

**Universidad Católica de Santa María**  
**Facultad de Ciencias Farmacéuticas,**  
**Bioquímicas y Biotecnológicas**  
**Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica**



**“DETERMINACION DE HIERRO TOTAL, POLIFENOLES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE, DEL EXTRACTO DE *Prunus Serotina* “CAPULI” Y *Physalis Peruviana* “AGUAYMANTO”**

Tesis presentada por el Bachiller:

**Castillo Apaza, Watson Carlos**

Para optar el título profesional de:

**Químico Farmacéutico**

**Asesor:**

PhD. Cárdenas García, Jaime Dante

**Arequipa – Perú**

**2022**

**FORMATO DE TITULACION PROFESIONAL**

**DE:** CASTILLO APAZA, Watson Carlos

**TITULO DEL PROYECTO DE TESIS:**

**"DETERMINACION Y COMPARACION DE HIERRO TOTAL, POLIFENOLES TOTALES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE, DEL EXTRACTO DE PULPA DE Prunus serótina "Capull" DE LAS REGIONES ANDINAS DE AREQUIPA Y CUSCO POR ESPECTOFOTOMETRIA LIQUIDA DE ALTA RESOLUCION (HPLC) CON DPPH FENANTROLINA"**

**DICTAMINADORES:** 1) Q. F. Juan Ramírez Orellana

2) Q. F. Fernando Torres Vela

**DICTAMEN DE PLAN:** Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación, como Dictaminadores del Plan de Tesis presentado por el recurrente, se ha procedido a la revisión del mismo, sugiriendo se cambie el título a: **"DETERMINACION DE HIERRO TOTAL, POLIFENOLES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO DE Prunus serótina "CAPULL" Y Physalis peruviana "AGUAYMANTO"**, y después de realizadas las correcciones y sugerencias correspondientes, consideramos se encuentra APTO para continuar con los trámites estipulados en el Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad

Atentamente:

0270  
Firmas:



Fecha 05/04/19

**ASESOR:** Dr. Jaime Cárdenas García

**DICTAMEN DE ASESOR:**

Se ha procedido a revisar el borrador de tesis, se han hecho las sugerencias y correcciones del caso y además se ha determinado que se ha cumplido con los objetivos propuestos, por lo que considero que el presente trabajo de investigación está apto para su dictamen.

Firma

Fecha 25 de Nov. 2020

**DICTAMINADORES BORRADOR DE TESIS:**

1) Q.F. Juan Ramírez Orellana

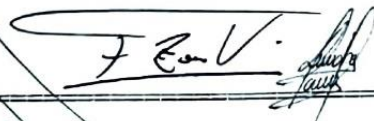
3) Mag. Julitza Paredes Fuentes

2) Q.F. Fernando Torres Vela

**DICTAMEN FINAL:** Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación hemos procedido a revisar el Borrador de Trabajo Académico, presentado por el recurrente, luego de lo cual y habiéndose cumplido con las correcciones respectivas, consideramos que se encuentra APTO para continuar con el trámite de acuerdo al Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad

Atentamente

Firma



Fecha 21/04/22

**JURADOS:** Presidente  
Vocal  
Secretario

**SUSTENTACIÓN DE TRABAJO:**

Fecha:

Hora:

Local: C- 402 (SUM)

## ***DEDICATORIA***

*A Dios, por su bondad, apoyo y gracia, por permitirme seguir avanzando en esta etapa y por haberme acompañado fielmente en mi camino profesional, dándome fuerza, ganas en los momentos de debilidad y a la vez salvaguardándome en la salud, fortaleza y sabiduría.*



## AGRADECIMIENTOS

**Quiero agradecer a mis padres, por ayudarme y estar siempre brindándome su apoyo incondicional en todo momento y a todas las personas que me ayudaron a terminar este proyecto de tesis.**

**Agradecer al Dr. Jaime Cárdenas por brindarme su apoyo, paciencia y Tiempo. Y a la vez por sus consejos para asesorarme y concluir este Proyecto de tesis.**

**A los componentes del jurado calificador, por sus sugerencias, consejos y apoyo en la revisión y composición de este proyecto de tesis.**

**Al laboratorio de control de calidad por su apoyo brindado, por el tiempo que permanecí en sus instalaciones de trabajo y todas las personas que me brindaron su apoyo para concluir este trabajo de investigación.**

## RESUMEN

La siguiente investigación se buscó como propósito comparar y determinar la capacidad antioxidante de los frutos *Prunus serotina* (Capulí) y *Physalis peruviana* (Aguaymanto) y a la vez su contenido polifenólicos y cantidad de hierro presente en su composición.

Para el trabajo se utilizaron los siguientes frutos que se producen y cultivan en el distrito de Velille, provincia de Chumbivilcas, departamento de la ciudad del Cusco y distrito de Majes, provincia de Arequipa y departamento de la ciudad de Arequipa, cada especie de fruto se analizó de forma morfológica, según la variedad del *Prunus serotina* (Capulí) y *Physalis peruviana* (Aguaymanto) en el herbario de la Universidad Nacional de San Agustín y así poder confirmar su especie, los cuales fueron recolectados procesados y seguidamente liofilizados en la Universidad católica de Santa María para su respectiva conservación, para luego poder determinar y comparar sus respectivas propiedades estudiadas.

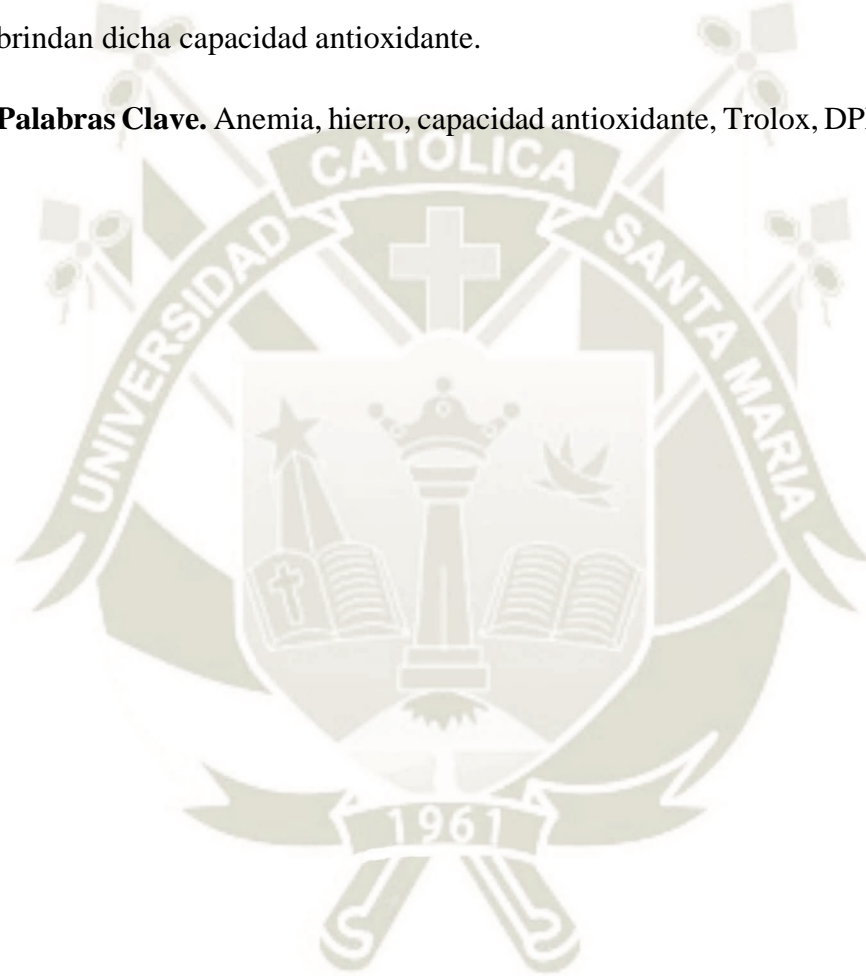
El presente trabajo busca desarrollar alternativas alimentarias para poder disminuir la desnutrición y ciertas patologías causadas por radicales libres, con alimentos desarrollados en la industria alimentaria con contenido de hierro, antioxidantes y Vitaminas para favorecer su máxima absorción. El trabajo realizado tuvo como objetivo principal determinar los fenoles totales, capacidad antioxidante y la concentración de hierro en frutos de Capulí y Aguaymanto, para lo cual, se procedió a cuantificar los polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu dando como resultado los siguientes valores de  $98.3 \pm 0.12$  mg AG/L,  $75.0 \pm 0.20$  mg AG/L y  $26.5 \pm 0.12$  mg AG/L equivalentes de ácido gálico para Capulí con pepa, sin pepa y Aguaymanto respectivamente.

Por otro lado, se determinó la capacidad antioxidante por el método de Cuprac y DPPH en ambos frutos, dando como resultado  $1.79 \pm 0.14$  mg Trolox /L,  $1.70 \pm 0.13$  mg Trolox /L y  $1.69 \pm 0.12$  mg Trolox/L para Capulí con pepa, sin pepa y Aguaymanto respectivamente por método de Cuprac, en cambio se obtuvieron capacidades antioxidantes de  $89.20 \pm 1.21$  mg DPPH/L,  $97.24 \pm 1.15$  mg DPPH /L y  $78.83 \pm 1.57$  mg DPPH /L para Capulí con pepa, sin pepa y Aguaymanto respectivamente

por el método de DPPH.

Finalmente se determinó la concentración de hierro por Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP-OES) dando como resultado concentraciones de hierro de 15.12, 4.25 y 15.67 mg/Kg para Capulí con pepa, sin pepa y Aguaymanto, respectivamente. En síntesis, el Capulí con y sin pepa, así como el Aguaymanto, serían una alternativa para reforzar la alimentación de la población vulnerable a padecer anemia ya que presentan alto contenido de hierro, además del poder reductor al poseer metabolitos que le brindan dicha capacidad antioxidante.

**Palabras Clave.** Anemia, hierro, capacidad antioxidante, Trolox, DPPH, ácido gálico.



## ABSTRACT

The following investigation sought to compare and determine the antioxidant capacity of the fruits *Prunus serotina* (Capulí) and *Physalis peruviana* (Aguaymanto) and at the same time their polyphenolic content and amount of iron present in their composition.

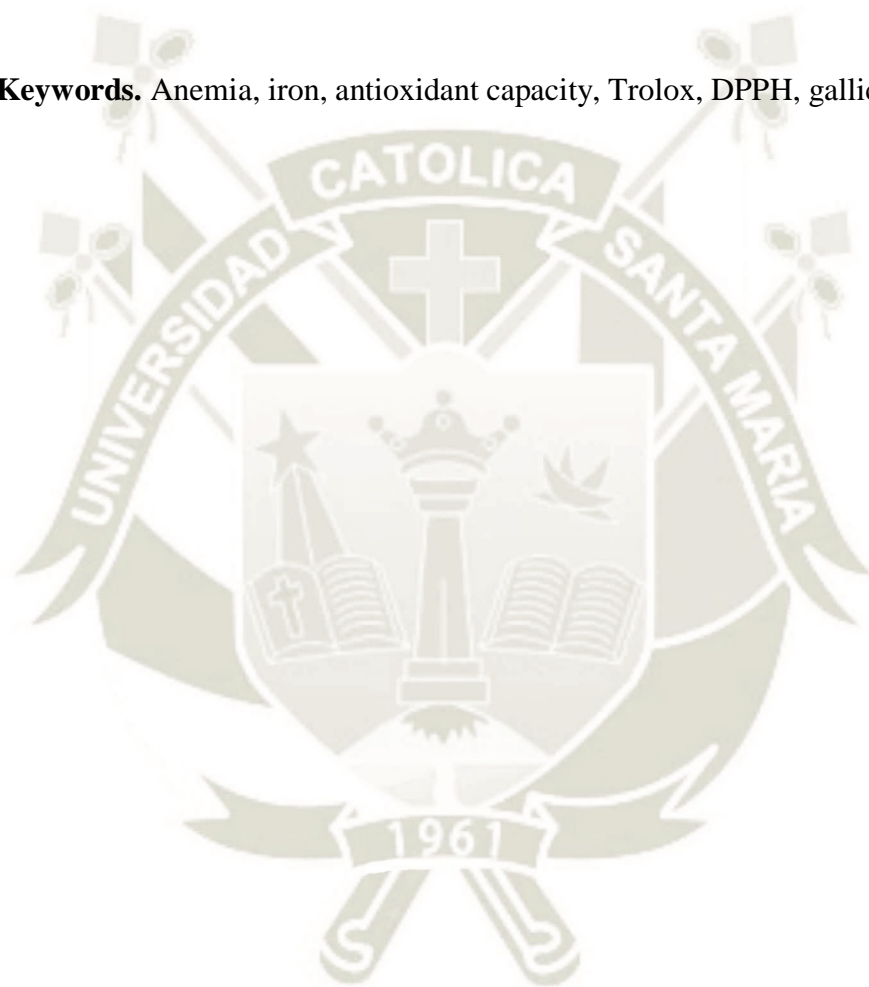
For the work, fruits that are produced in the district of Velille, province of Chumbivilcas, department of Cusco and district of Majes, province of Arequipa and department of Arequipa were used, each species of fruit was analyzed morphologically, according to the variety of *Prunus serotina* (Capulí) and *Physalis peruviana* (Aguaymanto) in the herbarium of the National University of San Agustín and thus be able to confirm their species, which were collected, processed and then lyophilized in the Catholic University of Santa María for their respective conservation, to later be able to determine and compare their respective studied properties.

The present work seeks to develop food alternatives to be able to reduce malnutrition and certain pathologies caused by free radicals, with foods developed in the food industry with iron, antioxidants and vitamins content to promote their maximum absorption. The main objective of the work was to determine the total phenols, antioxidant capacity and the iron concentration in Capulí and Aguaymanto fruits, for which, the total polyphenols were quantified by the Folin-Ciocalteu method, resulting in different capacity concentrations. antioxidant of  $98.3 \pm 0.12$  mg AG/L,  $75.0 \pm 0.20$  mg AG/L y  $26.5 \pm 0.12$  mg AG/L equivalents of gallic acid for Capulí with seed, without seed and Aguaymanto respectively.

On the other hand, the antioxidant capacity was determined by the Cuprac and DPPH method in both fruits, resulting in  $1.79 \pm 0.14$  mg Trolox/L,  $1.70 \pm 0.13$  mg Trolox/L and  $1.69 \pm 0.12$  mg Trolox/L for Capulí with pepa, without pepa and Aguaymanto respectively by Cuprac method, instead antioxidant capacities of  $89.20 \pm 1.21$  mg DPPH/L,  $97.24 \pm 1.15$  mg DPPH /L y  $78.83 \pm 1.57$  mg DPPH /L were obtained DPPH/L for Capulí with pepa, without pepa and Aguaymanto respectively by the DPPH method.

Finally, the iron concentration was determined by Inductive Coupling Plasma (ICP-OES) resulting in the iron concentration of 15.12, 4.25 and 15.67 mg/Kg for Capulí with pepa, without pepa and Aguaymanto respectively. In summary, Capulí with and without pepa, as well as Aguaymanto affected an alternative to modify the diet of the vulnerable population to suffer from anemia since they have high iron content, in addition to the reducing power by having metabolites that provide such antioxidant capacity.

