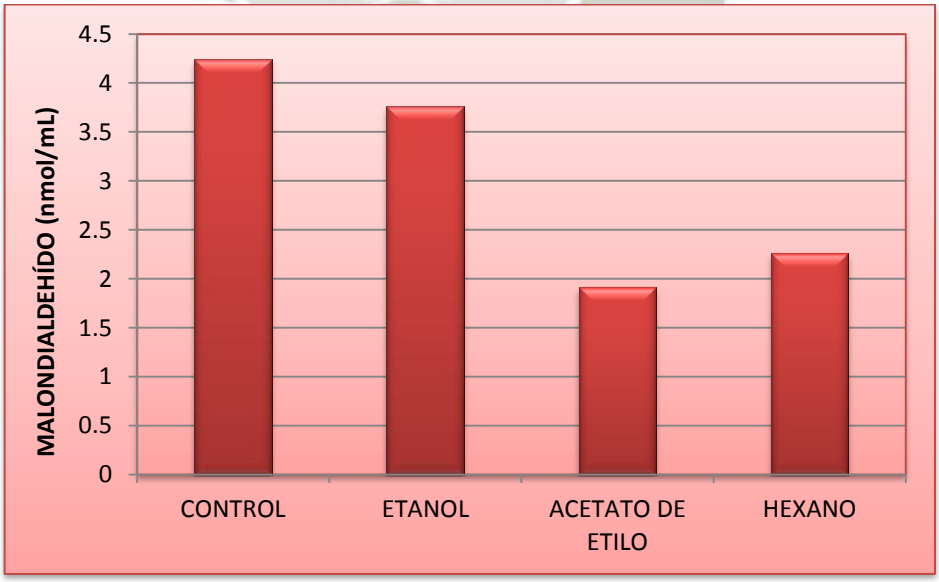
TRATAMIENTO	UNIDAD EXPERIMENTAL					x
	RATA 1	RATA 2	RATA 3	RATA 4	RATA 5	
Control	3.63	3.40	3.83	5.30	5.03	4.24
Extracto Etanólico	3.31	3.20	3.76	4.21	4.30	3.76
Extracto Acetato de Etilo	1.24	1.40	1.91	2.42	2.58	1.91
Extracto Hexano	1.58	1.40	2.25	3.10	2.96	2.26

FUENTE: Elaboración propia.

ANÁLISIS DE VARIANZA

Fuente de Variabilidad	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	19,181	3	6,394	13,083	0,000
Intra-grupos	7,819	16	0,489		
Total	27,001	19			S.

FIGURA N° 4.5.: Niveles de peroxidación lipídica (nmol/mL) en los diferentes tratamientos después de la intoxicación – Grupo Experimental 1



FUENTE: Elaboración propia.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Después de haber aplicado la prueba estadística ANOVA, y haber determinado que sí existe diferencia significativa entre los diferentes tratamientos después de producida la intoxicación, se realiza el Test de Tukey, para agrupar los tratamientos, según su diferencia, como se muestra en la Tabla N° 4.6:

TABLA N° 4.6: Test de Tukey[a] de los niveles de peroxidación lipídica (nmol/mL) con los diferentes tratamientos de Pimiento Rojo después de producida la intoxicación con estreptozotocina

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Extracto Acetato de Etilo	5	1,9100	
Extracto Hexánico	5	2,2580	
Extracto Etanólico	5		3,7560
Control	5		4,2380

FUENTE: Elaboración propia.

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.
a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 5.000.

Los resultados pueden observarse en la Tabla N° 4.7, las letras al lado de los valores promedio de malondialdehído sérico, representan grupos distintos.

Se observa la existencia de dos subgrupos, el primer subgrupo constituido por los tratamientos control y extracto etanólico; y el segundo subgrupo constituido por los tratamientos con extracto de acetato de etilo y extracto hexánico; los tratamientos que pertenecen al mismo subgrupo no presentan diferencia significativa en cuanto a los niveles de peroxidación lipídica.

Los tratamientos que pertenecen a subgrupos distintos sí presentan diferencia significativa en cuanto a los niveles de peroxidación lipídica, y por lo tanto podemos decir que, el Extracto Acetato de Etilo y el Extracto Hexánico han sido los más eficientes previniendo el aumento de dichos niveles, ya que presentaron los niveles más bajos de peroxidación lipídica.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

TABLA N° 4.7: Niveles de peroxidación lipídica (nmol/mL) con los diferentes tratamientos de Pimiento Rojo después de producida la intoxicación con estreptozotocina

Niveles de Peroxidación Lipídica (nmol Malondialdehído/mL)	
	Promedio
Control	4.24 ^{B}
Extracto Etanólico	3.76 ^{B}
Extracto Acetato de Etilo	1.91 ^{A}
Extracto Hexano	2.26 ^{A}

FUENTE: Elaboración propia.

* Las letras al lado de los valores presentados en la tabla indican la división de grupos, según la prueba de Tukey ($p<0.05$).

Los resultados obtenidos de los niveles de peroxidación lipídica para cada uno de los tratamientos después de la intoxicación con estreptozotocina, fueron representados gráficamente en la Figura N° 4.6, mediante un diagrama de caja-bigote (Box and Whisker ó Box Plot), que muestra la diferencia entre los niveles de peroxidación lipídica para cada una de los tratamientos y la diferencia que existe entre las cinco determinaciones realizadas para cada tratamiento, como se muestra en la Figura N° 4.6, en este caso se observa dispersión de los datos en todos los tratamientos, ya que los valores se alejan un poco del promedio.

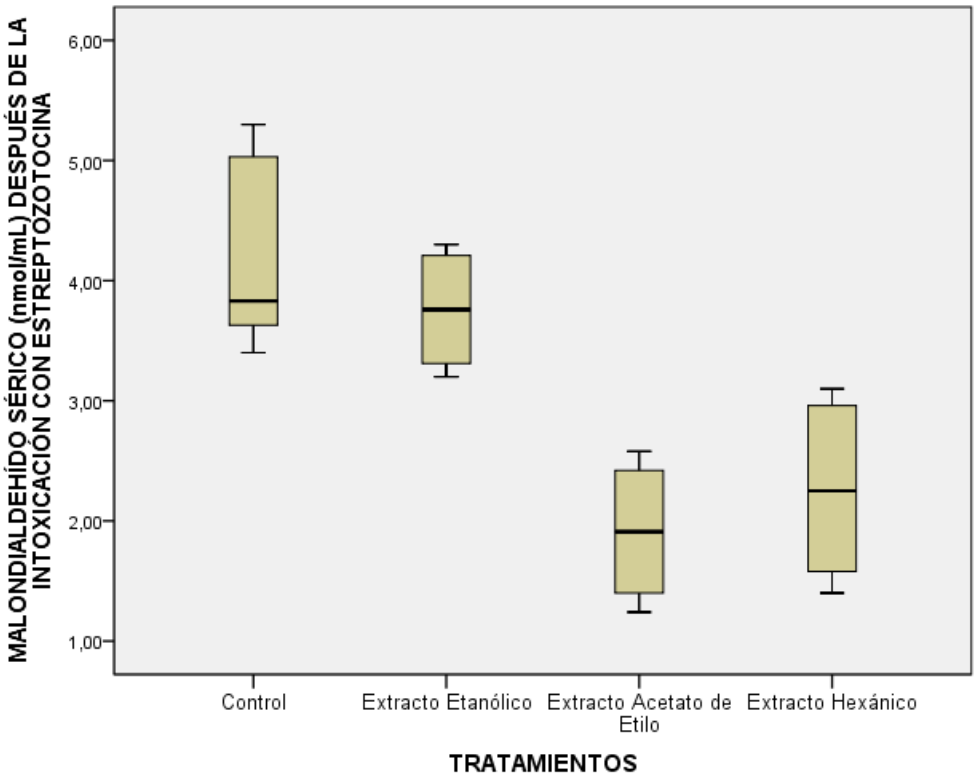
Se observa que el Extracto Acetato de Etilo y el Extracto Hexánico han sido los más eficientes previniendo el aumento de los niveles de peroxidación lipídica, ya que presentaron los menores valores en comparación con los otros tratamientos, como se evidenció con el Test de Tukey.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

FIGURA N° 4.6: Diagrama de caja-bigote de los niveles de peroxidación lipídica (nmol/mL) después de la intoxicación.



Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

2.2. GRUPO EXPERIMENTAL 2

2.2.1. GLICEMIA

Los niveles de glicemia fueron expresados en mg Glucosa/dL.

Los resultados obtenidos para glicemia, correspondientes a los niveles encontrados antes y después de la administración los diferentes tratamientos se presentan en la Tabla N° 4.8 y en la Figura N° 4.7.

Antes de la administración de los tratamientos con los extractos, las muestras sanguíneas indican un promedio global de 292.02 nmol/mL, presentando el mayor nivel el tratamiento "Control" con 318.83 nmol/mL y el menor nivel el tratamiento "Extracto Acetato de Etilo" con 276.50 mg/dL.

Después de los veinte días de tratamiento con los diferentes extractos, se aprecia un promedio global de 249.03 nmol/mL, habiéndose registrado el mayor nivel con el tratamiento "Control" con 299.60 nmol/mL y el menor nivel con el tratamiento "Extracto Etanólico" con 208.70 nmol/mL.

Podemos apreciar que, existe diferencia significativa entre los niveles de glicemia antes y después de los 20 de administración de los tratamientos "Extracto Etanólico" y "Extracto Hexano". Además podemos ver que, no existe diferencia significativa entre los niveles de glicemia antes y después de los 20 de administración de los tratamientos "Control" y "Extracto Acetato de Etilo". Refiriéndonos a los tratamientos con los extractos, también observamos que, después de los 20 días de tratamiento, se registró el mayor nivel de glicemia con el tratamiento "Extracto Acetato de Etilo", y el menor nivel de glicemia con el tratamiento "Extracto Etanólico", por lo tanto podemos deducir que el Extracto Etanólico ha sido el más eficiente tratamiento para disminuir dichos niveles séricos.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

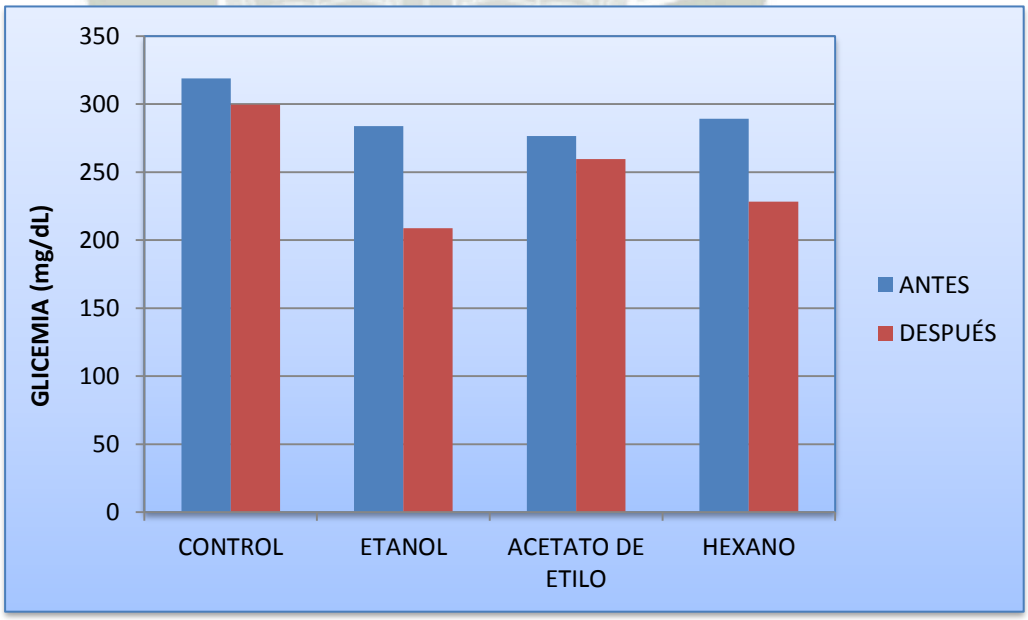
REPOSITORIO DE TESIS UCSM
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

TABLA N° 4.8.: Niveles de glicemia (mg/dL) antes y después de los 20 días de administración de los diferentes tratamientos.