**Keywords.** Anemia, iron, antioxidant capacity, Trolox, DPPH, gallic acid.



INDICE

<b>DICTAMEN DE APROBATORIA</b> .....	<b>i</b>
<b>DEDICATORIA</b> .....	<b>ii</b>
<b>AGRADECIMIENTO</b> .....	<b>iii</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>vi</b>
<b>ÍNDICE</b> .....	<b>viii</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	<b>xi</b>
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	<b>xii</b>
<b>ÍNDICE DE ANEXOS</b> .....	<b>xiii</b>
<b>ÍNDICE DE ABREVIATURAS</b> .....	<b>xiv</b>
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>OBJETIVOS</b> .....	<b>3</b>
Objetivo General .....	3
Objetivos Específicos .....	3
<b>HIPÓTESIS</b> .....	<b>4</b>
<b>CAPÍTULO I</b> .....	<b>5</b>
<b>MARCO TEÓRICO</b> .....	<b>5</b>
1. Prunus serótina (Capulí) .....	5
1.1 Descripción.....	5
1.2 Clasificación taxonómica .....	6
1.3 Hábitat .....	6
1.4 Clima .....	7
1.5 Composición Química.....	7
1.6 Usos .....	8
2. Physalis peruviana L. (Aguaymanto) .....	9
2.1 Descripción.....	9
2.2 Clasificación taxonómica .....	12
2.3 Composición Química.....	12
2.4 Propiedades medicinales .....	13
2.5 Estrés oxidativo .....	14
3. Compuestos fenólicos.....	15
3.1 Definición.....	15

3.2	Clasificación.....	15
3.3	Métodos de determinación (Método de Folin Ciocalteu).....	16
4.	Capacidad antioxidante .....	16
4.1	Descripción.....	16
4.2	Método del DPPH (2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo).....	17
4.3	Método de Cuprac .....	17
5.	Hierro.....	18
5.1	Funciones del hierro en el organismo.....	18
5.2	ANEMIA .....	20
5.3	CAUSAS DE LA ANEMIA.....	22
5.4	MÉTODO PLASMA DE ACOPLAMIENTO INDUCTIVO (ICP-OES).23	
6.	LIOFILIZACIÓN .....	25
6.1	EL PROCESO DE LIOFILIZACION .....	26
	<b>CAPÍTULO II.....</b>	<b>27</b>
2.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	27
2.1.	LUGAR DE LA INVESTIGACIÓN.....	27
2.2.	MATERIALES .....	27
2.2.1	EQUIPOS .....	27
2.2.2	MATERIALES.....	27
2.2.3	REACTIVOS .....	28
2.3	TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS RECOLECTADOS .....	28
2.4	METODOLOGÍA.....	29
	RECOLECCIÓN Y PROCESAMIENTO DEL MATERIAL BIOLÓGICORECOLECCIÓN .....	29
2.4.1	RECOLECCIÓN .....	29
2.4.2	IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA.....	30
2.4.3	SELECCIÓN .....	30
2.4.4	LIOFILIZACIÓN .....	30
2.4.5	DETERMINACIÓN DE FENOLES TOTALES POR EL METODO DE FOLIN CIOCALTEU.....	30
	DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE.....	33
2.4.6	MÉTODO DE CUPRAC.....	33
2.4.7	MÉTODO DE DPPH.....	34
2.4.8	DETERMINACIÓN DE HIERRO POR PLASMA DE ACOPLAMIENTOINDUCTIVO (ICP-OES).....	36

<b>CAPÍTULO III .....</b>	<b>38</b>
<b>3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>38</b>
3.1 IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA.....	38
3.2 DETERMINACIÓN DE FENOLES TOTALES POR EL MÉTODO FOLIN-CIUCALTEU .....	39
3.3 DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE.....	47
3.3.1 DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE POR EL MÉTODO DE CUPRAC.....	47
3.3.2 DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE POR EL MÉTODO DE DPPH .....	51
3.4. DETERMINACIÓN DE HIERRO POR PLASMA DE ACOPLAMIENTO INDUCTIVO (ICP-OES).....	55
3.4.1 LINEA DE CALIBRACIÓN .....	55
3.4.2 DETERMINACIÓN DE HIERRO EN MUESTRAS .....	57
<b>CONCLUSIONES .....</b>	<b>63</b>
<b>SUGERENCIAS .....</b>	<b>64</b>
<b>REFERENCIAS .....</b>	<b>65</b>
<b>ANEXOS .....</b>	<b>73</b>

## INDICE DE TABLAS

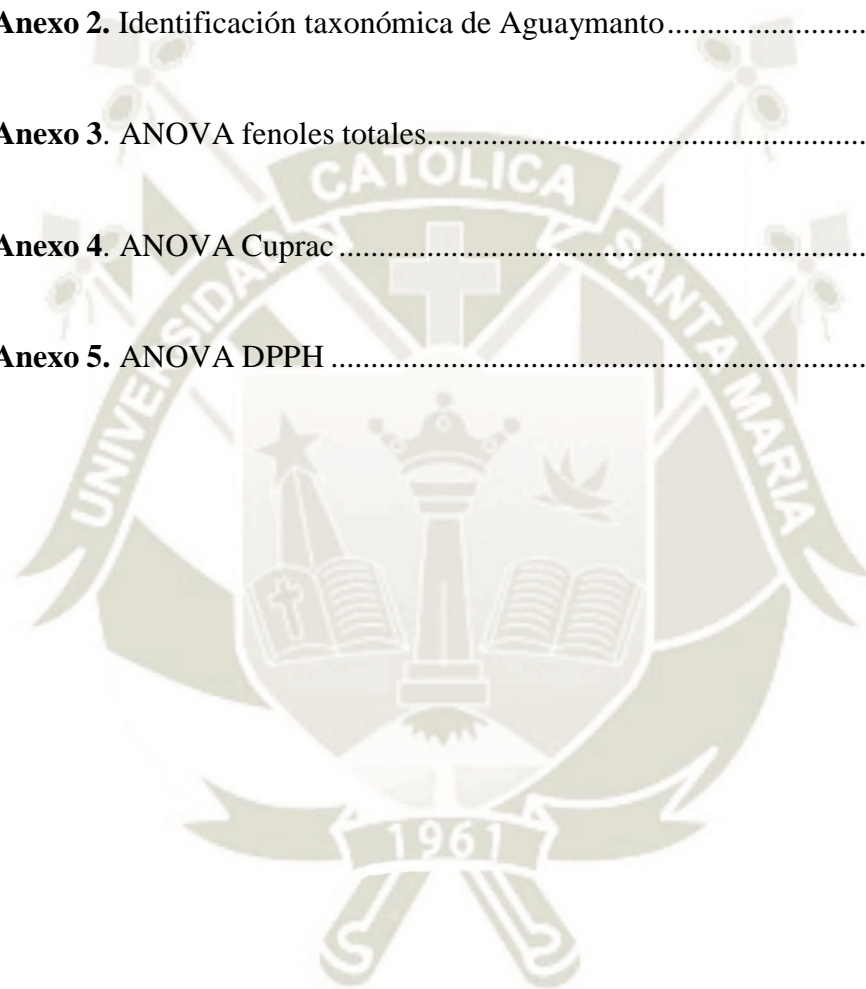
<b>Tabla 2.1</b> Preparación de la curva de calibración de Folin Ciocalteu.....	32
<b>Tabla 2.2</b> Preparación de curva de calibración Cuprac.....	34
<b>Tabla 2.3</b> Preparación de estándares de trolox para el método DPPH.....	35
<b>Tabla 2.4</b> Preparación para la curva de calibración DPPH.....	36
<b>Tabla 3.1.</b> Clasificación taxonómica del fruto de Capulí identificados en el Herbarium Arequipense del área de biología de la Universidad Nacional de San Agustín .....	38
<b>Tabla 3.2.</b> Clasificación taxonómica del fruto de Aguaymanto identificados en el Hervarium Arequipense del área de biología de la Universidad Nacional de San Agustín .....	39
<b>Tabla 3.3.</b> Absorbancias de las soluciones de calibración para la determinación de fenoles totales por el método de Folin Ciocalteu en muestras de capulí y aguaymanto .....	44
<b>Tabla 3.4.</b> Determinación de fenoles totales por el método de Folin Ciocalteu en muestras de capulí y aguaymanto.....	46
<b>Tabla 3.5.</b> Test de Tukey de la comparación del contenido de fenoles totales	46
<b>Tabla 3.6.</b> Absorbancias de las soluciones de calibración (n=5) del gráfico de calibración para la cuantificación de la capacidad antioxidante por el método de Cuprac .....	48
<b>Tabla 3.7.</b> Determinación de la capacidad antioxidante en muestras por el método Cuprac .....	50
<b>Tabla 3.8.</b> Absorbancias de las soluciones de calibración (n=5) del gráfico de calibración para la cuantificación de la capacidad antioxidante por el método de DPPH.....	52
<b>Tabla 3.9.</b> Determinación de la capacidad antioxidante en muestras por el método Cuprac .....	54
<b>Tabla 3.10.</b> Test de Tukey de la comparación de la capacidad antioxidante de los frutos de aguaymanto y Capulí por el método de DPPH .....	54
<b>Tabla 3.11.</b> Test de Tukey de la comparación de la capacidad antioxidante de los frutos de aguaymanto y Capulí por el método de DPPH .....	56
<b>Tabla 3.12.</b> Concentración de hierro en mg/Kg de muestras de Capulí y Aguaymanto .....	58

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.1</b> Fruto de Prunus serótina (Capulí).....	7
<b>Figura 1.2</b> Molécula de la amigdalina presente en el P. serótina .....	8
<b>Figura 1.3.</b> Molécula de la prulauracin presente en P. serótina .....	8
<b>Figura 1.4.</b> Molécula de la prunasina presente en P. serótina .....	8
<b>Figura 1.5.</b> Fruto de Physalis peruviana L. (Aguaymanto) .....	11
<b>Figura 1.6.</b> Molécula del campesterol presente en P. peruviana L .....	13
<b>Figura 1.7.</b> Molécula del $\beta$ -sitosterol presente en P. peruviana L.....	13
<b>Figura 1.8.</b> Molécula del estigmasterol presente en P. peruviana L.....	13
<b>Figura 1.9.</b> Fundamento del cambio de color del DPPH en presencia de un antioxidante .....	17
<b>Figura 1.10.</b> Reacción de reducción del reactivo de Cuprac en presencia de antioxidantes (AOX) .....	18
<b>Figura 1.11.</b> Componentes del equipo ICP-OES .....	25
<b>Figura 1.12.</b> Diagrama de fases del proceso de sublimación .....	26
<b>Figura 2.1.</b> Recolección del fruto de Capulí .....	29
<b>Figura 2.2.</b> Recolección del fruto de Aguaymanto.....	29
<b>Figura 2.3.</b> Soluciones de calibración para la determinación de la capacidad antioxidante por el método de DPPH .....	35
<b>Figura 2.4.</b> Determinación de hierro en frutos de Capulí y Aguaymanto .....	37
<b>Figura 2.5.</b> Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP-OES) .....	37
<b>Figura 3.1</b> Gráfico de calibración para la determinación de fenoles totales por el método de Folin Ciocalteu.....	45
<b>Figura 3.2</b> Gráfico de comparación de medias del contenido de fenoles totales .....	47
<b>Figura 3.3</b> Gráfico de calibración para la determinación de la capacidad antioxidante por el método de Cuprac .....	49
<b>Figura 3.4</b> Gráfico de comparación de medias de la capacidad antioxidante determinada por el método Cuprac .....	51
<b>Figura 3.5</b> Gráfico de calibración para la determinación de la capacidad antioxidante por el método de DPPH .....	53
<b>Figura 3.6</b> Gráfico de comparación de medias de la capacidad antioxidante determinada por el método de DPPH.....	55
<b>Figura 3.7.</b> Gráfico de calibración correspondiente a las intensidades respectoa las concentraciones de hierro obtenidas en el ICP-OES .....	56

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1.</b> Identificación taxonómica de Capulí.....	73
<b>Anexo 2.</b> Identificación taxonómica de Aguaymanto.....	74
<b>Anexo 3.</b> ANOVA fenoles totales.....	75
<b>Anexo 4.</b> ANOVA Cuprac .....	75
<b>Anexo 5.</b> ANOVA DPPH .....	75



## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

- ADN.** :ácido desoxirribonucleico  
**AG.** :Ácido gálico  
**ANOVA.** :análisis de varianza  
**AOX.** :Reacción de reducción del reactivo de Cuprac en presencia de antioxidantes  
**Cu<sup>+1</sup>.** :Cobre estado de oxidación I  
**Cu+2.** :Cobre estado de oxidación II  
**Cuprac.** :Capacidad de reducción antioxidante del cobre  
**DPPH.:** (2,2-difenil-1-picril-hidrazilo)  
**DSR.:** Desviación estándar  
**ERC.:** enfermedad renal crónica  
**HNO<sub>3</sub>.** :ácido nítrico  
**HUSA.** :Herbarium Arequipense  
**ICP-OES.** :Metodo plasma de acoplamiento inductivo con espectrofotómetro de emisión óptico  
**IQ.:** coeficiente intelectual  
**NaF.:** fluoruro sódico  
**OMS.** :Organización Mundial de la Salud  
**P450.:** El citocromo P450  
**pH.:** medida de acidez o alcalinidad de una disolución  
**RBC.:** morfología alterada de los glóbulos rojos  
**RNS.:** especies reactivas de nitrógeno  
**ROS.** :especies reactivas de oxígeno  
**rpm.** :Revoluciones Por Minuto  
**Trolox.** :(6-hidroxi-2-5-7-8-tetrametilcromo-2-ácido carboxílico)  
**UNICEF.:** Fondo de las Naciones Unidas para la Infancia  
**USP.:** Farmacopea de Estados Unidos  
**UV.** :radiación ultravioleta  
**H<sub>2</sub>O.:** Agua  
**CuCl<sub>2</sub>.:** Cloruro de Cobre

## INTRODUCCIÓN

La alta tasa de problemas nutricionales como la anemia y las enfermedades producidas por ciertos radicales libres son un problema de salud pública del estado Peruano, esto afecta particularmente a la población infantil en su temprano desarrollo y crecimiento, a la vez puede traer complicaciones en el segundo trimestre de gestación de la mujer y también en la población de tercera edad; Estos problemas de salud son enfermedades muy presentes en dichos periodos del desarrollo fisiológico humano, por lo cual son unas de las causas patológicas más comunes del sistema hematopoyético del ser humano. La preminencia de la enfermedad aumenta progresivamente con la edad; Siendo aproximadamente el 12% de la población afectada, acrecentando en personas mayores de 65 años; y en las personas mayores de 85 años, este porcentaje llega incluso a duplicarse, promovida por cambios involuntarios en su organismo, problemas fisiológicos relacionados con el proceso de envejecimiento celular, desarrollo vital, presencia de numerosas patologías y consecuencias a futuro (1,2).

Los tratamientos actuales proponen que todos los pacientes en general participen en su seguimiento propio de su cuidado, ayudando a su médico a identificar una dosis de tratamiento diario; tolerable de hierro y antioxidantes necesarios para el organismo, siendo una formulación que vaya acuerdo a sus requerimientos y horarios de alimentación personal. Se recomiendan ciclos de dosificación para el reemplazo de hierro y otros componentes antioxidantes en función de la dosis diaria tolerada de cada individuo según sus exámenes médicos realizados. Cada ciclo regular consta aproximadamente de 500mg de hierro hemínico o hemo proveniente de la ingesta de origen animal o de ingesta de hierro no hemínico de origen vegetal el cual tiene que ser en mayor porcentaje en su consumo oral, ingerido durante al menos 1 o 16.6 mg, dosis recomendada en un adulto promedio de su ingesta diaria con un seguimiento regulado y adecuado. Este enfoque debería ayudar a los médicos y sus pacientes con la implementación de nuevas estrategias de tratamiento individualizadas para pacientes con anemia por deficiencia o bajo consumo de hierro y otros componentes, pudiendo mejorar su déficit en el cuerpo humano (3)., además que el hierro es un elemento principal y esencial para el desarrollo vital de casi todos los organismos vivos, ya que participa en una amplia variedad de procesos metabólicos, enzimáticos, incluidos el transporte de oxígeno, la síntesis de ácido desoxirribonucleico (ADN) y el transporte de electrones (4).

Al igual que los antioxidantes naturales desempeñan un rol importante en la prevención y protección de las células del organismo, los cuales pueden encontrarse ampliamente en diversos alimentos y plantas medicinales existentes en la región. Estos antioxidantes naturales, especialmente los polifenoles y los carotenoides, exhiben una amplia gama de efectos biológicos positivos, que incluyen diversas propiedades como: antiinflamatorios, antienvjecimiento, antioxidantes, anti aterosclerosis y anticancerígenos (5).

Razón por la cual, estudiar estos ciertos frutos o plantas, que busquen aportar con cantidades importantes de hierro y antioxidantes, en la dieta, es de crucial importancia ya que podría representar una alternativa en el tratamiento de la anemia y patologías por carencia de hierro, por ello, en la presente investigación se tuvo como objetivo principal la cuantificación de lo fenoles totales, capacidad antioxidante y contenido de hierro total en los frutos de Capulí y Aguaymanto

## OBJETIVOS

### OBJETIVO GENERAL

Determinar la capacidad antioxidante, polifenoles y el hierro total en frutos de *Prunus serotina* (Capulí) y *Physalis peruviana* (Aguaymanto)

### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar y comparar el contenido de compuestos de polifenólicos totales en frutos de *Prunus serotina* “Capulí” y *Physalis peruviana* “Aguaymanto”
- Determinar y comparar la capacidad antioxidante de los frutos de *Prunus serotina* “Capulí” y *Physalis peruviana* “Aguaymanto” por método de Cuprac
- Determinar y comparar la capacidad antioxidante de los frutos de *Prunus serotina* “Capulí” y *Physalis peruviana* “Aguaymanto” por método de DPPH
- Determinar el contenido de hierro total en los frutos de *Prunus serotina* “Capulí” y *Physalis peruviana* “Aguaymanto” por ICP-OES

## HIPÓTESIS

**Dado que los frutos del genero *Prunus serotina* “Capulí” y *Physalis peruviana* “Aguaymanto”, presenten ciertas propiedades como antioxidantes y anti anémicas, es posible determinar sus compuestos fenólicos, capacidad antioxidante, contenido de hierro y comparar si existe diferencia significativa entre ambos frutos.**

## CAPÍTULO I

### MARCO TEÓRICO

#### 1. PRUNUS SERÓTINA (CAPULÍ)

##### 1.1 Descripción

La cereza negra (*Prunus serotina*), también conocida como cereza negra salvaje, cereza de ron, cereza negra de montaña o capulí llamado originariamente en las regiones alto andinas del Perú, es un fruto nativo de diferentes países americanos, suelen ser de diferentes tamaños, colores, sabores; varían según su localización geográfica, en países americanos del norte tiene un valor comercial cotizado en los mercados de todo el este de los Estados Unidos (6). Este fruto es conocido en diferentes bosques de dichas regiones. En el Perú se encuentran en las regiones alto andinas, con un número pequeño sectores, que se dedican a su comercialización, la calidad tiende a variar según la zona geográfica que se encuentran, crecen en lugares dispersos a lo largo de toda la cordillera de los andes, las montañas, valles, Apalaches del sur; ubicadas en las regiones de Cajamarca , Cusco , Huancayo, Ayacucho, entre otros lugares con un ambiente propicio para su crecimiento. Los grandes árboles son de alta calidad adecuados para la construcción de muebles, cobertizos o como material para encender sus cocinas a base de madera o algún uso común para sus actividades diarias de los pobladores de dichas regiones andinas (6). En algunos lugares del Perú, el cerezo negro o capulí es a menudo un árbol pequeño, mal formado, de valor comercial relativamente bajo, en los mercados alto andinos de la sierra peruana, pero es muy importante para la vida silvestre de su ecosistema ser un fruto con propiedades carnosas y dulces para las especies animales como las aves y roedores presentes en su zona (7).

Su consumo en el Perú se remonta a la era preincaica, la cual estaba incluida en su dieta alimenticia, cosechada por los habitantes de ese tiempo, por su valor nutritivo, ser un fruto dulce y carnosos pero difícil de adquirir por su crecimiento menor y baja población de árboles en el territorio peruano, en la actualidad se sabe poco de este valioso fruto andino con importante valor nutricional; este fruto tiende a comercializarse en ciertos mercados peruanos de la regiones andinas pero su consumo y conocimiento aún son escasos en otras partes del Perú (7).

## 1.2 Clasificación taxonómica

La clasificación a partir de su taxonomía del material vegetal estudiado, según normas del Sistema Integrado de Información Taxonómica (ITIS):

- Reino: Plantae
- Subreino: Viridiplantae
- Infrareino: Streptophyta
- Superdivisión: Embryophyta
- División: Traqueofitas
- Subdivisión: Espermatofitina
- Clase: Magnoliopsida
- Superorden: Rosanae
- Orden: Rosales
- Familia: Rosaceae - rosas
- Género: Prunus L
- Especies: Prunus serotina Ehrh.

## 1.3 Hábitat

La cereza negra o capulí crece en lugares como la Nueva Escocia y Nuevo Brunswick hacia el oeste hasta el sur de Quebec y Ontario hasta Michigan y el este de Minnesota; al igual que en zonas andinas del Perú como Cajamarca, Cusco, Puno, Arequipa y todo el sur andino. Varias especies amplían su rango de hábitat de crecimiento por el traslado de las aves silvestres al momento de su alimentación del fruto; cada especie de cereza negra, tiene un hábitat específico en el mundo como la del Alabama (var. *Alabamensis*) que se encuentra en el este de Georgia, el noreste de Alabama y el noroeste de Florida y al Sur; la cereza escarpa (var. *eximiu*) crece en la región de la meseta Edwards del centro de Texas; la cereza negra del sudoeste (var. *rufih*) se extiende desde las montañas de Trans-Pecos Texas al oeste hasta Arizona y hacia el sur hasta México; La cereza negra capulina (var. *sulicifoliu*) es nativa del centro de México a Guatemala y capulí (*Prunus serotina*) se localiza en varios países de América del Sur como zonas alto andinas de Perú, ubicadas en los departamentos como: Cusco-Chumbivilcas, Arequipa- Caylloma, Puno y otros (7).



*Figura 1.1 Fruto de Prunus serótina (Capulí)*

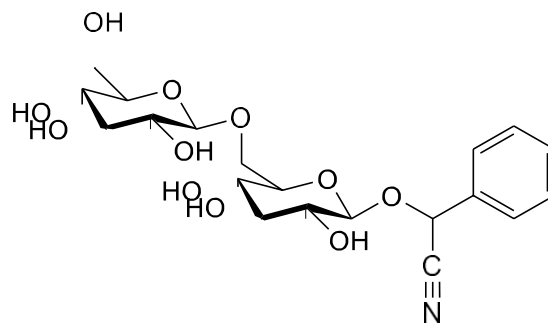
*Fuente: Elaboración propia*

#### **1.4 Clima**

La cereza negra y sus variedades crecen bajo una amplia gama de condiciones climáticas, que oscilan entre valles y quebradas, en sus lugares predecesores de origen norteamericano se ubican en el corazón de las mesetas de Allegheny de Pensilvania y Nueva York; de igual manera sucede en las regiones andinas peruanas que tengan un ambiente con un clima fresco, húmedo y templado con una precipitación de lluvias anuales promedio de 970 a 1120 mm (38 a 44 pulgadas) biendistribuida durante todo el año para un buen desarrollo y crecimiento; este fruto incluso puede seguir creciendo con heladas es de 120 a 155 días que para algunas plantas es una desventaja (8).

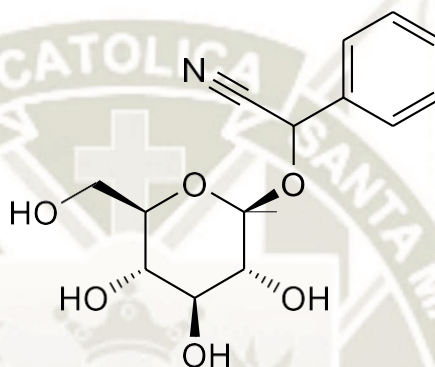
#### **1.5 Composición Química**

Contiene glucósidos cianogénicos entre ellos están la amigdalina y la prulauracina, también en su composición tiene prunasina y flavonoles (9).



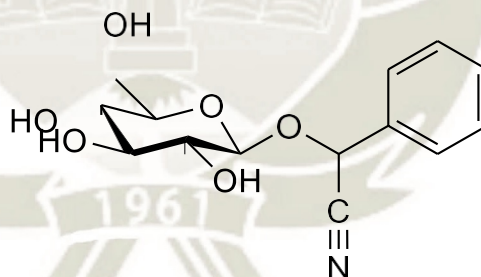
**Figura 1.2** Molécula de la amigdalina presente en el *P. serótina*

Fuente: Elaboración propia



**Figura 1.3.** Molécula de la prulauracin presente en *P. serótina*

Fuente: Elaboración propia



**Figura 1.4.** Molécula de la prunasina presente en *P. serótina*

Fuente: Elaboración propia

## 1.6 Usos

Las frutas de cerezo negro o capulí son una fuente importante de alimento para muchas aves, ardillas, venados, pavos, ratones y topos, y otros animales salvajes. Las hojas, ramitas y corteza de cerezo negro contienen cianuro en forma ligada como el glucósido cianogénico, la prunasina (10). Durante el marchitamiento de la planta su follaje, hace que libere cianuro y el ganado doméstico que come follaje marchito tiende a enfermarse o morir en algunos casos (11). Algunos animales como los ciervos comen el follaje marchito sin ningún daño colateral alguno (12).

La corteza tiene propiedades medicinales usadas por los habitantes del lugar. En las montañas del sur, la corteza se despoja de los árboles de las cerezas negras jóvenes para su uso en medicamentos para la tos, tónicos y sedantes. La fruta se usa para hacer gelatina, mermelada y vino. Los pobladores de norte América, antiguamente a veces condimentaban sus bebidas como el ron o brandy con la fruta para poder tomarlas y darles un sabor agradable, llamado a dicha brebaje, cereza rebote; A esta práctica se debe uno de sus nombres: el ron cereza (12).

La flor de en infusión y combinada con flor de alfalfa, mamey, semillas de zapallo y restos de huesos de pescado, tiene la propiedad de acelerar las contracciones del parto en una mujer. La tisana de las hojas de (*Prunus serotina*) se usa para el tratamiento de posibles tumores. Las hojas recién brotadas de las ramas, trituradas y mezcladas con, azúcar y aceite de almendras, tienen efectos analgésicos los cuales se aplicaban para aliviar el dolor de cabeza. Las hojas hervidas sirven como diurético y expectorante en enfermedades respiratorias (13). El polvo que se encuentra en la corteza al ser aplicado en los ojos, desvanece la sensación borrosa o efecto de nubes, aclarando la vista y cura las inflamaciones del cuerpo. Las infusiones, extractos y jarabes preparados con las partes de las ramas, corteza y raíces, se usan como un sedante y tónico natural en el tratamiento de tuberculosis pulmonar y en la endebles nerviosa (14).

## 2. **PHYSALIS PERUVIANA L. (AGUAYMANTO)**

### 2.1 **Descripción**

*La Physalis peruviana* L o también nombrada como uchuva en la ciudad de Colombia, uvilla en el país Ecuador, aguaymanto en Perú, topotopo en el país de Venezuela y goldenberry en países de idioma ingles, son unos de los cuantos tipos de apelativos que se conoce a este tipo de fruta en todo el mundo por alto contenido particular en antioxidantes (16).

Su crecimiento se desarrolla desde los 3,300 msnm, tolerando temperaturas bajas, no menores a 0° C, la cual sufre daños irreparables al exponerse a dichas temperaturas bajas, afectando su crecimiento. Requiere ambientes de gran presencia de rayos solares y debe protegerse del viento. Requiere tener cantidades suficientes de agua para su desarrollo, sobre todo en los estados de maduración de los frutos. Es una planta con gran potencial de crianza y cosecha, ya que su crecimiento puede darse en terrenos debajos nutrientes, requiere baja fertilización con un buen drenaje para su crecimiento.

El nombre catalogado para esta planta es *P. peruviana* Linnaeus, perteneciente a la familia Solanaceae y al género *Physalis*, existen más de 80 variedades que se pueden encontrar en el desierto (15). *P. peruviana* L. es una planta herbácea, semi-arbustiva, erguida y perenne en zonas subtropicales, puede crecer hasta alcanzar 0.6 a 0.9 metros en algunos casos puede crecer hasta 1.8 m. La flor puede ser fácilmente polinizada por insectos, viento y también por autopolinización. La fruta es una baya jugosa con forma ovoide y un diámetro entre 1.25 a 2.50 cm, 4 y 10 g de peso, que contiene dentro de alrededor de 100 a 200 semillas pequeñas, la fruta está protegida por el cáliz o la canasta de frutas que cubre completamente la fruta a lo largo de su desarrollo y maduración, protegiéndolo contra insectos, aves, enfermedades y situaciones climáticas adversas. Además, esta estructura representa una fuente esencial de carbohidratos durante los primeros 20 días de crecimiento y desarrollo (16).

El tiempo entre el inicio de la germinación y el primer cultivo es de aproximadamente nueve meses. La vida útil de la producción del aguaymanto va desde los nueve a once meses desde el momento que se realiza la primera recolección, ya que a partir de ese proceso va disminuyendo tanto la calidad como la productividad de la fruta (16). La cual es la vida útil del fruto de *P. peruviana* L. con la presencia de un cáliz es de un mes la duración, mientras que sin la presencia de cáliz es de 4 a 5 días aproximadamente (15).

*P. peruviana* L. es una planta oriunda de la región de los Andes, que se propagó a lo largo de la historia peruana, en los períodos preincaico e inca en toda América del Sur. Esta planta se ha mantenido intacta y sin cambios aparentes en la estructura de su germoplasma. El centro de origen según Legge en 1974 (17). Fueron en las comunidades Andinas peruanas, pero según una investigación realizado por los países pertenecientes a la Convención de Andrés Bello en 1983, se determinó que existe una mayor presencia en ciertas áreas extensas de las regiones andinas de Ecuador, catalogándose como el posible origen del fruto de *P. peruviana* L (18).



**Figura 1.5.** Fruto de *Physalis peruviana* L. (Aguaymanto)

*Fuente: Elaboración propia*

*P. peruviana* L. se ha clasificado en ecotipos o plantas de diferentes regiones o países, que se diferencian por tamaño, color y sabor, forma de la cabeza de la flor y altura y tamaño de la planta. Actualmente se cultivan tres tipos de *P. peruviana* L. originarios de Colombia, Kenia y Sudáfrica (19).

El ejemplar de procedencia colombiana se caracteriza por frutas de tamaño reducido con un peso promedio de 5 g, con colores más llamativos, vivos y mayor contenido de azúcares en comparación con sus ecohermanos de Kenia y Sudáfrica, estas características lo hacen más apetecible para los mercados, además de otras características morfológicas tan diversas como el cáliz, el comportamiento y el sabor poscosecha (19).

## 2.2 Clasificación taxonómica

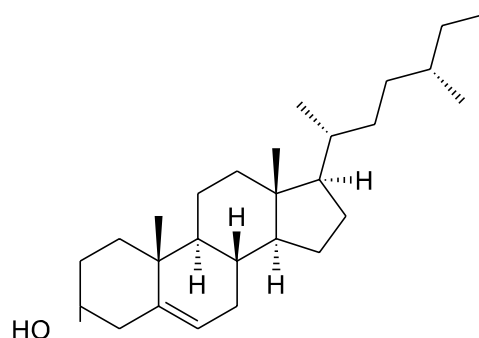
La clasificación a partir de su taxonomía del material vegetal estudiado, según normas del Sistema Integrado de Información Taxonómica (ITIS):

- Reino: Plantae
- Subreino: Viridiplantae
- Infrareino: Streptophyta
- Superdivisión: Embryophyta
- División: Traqueofitas
- Subdivisión: Espermatofitina
- Clase: Magnoliopsida
- Superorden: Asteranae
- Orden: Solanales
- Familia: Solanaceas
- Género: Physalis L
- Especies: Physalis peruviana L

## 2.3 Composición Química

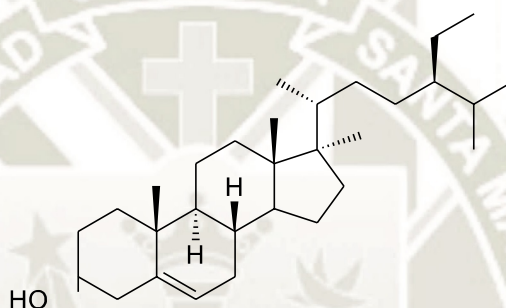
Los componentes bioactivos benéficos que se encuentran en el fruto de *P. peruviana* L. hacen que este fruto sea considerado como un alimento funcional y natural en la dieta alimentaria, también concierne ciertas propiedades farmacológicas y fisiológicas asociadas con su composición nutricional. Ciertos componentes como los fitoesteroles se encuentran en altos niveles en el aceite extraído de la fruta de *P. peruviana* L, estos compuestos les darían las propiedades tales como: efectos antioxidantes e hipocolesterolémicos, antioxidantes tumorales, hepatoprotectoras, inmunomoduladores, antibacteriales y antiinflamatorios (21).

La presencia de tres fitosteroles específicos: campesterol,  $\beta$ -sitosterol y estigmasterol serían responsables de regular los niveles más bajos de colesterol en la sangre. Además, la actividad antioxidante del fruto se vería asociada con este resultado debido al contenido alto de ciertos tipos de polifenoles y a un alto contenido de las siguientes vitaminas como la A (retinol y ácido retinoico), complejos B (tiamina, rivo flavina y niacina) y C (ácido ascórbico) (21).



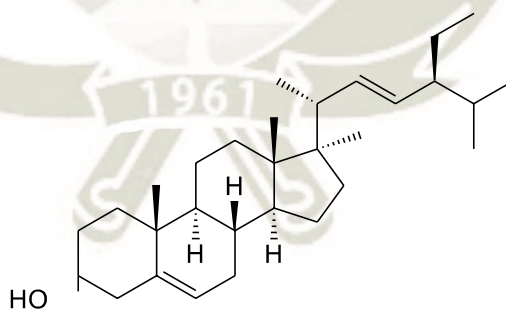
**Figura 1.6.** Molécula del campesterol presente en *P. peruviana L.*

*Fuente: Elaboración propia*



**Figura 1.7.** Molécula del  $\beta$ -sitosterol presente en *P. peruviana L.*

*Fuente: Elaboración propia*



**Figura 1.8.** Molécula del estigmasterol presente en *P. peruviana L.*

*Fuente: Elaboración propia*

## 2.4 Propiedades medicinales

Cuenta con diversas propiedades medicinales se atribuyen a *P. peruviana L.*, tales como antiespasmódico, diurético, antiséptico, sedante, analgésico, ayudando a fortalecer el sistema nervioso óptico, alivia problemas naso bucales, eliminación de parásitos de las vías intestinales y ameba. También se han reportado propiedades

antidiabéticas, recomendando su consumo de un mínimo de cinco frutas al día. Hasta el momento, no hay estudios que indiquen posibles efectos adversos (22). En diferentes regiones del Perú se indica que tienen varias propiedades medicinales como purificar la sangre de los riñones, disminuir la albúmina, limpiar la catarata, calcificar y controlar la amebiasis (23).