CONDICIÓN		Extracto Etanol	Ext. Acetato de Etilo	Ext. Hexano	Control
Antes	x	283.68	276.50	289.08	318.83
	s	± 19.60	± 18.98	± 23.59	± 25.30
Después	x	208.70	259.60	228.20	299.60
	s	± 20.20	± 30.22	± 24.79	± 24.15
p - value		p<0.01	p>0.05	p<0,01	p>0.05
n		5	5	5	5

FUENTE: Elaboración propia.

FIGURA N° 4.7: Niveles de glicemia (mg/dL) antes y después de los 20 días de administración de los diferentes tratamientos.



FUENTE: Elaboración propia.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

2.2.2. PEROXIDACIÓN LIPÍDICA

Los niveles de peroxidación lipídica fueron expresados en nmol Malondialdehído/mL

En las Tablas N° 4.9, 4.10, 4.11, 4.12 y en las Figuras N° 4.8, 4.9, 4.10, 4.11, podemos observar los resultados obtenidos para peroxidación lipídica, correspondientes a los niveles encontrados el día 5, el día 10, el día 15 y el día 20 de administrados los diferentes tratamientos, respectivamente.

A los 5 días de tratamiento con los extractos, se aprecia un promedio global de 3.60 nmol/mL, presentando el mayor nivel el "Control" con 3.84 nmol/mL y el menor nivel el tratamiento "Extracto Etanólico" con 3.37 nmol/mL.

A los 10 días de tratamiento con los extractos, se aprecia un promedio global de 3.25 nmol/mL, presentando el mayor nivel el "Control" con 3.84 nmol/mL y el menor nivel el tratamiento "Extracto Etanólico" con 2.95 nmol/mL.

A los 15 días de tratamiento con los extractos, se aprecia un promedio global de 2.55 nmol/mL, presentando el mayor nivel el "Control" con 3.84 nmol/mL y el menor nivel el tratamiento "Extracto Etanólico" con 1.84 nmol/mL.

A los 20 dias de tratamiento con los diferentes extractos, se aprecia un promedio global de 2.06 nmol/mL, habiéndose registrado el mayor nivel con el "Control" con 3.75 nmol/mL y el menor nivel con el tratamiento "Extracto Acetato de Etilo" con 1.33 nmol/mL. Se aprecia una clara diferenciación del "Control" sobre todos los extractos, siendo mayor esta diferencia entre el "Control" y el tratamiento "Extracto Acetato de Etilo".

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

Podemos observar, en la Tabla N° 4.9 y en la Figura N° 4.8, que a los 5 días de administración de los diferentes tratamientos no se encontraron diferencias significativas entre dichos tratamientos.

En la Tabla N° 4.10 y en la Figura N° 4.9 vemos que, a los 10 días de administración de los diferentes tratamientos, tampoco se encontraron diferencias significativas entre dichos tratamientos.

En la Tabla N° 4.11 y en la Figura N° 4.10 apreciamos que, a los 15 días de administración de los diferentes tratamientos, igualmente no se encontraron diferencias significativas entre dichos tratamientos.

Por su parte, en la Tabla N° 4.12 y en la Figura N° 4.11 podemos apreciar que, a los 20 días de administración de los diferentes tratamientos, sí se encontraron diferencias significativas entre dichos tratamientos en cuanto a los niveles de peroxidación lipídica.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

TABLA N° 4.9: Evaluación de los niveles de peroxidación lipídica (nmol/mL) en los diferentes tratamientos al Día 5 – Grupo Experimental 2

Presentación de resultados

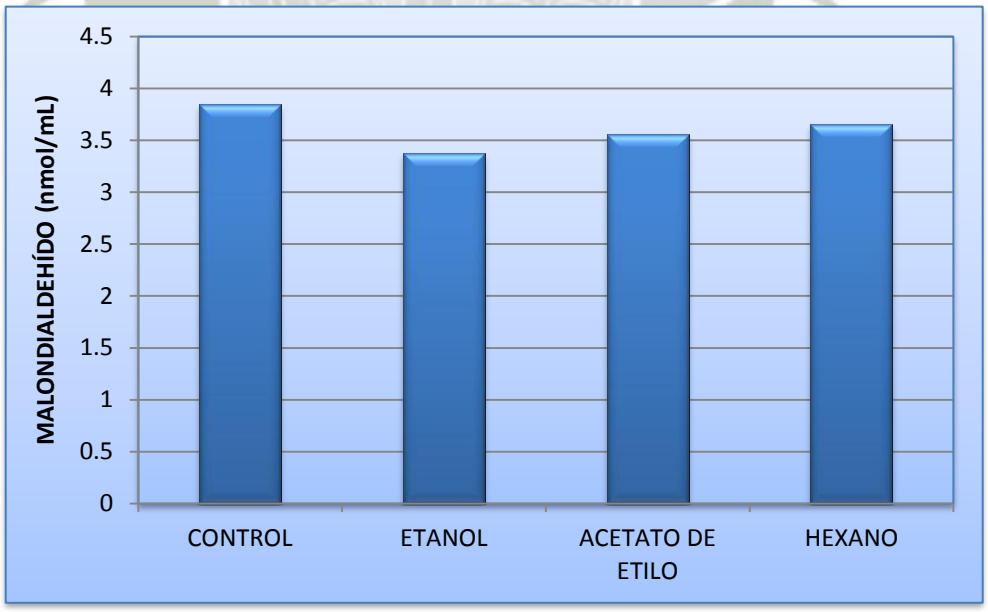
TRATAMIENTO	UNIDAD EXPERIMENTAL					x
	RATA 1	RATA 2	RATA 3	RATA 4	RATA 5	
Control	1.8	1.76	3.84	5.86	5.94	3.84
Extracto Etanólico	2.68	2.6	3.32	4.2	4.06	3.37
Extracto Acetato de Etilo	2.91	3.1	3.55	4	4.19	3.55
Extracto Hexano	2.8	3.2	3.64	4.2	4.4	3.65

FUENTE: Elaboración propia.

ANÁLISIS DE VARIANZA

Fuente de Variabilidad	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	0,572	3	0,191	0,137	0,936
Intra-grupos	22,229	16	1,389		
Total	22,801	19			N.S.

FIGURA N° 4.8: Evaluación de los niveles de peroxidación lipídica (nmol/mL) en los diferentes tratamientos al Día 5 – Grupo Experimental 2



FUENTE: Elaboración propia.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

TABLA N° 4.10: Evaluación de los niveles de peroxidación lipídica (nmol/mL) en los diferentes tratamientos al Día 10 – Grupo Experimental 2

Presentación de Resultados

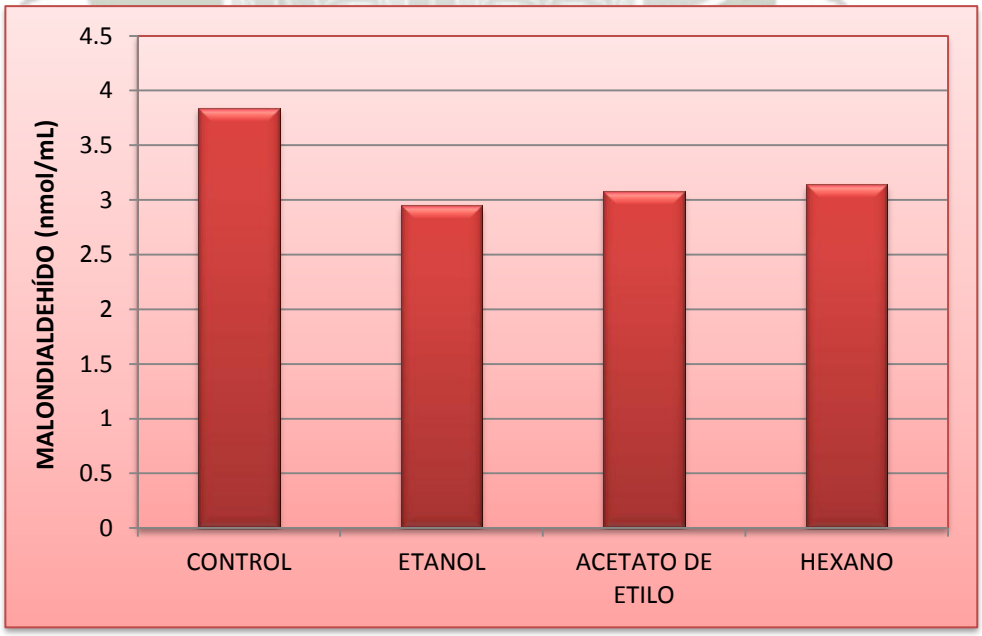
TRATAMIENTO	UNIDAD EXPERIMENTAL					x
	RATA 1	RATA 2	RATA 3	RATA 4	RATA 5	
Control	1.8	1.9	3.84	5.7	5.94	3.84
Extracto Etanólico	2.7	2.4	3.3	3.1	3.24	2.95
Extracto Acetato de Etilo	2.35	2.8	3.55	3.5	3.2	3.08
Extracto Hexano	2.9	3.2	3.4	3.1	3.1	3.14

FUENTE: Elaboración propia.

ANÁLISIS DE VARIANZA

Fuente de Variabilidad	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	2,378	3	0,793	0,723	0,553
Intra-grupos	17,544	16	1,096		
Total	19,922	19			N.S.