En la medicina tradicional peruana, el fruto de *P. peruviana* L., se usa empíricamente para tratar el cáncer y otras enfermedades como hepatitis, asma, malaria y dermatitis, sin embargo, sus propiedades no han sido científicamente comprobadas (24).

Hay estudios que indican que comer el fruto de *P. peruviana* L. reduce la glucosa en sangre después de 90 minutos posprandiales en adultos jóvenes, causando un mayor efecto hipoglucémico después de este período (22). La parte del cáliz de *P. peruviana* L. es generalmente utilizado en la medicina popular por sus propiedades como inmunomodulador anticancerígeno, antimicrobiano, antipirético, diurético y antiinflamatorio (25).

## 2.5 ESTRÉS OXIDATIVO

Se refiere a cierto tipo de sustancias bioquímicas que se forman por un desequilibrio dentro de nuestro organismo, las cuales son ciertas especies reactivas de oxígeno llamadas radicales libres, estos juegan un papel clave en procesos fisiológicos de nuestro cuerpo, por lo cual tienden a perjudicar las células de todo nuestro organismo, como la transducción de señales, la división celular, la eliminación de células dañadas y la defensa contra infecciones en los sistemas fisiológicos del cuerpo vivo (26,27,28).

Como su nombre indica, los radicales libres son especies bioquímicas altamente reactivas con electrones no apareados y a menudo producidos a partir de oxígeno (especies reactivas de oxígeno / ROS), nitrógeno (especies reactivas de nitrógeno / RNS) e iones metálicos (26,29).

La producción de radicales libres es inevitable en el cuerpo, ya que los organismos están constantemente expuestos a estas sustancias de fuentes externas como contaminantes atmosféricos, radiaciones de energía (UV, rayos X, rayos gamma, etc), o por generación interna durante los procesos metabólicos normales de los orgánulos, tales como mitocondrias y peroxisomas u otros (28). Sin embargo, como con la

mayoría de las sustancias su exposición demasiada o ser ingeridos en la vida cotidiana, en una escala mayor terminara siendo perjudicial para el organismo.

La presencia de altos niveles de radicales libres en el cuerpo da como resultado consecuencias negativas en un fenómeno llamado estrés oxidativo, que podría conducir al daño de macromoléculas celulares sensibles como proteínas, ADN y lípidos (30). Los organismos vivos contrarrestan los efectos nocivos de los radicales libres produciendo una cascada de sistemas de defensa antioxidantes, que mantienen bajo control la concentración de estos radicales. La falla en el sistema antioxidante conduce al estrés oxidativo, que se ha identificado como un factor de riesgo en el desarrollo patológico de varias enfermedades relacionadas con la edad, como cánceres, inflamaciones y trastornos neurodegenerativos (30,31,32).

### **3. COMPUESTOS FENÓLICOS**

#### **3.1 Definición**

Son sustancias las cuales poseen un anillo aromático en su estructura que van unido a uno o más sustituyentes hidroxilo, incluyendo varios derivados funcionales (ésteres, metil ésteres, glucósidos, etc.). Los compuestos fenólicos comúnmente referidos como polifenoles están presentes en todas las plantas y productos de nuestra dieta alimenticia. Hay más de 8000 estructuras fenólicas que han sido identificadas, existiendo desde moléculas simples hasta compuestos altamente polimerizados con diversas propiedades (33).

Los compuestos fenólicos son metabolitos esenciales para el crecimiento y reproducción de las plantas y actúan como agentes protectores frente a patógenos, siendo secretados como mecanismo de defensa a condiciones de estrés que se exponen en su habitat, tales como infecciones, radiaciones UV, entre otros. Esta síntesis se da a partir de fenilalanina por la vía del shikimato (34).

#### **3.2 Clasificación**

Los polifenoles son principalmente derivados de plantas. Comprenden una amplia variedad de moléculas que tienen una estructura de polifenoles. También tienen moléculas con un anillo de fenol, como ácidos fenólicos y alcoholes fenólicos (35,36). Los principales grupos de polifenoles son flavonoides, ácidos fenólicos, feniletanoides, estilbenos y lignanos (35).

### 3.3 Métodos de determinación (Método de Folin Ciocalteu)

Este reactivo consiste en una mezcla de wolframato sódico ( $\text{Na}_2\text{WO}_4$ ) y molibdato sódico ( $\text{Na}_2\text{MoO}_4$ ), en un medio de ácido fosfórico ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ), que se reduce; por oxidación de los fenoles encontradas en la muestra. El ácido fosfomolibdotungstico, el cual es formado por las dos sales presentes en el medio ácido, que es de color amarillo, los cuales al ser reducidos por los grupos fenólicos dan como resultado un complejo de color azul intenso, la cual será evaluada según su intensidad para la determinación de contenido de polifenoles. El color azul que toma la muestra posee un límite de absorción a una longitud de onda aproximada de 760 nm y es proporcional a la longitud de onda de los compuestos fenólicos, y se cuantifica por el método de espectrofotometría con base a una curva patrón de ácido gálico o catequinas. Por lo tanto, los resultados de los análisis depende la cantidad de fenoles encontrados en la muestra obtenida (37,38).

## 4. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

### 4.1 Descripción

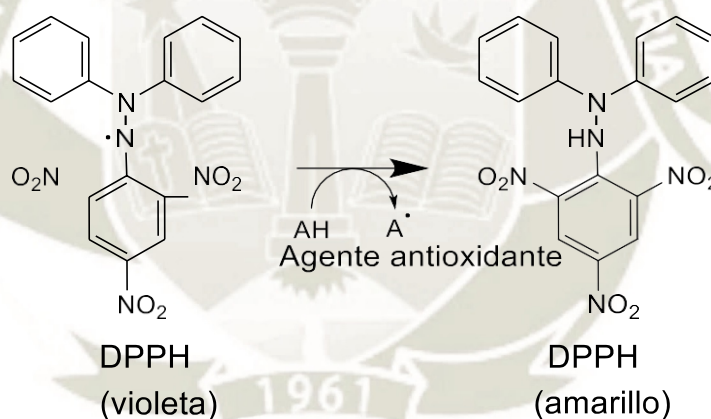
Los diversos compuestos fenólicos son un gran grupo de antioxidantes naturales; presentes mayormente en frutas, vegetales y cereales; presentan efectos benéficos para el organismo (39). La asociación entre una dieta diaria, rica en frutas y vegetales está relacionada a una disminución de riesgo de enfermedades cardiovasculares, y ciertas formas de cáncer, según evidencias epidemiológicas que hicieron alrededor del mundo (40,41). Estos fitoquímicos constituyen un grupo heterogéneo de ciertas sustancias que evidencian su rol protector sobre la salud humana dando beneficios positivos por su consumo (42).

La presencia de los radicales libres se ha ido demostrado en varios estudios que están presentes en nuestro organismo, los cuales causan muchos daños, oxidando moléculas presentes en nuestro sistema, tales como proteínas, lípidos y ácidos nucleicos y son los responsables en el inicio de muchas enfermedades degenerativas que afectan al funcionamiento del organismo humano (40). Pero se ha encontrado la contraparte de estos radicales libres, que son varios antioxidantes capaces de neutralizar radicales libres, captándolos, y evitando la propagación de estos, juegan un papel importante en la modulación de detoxificación enzimática, activan el sistema inmune, disminuyen la agregación plaquetaria y modulan del metabolismo hormonal (42).

#### 4.2 Método del DPPH (2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo).

Este método busca evaluar la capacidad de donar protones o de captar los radicales libres de un posible molécula antioxidante en donde el radical estable DPPH el cual se decolora en presenciade estos compuestos. El fundamento del ensayo desarrollado por Brand-Willams et al., DPPH, consiste en la presencia de este radical libre estable; 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH), el cual tiene un electrón desapareado y toma un color azul-violeta en solución metanólica, decolorándose hacia un amarillo pálido por reacción con una sustancia antioxidante (43).

La reducción del (DPPH) se controla por la disminución en la absorbancia a una longitud de onda característica. En su forma de radical libre, el (DPPH•) absorbe a 517 nm y cuando sufre reducción por un antioxidante, esta absorbancia disminuye. La diferencia de las absorbancias, nos permite obtener el porcentaje de captación de radicales libres (43).



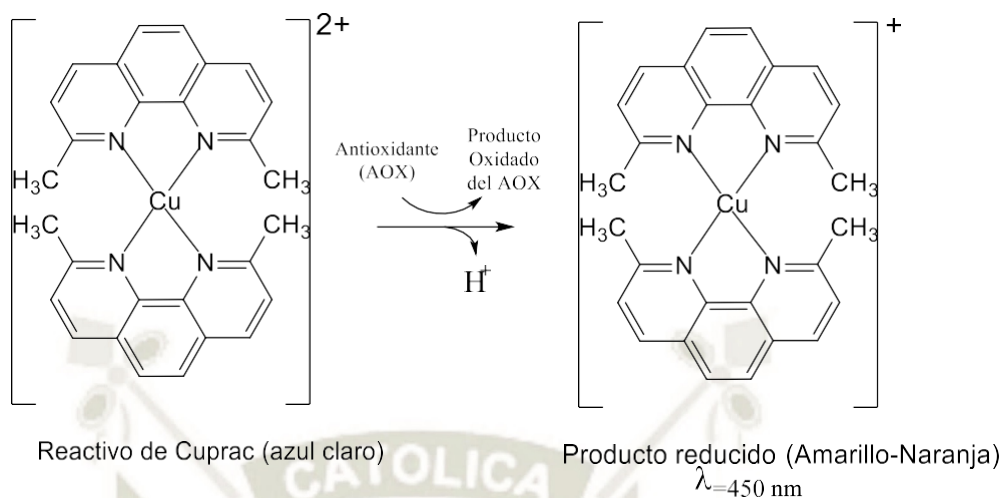
*Figura 1.9. Fundamento del cambio de color del DPPH en presencia de un antioxidante*

**Fuente.** Adaptado de Teves y Torres (2011) (43)

#### 4.3 Método de Cuprac

Este ensato utiliza el  $\text{Cu}^{+2}$  y la Neocuproína para poder reaccionar con el compuesto en estudio, formando un quelato coloreado de  $\text{Cu}^{+1}$ :  $[\text{Cu}-\text{Nc}_2]^{+1}$ , el cual se solubiliza e en agua y en otros medios orgánicos. Esta relación se lleva a cabo a un determinado pH de 7, controlado por acetato de amonio que es un buffer. El quelato que se forma con el cobre reducido es medido a una longitud de onda de 450 nm. La formación de este complejo se completa en 30 min; Sin embargo, el antioxidante de reacción es lenta, por lo cual se necesita la incubación, a unatemperatura elevada, para completar

su oxidación respectiva (50 °C por 20 min) (44).



**Figura 1.10.** Reacción de reducción del reactivo de Cuprac en presencia de antioxidantes (AOX).

**Fuente.** Adaptado de Özyürek, y otros (2011) (64)

## 5. HIERRO

### 5.1 Funciones del hierro en el organismo

El hierro es un componente esencial de la hemoglobina, estas sustancias se encargan de la transferencia de electrones en la etapa final de producción de energía corporal; También interviene en la replicación celular, en el sistema inmune, es esencial durante la vida temprana para el crecimiento y desarrollo de la médula espinal y el cerebro, y actúa como cofactor que participa en la actividad de numerosas enzimas relacionadas con la síntesis de neurotransmisores y ácido desoxirribonucleicos (ADN) (45).

Por lo tanto, el hierro es vital para el funcionamiento celular, aunque también se sabe que en concentraciones mayores a lo permitido es potencialmente tóxico para las células. Debido a esto, el cuerpo tiene un sistema complejo que mantiene las reservas corporales de hierro bajo un control muy estricto, lo que facilita la acumulación de hierro y previene la acumulación excesiva de este mineral. Los seres humanos obtienen hierro principalmente de los alimentos ingeridos en su dieta diaria, y su absorción intestinal está regulada por las reservas corporales reales de hierro, el contenido de hierro en los alimentos y el equilibrio entre los factores promotores e inhibidores de la absorción de hierro (46).

Existen dos tipos de hierro disponibles en la dieta: hierro hematómico y no hematómico. El primero está presente solo en tejidos animales, el cual es la fuente principal de hierro; es decir, las carnes rojas, cerdo, pescado, aves y vísceras. Este último se encuentra en la leche, los huevos, los cereales, las legumbres y las verduras. Además, el uso de hierro de ollas y sartenes hechas de arcilla para cocinar puede aumentar el contenido de hierro en los alimentos, en particular de aquellos alimentos con un pH ácido (45,46,47).

La cantidad de ambos tipos de hierro son absorbidos por el cuerpo, dependiendo de la necesidad requerida por el organismo, su ingesta en la dieta alimenticia está en constante equilibrio, esta medida permite que su absorción del organismo no sea excesiva la cual esta mediada por los inhibidores de la absorción de hierro, y el tamaño de las reservas corporales del individuo (46,47).

El hierro se absorbe en una proporción inversa al tamaño de las reservas corporales y al tipo de hierro. El hierro hematómico se absorbe del 15% en individuos normales al 35% en aquellos con deficiencia de hierro. La absorción de hierro no hematómico varía del 8% con la presencia de factores potenciadores a aproximadamente el 3% sin su presencia. A la larga, un bajo contenido de hierro en la dieta o su absorción inadecuada provoca una reducción de la producción de glóbulos rojos y hemoglobina en el cuerpo. Durante los períodos de crecimiento rápido, como el crecimiento fetal, los primeros 2 años de vida y la adolescencia, crece la masa de glóbulos rojos; por lo tanto, los requerimientos de hierro del cuerpo aumentan en consecuencia (46,48).

Cuando las reservas de hierro no son suficientes para llevar a cabo las funciones celulares adecuadamente, los individuos se encuentran en un equilibrio negativo, que se divide en cuatro etapas. En la etapa I, la baja disponibilidad de hierro da como resultado reservas agotadas de este mineral. En el estadio II, la concentración de ferritina sérica, la principal proteína de almacenamiento para el hierro, disminuye, pero no se observan alteraciones en las concentraciones de hemoglobina. El estadio III se caracteriza por una insuficiencia de hierro para la eritropoyesis, que disminuye la saturación de hierro en la transferrina, el principal transportador de plasma del hierro, con el consiguiente aumento en el número de receptores de transferrina sérica y las concentraciones de protoporfirina libre de eritrocitos. En el estadio IV, el agotamiento de las reservas de hierro y la reducción de sus concentraciones circulantes

persisten, lo que se asocia con una reducción en la concentración de hemoglobina circulante y el tamaño de los eritrocitos y su contenido de hemoglobina. Dichas alteraciones se reflejan en glóbulos rojos más pequeños (microcitos) con un color más pálido (hipocromía). Esta última etapa se conoce como anemia por deficiencia de hierro (46,47,48,49).

Cabe señalar que el nivel de agotamiento de hierro observado en las etapas I y II (sin alteración de los niveles de hemoglobina) es reversible. Las personas en estas etapas no desarrollan cambios funcionales. Las personas con deficiencia de hierro en la etapa IV generalmente no experimentan ningún síntoma; sin embargo, si la anemia persiste, pueden mostrar algunos síntomas, como fatiga, lasitud, fatiga extrema después del ejercicio, mucosa pálida, palpitaciones (conciencia de latidos cardíacos), tinnitus (silbidos o zumbidos en los oídos o la cabeza), dolor de cabeza, irritabilidad, mareos, debilidad y alteraciones en los sistemas inmunitario y termorregulador. Las personas mayores también pueden desarrollar dolor cardíaco (angina) e insuficiencia cardíaca. Cuando la anemia es causada por la deficiencia de cobalamina o folato, los pacientes pueden mostrar otros síntomas además de los mencionados anteriormente, particularmente dolor de boca y lengua, debido a una posible falta de renovación de las células escamosas (2).

## 5.2 ANEMIA

La anemia es un problema generalizado de salud pública y presentes en niveles altos en Perú sobre todo en regiones en subdesarrollo y pobreza extrema, con consecuencias para las personas y su desarrollo físico, social y económico. La definición de anemia sigue siendo controvertida, ya que diferentes poblaciones sugieren su propio valor de corte según sus características (50). En la clínica, la anemia se define como una masa insuficiente o una morfología alterada de los glóbulos rojos (RBC) que circulan en la sangre. En términos de salud pública, la anemia se define como una concentración de hemoglobina por debajo del quinto percentil de la concentración de hemoglobina de la población normal del mismo sexo y grupo de edad (51).

La hemoglobina es la proteína responsable de transportar el 97% del oxígeno desde los pulmones a los tejidos periféricos del organismo. El oxígeno combinado con la

hemoglobina se transporta de manera óptima por toda la vía sanguínea del cuerpo; es 30–100 veces mejor que cuando se disuelve en plasma. Cuando las concentraciones de hemoglobina disminuyen, como en el caso de la anemia, se entrega menos oxígeno a las células, por lo ciertos órganos son afectados como el corazón y los pulmones, terminan incrementando su actividad para compensar la capacidad reducida de transporte de oxígeno de la sangre (2).

La influencia mundial de esta patología, como es de la anemia, Según la OMS, indica que entre 1993 y 2005 había alrededor de 1,62 billones de personas con anemia se ven afectadas globalmente al 24.8% total de toda la población (52). Estimaciones recientes de la carga mundial de anemia utilizando información de 127 países desde 1990 hasta 2010, muestran que la prevalencia global de anemia fue del 32,9% (53). La prevalencia de anemia alcanzó cifras alarmantes en el continente de África (46%), el sudeste asiático (57%) y en los países del Mediterráneo oriental (45%) (Consejo Indio de Investigación Médica, 1989). En cuanto a su distribución por grupos de edad, se estima que la prevalencia de anemia alcanza en niños en edad preescolar, 47.4%, en niños en edad escolar 25.4%, en mujeres embarazadas, 41.8%, en mujeres no embarazadas, 30.2%, y sin edad 23.9%; en el hombre, la prevalencia es mucho menor, 12.7% (52). Independientemente del grupo de edad, el riesgo de anemia es de dos a siete veces mayor en los países en desarrollo en comparación con los países desarrollados, particularmente en las zonas rurales (46,48).

En un gran estudio realizado en más de 80 países apoyados por UNICEF, se informó que el 45% de los niños menores de 5 años tenían deficiencia de hierro. La prevalencia fue superior al 70% en 20 países (47). La carga más baja de la deficiencia de hierro se encuentra en América del Norte, países de altos ingresos, mientras que la carga más alta de identificación incluye a Asia Central (64.7%), Asia del Sur (54.8%) y América Latina andina (62.3%). Las regiones de altos ingresos tienden a tener una mayor proporción de hemoglobinopatías, ERC y hemorragia gastrointestinal (53).

Durante los primeros 2 años de vida, los requerimientos de hierro del cuerpo humano aumentan progresivamente para cumplir múltiples funciones relacionadas con el desarrollo del cerebro, los sistemas inmunitario y endocrino, etc. Varios estudios han encontrado una asociación entre la anemia y el retraso del crecimiento. , bajo

desarrollo cognitivo, motor y conductual, así como una resistencia reducida a las infecciones (49). Desafortunadamente, los efectos de la anemia durante los primeros 2 años de vida no son reversibles. En su primer año de vida, del 10 al 20% de los lactantes en países industrializados y aproximadamente del 30 al 80% en países no industrializados tienen anemia y sufrirán un desarrollo motor deteriorado caracterizado por deficiencias en el lenguaje, la motricidad y las habilidades de coordinación, con un cinco a Déficit de diez puntos en su coeficiente intelectual (IQ) (48,54,55).

En cualquier etapa de la vida, daña la capacidad del cuerpo para regular la temperatura interna. Puede abarcar alteraciones en la producción de hormonas y en el metabolismo energético, afectando la síntesis de neurotransmisores y hormonas tiroideas relacionadas con las funciones musculares y neurológicas involucradas en la regulación de la temperatura corporal (2).

### **5.3 CAUSAS DE LA ANEMIA**

La fisiopatología de la anemia es multifactorial y la contribución de sus causas varía según las regiones. La causa más común de anemia es la deficiencia de micronutrientes, siendo la deficiencia de hierro la más frecuente de todas. Las deficiencias de ácido fólico, vitamina B12 y vitamina A, solas o en combinación, tuvieron una pequeña contribución como causa de anemia. Las deficiencias de otras vitaminas y minerales, como la vitamina B6, la vitamina C, la riboflavina y el cobre, se han implicado como causas secundarias de anemia, aunque hay poca evidencia de que esas deficiencias contribuyan significativamente a la patogénesis de la anemia (46,47,48).

Las infecciones parasitarias (anquilostomas, esquistosomiasis) y la malaria son la segunda causa de anemia (53). En los países tropicales, una causa común de pérdida crónica de sangre son las infestaciones por parásitos hematófagos intestinales, como el ancilostoma y la tricocefalia. Las condiciones ambientales juegan un papel importante en el desarrollo de anemia en sujetos susceptibles (46,47,48).

Las hemoglobinopatías son la tercera causa de anemia (13% de todas las causas), y están más presentes en las regiones de altos ingresos (53). Otras causas de anemia,

como la anemia de inflamación crónica (o anemia refractaria al hierro) es menos frecuente y se ha asociado con enfermedades crónicas, consecuencia de una inflamación a largo plazo, que provoca un aumento de la hepcidina, que bloquea las proteínas involucradas en la exportación celular de hierro. a la circulación causando una anemia por deficiencia de hierro refractaria (2).

Además de la participación del hierro en la síntesis de hemoglobina, está involucrado en una gran cantidad de funciones dentro del cuerpo, incluida la cadena respiratoria, la fagocitosis, la síntesis de prostaglandinas y el sistema citocromo P450, entre otros (56).

#### **5.4 MÉTODO PLASMA DE ACOPLAMIENTO INDUCTIVO (ICP-OES)**

La espectrometría de emisión óptica inductivamente acoplada a plasma (ICP-OES) o llamada también como espectroscopía de emisión atómica (ICP-AES) es un método muy recurrido para la expresar elementos traza, debido a su elevada sensibilidad y ser selectivo (74).

La espectrometría de emisión óptica inductivamente acoplada a plasma (ICP-OES), es un provechoso mecanismo para la determinación de distintos metales en una amplia diversidad de matrices de muestras heterogéneas. Las cámaras del ICP permiten la atomización y la ionización casi completa de varios elementos en una diversa gama de muestras (74).

Este método permite inyectar ejemplares líquidos en un plasma de argón inducido por radiofrecuencia (RF) en una variedad de nebulizadores o procesos de inserción de muestras analizadas. La bruma de muestra que alcanza al plasma se seca rápidamente, la cual se vuelve gaseoso y se activa a través de la excitación de los compuestos por una colisión a elevadas temperaturas. La difusión atómica que proviene del plasma se ve en una configuración radial o axial, el resultado se concentra en una lente o espejo y se observa en la ranura de entrada de un dispositivo que selecciona dicha longitud de onda. La medición de los elementos individuales se puede realizar de manera asequible con una conjugación simple de un monocromador - fotomultiplicador (PMT), permitiendo determinar de manera simultánea distintos elementos con la presencia de un policromador y un detector de matriz (74).

El porcentaje de efectividad analítica de tal método es equiparable o mejor con la mayoría de los otros métodos de análisis de muestras inorgánicas; en particular con respecto al rendimiento de la muestra y la sensibilidad (74).

El plasma es un gas en masa enormemente energizado y eléctricamente neutro compuesto de electrones, partículas neutras y iones. Habitualmente está elaborado por el elemento argón que es cargado de energía, mediante un campo electromagnético de elevada frecuencia o una corriente continua. Cuando se juntan ambas fuentes el resultado es de alta calidad. Los plasmas producidos en estos espectrómetros generalmente alcanzan temperaturas que pueden llegar a 8.000 K (75).

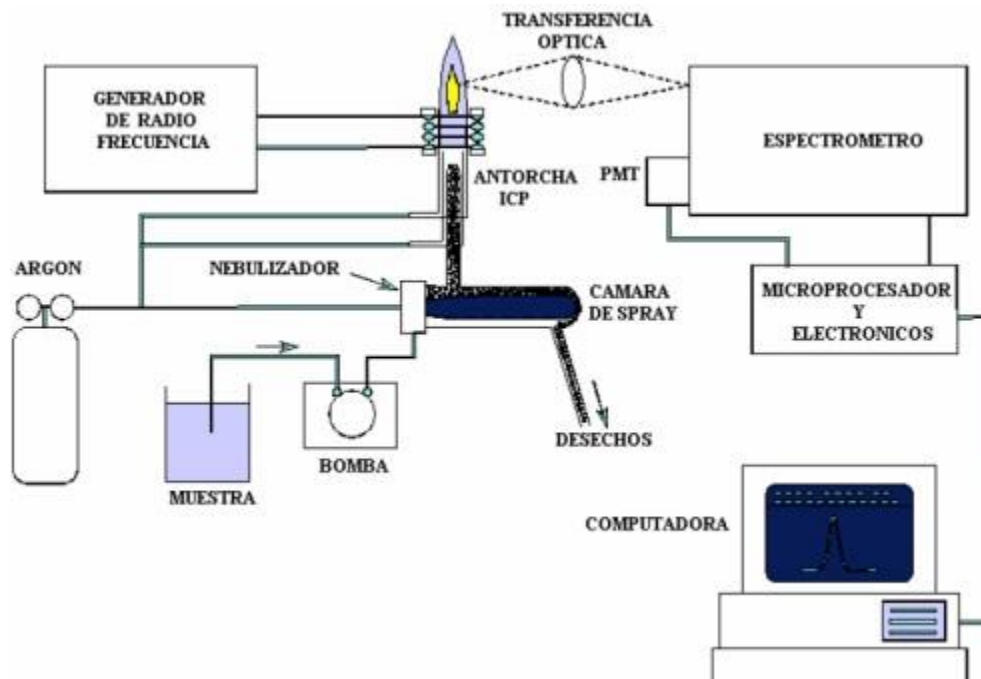
La elevada temperatura que se produce por la fuente de plasma adquirida, permite dividir varios compuestos y excitar los diferentes átomos o iones que se forman, estos iones o átomos excitados producirán una energía a en diferentes longitudes de onda características de cada elemento. El monocromador direcciona estas longitudes de onda a un detector que permite determinar eficazmente gracias a su sensibilidad (75).

Para elementos que no son posibles de determinar a través de otros métodos analíticos tales como, elementos de tierras raras, metales refractarios que a su vez forman óxidos refractarios y elementos ligeros como el boro. El método espectrometría de emisión óptica inductivamente acoplada a plasma debería permitir la determinación de cualquier elemento químico de la tabla periódica por teoría, pero, en la realidad, existen varias limitaciones en el estudio de elementos producidos artificialmente en laboratorio (75).

Este método de Espectrometría de emisión óptica de plasma inductivamente acoplado (ICP OES) se recomienda hoy en día por su versatilidad y elevada capacidad de detección (75).

Las partes del equipo se distribuye a su vez en:

- Componente de introducción de muestra (bomba peristáltica, cámara de nebulización o de spray ,nebulizador,y sistema de desagüe).
- Componente de producción de la emisión (antorcha).
- Componente de recolección y detección de la emisión (elementos de transferencia óptica, espectrómetro y detector) (75).



*Figura 1.11. Componentes del equipo ICP-OES*

## 6. LIOFILIZACIÓN

La liofilización es un proceso especializado, que se utiliza para la preservación y conservación de productos, se basa en el secado, el cual el agua es sublimada del producto después de ser congelado. Consta de dos secados; primeramente, se realiza una sublimación llamada secado primario y luego una desorción nombrado secado secundario. Estos procesos son aplicados en diversas áreas como, la fabricación de productos farmacéuticos y a la vez biológicos, los cuales tienden a ser inestables o termolábiles en ciertas soluciones acuosas según el tiempo de almacenamiento, necesitan estar en un estado sin presencia de humedad o agua (77).

Existe una fase involucrada en el proceso de liofilización, el cual se debe a un cambio de estado de la materia catalogado como sublimación, donde el fluido (agua) pasa de forma directa del estado sólido, al estado gaseoso, evitando pasar por estado líquido. La sublimación tiende a realizarse en características temperaturas y presiones por debajo del punto triple, el cual se encuentra a 4.579 mm de Hg con una temperatura 0.00999 grados centígrados (77).

### 6.1. El proceso de liofilización

El proceso de liofilización consta de 3 fases importantes y son las siguientes

a) Primera fase - congelación: Es la fase primordial para poder liofilizar un producto dependiendo de su naturaleza y la cantidad que se emplea; la congelación idónea del producto para la formación de cristales y la porosidad del producto estará de la mano con la velocidad que se que congele la materia (78).

b) Segunda fase - Sublimación: las partículas de agua que se congelen en el producto, se eliminan bajo la presurización al vacío a una determinada velocidad de sublimación, que es el resultado de la diferencia de la presión de vapor de agua en la interface de hielo y la presión parcial de agua en la cámara de secado, obteniendo la sublimación del hielo dando como resultado solo el 5% de humedad en el producto liofilizado (78).

c) Tercera fase - Desorción: Es cuando se elimina absolutamente el hielo del producto, pero también existe una mínima parte de agua que no llegó a congelar, por lo tanto se eleva la temperatura para disminuir la humedad al 2 % del producto liofilizado (78).

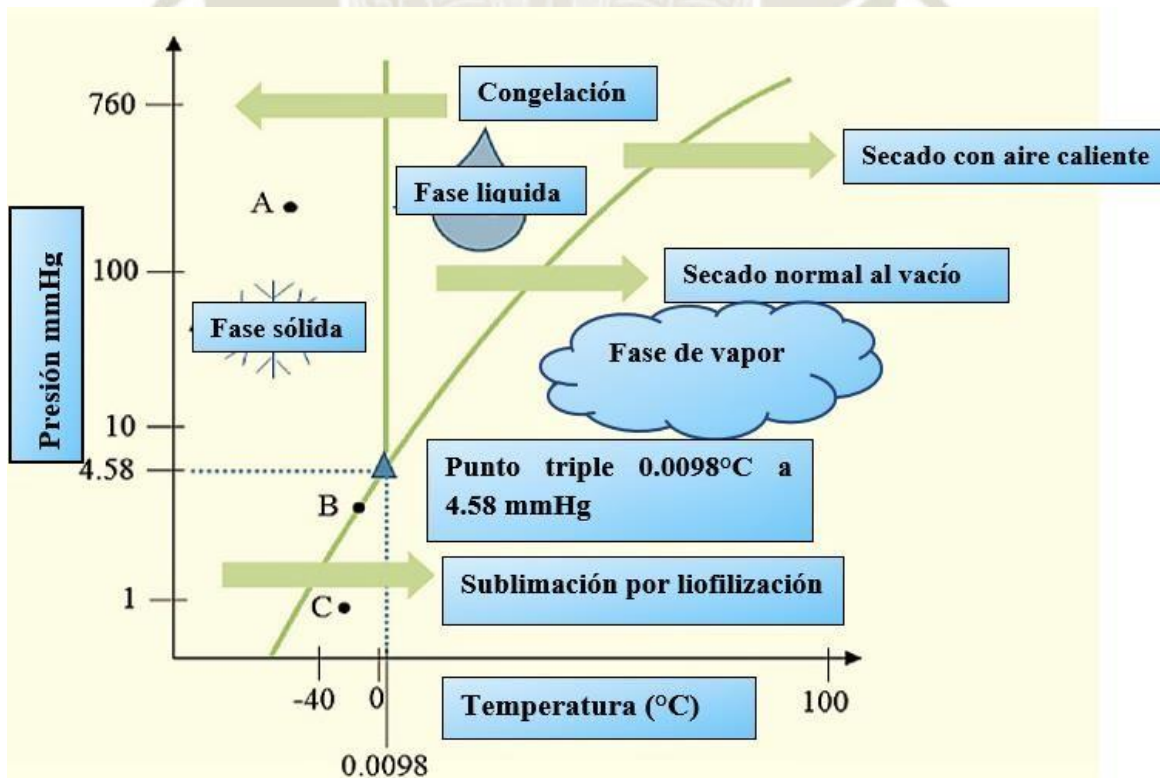


Figura 1.12. Diagrama de fases del proceso de sublimación

## CAPÍTULO II

### 2. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 2.1. LUGAR DE LA INVESTIGACIÓN

La dicha investigación se llevó a cabo en las instalaciones de los Laboratorio de Ensayo y Controlde Calidad de la Universidad Católica de Santa María.