FIGURA N° 4.9: Evaluación de los niveles de peroxidación lipídica (nmol/mL) en los diferentes tratamientos al Día 10 – Grupo Experimental 2



FUENTE: Elaboración propia.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

TABLA N° 4.11: Evaluación de los niveles de peroxidación lipídica (nmol/mL) en los diferentes tratamientos al Día 15 – Grupo Experimental 2

Presentación de resultados

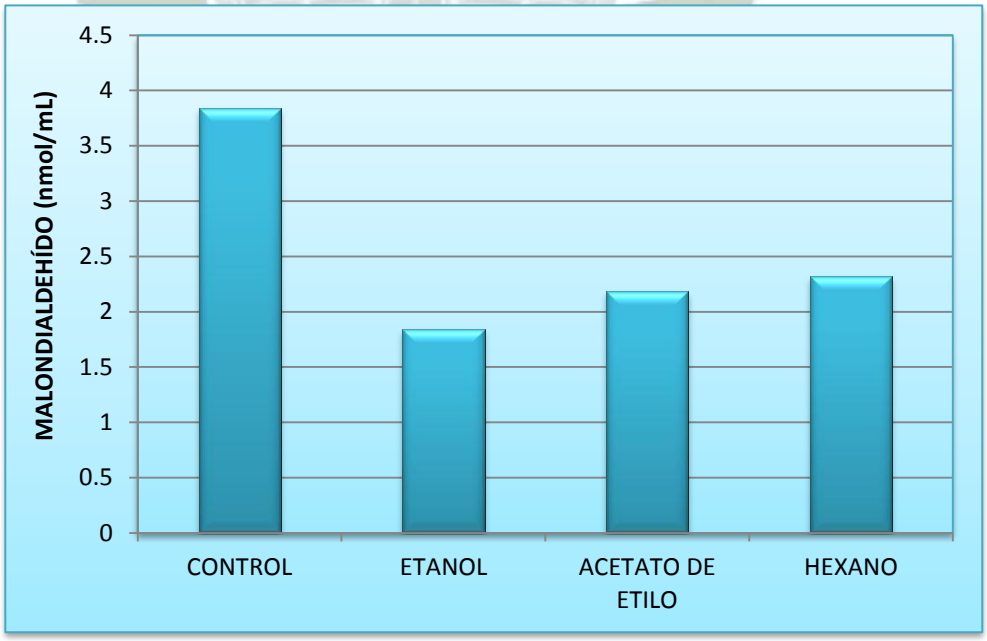
TRATAMIENTO	UNIDAD EXPERIMENTAL					x
	RATA 1	RATA 2	RATA 3	RATA 4	RATA 5	
Control	1.74	2.3	3.84	5.4	5.94	3.84
Extracto Etanólico	0.23	0.1	1.84	3.6	3.45	1.84
Extracto Acetato de Etilo	1.15	1.4	2.18	3.26	2.9	2.18
Extracto Hexano	2.29	0.75	1.3	3.4	3.85	2.32

FUENTE: Elaboración propia.

ANÁLISIS DE VARIANZA

Fuente de Variabilidad	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	11,825	3	3,942	1,787	0,190
Intra-grupos	35,302	16	2,206		
Total	47,127	19			N.S.

FIGURA N° 4.10: Evaluación de los niveles de peroxidación lipídica (nmol/mL) en los diferentes tratamientos al Día 15 – Grupo Experimental 2



FUENTE: Elaboración propia.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

TABLA N° 4.12: Evaluación de los niveles de peroxidación lipídica (nmol/mL) en los diferentes tratamientos al Día 20 – Grupo Experimental 2

Presentación de resultados

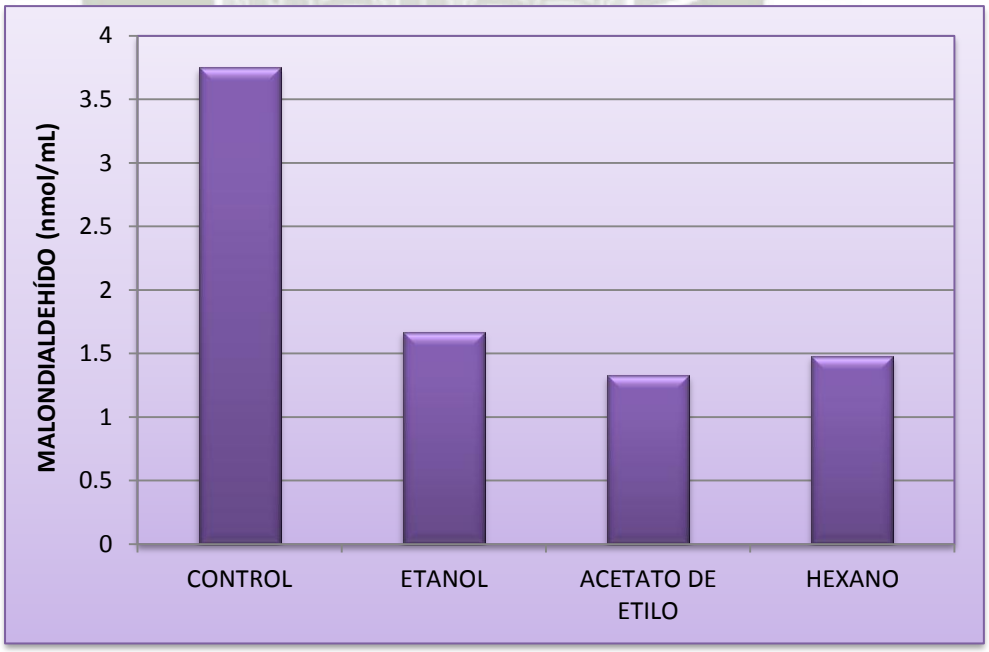
TRATAMIENTO	UNIDAD EXPERIMENTAL					x
	RATA 1	RATA 2	RATA 3	RATA 4	RATA 5	
Control	3.03	2.60	4.45	4.68	3.98	3.75
Extracto Etanólico	2.39	2.16	0.88	1.21	1.73	1.67
Extracto Acetato de Etilo	1.3	1.1	1	1.6	1.67	1.33
Extracto Hexano	1.8	1.32	1.2	1.7	1.39	1.48

FUENTE: Elaboración propia.

ANÁLISIS DE VARIANZA

Fuente de Variabilidad	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	19,297	3	6,432	18,848	0,000
Intra-grupos	5,460	16	0,341		
Total	24,758	19			S.

FIGURA N° 4.11: Evaluación de los niveles de peroxidación lipídica (nmol/mL) en los diferentes tratamientos al Día 20 – Grupo Experimental 2



FUENTE: Elaboración propia.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Después de haber aplicado la prueba estadística ANOVA, y haber determinar que sí existe diferencia significativa entre los diferentes tratamientos al vigésimo día de experimentación, se realiza el Test de Tukey, para agrupar los tratamientos, según su diferencia, como se muestra en la Tabla N° 4.13:

TABLA N° 4.13. Test de Tukey[a] de los niveles de peroxidación lipídica (nmol/mL) con los diferentes tratamientos de Pimiento Rojo a los 20 días de experimentación

TRATAMIENTO	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
3. Extracto Acetato de Etilo	5	1,3340	
4. Extracto Hexánico	5	1,4820	
2. Extracto Etanólico	5	1,6740	
1. Control	5		3,7480

FUENTE: Elaboración propia.

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.
a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 5,000.

Los resultados pueden observarse en la Tabla N° 4.14, las letras al lado de los valores promedio de peroxidación lipídica, representan grupos distintos.

Se observa la existencia de dos subgrupos, el primer subgrupo constituido por los tratamientos extracto etanólico, extracto Acetato de Etilo y extracto Hexánico; y el segundo subgrupo constituido por el tratamiento Control; los tratamientos que pertenecen al mismo subgrupo no presentan diferencia significativa en cuanto a los niveles de peroxidación lipídica.

Los tratamientos que pertenecen a subgrupos distintos sí presentan diferencia significativa en cuanto a los niveles de peroxidación lipídica, y por lo tanto podemos decir que, el Extracto etanólico, el extracto Acetato de Etilo y el Extracto Hexánico han sido eficientes tratamientos para disminuir dichos niveles, ya que presentaron los niveles más bajos de peroxidación lipídica con respecto al tratamiento Control.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

TABLA N° 4.14. Niveles de peroxidación lipídica (nmol/mL) con los diferentes tratamientos de Pimiento Rojo a los 20 días de experimentación

Niveles de Peroxidación Lipídica (nmol Malondialdehído/mL)	
	Promedio
Control	3.75 ^{B}
Extracto Etanólico	1.67 ^{A}
Extracto Acetato de Etilo	1.33 ^{A}
Extracto Hexano	1.48 ^{A}

FUENTE: Elaboración propia.

* Las letras al lado de los valores presentados en la tabla indican la división de grupos, según la prueba de Tukey ($p<0.05$).

Los resultados obtenidos de los niveles de peroxidación lipídica para cada uno de los tratamientos a los 20 días de experimentación, fueron representados gráficamente en la figura N° 4.12, mediante un diagrama de caja-bigote (Box and Whisker ó Box Plot), que muestra la diferencia entre los niveles de peroxidación lipídica para cada una de los tratamientos y la diferencia que existe entre las cinco determinaciones realizadas para cada tratamiento, como se muestra en la Figura N° 4.12, en este caso se observa dispersión entre los valores del tratamiento "Control", pero no se observa mucha dispersión de los datos en los tratamientos con los extractos, ya que los valores no se alejan mucho del promedio.

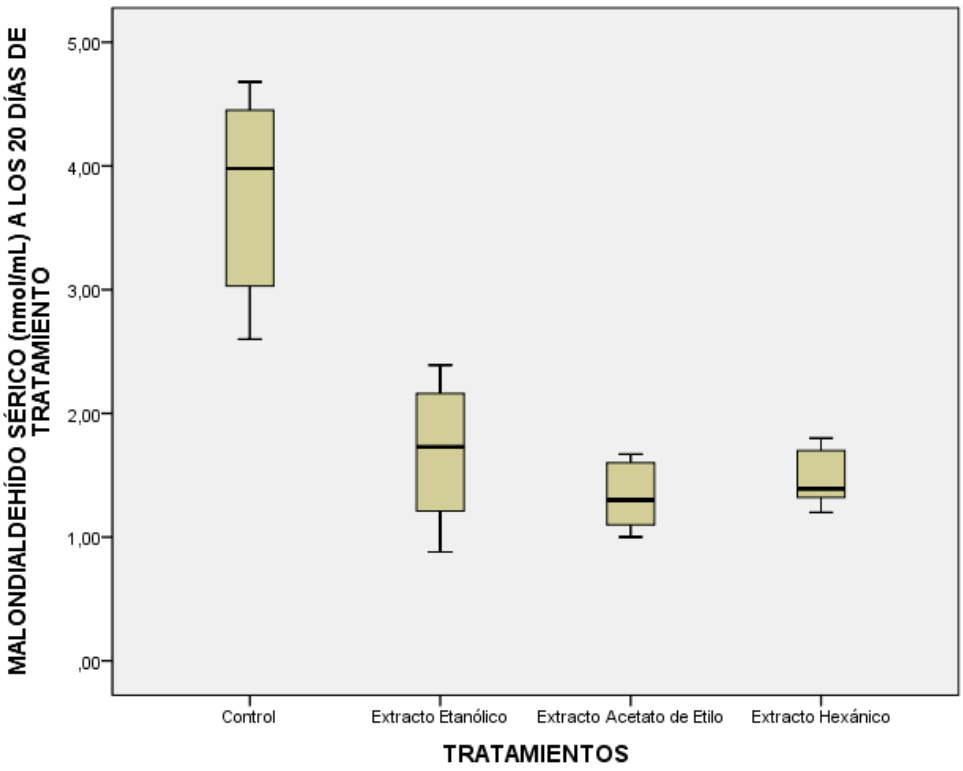
Se observa que los diferentes extractos son eficientes tratamientos para disminuir los niveles de peroxidación lipídica, ya que presentaron los menores valores con respecto al tratamiento Control, como se evidenció con el Test de Tukey.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

FIGURA N° 4.12: Diagrama de caja-bigote de los niveles de peroxidación lipídica (nmol/mL) a los 20 días de tratamiento.