#### 2.2 MATERIALES

##### 2.2.1 EQUIPOS

- Agitador Vortex Thermo SCIENTIFIC Modelo: Maxi Mi x II
- Agitador magnético ACS-160.
- Purificador de agua ELGA Lab Water con Modelo: PURELAB Classico
- Bomba de aspiración Lab Companion Modelo: VE-11
- Balanza de analítica OHAUS Modelo: Discovery Sensibilidad: 0.1 mg
- Batidora OSTER .
- Espectrofotómetro UV Shimadzu UV- 1700.
- Equipo pH metro.
- Pipetas automáticas.
- Baño Ultrasonido Branson 2510-E.
- Refrigerador Samsung

##### 2.2.2 MATERIALES

- Botellas de vidrio 50, 100, 250 mL.
- Pipetas volumétricas de 1, 2, 5 mL
- Probetas de 100 mL.
- Vasos de precipitado de 25, 50 y 100 mL
- Celdas de cuarzo (Purshee)
- Espátulas.
- Papel filtro
- Gradillas para tubos Falcon y para microtubos.
- Guantes de látex.
- Imanes agitadores

- Matraces Erlenmeyer 50, 100, 250 mL.
- Microtubos de plástico de 1,5 y 2 ml
- Papel de filtro convencional (Afora)
- Pinzas y tijeras de acero inoxidable
- Pipetas de plástico estériles de 5, 10 y 25 ml.
- Embudo
- Puntas de pipeta automática.
- Tubos Falcon de 15 y 50 ml.
- Baguetas.
- Jeringas descartables de 10 mL

### 2.2.3 REACTIVOS

- Cloruro de cobre (II) Aldrich.
- Acetato de amonio Sigma.
- Ácido Gálico P.A. Merck
- Neocuproína Sigma.
- Etanol.Merck.
- Trolox Aldrich.
- Metanol P.A Diproquim
- DP Reactivo DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) P.A.(Calbiochem)
- Carbonato de sodio Merck .
- Reactivo de Folin-Ciocalteu Merck
- Hierro patrón ICP 170326 Merck

### 2.3. TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS RECOLECTADOS

Para el análisis de los datos se utilizaron softwares como *Microsoft Excel Professional 2016* y para el diseño de gráficos se utilizó el software Prisma 6.0

## 2.4. METODOLOGÍA

### RECOLECCIÓN Y PROCESAMIENTO DEL MATERIAL BIOLÓGICO

#### 2.4.1 RECOLECCIÓN

Las muestras de fruto de Capulí (Figura 2.1) fueron obtenidas del distrito Velille perteneciente a la provincia de Chumbivilcas ubicada en el Departamento de Cuzco cuyas coordenadas geográficas son -14.509582,-71.885331.



*Figura 2.1. Recolección del fruto de Capulí*

Por otro lado, las muestras de fruto de Aguaymanto (Figura 2.2) fueron recolectadas del distrito de Majes ubicada en la provincia y departamento de Arequipa con coordenadas geográficas -16.360574,-72.186896



*Figura 2.2 Recolección del fruto de Aguaymanto*

#### 2.4.2 IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA

Una vez recolectadas las muestras que comprendían los (frutos, tallos, hojas y flores) de las diferentes especies frutales de las regiones de Arequipa (Majes) y Cusco (Velille) fueron trasladadas con el máximo cuidado posible a la ciudad de Arequipa debidamente conservadas en un cooler de Tecnopor para evitar su degradación o oxidación por parte del medio externo y así poder realizar su respectiva identificación y ubicación taxonómica en el Herbarium Arquipence de la Universidad Nacional de San Agustín.

#### 2.4.3 SELECCIÓN

Para el desarrollo de los análisis, las muestras de estudio se seleccionaron cuidadosamente los frutos maduros ( *Prunus serotina* “Capulí”) y (*Physalis peruviana* “Aguaymanto”) aptos y sanos en ambas especies para su debida conservación y procesamiento para luego realizar su respectivo análisis en los laboratorios de la Universidad Católica de Santa María.

#### 2.4.4 LIOFILIZACIÓN

Los frutos de *Prunus serotina* “Capulí” y *Physalis peruviana* “Aguaymanto” se lavaron debidamente con agua destilada , picaron y licuaron de forma homogénea . Seguidamente se continuo a colocar el extracto licuado en varios frascos ámbar para proteger de la luz del medio ambiente, los frascos se llenaron con una jeringa cuyo volumen fue de 5 mL y por último se taparon con una abertura, para que toda la presencia de agua pueda evaporar del frasco y se trasladó a la bandeja interna del liofilizador de la UCSM modelo Triad ambiente H – 203.

Los frutos liofilizados fueron conservados en bolsas de propileno de 20cm x 25 cm de longitud con cierre hermético, se agregó bolsas de silica gel para captar la humedad, estos fueron almacenados a una temperatura de 4° C hasta su respectivo uso.

#### 2.4.5 DETERMINACIÓN DE FENOLES TOTALES, POR EL METODO DE FOLIN CIOCALTEU

Este método se utiliza para determinar la cantidad total de fenoles presentes. La muestra estudiada se mezcla con el reactivo Folin-Ciocalteu anticipadamente diluida con agua destilada ultra pura. Seguidamente se deja reposar la solución obtenida durante un tiempo determinado a una temperatura ambiente para luego agregar una solución saturada de carbonato de sodio. Finalmente dejamos reposar la solución por determinados minutos antes de proceder con la lectura de la absorbancia a de 760 nm. El ácido gálico se utilizó como estándar para la respectiva curva de calibración (78).

##### **Solución de carbonato de sodio**

La solución de carbonato de sodio se preparó de la siguiente manera, primeramente, se sometió a desecado en una mufla por 24 horas a una temperatura de 70 °C, seguidamente se preparó una solución al 20 % con carbonato de sodio anhidro, utilizando 2 g del reactivo colocando en una fiola de 10 ml de volumen, finalmente se enraza con agua destilada y se agito para homogenizar la solución.

##### **Solución stock de ácido gálico**

La solución de stock del ácido gálico, se preparó con una solución de 100 mg/L, se pesó 10 mg de ácido gálico, disolviendo en 1 ml de etanol al 96%, se enraza con agua destilada, en una fiola de 100 ml para obtener así la concentración mencionada. El gráfico de calibración fue preparado usando las soluciones estándar de ácido gálico de 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 y 10.0 mg/L, dichas soluciones se enrazaron en unas fiolas de 2mL con agua destilada y fueron tratadas de la misma manera que la muestra.

### Preparación de la curva de calibración.

La curva de calibración se preparó 5 patrones en fioles de 2 mL, los cuales se agregaron estándares de ácido gálico, H<sub>2</sub>O, reactivo de Folin Ciocalteu, dejando reposar 5 min en oscuridad, luego se agregó carbonato de sodio al 20% y se enrazo a 2 ml con H<sub>2</sub>O destilada, como se presenta en la siguiente tabla, se dejó reposar por dos horas en la oscuridad.

**Tabla N° 2.1** Preparación de la curva de calibración de Folin Ciocalteu

Patrones	Concentración (mg/L)	Vol. De estándares (uL)	Agua destilada (uL)	Reactivo Folin Ciocalteu (uL)	Carbonato de sodio 20 %(uL)
1	2	40	460	200	800
2	4	80	420	200	800
3	6	120	380	200	800
4	8	160	340	200	800
5	10	200	300	200	800
<b>Blanco</b>	0	0	1000	200	800

La preparación de las muestras de los diferentes extractos liofilizados y sonicados, de Capulí “Prunus serótina Ehrh” y al aguaymanto “Physalis peruviana L.” obtenidas, se hicieron por triplicado agregando 460 uL de agua destilada, 200 uL de reactivo de Folin Ciocalteu, carbonato de sodio 800 uL y el extracto 200 uL enrazando en fioles de 2 ml y finalmente se procedió a leer en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 765 nm.

## DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

### 2.4.6 MÉTODO DE CUPRAC

El método CUPRAC es un ensayo muy útil y sencillo para una gran variedad de compuesto polifenólicos, tanto lipofílicos u otras sustancias afines al agua que contengan capacidad antioxidante como, tales como, flavonoides, carotenoides, ácidos fenólicos, ácidos hidroxicinámicos, antocianinas, al igual que antioxidantes sintéticos, también incluye vitaminas como la C y E.

#### **Preparación de los reactivos de Cuprac**

Primeramente, preparamos la solución etanólica de  $\text{CuCl}_2$  a una concentración de 0.01 M, pesando 17 mg de reactivo la cual se enraza en una fiola de 10 ml volumen, seguidamente se preparó una solución etanólica de Neocuproína al 0.0075 M, pesando 15.6 mg de del reactivo y al igual que el primero se enraza en una fiola de 10 ml de volumen, finalmente se preparó la solución de buffer de acetato de amonio a 1 M de concentración a un pH de 7 neutro.

#### **Preparación de la solución de stock de Trolox**

la solución de stock de Trolox al  $2 \times 10^{-4}$  se preparó pesando 2.5 mg de reactivo, seguidamente se colocó en una fiola de 50 ml, enrazando con etanol al 96% y se homogenizó la solución respectivamente.

#### **Preparación de la curva de calibración.**

Para la construcción de la curva de calibración se prepararon 5 estándares de diferentes concentraciones de Trolox en fiolas de 5 ml, añadiendo el reactivo mencionado como indica la tabla 2.4, se enraso con etanol al 96 %, se homogenizó las soluciones, se llevó a oscuridad por 30 minutos, para luego leer su absorbancia a una longitud de onda de 450 nm en el espectrofotómetro.

**Tabla N° 2.2** Preparación de curva de calibración Cuprac

<b>Patrones</b>	<b>Concentración (mg/L)</b>	<b>Trolox (uL)</b>	<b>CuCl<sub>2</sub> (ml)</b>	<b>Buffer (ml)</b>	<b>Neocuproína (ml)</b>
<b>1</b>	0.625	100	1	1	1
<b>2</b>	1.250	200	1	1	1
<b>3</b>	1.875	300	1	1	1
<b>4</b>	2.500	400	1	1	1
<b>5</b>	3.125	500	1	1	1
<b>blanco</b>	0	0	1	1	1

Se pesaron aproximadamente 1 g de muestra liofilizada y se agregó 9 mL de etanol (1/10), se llevó al Vortex, sonicador y se centrifugó a 10 000 rpm hasta que la muestra se disuelva por completo y se extrajo el sobrenadante.

En tubos se midieron 1 mL de Buffer acetato de amonio pH=7.0, 1 mL de Neocuproína, 1 mL de CuCl<sub>2</sub>, 0.5 mL de muestra y se completó a 5 mL con agua destilada. Finalmente, se deja en reposo durante 30 minutos en la oscuridad y luego se procede a leer a 450 nm.

#### **2.4.7 MÉTODO DE DPPH**

Se preparó la solución madre de DPPH de la siguiente manera, se peso 3 mg de reactivo y seguidamente se enraso en unafiola de 25 mL de volumen, protegiéndola de la luz del ambiente, se preparó otra solución Stock deTrolox a 1598  $\mu$ M con etanol al 96 %, con 4 mg de reactivo y se enraso en una fiola de 10 mL, luego se preparó los estándares de concentraciones 20.0, 40.0, 60.0, 80.0 y 100.0 mg/L agregando 1.25, 2.50, 3.75, 5.00 y 6.35 uL de nuestra solución Stock de Trolox preparada anteriormente.

**Tabla N° 2.3** Preparación de estándares de trolox para el método DPPH.

Estándar	Vol. De solución de Stock de Trolox (uL)	Concentración (mg/L)
1	1.25	20
2	2.50	40
3	3.75	60
4	5.00	80
5	6.35	100

A continuación, se preparó 5 patrones en fioles de 5 mL adjuntando 1.2 mL de estándar de Trolox preparado anteriormente y 1.5 ml de reactivo de DPPH, ya preparado y se enraza con etanol al 96%, se dejó reposar en la oscuridad por 30 minutos y se procedió a leer a una longitud de onda de 515 nm en el espectrofotómetro.



**Figura 2.3.** Soluciones de calibración para la determinación de la capacidad antioxidante por el método de DPPH

En cuanto a las muestras preparadas, se pesó 1 g de cada muestra liofilizada de cada fruto (capulí conpepa, capulí sin pepa y Aguaymanto), en un tubo Falcón luego se agregó 3 mL de etanol al 96 %, se sonicó por 15 min, se centrifugó a 10 0000 rpm, se separó el sobrenadante en una fiola de 10 mL (repetir por dos veces) recolectando sobrenadante. Luego se enraza el sobrenadante hasta 10 ml con etanol al 96% (realizar por

triplicado). A 1.5 mL de la solución resultante se agregó 1.5 ml de DPPH y enrazo en una fiola de 5 mL con etanol al 96%, se dejó durante 30 minutos en la oscuridad y se realizaron las lecturas a 515 nm en un espectrofotómetro.

**Tabla N° 2.4** Preparación para la curva de calibración DPPH

Patrones	Concentración(mg/L)	Estándares (mL)	DPPH (mL)	Etanol (mL)
1	<b>20</b>	<b>1.2</b>	<b>1.5</b>	<b>2.3</b>
2	<b>40</b>	<b>1.2</b>	<b>1.5</b>	<b>2.3</b>
3	<b>60</b>	<b>1.2</b>	<b>1.5</b>	<b>2.3</b>
4	<b>80</b>	<b>1.2</b>	<b>1.5</b>	<b>2.3</b>
5	<b>100</b>	<b>1.2</b>	<b>1.5</b>	<b>2.3</b>
Blanco 1	-		<b>2.5</b>	<b>2.5</b>
Blanco 2	-			<b>5</b>

#### **2.4.8 DETERMINACIÓN DE HIERRO POR PLASMA DE ACOPLAMIENTO INDUCTIVO (ICP-OES)**

##### **Preparación de la solución patrón de hierro**

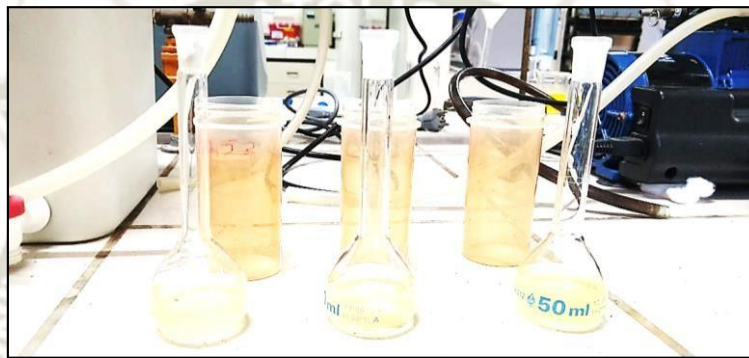
Se disolvieron 0,100 g de Hierro patrón ICP 170326 (Merck) en 5mL de ácido clorhídrico y se calentó suavemente en una estufa, bajo la campana de extracción, hasta lograr una disolución total.

Posteriormente, se evaporó la solución hasta estar casi seco y se agregó una solución de ácido nítrico al 1 % v/v. La solución obtenida anteriormente se transfirió cuantitativamente a un matraz de 100mL y se llevó a volumen con agua bidestilada.

A partir de éste patrón, se procedió a realizar las diluciones correspondientes para lograr las concentraciones requeridas.

### Preparación de las muestras.

Para la cuantificación de hierro en las muestras de capulí con pepa, capulí sin pepa y Aguaymanto se pesó 1 gr de cada muestra de Aguaymanto y Capulí con pepa y sin pepa, a dichas muestras se agregaron 7 mL de  $\text{HNO}_3$  cc. y se dejó digiriendo las soluciones a una temperatura de  $50\text{ }^\circ\text{C}$  por 60 minutos abiertas, para luego cerrarlas y dejarlas reposar por 48 horas en el digestor. Acabados los tiempos de digestión se enrazaron las muestras en fiola de 50 mL. Una vez obtenidas las muestras finales, se colocaron en el equipo ICP-OES, la medición se llevó a cabo a  $238.304\text{nm}$ .



*Figura 2.4. Determinación de hierro en frutos de Capulí y Aguaymanto*



*Figura 2.5 Plasma de Acoplamiento Inductivo (ICP-OES)*

### CAPÍTULO III

#### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

##### 3.1 IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA

El resultado de la clasificación taxonómica se observa en la Tabla 3.1 donde se identificaron al Capulí como “*Prunus serótina* Ehrh” en adelante *P. serótina* y al aguaymanto como “*Physalis peruviana* L.” en adelante *P. peruviana* como se observa en la Tabla 3.1 , Tabla 3.2; respectivamente Anexo 1 y Anexo 2

**Tabla 3.1.** Clasificación taxonómica del fruto de Capulí identificados en el Herbarium Arqvipence del área de biología de la Universidad Nacional de San Agustín

<b>Reino</b>	Plantae
<b>División</b>	Magnoliophyta
<b>Clase</b>	Magnoliopsida
<b>Subclase</b>	Rosidae
<b>Orden</b>	Rosales
<b>Familia</b>	Rosaceae
<b>Género</b>	<i>Prunus</i>
<b>Especie</b>	<i>Prunus serótina</i> Ehrh.