La Tabla N° 4.15 y la Figura N° 4.13, nos permite hacer una comparación de la evolución de los niveles de peroxidación lipídica durante los 20 días de administración de los diferentes tratamientos.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

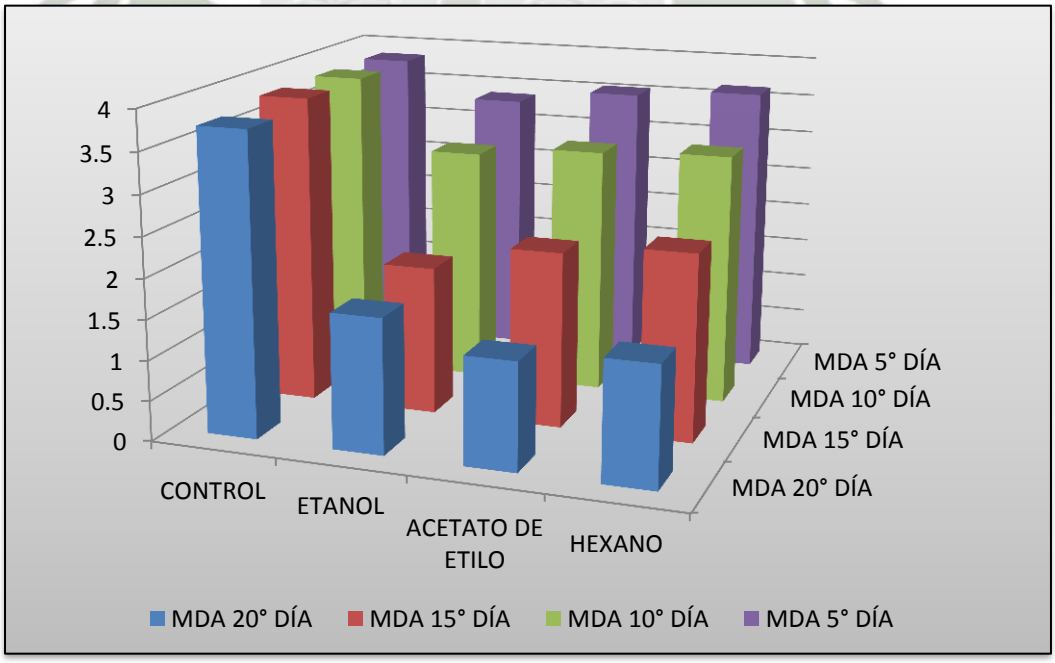
REPOSITORIO DE TESIS UCSM
UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

TABLA N° 4.15: Evolución de los niveles de peroxidación lipídica (nmol/mL) durante los 20 días de tratamiento.

CONDICIÓN		Extracto Etanol	Ext. Acetato de Etilo	Ext. Hexano	Control
Día 5 de tratamiento	x	3.37	3.55	3.65	3.84
	s	± 0.75	± 0.55	± 0.67	± 2.06
Día 10 de tratamiento	x	2.95	3.08	3.14	3.84
	s	± 0.39	± 0.51	± 0.18	± 1.99
Día 15 de tratamiento	**x**	1.84	2.18	2.32	3.84
	s	± 1.68	± 0.92	± 1.32	± 1.85
Día 20 de tratamiento	**x**	1.67	1.33	1.48	3.75
	s	± 0.63	± 0.30	± 0.26	± 0.90

FUENTE: Elaboración propia.

FIGURA N° 4.13: Evolución de los niveles de peroxidación lipídica (nmol/mL) durante los 20 días de tratamiento.



FUENTE: Elaboración propia.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

3. DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE PIMIENTO ROJO

a. Preparación de la Gráfica Estándar de Ácido Ascórbico

Se prepararon soluciones de trabajo a diferentes concentraciones, a partir de una solución madre de Ácido Ascórbico (200µM), para dar distintos valores de absorbancia, los que pueden observarse en la Tabla N° 4.16.

En la Figura N° 4.14 se observa el gráfico resultante de los datos mencionados en la Tabla 4.16.

Se obtuvo una valor de R^2=0.9994, valor muy cercano a la unidad, por lo tanto la ecuación obtenida es adecuada para servir de referencia al realizar los cálculos respectivos para determinar la capacidad antioxidante de las diferentes muestras.

TABLA N° 4.16: Preparación de la curva de calibración, utilizando como estándar soluciones de Ácido Ascórbico a diferentes concentraciones

Concentración Solución Ácido Ascórbico	Absorbancia
10µM	0.260
20µM	0.409
40µM	0.773
60µM	1.109
80µM	1.483

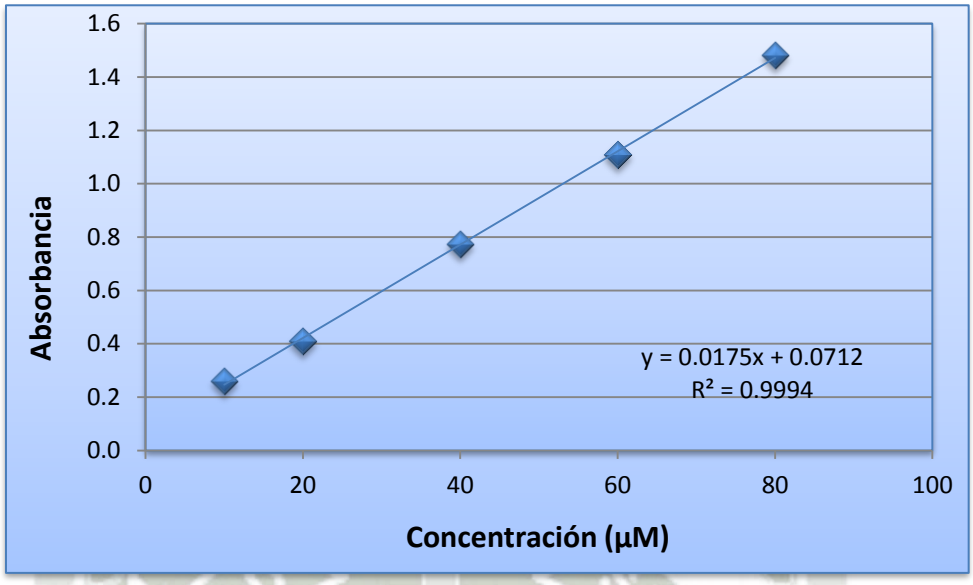
FUENTE: Elaboración propia

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

FIGURA N° 4.14: Gráfico de Calibración usando como estándar Ácido Ascórbico.



FUENTE: Elaboración propia.

- Ecuación

$$\boldsymbol{y = 0.0175x + 0.0712}$$

$$R^2 = 0.9994$$

Donde:

y = Absorbancia.

x = Concentración.

a = Intercepto

b = Pendiente.

b. Determinación de la Capacidad Antioxidante de los Extractos de *Capsicum annuum L.* "Pimiento rojo"

$$y = 0.0175x + 0.0712$$

$$R^2 = 0.9994$$

$$\boldsymbol{Capacidad\ Antioxidante} = \frac{C \times Fd \times V}{P}$$

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Donde:

C = Concentración de la muestra obtenida con la ecuación anterior.

Fd = Factor de dilución.

P = Peso de la muestra.

V = Volumen.

c. Análisis Estadístico de los Resultados

El análisis estadístico de los resultados se llevó a cabo mediante el uso del programa IBM SPSS Statistics 21. Primero se realizó una prueba ANOVA, para determinar si existe diferencia significativa entre los resultados obtenidos para cada muestra. Al determinar que el valor de $p<0.05$, se determina que sí existe diferencia significativa entre las muestras; se realiza un test de Tukey para agrupar a las muestras, según sus diferencias.

Después de utilizar la metodología mencionada en 3.a, para medir la actividad antioxidante de los extractos de pimiento, se realizan los cálculos pertinentes con la ecuación obtenida del gráfico de calibración de Ácido Ascórbico para expresar la capacidad antioxidante equivalente a Ácido Ascórbico (µmol Ácido Ascórbico/ g muestra). Se calcularon los promedios de capacidad antioxidante y la desviación estándar para cada una de las muestras como puede observarse en la Tabla 4.17 y en la Figura 4.15.

Se observa que con el solvente lipofílico (hexano), se obtiene un extracto con capacidad antioxidante equivalente a Ácido Ascórbico de 302,65 µmol/g muestra; con el solvente Acetato de Etilo, se obtiene un extracto con capacidad antioxidante equivalente a Ácido Ascórbico de 926,14 µmol/g muestra; y con el solvente hidrofílico (etanol) se obtiene un extracto con capacidad antioxidante equivalente a Ácido Ascórbico de 684,44 µmol/g muestra.

Quiere decir que, con el solvente lipofílico (hexano) se obtiene el extracto de menor capacidad antioxidante, con el solvente hidrofílico (etanol) se obtiene el extracto de capacidad antioxidante intermedia, y con el solvente acetato de etilo se

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

obtiene el extracto de mayor capacidad antioxidante; esto se debe a que, la presencia de un medio de naturaleza semipolar como el solvente acetato de etilo, favorece la extracción tanto de componentes polares (ácido ascórbico, flavonoides, polifenoles) como de componentes no polares (carotenoides) presentes en el pimiento rojo, y que favorecen a que la capacidad antioxidante de la muestra sea mayor, debido a la presencia de los grupos –OH en los flavonoides y compuestos polifenólicos, como a la presencia de dobles enlaces conjugados en los carotenoides, y que los hacen altamente reactivos con los radicales libres.

Tabla N° 4.17: Capacidad Antioxidante de las diferentes muestras obtenidas de Pimiento Rojo ± la desviación estándar de cada una de ellas (n=3)

Capacidad Antioxidante de las Muestras de Pimiento Rojo (µmol Ácido Ascórbico/g muestra)		
	Promedio	**Desviación Estándar**
Extracto Etanólico	684.44	±13.46
Extracto Acetato de Etilo	926.14	±14.85
Extracto Hexano	302.65	±13.88

FUENTE: Elaboración propia.

FIGURA N° 4.15: Capacidad Antioxidante (µmol Ácido Ascórbico/g muestra) de las muestras de Pimiento Rojo



Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Después de haber obtenido los resultados por triplicado para cada una de las muestras se aplica la prueba estadística ANOVA, para determinar si existe diferencia significativa entre los datos obtenidos de capacidad antioxidante del pimiento. Como se observa en la Tabla N° 4.18, el valor de significancia es $p<0.05$, por lo tanto se determina que sí existe diferencia significativa entre los datos obtenidos.

Tabla N° 4.18: ANOVA de la Capacidad Antioxidante de Muestras de Pimiento Rojo

Fuente de Variabilidad	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	592923,208	2	296461,604	1496,219	0,000
Intra-grupos	1188,843	6	198,141		
Total	594112,052	8			

FUENTE: Elaboración propia.

Al determinar que sí existe diferencia significativa, se realiza el Test de Tukey, para agrupar las muestras, según su diferencia, como se muestra en la Tabla N° 4.19:

Tabla N° 4.19: Test de Tukey[a] de la Capacidad Antioxidante (µmol Ácido Ascórbico/g muestra) de las muestras de Pimiento Rojo

Extractos	N	*Subconjunto para alfa = 0.05*		
		1	2	3
3. Hexánico	3	302,6500		
1. Etanólico	3		684,4400	
2. Acetato de Etilo	3			926,1400

FUENTE: Elaboración propia.

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.
a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 3.000.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Los resultados pueden observarse en la Tabla N° 4.20, las letras al lado de los valores promedio de la capacidad antioxidante, representan grupos distintos.

Se observa que los tres extractos de pimiento rojo, pertenecen a grupos diferentes; por lo tanto, se determina que existe diferencia significativa entre dichas muestras.

Tabla N° 4.20. Capacidad Antioxidante (µmol Ácido Ascórbico/g muestra) de las muestras de Pimiento Rojo

Capacidad Antioxidante (µmol/g muestra) de las Muestras de Pimiento Rojo	
	Promedio
Extracto Etanólico	684.44 ^{B}
Extracto Acetato de Etilo	926.14 ^{C}
Extracto Hexano	302.65 ^{A}

FUENTE: Elaboración propia.

* Las letras al lado de los valores presentados en la tabla indican la división de grupos, según la prueba de Tukey ($p<0.05$).

Los resultados obtenidos de capacidad antioxidante para cada una de las muestras obtenidas de pimiento rojo, fueron representados gráficamente en la Figura N° 4.16, mediante un diagrama de caja-bigote (Box and Whisker ó Box Plot), que muestra la diferencia entre la capacidad antioxidante para cada una de las muestras obtenidas de pimiento rojo y la diferencia que existe entre las tres repeticiones realizadas para cada muestra, como se muestra en la Figura N° 4.16, en este caso se observa que no existe mucha dispersión de los datos en las repeticiones, ya que los valores no se alejan mucho del promedio.

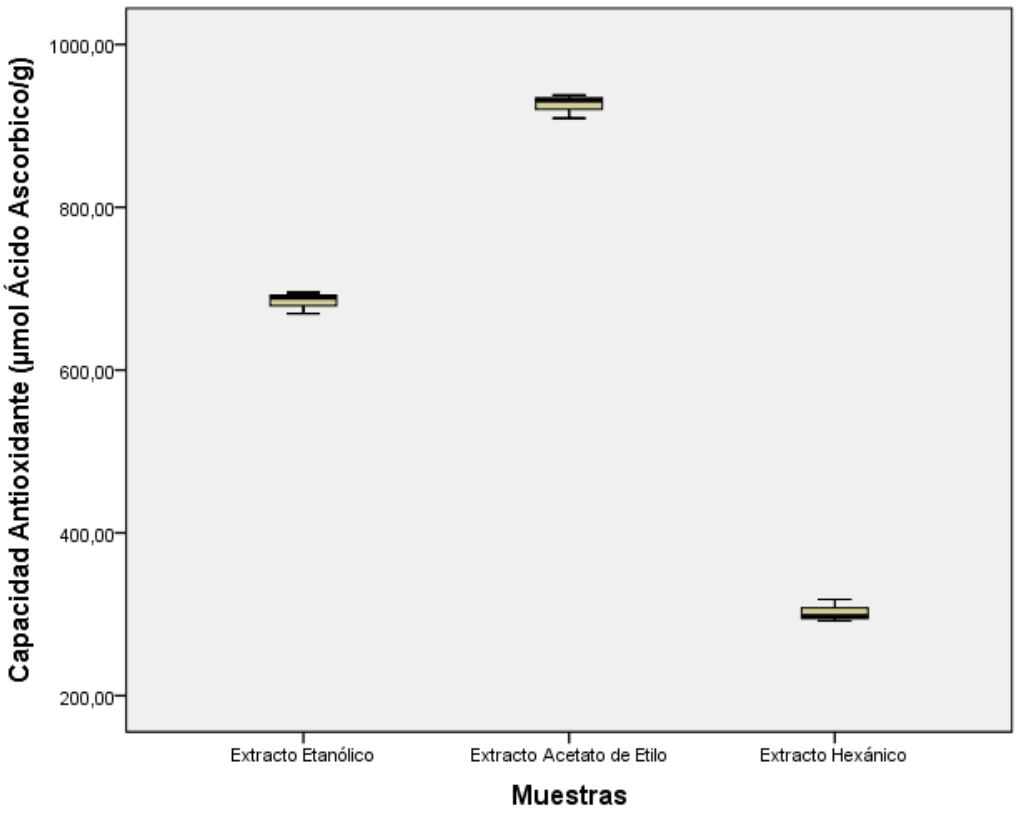
Se observa que el extracto acetato de etilo es el que presenta mayor capacidad antioxidante, con respecto a las otras dos muestras, como se evidenció con el Test de Tukey.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

FIGURA N° 4.16: Diagrama de caja-bigote de la Capacidad Antioxidante (µmol Ácido Ascórbico/g muestra) de las muestras de pimiento rojo.



Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

CAPÍTULO V

CONCLUSIONES

1. Los rendimientos de los extractos etanólico, extracto acetato de etilo, y extracto hexánico de *Capsicum annuum L.* "pimiento rojo" fueron de 19.04% ± 0.03, 15.5% ± 0.05 y 9.6% ± 0.02, respectivamente. El mayor rendimiento de los extractos se obtuvo con el solvente etanol, y el menor rendimiento se obtuvo con el solvente hexano.

2. La administración vía intraperitoneal de estreptozotocina a la dosis de 60mg/Kg de peso, elevó significativamente los niveles basales de glucosa sérica en ratas normales provocando hiperglicemia experimental.

3. El extracto Acetato de Etilo y el extracto Hexánico fueron los más eficientes previniendo el aumento de los niveles de peroxidación lipídica en el Grupo Experimental 1 (grupo preventivo). Los tres diferentes extractos de pimiento rojo fueron eficientes tratamientos para disminuir significativamente los niveles de peroxidación lipídica después de 20 días de administración de dichos extractos en el Grupo Experimental 2 (grupo curativo).

4. Los valores de capacidad antioxidante expresada en µmol de Ácido Ascórbico/ g de muestra, para los extractos etanólico, extracto acetato de etilo, y extracto hexano de *Capsicum annuum L.* "Pimiento Rojo" fueron de 684.44, 926.14 y 302.65, respectivamente. El mayor valor de capacidad antioxidante lo presentó el extracto de acetato de etilo.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

CAPÍTULO VI

RECOMENDACIONES

1. Realizar estudios para determinar la actividad antioxidante de extractos de pimiento rojo, empleando otras técnicas, que usen radicales libres de relevancia biológica, es decir, que se produzcan en nuestro organismo, como por ejemplo la técnica ORAC ó el método TRAP; para que de este modo se tenga una mayor aproximación a los procesos fisiológicos con los resultados obtenidos.

2. Incluir a especias como el pimiento rojo, en la dieta diaria, ya que la incidencia de enfermedades de tipo degenerativo (enfermedades cardiovasculares, diabetes, cáncer, entre otras) ha aumentado considerablemente, por el incremento del estrés oxidativo, y es importante el consumo de alimentos funcionales que posean capacidad antioxidante para prevenir el desarrollo de las mismas.

3. Realizar paralelamente un estudio histopatológico del tejido pancreático para corroborar el grado de destrucción de este tejido por la estreptozotocina.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. J. Jurenitsch, W. Kubelka, K. Jentzsch. "Identification of cultivated Taxa of Capsicum taxonomy, anatomy and composition of pungent principles". Planta Medica, 35 (2): 174-181, 1979.
2. V.S. Govindarajan. "Capsicum prodution, technology, and quality. Part II. Processed product, Standard, world production and trade". Critical Review of Food Science and Nutrition, 24: 207-288, 1986.
3. J. Andrews. "Peppers: The domesticated capsicums". University of Texas Press, Austin, 1984.
4. V.S. Govindarajan, M.N. Sathyanarayana. "Capsicum prodution, technology, and quality. Part V. Impact on physiology,pharmacology, nutrition and metabolism; structure, pungency, pain, and desensitization sequences". Critical Review of Food Science and Nutrition, 29: 435-473, 1991.
5. Nuez-Viñals, F., Gil-Ortega, R. y Costa-García, J. 1996. El cultivo de pimientos, chiles y ajíes. Ed. Mundi Prensa. Madrid, España. 607 pp.
6. L.R. Howard, S.T. Talcott, C.H. Brenes, B. Villalon. "Changes in phytochemical and antioxidant activity of selected peepper cultivars (capsicum species) as influenced by maturity". Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48 (5): 1713-1720, 2000.
7. Márkus, H.G. Dado, J. Kapitány, P.A. Biacs. "Change in the carotenoid and antioxidant content of spice red pepper (Paprika) as a function of ripening and some technological factors". Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47 (1): 100-107, 1999.
8. O.C. Zúñiga, F.G. Jiménez, R.M. Gordillo. "Comparative estudy of carotenoid composition in three Mexican varieties of Capsicum annuum L". Food Chemistry, 90: 109-114, 2005.
9. U. Kidmose, R.Y. Yang, S.H. Thilsted, L.P. Christensen, K. Brandt. "Content of carotenoids in commonly consumed asian vegetables and stability and extractability during frying". Journal of Food Composition and Analysis, 19: 562-571, 2006.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

10. S.W. Leonard, K. Hardin, J.E. Leklem. "Vitamin B-6 content of spices". Journal of Food Composition and Analysis, 14: 163-167, 2001.
11. J.M. Navarro, P. Flores, C. Garrido, V. Martinez. "Changes in the contents of antioxidant compounds in pepper fruits at different ripening stages, as affected by salinity". Food Chemistry, 96: 66-73, 2006.
12. J.A. Osuna-García, M.M. Wall, C.A. Waddell. "Endogenous levels of tocopherols and ascorbic acid during fruit ripening of new mexican-type Chile (Capsicum annuum L.) cultivars". Journal of Agricultural and Food Chemistry, 46 (12): 5093-5096, 1998.
13. M. Koch, Y. Arango, H.P. Mock, K.P. Heise. "Factors influencing a-tocopherol synthesis in pepper fruits". Journal of Plant Physiology, 159: 1015-1019, 2002.
14. Estrada, M.A. Bernal, J. Díaz, F. Pomar, F. Merino. "Fruit development in capsicum annnum: changes in capsaicin, lignin, free phenolics, and peroxidase patterns". Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48 (12): 6234-6239, 2000.
15. P.A. Luning, T. Ebbenhorstseller, T. Derijk, J.P. Roozen. "Effect of hot-air drying on flavour compounds of Bell peppers (Capsicum annuum)". Journal of the Science of Food and Agriculture, 68: 355-365, 1995.
16. J. López-Hernández, M.J. Oruña-Concha, J. Simal-Lozano, M.E. Vázquez-Blanco, M.J. González-Castro. "Chemical composition of padrón Peppers (Capsicum annuum L.) grown in Galicia (N.W. Spain)". Food Chemistry, 57: 557-559, 1996.
17. J.J. Lee, K.M. Crosby, L.M. Pike, K.S. Yoo, D.I. Leskovar. "impact of genetic and environmental variation on development of flavonoids and carotenoids in pepper (capsicum spp.)". Scientia Horticulturae, 106: 341-352, 2005.
18. M. Materska, S. Piacente, A. Stochmal, C. Pizza, W. Oleszek, I. Perucka. "Isolation and structure elucidation of flavonoid and phenolic acid glycosides from pericarp of hot pepper fruit Capsicum annuum L.". Phytochemistry 63, 893-898, 2003.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