**Fuente.** Herbarium Arqvipence (HUSA) de la Universidad Nacional de San Agustín. (Anexo 1)

**Tabla 3.2. Clasificación taxonómica del fruto de Aguaymanto identificados en el Herbarium Arequipense del área de biología de la Universidad Nacional de San Agustín**

<b>Reino</b>	Plantae
<b>División</b>	Magnoliophyta
<b>Clase</b>	Magnoliopsida
<b>Subclase</b>	Asteridae
<b>Orden</b>	Solanales
<b>Familia</b>	Solanaceae
<b>Género</b>	<i>Physalis</i>
<b>Especie</b>	<i>Physalis peruviana</i> L.

**Fuente.** Herbarium Arequipense (HUSA) de la Universidad Nacional de San Agustín.(Anexo 2)

### 3.2 DETERMINACIÓN DE FENOLES TOTALES POR EL MÉTODO FOLIN-CIUCALTEU

En la Tabla 3.3 se observan las absorbancias y absorbancias promedio de las soluciones de calibración a concentraciones de ácido gálico de 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 y 10.0 mg/L las cuales fueron leídas en un espectrofotómetro. Dichas soluciones calibración fueron graficadas dando como resultado la Figura 3.1 donde se presenta el gráfico de calibración que presenta una tendencia lineal.

En la Figura 3.1 se observa también la ecuación de la recta  $y = a + bx$  que se presenta a continuación:

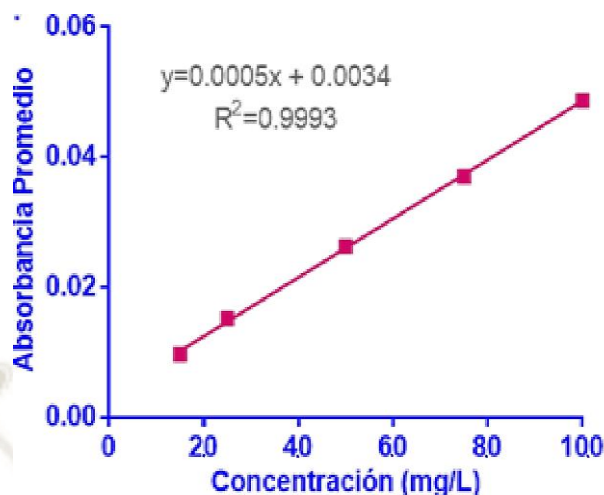
$$y = 0.0005x + 0.0034 \quad [1]$$

Donde y corresponde a la absorbancia y x a la concentración de ácido gálico en mg/L, además que el coeficiente  $R^2$  es mayor que 0.995 lo cual según la USP es considerado lineal (57).

**Tabla 3.3.** Absorbancias obtenidas de las diferentes soluciones de calibración preparadas para cada determinación de fenoles totales por el método de Folin Ciocalteu en muestras de capulí y aguaymanto.

Concentración AG (mg/L)	Absorbancia 1	Absorbancia 2	Absorbancia 3	$\bar{x}$	s	DSR
2.0	0.0090	0.0100	0.0100	0.0097	0.0006	5.97
4.0	0.0155	0.0150	0.0150	0.0152	0.0003	1.90
6.0	0.0270	0.0260	0.0260	0.0263	0.0006	2.19
8.0	0.0380	0.0360	0.0370	0.0370	0.0010	2.70
10.0	0.0530	0.0528	0.0528	0.0529	0.0001	0.22

$\bar{x}$  : Promedio, **s**: Desviación estándar, **DSR**: Desviación Estándar Relativa, **AG**: Ácido gálico



**Figura 3.1.** Gráfico de calibración para la determinación de fenoles totales por el método de Folin Ciocalteu

Para la cuantificación de la concentración de ácido gálico en las muestras de Capulí y Aguaymanto se despejó la concentración de la ecuación de la recta obtenida [1] dando como resultado la siguiente fórmula que fue utilizada para realizar el cálculo de los fenoles totales en las muestras.

$$\text{Concentración} = \frac{\text{Absorbancia} - 0.0034}{0.0005} \quad [2]$$

En la Tabla 3.4 se presentan los resultados luego de determinar los fenoles totales en las muestras dando como resultado concentraciones de  $98.3 \pm 0.12$  mg AG/L,  $75.0 \pm 0.20$  mg AG/L y  $26.5 \pm 0.12$  mg AG/L de Capulí con pepa, sin pepa y Aguaymanto respectivamente.

**Tabla 3.4.** Determinación de fenoles totales por el método de Folin Ciocalteu en muestras de capulí y aguaymanto

Muestra	N	Absorbancia	Concentración mg ácido gálico/L	$\bar{x} \pm s$
Capulí con pepa	1	0.0526	98.4	98.3 ± 0.12
	2	0.0525	98.2	
	3	0.0525	98.2	
Capulí sin pepa	1	0.0410	75.2	75.0 ± 0.20
	2	0.0409	75.0	
	3	0.0408	74.8	
Aguaymanto	1	0.0167	26.6	26.5 ± 0.12
	2	0.0167	26.6	
	3	0.0166	26.4	

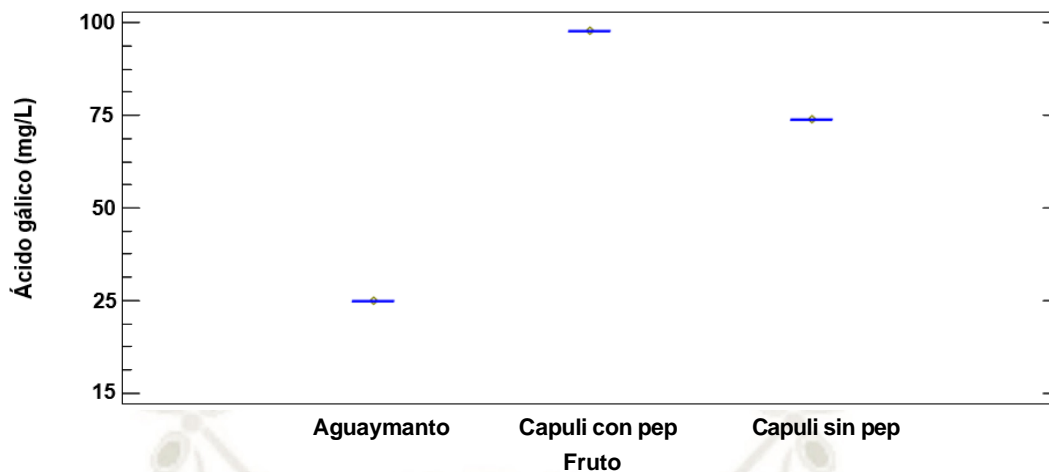
\* $\bar{x}$  : Promedio,  $s$ : Desviación estándar,  $N$ : Número de muestras

Con el objetivo de comparar si existe desigualdad significativa en cuanto a los fenoles totales entre los grupos de muestras estudiadas se prosiguió a realizar la determinación del análisis de varianza (Anexo 3) de los resultados obtenido dio como resultado una probabilidad menor de 0.05 ( $p < 0.05$ ) por lo tanto, indica que al menos un grupo es diferente al 95 % de confianza. Por lo que, fue necesario hacer un test de confirmación de Tukey.

**Tabla 3.5.** Test de Tukey de la comparación del contenido de fenoles totales

Factores	Casos	Concentración mg ácido gálico/L	Grupos Homogéneos
Aguaymanto	3	26.5	X
Capulí sin pepa	3	75.0	X
Capulí con pepa	3	98.3	X

En la Tabla 3.5 Se observa que luego de la comparación de los grupos mediante el test de Tukey se observa que todos los grupos difieren en el contenido de fenoles totales.



*Figura 3.2 Gráfico de comparación de medias del contenido de fenoles totales*

En la Figura 2.7 se observa el gráfico de comparación de medias donde se nota que el Capulí con pepa presenta mayor contenido de fenoles totales, seguido del Capulí sin pepa y finalmente el Aguaymanto con menor contenido de fenoles totales.

### 3.3 DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

#### 3.3.1 DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE POR EL MÉTODO DE CUPRAC

En la Tabla 3.6 se observan las absorbancias y absorbancias promedio de las soluciones de calibración a concentraciones de Trolox de 0.625, 1.250, 1.875, 2.500 y 3.125 mg/L las cuales fueron leídas en un espectrofotómetro. Dichas soluciones calibración fueron graficadas dando como resultado la Figura 2.8 donde se presenta el gráfico de calibración que presenta una tendencia lineal.

En la Figura 2.8 se observa también la ecuación de la recta  $y = a + bx$  que se presenta a continuación:

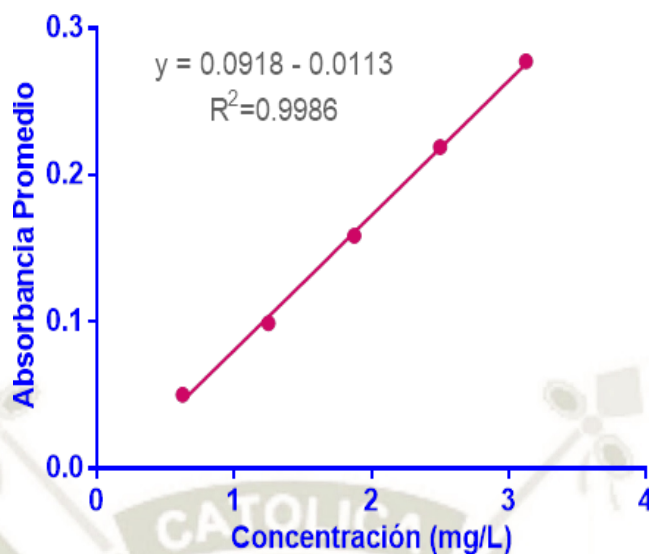
$$y = 0.0918 x - 0.0113 \quad [3]$$

Donde “y” corresponde a la absorbancia y “x” a la concentración de Trolox en mg/L. además que el coeficiente  $R^2$  es mayor que 0.995 lo cual según la USP es considerado lineal (57).

**Tabla 3.6.** Absorbancias de las diferentes soluciones de calibración preparadas para la cuantificación de la capacidad antioxidante por el método de Cuprac en las muestras de capulí y aguaymanto.

Concentración de Trolox (mg/L)	Absorbancia 1	Absorbancia 2	Absorbancia 3	$\bar{x}$	s	DSR
0.625	0.051	0.050	0.050	0.0503	0.0006	1.15
1.250	0.100	0.098	0.099	0.0990	0.0010	1.01
1.875	0.160	0.158	0.158	0.1587	0.0012	0.73
2.500	0.221	0.218	0.218	0.2190	0.0017	0.79
3.125	0.278	0.277	0.277	0.2773	0.0006	0.21

$\bar{x}$  : Promedio, **s**: Desviación estándar, **DSR**: Desviación Estándar Relativa



**Figura 3.3** Gráfico de calibración para la determinación de la capacidad antioxidante por el método de Cuprac

Para la cuantificación de la capacidad antioxidante en las muestras de Capulí y Aguaymanto se despejó la concentración de la ecuación de la recta obtenida [3] dando como resultado la siguiente fórmula que fue utilizada para realizar el cálculo de la capacidad antioxidante en las muestras.

$$\text{Concentración} = \frac{\text{Absorbancia} + 0.0113}{0.0918} \quad [4]$$

En la Tabla 3.7 se presentan los resultados luego de determinar la capacidad antioxidante en las muestras dando como resultado de  $1.79 \pm 0.14$  mg Trolox /L,  $1.70 \pm 0.13$  mg Trolox /L y  $1.69 \pm 0.12$  mg Trolox/L de Capulí con pepa, sin pera y Aguaymanto respectivamente

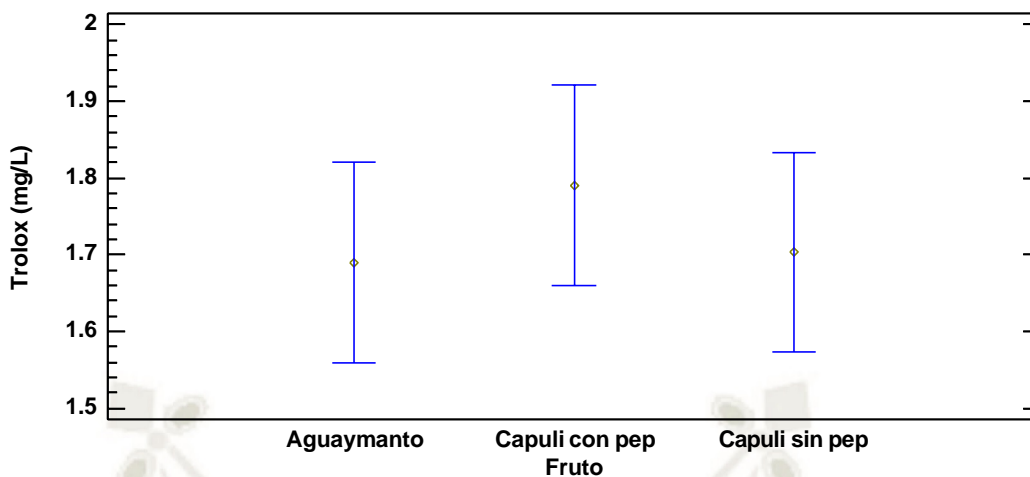
**Tabla 3.7.** Determinación de la capacidad antioxidante en muestras por el método Cuprac

Muestra	N	Absorbancia	Concentración mg ácido gálico/L	$\bar{x} \pm s$
Capulí con pepa	1	0.140	1.65	1.79 ± 0.14
	2	0.154	1.80	
	3	0.165	1.92	
Capulí sin pepa	1	0.153	1.79	1.70 ± 0.13
	2	0.151	1.77	
	3	0.131	1.55	
Aguaymanto	1	0.131	1.55	1.69 ± 0.12
	2	0.148	1.74	
	3	0.152	1.78	

\* $\bar{x}$  : Promedio,  $s$ : Desviación estándar,  $N$ : Número de muestras

Con la finalidad de comparar si existe diferencia significativa en cuanto a la capacidad antioxidante por el método de Cuprac entre los grupos de muestras estudiadas se procedió a realizar el análisis de varianza (Anexo 4) de los resultados obtenido, que dio como resultado una probabilidad mayor de 0.05 ( $p > 0.05$ ) lo cual, indica que no existe diferencia significativa entre la capacidad antioxidante determinada por el método de Cuprac al 95 % de confianza.

En la Figura 2.9 se observa el gráfico de comparación de medias donde se nota que el Capulí con pepa, Capulí sin pepa y finalmente el Aguaymanto no presentan diferencia significativa en cuanto a la capacidad antioxidante determinada por método de Cuprac.



*Figura 3.4* Gráfico de comparación de medias de la capacidad antioxidante determinada por el método Cuprac

### 3.3.2 DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE POR EL MÉTODO DE DPPH

En la Tabla 3.8 se observan las absorbancias y absorbancias promedio de las soluciones de calibración a concentraciones de DPPH de 20.0, 40.0, 60.0, 80.0 y 100.0 mg/L las cuales fueron leídas en un espectrofotómetro. Dichas soluciones calibración fueron graficadas dando como resultado la Figura 2.10 donde se presenta el gráfico de calibración que presenta una tendencia lineal de pendiente negativa.

En la Figura 2.10 se observa también la ecuación de la recta  $y = a + bx$  que se presenta a continuación:

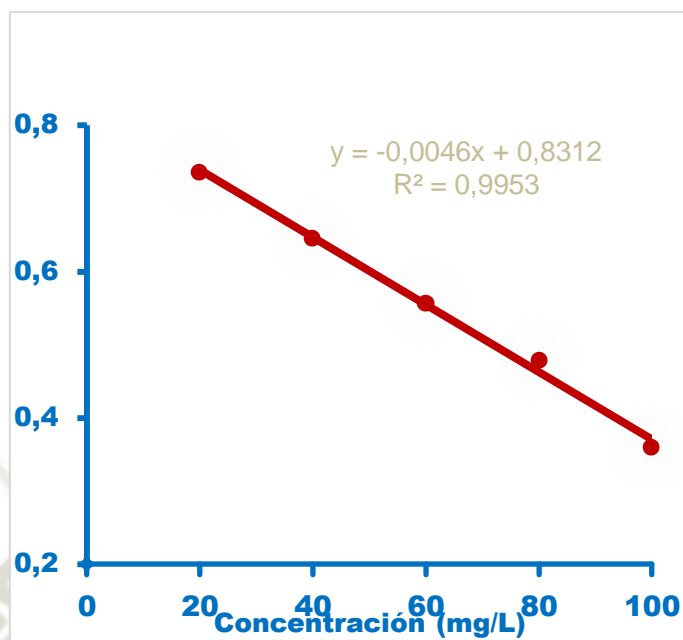
$$y = -0.0043 x + 0.9027 \quad [5]$$

Donde “y” corresponde a la absorbancia y “x” a la concentración de DPPH en mg/L. además que el coeficiente  $R^2$  es mayor que 0.995 lo cual según la USP es considerado lineal (57).