19. N.P. Bekker, N.T. Ulchenko, A.I. Glushenkova. "Physicochemical properties and composition of lipids from Capsicum annuum seeds". Chemistry on Natural Compounds, 37: 131-133, 2001.
20. P.A. Luning, T. de Rijk, H.J. Wichers, J.P. Roozen. "Gas chromatography, mass spectrometry, and sniffing port analyses of volatile compounds of fresh bell peppers (Capsicum annuum) at different ripening stages". Journal of Agricultural and Food Chemistry, 42: 977-983, 1994.
21. M. Zimmermann, P. Schieberle. "Important odorants of sweet bell pepper powder (Capsicum annuum cv. Annuum): differences between samples of Hungarian and morrocan origin". European Food Research and Technology, 211: 175-180, 2000.
22. K. Iwai, T. Suzuki, H. Fujiwake. "Formation and accumulation of pungent principle of hot pepper fruits, capsaicin and its analogs, in Capsicum annuum var. annuum cv. Karayatsubusa at different growth stages after flowering". Agricultural and biological Chemistry, 43: 2493-2498, 1979.
23. S. Yazawa, N. Suetome, K. Okamoto, T. Namiki. "Content of capsaicinoids and capsaicinoids-like substances in fruit of pepper (Capsicum annuum L.) hybrids made with "CH-19 Sweet" as a parent". Journal of the Japanese Society for Horticultural Science, 58: 601-607, 1989.
24. Ledezma-Gairaud, M., 2005, "Validación del método: determinación de vitamina C total por cromatografía líquida de alta resolución HPLC", http://www.tec.cr/sitios/Vicerrectoria/vie/editorial_tecnologica/Revista_Tecnologia_Marcha/pdf/tecnologia_marcha3/determinacion%20de%20vitamina%20C%20total%20por%20cromatograf%C3%ADa.pdf, (Octubre, 2010).
25. García, L., García, V., Rojo, D. y Sánchez, E., 2001, "Plantas con propiedades antioxidantes", http://bvs.sld.cu/revistas/ibi/vol20_3_01/ibi11301.pdf, (Septiembre, 2010).
26. González, M., Betancourt, M. y Ortiz, R., 2000, "Daño Oxidativo y Antioxidantes", http://redalyc.uaemex.mx/pdf/576/57611797001.pdf, (Septiembre, 2010).

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

27. Serra, H. y Cafaro, T., 2007, "Ácido ascórbico: desde la química hasta su crucial función protectiva en ojo", http://redalyc.uaemex.mx/pdf/535/53541410.pdf, (Noviembre, 2010).
28. Oro, J. y Donnamaría, M., 2006, "Acción Farmacológica, Biofisicoquímica y Estructura Dinámica de la Vitamina C", http://www.latamjpharm.org/trabajos/25/1/LAJOP_25_1_6_1_508R9MF3CR.pdf, (Agosto, 2012).
29. Hartigan-Go, K., 1996, "Ascorbic acid", http://www.inchem.org/documents/pims/pharm/ascorbic.htm, (Septiembre, 2011).
30. Ibáñez, F., Torre, P. e Irigoyen, A., 2003, "Aditivos alimentarios", http://www.nutricion.org/publicaciones/revista_agosto_03/Funcionales/aditivos.pdf, (Agosto, 2011).
31. Bruneton, Jean. Farmacognosia: Fitoquímica Plantas Medicinales. Editorial Acribia S.A. 2da Edición. Zaragoza (España). 2001. 209-211, 227, 306, 318, 319.
32. Ortega, C. 1991. Carotenóides com atividade pró-vitaminica A e teores de cianeto em diferentes cultivares de mandioca (Manihot esculenta Crantz) do estado de Sao Paulo. Dissertacao para obtencao do grau de mestre. Universidade de Sao Paulo. Sao Paulo, Brazil. 77 p.
33. Meléndez-Martínez, A.J., Vicario, I.M. y Heredia, F.J. 2004. Importancia nutricional de los pigmentos carotenoides. ALAN, Vol 54 (2): 149-155.
34. Olson, J.A. 1999. Carotenoids and human health. Archivos Latinoamericanos de Nutrición. 49 (1-S): 7-11.
35. Snodderly, D.M. 1995. Evidence for protection against age-related macular degeneration by carotenoids and antioxidant vitamins. American Journal of Clinical Nutrition; 62: 1448S-61S.
36. Rosas Portugal, Juan: "Determinación del efecto antioxidante in Vitro del Lepidium peruvianun chacón sp. "Maca". Tesis de Bachiller en Farmacia y Bioquímica. Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UCSM. Arequipa 2003.
37. Ávalos Huaricalla, Marilu; Gallegos Rodríguez, Yorka.: Efecto antioxidante de la Cynara scolimus L. (Alcachofa). Tesis de Bachilleres en Farmacia y

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

Bioquímica. Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UCSM. Arequipa 2004. 3,28,31.

38. Leighton, Federico; Urquiaga, Inés.: Polifenoles del vino y salud humana. Antioxidantes y calidad de vida. 2000. Vol 7. 5,6.
39. Kuklinsky, C., 2000 "Farmacognosia. Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural". Ediciones Omega S.A., Barcelona, pp 761.
40. Martínez M., Alejandro.: Notas del curso de Farmacognosia y fitoquímica. Facultad de Química farmacéutica. Universidad de Antioquía. Colombia.
41. Pokorny, Jan; Yanishlieval, Nedyalka; Gordon, Michael.: Antioxidantes de los alimentos Aplicaciones prácticas. Editorial Acribia S.A. Zaragoza España 2005. 46, 47, 85, 87, 93, 98, 103, 112, 113.
42. Martínez Flores, S.; González Gallego, J.; Culebras J. M.; Tuñon M.: Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. Nutrición hospitalaria. 2002. Vol. 17 N°6. 271, 272, 275.
43. Fernández Barbero, Gerardo: Extracción, Análisis, Estabilidad y Síntesis de Capsaicinoides. Tesis Doctoral de la Facultad de Ciencias de la Universidad de Cádiz. Cádiz, Julio 2007.
44. Molina Quijada, Dulce María: Contenido de Compuestos Fitoquímicos y su Relación con la Capacidad Antioxidante de Extractos de Pimientos (Capsicum annuum L.) cultivados en el Noroeste de México. Tesis de Maestría en Biociencias. División de Ciencias Biológicas y de la Salud de la Universidad de Sonora. Hermosillo, Sonora; Diciembre 2009.
45. Tito Parque, Mireya: "Valoración del Efecto Antioxidante del Aceite de Sacha Inchi (Plukenetia volubilis L.) en plasma y tejido vascular de ratas hiperglicémicas experimentalmente". Tesis de Bachiller en Farmacia y Bioquímica. Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas de la UCSM. Arequipa 2011.
46. Olazo Marinero, Areli: "Efecto de la Obesidad y la Inducción de Diabetes sobre los valores de glucosa, colesterol y triglicéridos en modelo de rata". Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Veracruzana. Veracruz, Julio 2010.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

47. Nieto Bobadilla, María Susana: "Validación de una Técnica Analítica por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) para Cuantificar Cinamaldehído en Aceite Esencial obtenido de la Corteza del Cinnamomum spp "Canela" y Comparación de su Capacidad Antioxidante". Tesis de Bachiller en Farmacia y Bioquímica. Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas de la UCSM. Arequipa 2011.
48. Zea Linares, Andrea: "Determinación de la Capacidad Antioxidante de las Oleorresinas y Extractos Alcohólicos de Curcuma longa L. (Palillo) y Rosmarinus officinalis (Romero)". Tesis de Bachiller en Farmacia y Bioquímica. Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas de la UCSM. Arequipa 2013.
49. Andreescu, S. y Hepel, M., Oxidative Stress: Diagnostics, Prevention, and Therapy, Washington, DC, ACS Symposium Series, 2011.
50. Frankel EN, Meyer AS. "Review. The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants" Journal of the Science of Food and Agriculture, 80 (2000) 1925-41
51. Prior RL, Wu X, Schaich K "Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements" Journal of Agricultural and Food Chemistry, 53, 10 (2005) 4290-4302.
52. Mantle D Et al "Comparison of methods for determination of total antioxidant status: application to analysis of medicinal plant essential oils" Comparative Biochemistry and Phisiology, Part B, 121 (1998) 385-91
53. Yu TW & Ong CN. "Lag-time measurement of antioxidant capacity using myoglobin and 2, 2-Azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid): rationale, application and limitation". Analytical Biochemistry, 275 (1999) 217-23
54. Sánchez-Moreno C. "Review: methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems" Food Science and Technology International, 8, 3 (2002) 121-39
55. Aruoma OI. "Methodological considerations for characterizing potential antioxidant actions of bioactive components in plant foods" Mutation research, 523-24 (2003) 9-20.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

56. Siquet C, Paiva-Martins F, Lima JLFC, Reis S, Borges F. “Antioxidant profile of dihydroxy-and trihydroxyphenolic acids- A structure-activity relationship study” Free Radical Research, 40 (2006) 433-42

57. Fernández-Pachón MS, Villaño D, García-Parrilla MC, Troncoso AM. "Antioxidant activity of wines and relation with their polyphenolic composition" Analytica Chimica Acta, 513 (2004) 113-18

58. Villaño D, Fernández-Pachón MS, Troncoso AM, García-Parrilla MC. "Comparison of antioxidant activity of wine phenolic compounds and metabolites in vitro" Analytica Chimica Acta, 538 (2005) 391-98

59. YANG, J. el al., In vitro antioxidant properties of rutin, China, LWT 41 (2008), 1060-1066.

60. RE, R. et al., Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay, 1999.

61. Benzie, I. F. F. & Strain J J. “The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: The FRAP assay”. Analytical Biochemistry, 239 (1996) 70-76.

62. Fagali, Natalia Soledad: “Peroxidación de diferentes Especies Lipídicas: Efecto de Antioxidantes”. Tesis doctoral de la Facultad de Ciencias Exactas de la Universidad Nacional de La Plata. La Plata, 2011.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

ANEXOS

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

ANEXO 1

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA N° 2.1. Planta del pimiento *"Capsicum annumm L."* cultivado al aire libre y en invernadero 7

FIGURA N° 2.2. Flor del pimiento 8

FIGURA N° 2.3. Diversos tipos de pimientos 9

FIGURA N° 2.4. Ácido Ascórbico 12

FIGURA N° 2.5. Origen biosintético de diferentes compuestos fenólicos . . . 17

FIGURA N° 2.6. Origen biosintético de flavonoides y compuestos relacionados 18

FIGURA N° 2.7. Estructura básica de los Flavonoides 19

FIGURA N° 2.8. Estructura de Flavonas 21

FIGURA N° 2.9. Estructura de Flavonoles 21

FIGURA N° 2.10. Estructura de Flavononas 21

FIGURA N° 2.11. Estructura de Flavonololes 22

FIGURA N° 2.12. Estructura de Chalconas 22

FIGURA N° 2.13. Estructura de Isoflavonoides 22

FIGURA N° 2.14. Quercetina 24

FIGURA N° 2.15. Estructura básica de los Capsaicinoides 25

FIGURA N° 2.16. Biosíntesis de la capsaicina 27

FIGURA N° 2.17. Estructura básica de los capsinoides 29

FIGURA N° 2.18. Estreptozotocina 33

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

FIGURA N° 2.19. Mecanismo de la Peroxidación Lipídica 41

FIGURA N° 2.20. Reacción del α-tocoferol con un radical peroxilo 49

FIGURA N° 2.21. DPPH (morado) y DPPH (incoloro) 55

FIGURA N° 2.22. Sal de ABTS (ácido-2,2´-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) 56

FIGURA N° 2.23. FRAP: [Fe (II) $(TPTZ)_2]^{2+}$ (Catión Ferroso de Tripiridiltriazina) 56

FIGURA N° 2.24. Mecanismo de acción del método CUPRAC 57

FIGURA N° 2.25. Esquema de la reacción entre malondialdehído y ácido tiobarbitúrico 59

FIGURA N° 3.1. Materiales de Laboratorio 64

FIGURA N° 3.2. Obtención de los extractos etanólico, de acetato de etilo y de hexano usando el equipo de Soxhlet 66

FIGURA N° 3.3. Eliminación del solvente por Rotavapor 67

FIGURA N° 3.4. Extractos etanólico, de acetato de etilo y de hexano, de pimiento rojo 67

FIGURA N° 3.5. Determinación de la Capacidad Antioxidante de Pimiento Rojo a una longitud de onda de 450nm 75

FIGURA N° 4.1. Porcentaje de Rendimiento de los extractos obtenidos de *Capsicum annuum L.* "pimiento rojo" 78

FIGURA N° 4.2. Niveles de glicemia (mg/dL) antes y después de la intoxicación con estreptozotocina – Grupo Experimental 1 80

FIGURA N° 4.3. Niveles de peroxidación lipídica (nmol/mL) antes y después de la intoxicación con estreptozotocina – Grupo Experimental 1 82

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

FIGURA N° 4.4. Niveles de peroxidación lipídica (nmol/mL) en los diferentes tratamientos antes de la intoxicación – Grupo Experimental 1 83

FIGURA N° 4.5. Niveles de peroxidación lipídica (nmol/mL) en los diferentes tratamientos después de la intoxicación – Grupo Experimental 1 84

FIGURA N° 4.6. Diagrama de caja – bigote de los niveles de peroxidación lipídica (nmol/mL) después de la intoxicación – Grupo Experimental 1 87

FIGURA N° 4.7. Niveles de glicemia (mg/dL) antes y después de los 20 días de administración de los diferentes tratamientos – Grupo Experimental 2 89

FIGURA N° 4.8. Evaluación de los niveles de peroxidación lipídica (nmol/mL) en los diferentes tratamientos al Día 5 – Grupo Experimental 2 92

FIGURA N° 4.9. Evaluación de los niveles de peroxidación lipídica (nmol/mL) en los diferentes tratamientos al Día 10 – Grupo Experimental 2 93

FIGURA N° 4.10. Evaluación de los niveles de peroxidación lipídica (nmol/mL) en los diferentes tratamientos al Día 15 – Grupo Experimental 2 94

FIGURA N° 4.11. Evaluación de los niveles de peroxidación lipídica (nmol/mL) en los diferentes tratamientos al Día 20 – Grupo Experimental 2 95

FIGURA N° 4.12. Diagrama de caja-bigote de los niveles de peroxidación lipídica (nmol/mL) a los 20 días de tratamiento – Grupo Experimental 2 98

FIGURA N° 4.13. Evolución de los niveles de peroxidación lipídica (nmol/mL) durante los 20 días de tratamiento – Grupo Experimental 2 99

FIGURA N° 4.14. Gráfico de Calibración usando como estándar Ácido Ascórbico 101

FIGURA N° 4.15. Capacidad Antioxidante (µmol Ácido Ascórbico/g muestra) de las muestras de Pimiento Rojo. 103

FIGURA N° 4.16. Diagrama de caja-bigote de la Capacidad Antioxidante (µmol Ácido Ascórbico/g muestra) de las muestras de Pimiento Rojo 106

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

ANEXO 2

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N° 2.1. Propiedades físico-químicas del ácido ascórbico 13

TABLA N° 2.2. Principales tipos de compuestos fenólicos en plantas 16

TABLA N° 2.3. Sustitución de radicales necesarios para la formación de flavonas y flavonoides 20

TABLA N° 2.4. Cadenas laterales (R) de Capsaicina y Dihidrocapsaicina . . . 25

TABLA N° 2.5. Cadenas laterales (R) de Capsiato y Dihidrocapsiato 29

TABLA N° 2.6. Principales Radicales Libres en el Organismo 36

TABLA N° 2.7. Antioxidantes Sintéticos 51

TABLA N° 3.1. Procedimiento para la Determinación de Glicemia 69

TABLA N° 3.2. Preparación de la Curva de Calibración de Ácido Ascórbico 73

TABLA N° 3.3. Preparación de las Muestras 74

TABLA N° 4.1. Porcentaje de Rendimiento de los extractos obtenidos de *Capsicum annuum L.* "pimiento rojo" 78

TABLA N° 4.2. Niveles de glicemia (mg/dL) antes y después de la intoxicación con estreptozotocina – Grupo Experimental 1 80

TABLA N° 4.3. Niveles de peroxidación lipídica (nmol/mL) antes y después de la intoxicación con estreptozotocina – Grupo Experimental 1 82

TABLA N° 4.4. Niveles de peroxidación lipídica (nmol/mL) en los diferentes tratamientos antes de la intoxicación – Grupo Experimental 1 83

TABLA N° 4.5. Niveles de peroxidación lipídica (nmol/mL) en los diferentes tratamientos después de la intoxicación – Grupo Experimental 1 84

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

TABLA N° 4.6. Test de Tukey[a] de los niveles de peroxidación lipídica (nmol/mL) con los diferentes tratamientos de Pimiento Rojo después de producida la intoxicación con estreptozotocina – Grupo Experimental 1. 85

TABLA N° 4.7. Niveles de peroxidación lipídica (nmol/mL) con los diferentes tratamientos de Pimiento Rojo después de producida la intoxicación con estreptozotocina – Grupo Experimental 1 86

TABLA N° 4.8. Niveles de glicemia (mg/dL) antes y después de los 20 días de administración de los diferentes tratamientos – Grupo Experimental 2 89

TABLA N° 4.9. Evaluación de los niveles de peroxidación lipídica (nmol/mL) en los diferentes tratamientos al Día 5 – Grupo Experimental 2. 92

TABLA N° 4.10. Evaluación de los niveles de peroxidación lipídica (nmol/mL) en los diferentes tratamientos al Día 10 – Grupo Experimental 2 93

TABLA N° 4.11. Evaluación de los niveles de peroxidación lipídica (nmol/mL) en los diferentes tratamientos al Día 15 – Grupo Experimental 2 94

TABLA N° 4.12. Evaluación de los niveles de peroxidación lipídica (nmol/mL) en los diferentes tratamientos al Día 20 – Grupo Experimental 2 95

TABLA N° 4.13. Test de Tukey[a] de los niveles de peroxidación lipídica (nmol/mL) con los diferentes tratamientos de Pimiento Rojo a los 20 días de experimentación – Grupo Experimental 2 96

TABLA N° 4.14. Niveles de peroxidación lipídica (nmol/mL) con los diferentes tratamientos de Pimiento Rojo a los 20 días de experimentación – Grupo Experimental 2 97

TABLA N° 4.15. Evolución de los niveles de peroxidación lipídica (nmol/mL) durante los 20 días de tratamiento – Grupo Experimental 2 99

TABLA N° 4.16. Preparación de la Curva de Calibración, utilizando como estándar soluciones de Ácido Ascórbico a diferentes concentraciones 100

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

TABLA N° 4.17. Capacidad Antioxidante de las diferentes muestras obtenidas de Pimiento Rojo ± la desviación estándar de cada una de ellas (n=3) 103

TABLA N°4.18. ANOVA de la Capacidad Antioxidante de Muestras de Pimiento Rojo 104

TABLA N° 4.19. Test de Tukey[a] de la Capacidad Antioxidante (µmol Ácido Ascórbico/g muestra) de las muestras de Pimiento Rojo 104

TABLA N° 4.20. Capacidad Antioxidante (µmol Ácido Ascórbico/g muestra) de las muestras de Pimiento Rojo 105

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

ANEXO 3

FOTOGRAFÍAS DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN



FOTOGRAFÍA N° 1

Ratas albinas machos de la especie *Rattus novergicus* de 3 meses de edad.



FOTOGRAFÍA N° 2

Ratas albinas machos de la especie *Rattus novergicus* de 3 meses de edad.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA



FOTOGRAFÍA N° 3

Extracción de sangre del ángulo interno del ojo de las ratas con un capilar para la determinación de glicemia y malondialdehído sérico.



FOTOGRAFÍA N° 4

Extracción de sangre con un capilar del ángulo interno del ojo de las ratas para determinar glucosa y malondialdehído sérico.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA



FOTOGRAFÍA N° 5

Extracción de sangre gota a gota en un tubo Eppendorf para determinar glucosa y malondialdehído sérico.



FOTOGRAFÍA N° 6

Obtención de los extractos de *Capsisum annuum L.* "pimiento rojo"

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA



FOTOGRAFÍA N° 7

Extracto Etanólico, extracto acetato de etilo, y extracto hexano de *Capsicum annuum L.* "pimiento rojo"



FOTOGRAFÍA N° 8

Evaporación del solvente en el rotavapor.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA



FOTOGRAFÍA N° 9

Evaporación del solvente en el rotavapor.



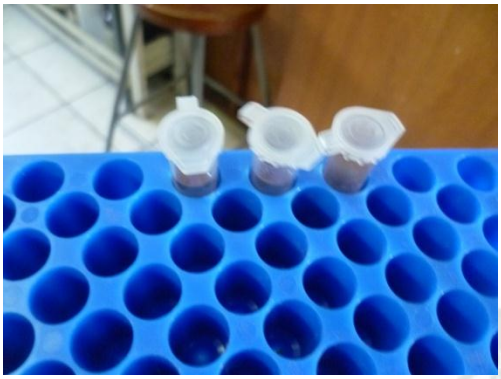
FOTOGRAFÍA N° 10

Soluciones de trabajo CUPRAC: Acetato de Amonio 1M, Cloruro de Cobre $1x10^{-2}$M, Neocuproina $7.5x10^{-3}$M, Ácido Ascórbico $2x10^{-4}$M

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

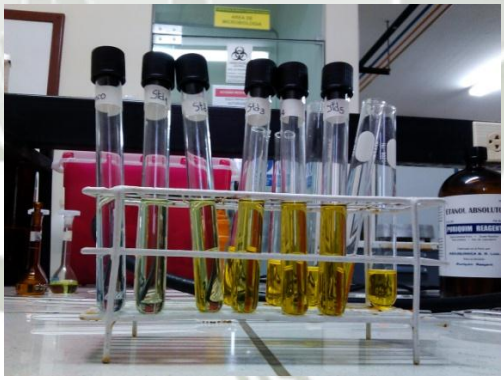
REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA



FOTOGRAFÍA N° 11

Preparación de la Curva de Calibración de TEP
(MÉTODO TBARS)



FOTOGRAFÍA N° 12

Preparación de la Curva de Calibración de Ácido Ascórbico
(MÉTODO CUPRAC)

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA



FOTOGRAFÍA N° 13

Determinación de los niveles de peroxidación lipídica en ratas con diabetes experimental en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 532 nm.



FOTOGRAFÍA N°14

Determinación de la Capacidad Antioxidante de las Muestras de *Capsicum annuum L.* "pimiento rojo" en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 450nm.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

ANEXO 4

NIVELES DE GLICEMIA (mg/dL) EN EL GRUPO EXPERIMENTAL I (GRUPO PREVENTIVO)

ANTES							
	Rata 1	**Rata 2**	**Rata 3**	**Rata 4**	**Rata 5**	**x**	**s**
Control	65.00	63.00	70.00	73.00	75.00	69.20	5.12
Extracto Etanólico	64.00	62.00	70.00	71.00	74.00	68.20	5.02
Extracto Acetato de Etilo	65.00	60.00	72.00	75.00	79.00	70.20	7.66
Extracto Hexano	66.00	63.00	73.00	76.00	79.00	71.40	6.73
DESPUÉS							
Control	292.10	297.00	320.00	340.00	345.70	318.96	24.30
Extracto Etanólico	265.00	260.00	291.00	296.00	306.00	283.60	20.08
Extracto Acetato de Etilo	289.00	255.00	281.00	295.00	263.00	276.60	17.05
Extracto Hexano	267.00	258.00	294.00	312.00	315.00	289.20	25.86

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

ANEXO 5

NIVELES DE PEROXIDACIÓN LIPÍDICA (nmol Malondialdehído/mL) EN EL GRUPO EXPERIMENTAL I (GRUPO PREVENTIVO)

ANTES							
	Rata 1	**Rata 2**	**Rata 3**	**Rata 4**	**Rata 5**	**x**	**s**
Control	0.50	0.20	2.00	1.70	1.10	1.10	0.76
Extracto Etanólico	0.44	0.20	1.11	2.10	1.70	1.11	0.81
Extracto Acetato de Etilo	1.98	2.00	0.20	0.20	1.09	1.09	0.90
Extracto Hexano	1.07	0.30	0.40	2.00	1.60	1.07	0.74
DESPUÉS							
Control	3.63	3.40	3.83	5.3	5.03	4.24	0.87
Extracto Etanólico	3.31	3.20	3.76	4.21	4.30	3.76	0.50
Extracto Acetato de Etilo	1.24	1.40	1.91	2.42	2.58	1.91	0.60
Extracto Hexano	1.58	1.40	2.25	3.10	2.96	2.26	0.77

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

ANEXO 6

NIVELES DE GLICEMIA (mg/dL) EN EL GRUPO EXPERIMENTAL II (GRUPO CURATIVO)

ANTES							
	Rata 1	**Rata 2**	**Rata 3**	**Rata 4**	**Rata 5**	**x**	**s**
Control	350.00	325.00	324.14	315.00	280.00	318.83	25.30
Extracto Etanólico	303.00	298.00	292.00	260.70	264.70	283.68	19.60
Extracto Acetato de Etilo	297.50	290.50	281.00	258.00	255.50	276.50	18.98
Extracto Hexano	312.40	252.00	304.00	295.00	282.00	289.08	23.59
DESPUÉS							
Control	277.00	270.00	314.00	315.00	322.00	299.60	24.15
Extracto Etanólico	195.00	181.00	215.00	223.00	229.50	208.70	20.20
Extracto Acetato de Etilo	234.00	224.00	265.00	279.00	296.00	259.60	30.22
Extracto Hexano	209.00	198.00	231.00	245.00	258.00	228.20	24.79

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

ANEXO 7

NIVELES DE PEROXIDACIÓN LIPÍDICA (nmol Malondialdehído/mL) EN EL GRUPO EXPERIMENTAL II (GRUPO CURATIVO)

	Rata 1	Rata 2	Rata 3	Rata 4	Rata 5	x	s
DÍA 5							
Control	1.80	1.76	3.84	5.86	5.94	3.84	2.06
Extracto Etanólico	2.68	2.60	3.32	4.20	4.06	3.37	0.75
Extracto Acetato de Etilo	2.91	3.10	3.55	4.00	4.19	3.55	0.55
Extracto Hexano	2.80	3.20	3.64	4.20	4.40	3.65	0.67
DÍA 10							
Control	1.80	1.90	3.84	5.70	5.94	3.84	1.99
Extracto Etanólico	2.70	2.40	3.30	3.10	3.24	2.95	0.39
Extracto Acetato de Etilo	2.35	2.80	3.55	3.50	3.20	3.08	0.51
Extracto Hexano	2.90	3.20	3.40	3.10	3.10	3.14	0.18
DÍA 15							
Control	1.74	2.30	3.84	5.40	5.94	3.84	1.85
Extracto Etanólico	0.23	0.10	1.84	3.60	3.45	1.84	1.68
Extracto Acetato de Etilo	1.15	1.40	2.18	3.26	2.90	2.18	0.92
Extracto Hexano	2.29	0.75	1.30	3.40	3.85	2.32	1.32
DÍA 20							
Control	3.03	2.60	4.45	4.68	3.98	3.75	0.90
Extracto Etanólico	2.39	2.16	0.88	1.21	1.73	1.67	0.63
Extracto Acetato de Etilo	1.30	1.10	1.00	1.60	1.67	1.33	0.30
Extracto Hexano	1.80	1.32	1.20	1.70	1.39	1.48	0.26

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE
TESIS UCSM

UNIVERSIDAD
CATÓLICA
DE SANTA MARÍA

ANEXO 8

TABLA DE DISTRIBUCIÓN T PARA TEST DE UNA COLA

Intervalo de Confianza Valores de p Número de Grados de Libertad	90% 0.10	95% 0.05	98% 0.02	99% 0.01
1	3.08	6.31	12.71	31.82
2	1.89	2.92	4.30	6.96
3	1.64	2.35	3.18	4.54
4	1.53	2.13	2.78	3.75
5	1.48	2.02	2.57	3.36
6	1.44	1.94	2.45	3.14
7	1.41	1.89	2.36	3.00
8	1.40	1.86	2.31	2.90
9	1.38	1.83	2.26	2.82
10	1.37	1.81	2.23	2.76
12	1.36	1.78	2.18	2.68
14	1.35	1.76	2.14	2.62
16	1.34	1.75	2.12	2.58
18	1.33	1.73	2.10	2.55
20	1.32	1.72	2.09	2.53
30	1.31	1.70	2.04	2.46
50	1.30	1.68	2.01	2.40
α	1.28	1.64	1.96	2.33

Fuente: Elaboración propia.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis

REPOSITORIO DE TESIS UCSM

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

ANEXO 9

VALORES CRÍTICOS DE F PARA TEST DE UNA COLA (p=0.05)

v_2	v_1												
	1	*2*	*3*	*4*	*5*	*6*	*7*	*8*	*9*	*10*	*12*	*15*	*20*
1	161.4	199.5	215.7	224.6	230.2	234.0	236.8	238.9	240.5	241.9	243.9	245.9	248.0
2	18.51	19.00	19.16	19.25	19.30	19.33	19.35	19.37	19.38	19.40	19.41	19.43	19.45
3	10.13	9.552	9.277	9.117	9.013	8.941	8.887	8.845	8.812	8.786	8.745	8.703	8.660
4	7.709	6.944	6.591	6.388	6.256	6.163	6.094	6.041	5.999	5.964	5.912	5.858	5.803
5	6.608	5.786	5.409	5.192	5.050	4.950	4.876	4.818	4.772	4.735	4.678	4.619	4.558
6	5.987	5.143	4.757	4.534	4.387	4.284	4.207	4.147	4.099	4.060	4.000	3.938	3.874
7	5.591	4.737	4.347	4.120	3.972	3.866	3.787	3.726	3.677	3.637	3.575	3.511	3.445
8	5.318	4.459	4.066	3.838	3.687	3.581	3.500	3.438	3.388	3.347	3.284	3.218	3.150
9	5.117	4.256	3.863	3.633	3.482	3.374	3.293	3.230	3.179	3.137	3.073	3.006	2.936
10	4.965	4.103	3.708	3.478	3.326	3.217	3.135	3.072	3.020	2.978	2.913	2.845	2.774
11	4.844	3.982	3.587	3.357	3.204	3.095	3.012	2.948	2.896	2.854	2.788	2.719	2.646
12	4.747	3.885	3.490	3.259	3.106	2.996	2.913	2.849	2.796	2.753	2.687	2.617	2.544
13	4.667	3.806	3.411	3.179	3.025	2.915	2.832	2.767	2.714	2.671	2.604	2.533	2.459
14	4.600	3.739	3.344	3.112	2.958	2.848	2.764	2.699	2.646	2.602	2.534	2.463	2.388
15	4.543	3.682	3.287	3.056	2.901	2.790	2.707	2.641	2.588	2.544	2.475	2.403	2.328
16	4.494	3.634	3.239	3.007	2.852	2.741	2.657	2.591	2.538	2.494	2.425	2.352	2.276
17	4.451	3.592	3.197	2.965	2.810	2.699	2.614	2.548	2.494	2.450	2.381	2.308	2.230
18	4.414	3.555	3.160	2.928	2.773	2.661	2.577	2.510	2.456	2.412	2.342	2.269	2.191
19	4.381	3.522	3.127	2.895	2.740	2.628	2.544	2.477	2.423	2.378	2.308	2.234	2.155
20	4.351	3.493	3.098	2.866	2.711	2.599	2.514	2.447	2.393	2.348	2.278	2.203	2.124

Fuente: Miller James, Miller Jane, Statistics and Chemometrics for Analytical Chemistry, Fifth Edition.

Leyenda:

- V1 = Grados de Libertad del Numerador.
- V2 = Grados de Libertad del Denominador.

Publicación autorizada con fines académicos e investigativos
En su investigación no olvide referenciar esta tesis