**Tabla 3.8.** Absorbancias de las soluciones de calibración (n=5) del gráfico de calibración para la cuantificación de la capacidad antioxidante por el método de DPPH

Concentración (mg/L)	Absorbancia 1	Absorbancia 2	Absorbancia 3	$\bar{x}$	s	DSR
20	0.735	0.737	0.736	0.7360	0.0010	0.14
40	0.645	0.646	0.645	0.6453	0.0006	0.09
60	0.557	0.555	0.556	0.5560	0.0010	0.18
80	0.479	0.4781	0.479	0.4787	0.0005	0.11
100	0.3564	0.3548	0.3658	0.3590	0.0059	1.65

$\bar{x}$  : Promedio, **s**: Desviación estándar, **DSR**: Desviación Estándar Relativa



**Figura 3.5.** Gráfico de calibración para la determinación de la capacidad antioxidante por el método de DPPH

Para la cuantificación de la capacidad antioxidante por el método de DPPH en las muestras de Capulí y Aguaymanto se despejó la concentración de la ecuación de la recta obtenida [4] dando como resultado la siguiente fórmula que fue utilizada para realizar el cálculo de la capacidad antioxidante en las muestras.

$$\text{Concentración} = \frac{\text{Absorbancia} - 0.9027}{-0.0043} \quad [6]$$

En la Tabla 3.9 se presentan los resultados luego de determinar la capacidad antioxidante en las muestras dando como resultado concentraciones de  $89.20 \pm 1.21$  mg DPPH/L,  $97.24 \pm 1.15$  mg DPPH /L y  $78.83 \pm 1.57$  mg DPPH /L de Capulí con pepa, sin pepa y Aguaymanto respectivamente

**Tabla 3.9.** Determinación de la capacidad antioxidante en muestras por el método Cuprac

Muestra	N	Absorbancia	Concentración mg DPPH/L	$\bar{x} \pm s$
Capulí con pepa	1	0.428	87.9	89.20 ± 1.21
	2	0.417	90.3	
	3	0.421	89.4	
Capulí sin pepa	1	0.389	96.4	97.24 ± 1.15
	2	0.387	96.8	
	3	0.379	98.5	
Aguaymanto	1	0.478	77.0	78.83 ± 1.57
	2	0.466	79.6	
	3	0.465	79.8	

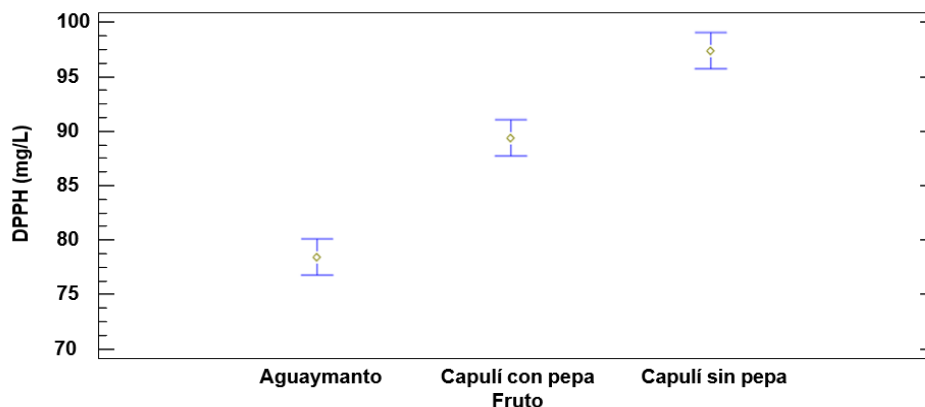
\* $\bar{x}$  : Promedio,  $s$ : Desviación estándar,  $N$ : Número de muestras

Con la finalidad de comparar si existe diferencia significativa en cuanto a la capacidad antioxidante por DPPH entre los grupos de muestras estudiadas se procedió a realizar el análisis de varianza (Anexo 4) de los resultados obtenidos dieron como resultado una probabilidad menor de 0.05 ( $p < 0.05$ ) lo cual, indica que al menos un grupo es diferente al 95 % de confianza. Por lo que, fue necesario hacer un test de confirmación de Tukey.

**Tabla 3.10.** Test de Tukey de la comparación de la capacidad antioxidante de los frutos de aguaymanto y Capulí por el método de DPPH

Factores	Casos	Media	Grupos Homogéneos
Aguaymanto	3	78.83	X
Capulí con pepa	3	89.20	X
Capulí sin pepa	3	97.24	X

En la Tabla 3.9 se observa que luego de la comparación de los grupos mediante el test de Tukey dio como resultado que todos los grupos difieren en la capacidad antioxidante por el método de DPPH.



*Figura 3.6 Gráfico de comparación de medias de la capacidad antioxidante determinada por el método de DPPH*

En la Figura 2.11 se observa el gráfico de comparación de medias donde se nota que el Capulí sin pepa, presenta la mayor capacidad antioxidante seguido del Capulí con pepa y finalmente el Aguaymanto.

### 3.4. DETERMINACIÓN DE HIERRO POR PLASMA DE ACOPLAMIENTO INDUCTIVO (ICP-OES)

#### 3.4.1 LINEA DE CALIBRACIÓN

El contenido de hierro de los frutos de Capulí y Aguaymanto fue determinado por ICP-OES y los resultados de la elaboración del gráfico de calibración se presentan en la Tabla 3.10, donde se observa que para las concentraciones de hierro de 0.00, 2.45, 4.00 y 8.00 mg/L de hierro dieron como resultado intensidades de 0.0, 1.2, 2.0 y 4.0.

Grafican los datos de la Tabla 3.10 se obtiene la Figura 2.11 donde se observa que los datos presentan una tendencia lineal.

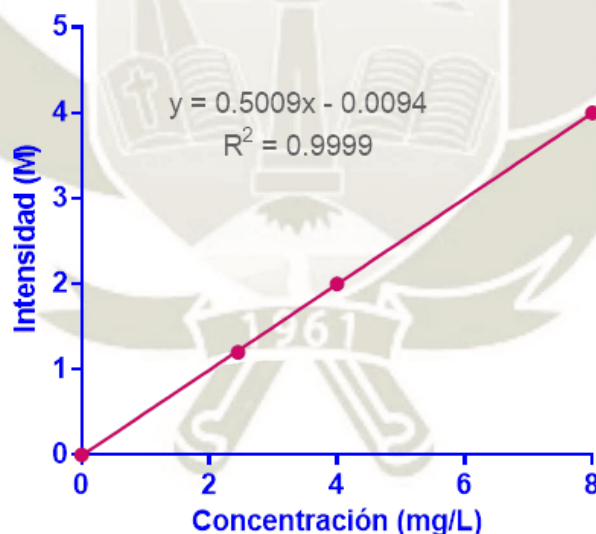
**Tabla 3.11.** Test de Tukey de la comparación de la capacidad antioxidante de los frutos de aguaymanto y Capulí por el método de DPPH

N	Concentración mg/ml	Intensidad (M)
1	0.00	0.0
2	2.45	1.2
3	4.00	2.0
4	8.00	4.0

En la Figura 2.11 se observa también la ecuación de la recta  $y = a + bx$  que se presenta a continuación:

$$y = 0.5009x - 0.0094 \quad [7]$$

Donde “y” corresponde a la absorbancia y “x” a la concentración de hierro en mg/L. además que el coeficiente  $R^2$  es mayor que 0.995 lo cual según la USP es considerado lineal (57).



**Figura 3.7** Gráfico de calibración correspondiente a las intensidades respecto a las concentraciones de hierro obtenidas en el ICP-OES

El interés en las propiedades antioxidantes de las frutas es relativamente reciente (58,59) algunas de las propiedades medicinales de la fruta de *P. peruviana* L. están asociadas con la capacidad antioxidante de los polifenoles presentes en la fruta. Algunos autores han reportado valores de capacidad antioxidante de la fruta de *P.*

*peruviana* L., determinada en términos de actividad del eliminador de radicales libres DPPH (método DPPH), la concentración de fenoles totales (método Folin-Ciocalteu) y el ensayo FRAP (reducción férrica / Poder antioxidante). Estos resultados pueden cambiar durante el almacenamiento debido a la degradación de la vitamina C y los compuestos fenólicos, disminuyendo la capacidad de eliminar los radicales libres (60,61). Otros autores han encontrado que la metodología DPPH se ve afectada por la reducción de la vitamina C y algunos ácidos orgánicos presentes naturalmente en las frutas (62,63). El proceso de oxidación del ácido ascórbico depende de la presencia de metales de transición como el cobre o el hierro (64), temperatura, concentración de sales, azúcares y pH, además de la presencia de oxígeno, enzimas, metales, catalizadores, aminoácidos, oxidantes y reductores inorgánicos (65), así investigaciones encontraron que el fruto de *P. peruviana* L presenta una capacidad antioxidante por DPPH de  $210.82 \pm 9.45 \mu\text{mol trolox}/100 \text{ g}$  muestra según Restrepo (2008) (66) y  $192.51 \pm 30.13 \mu\text{mol trolox}/100 \text{ g}$  según Botero (2008) (67) y un contenido de fenoles totales de  $40.45 \pm 0.93 \text{ mg ácido gálico}/100 \text{ g}$  y  $39.15 \pm 5.43 \text{ mg ácido gálico}/100 \text{ g}$  respectivamente.

### 3.4.2 DETERMINACIÓN DE HIERRO EN MUESTRAS

Para la cuantificación de hierro por ICP-OES en las muestras de Capulí y Aguaymanto se despejó la concentración de la ecuación de la recta obtenida [7] dando como resultado la siguiente fórmula que fue utilizada para realizar el cálculo de la concentración de hierro en las muestras.

$$\text{Concentración} = \frac{\text{Absorbancia} + 0.0094}{0.5009} \quad [8]$$

En la Tabla 3.11 se presentan los resultados luego de determinar el contenido de hierro en las muestras dando como resultado concentraciones de 15.12, 4.25 y 15.67 mg hierro/Kg de Capulí con pepa, sin pepa y Aguaymanto respectivamente.

**Tabla 3.12.** Concentración de hierro en mg/Kg de muestras de Capulí y Aguaymanto.

Muestra	Intensidad	Concentración (mg/L)	Concentración (mg/kg)
Capulí con pepa	0.14	0.30	15.12
Capulí sin pepa	0.03	0.08	4.25
Aguaymanto	0.15	0.31	15.67

En la determinación de compuestos polifenólicos totales por el método de Folin Ciocalteu (Tabla 3.4) se presentan los resultados luego de determinar los fenoles totales en las muestras dando como resultado concentraciones de  $98.3 \pm 0.12$  mg AG/L, de Capulí con pepa,  $75.0 \pm 0.20$  mg AG/L de Capulí sin pepa y  $26.5 \pm 0.12$  mg AG/L, de Aguaymanto indicando que hay una mayor concentración de compuestos polifenólicos a diferencia de las demás muestras con menor concentración, esta diferencia se debe al tipo de muestra usada en su forma completa del fruto.

La capacidad antioxidante por el método de Cuprac se realizó con los extractos etanolicos y metanolicos de la muestra liofilizada siendo su mayor capacidad antioxidante  $1.79 \pm 0.14$  mg Trolox /L Capulí con pepa  $1.70 \pm 0.13$  mg Trolox /L capulí sin pepa y  $1.69 \pm 0.12$  mg Trolox/L, Aguaymanto, llegando a la conclusión que el capulí en fruto entero contiene un alto porcentaje de antioxidantes.

Se determinó y comparó la capacidad antioxidante del extracto del fruto liofilizado de *Prunus serotina* “Capulí” y *Physalis peruviana* “Aguaymanto” por los métodos DPPH, CUPRAC. Al comparar la capacidades antioxidantes entre los métodos para Capuli y Aguaymanto, se infiere que el método más idóneo es CUPRAC en dichas especies de los frutos en comparación con el método DPPH, aconteciendo diferencias menormente significativas entre los 2 ensayos analíticos. Siendo el de superior capacidad

antioxidante para Capulí por el método de CUPRAC con  $1.79 \pm 0.14$  mg Trolox /L (Capulí con pepa)

Contrastando la capacidad antioxidante in vitro o entre las tres muestras respectivas de Los frutos de *Prunus serotina* “Capulí” y *Physalis peruviana* “Aguaymanto” en diferentes métodos, se concluyó que existe diferencia entre los frutos investigados mediante los dos métodos utilizados (CUPRAC Y DPPH).

Por ello, la suplementación y complementación es el método más frecuentemente recomendado para tratar la deficiencia de hierro y otros elementos para un correcto desarrollo de cada individuo (68). Sin embargo, implementar un planteamiento de suplementación no es fácil. Primero, se debe establecer la cantidad de hierro y otros elementos, suplementado para no exceder la cantidad de hierro requerida principalmente, además de la adherencia al consumo de suplementos por parte de la población objetivo también es esencial, particularmente cuando los suplementos deben ser consumidos por largos períodos (68,69). Así pues, el consumo de Aguaymanto y Capulí sería una alternativa a tomar en cuenta para suplementación de hierro en la dieta. sin embargo, la distribución defectuosa de los suplementos y la baja adherencia son los principales obstáculos para el éxito de los programas de suplementación (68).

Un estudio realizado en India entre mujeres que consumieron 60, 120 y 240 mg de hierro/día informó efectos gastrointestinales adversos en el 32%, 40% y 75% de los casos, respectivamente, y concluyó que los efectos adversos aumentaron a medida que aumentaron las dosis de suplementos de hierro. Es posible que las personas que experimentan más efectos adversos sean menos propensas a adherirse a la suplementación artificial (70). Esto nos indicaría, que el consumo natural de hierroy otros elementos, sería una alternativa viable y así poder optar por frutos de la región que contengan ciertos beneficios que ayuden a la suplementación con hierroy otros elementos necesarios para el organismo, por medio del consumo de Capulí y Aguaymanto, ya que algunos estudios demostraron la eficacia y el impacto positivo por consumir productos naturales, incluidas en su dieta principal de consumo, también se recalca que se debe tener en cuenta ciertas condiciones fisiológicas o patológicas para su consumo, eso podría ser influyente para la absorción de hierro

por parte del organismo, la composición de dichos elementos en los productos orgánicos ,mejoraran en forma progresiva, viendo cambios positivos desde su ingesta, comparados a su carencia inicial por la deficiencia de ciertos elementos imprescindibles para el organismo (68).

Cabe señalar que una proporción considerable de casos de anemia no son únicamente la consecuencia de la deficiencia de hierro. Si el objetivo de los programas de salud pública es mantener la anemia bajo control, el problema no puede considerarse únicamente como deficiencia de hierro. Un ensayo controlado aleatorio de mujeres de zonas rurales de Nepal, complementado con (a) ácido fólico, (b) ácido fólico más hierro, (c) ácido fólico más hierro más zinc y (d) ácido fólico más hierro más zinc más 11 otros micronutrientes y un grupo control tratado con vitamina A mostró mayores concentraciones de hemoglobina en aquellos que consumieron la combinación de ácido fólico más hierro. La adición de potenciadores de la absorción de hierro ha arrojado resultados exitosos en varios estudios. Recientemente, en Suecia, una bebida a base de avena a la que se añadieron ácido cítrico y fitasa para mejorar la absorción de hierro suplementado descubrió que el ácido cítrico mejoró la absorción de hierro en un 54% y el tratamiento con fitasa en un 78% (47).

La fortificación de los alimentos es la adición deliberada de uno o más micronutrientes a algunos alimentos altamente consumidos por la población con el objetivo de aumentar la ingesta de micronutrientes que tienen un déficit en la dieta de una población determinada para corregir o prevenir la deficiencia identificada y mejorar la salud de individuos. Para obtener los mejores resultados de un programa de fortificación, se recomienda una selección cuidadosa de los alimentos a los que se agregará hierro (54). Los alimentos seleccionados deben ser alimentos básicos frecuentemente consumidos por la población, de bajo costo y fácilmente disponibles. La elección del compuesto de hierro debe basarse en su biodisponibilidad y estabilidad; desafortunadamente, los compuestos de hierro más biodisponibles, es decir, sulfato ferroso o fumarato, con frecuencia causan cambios en el color, olor y sabor de los alimentos durante la preparación y el almacenamiento (2). Esto último no se presenta en los frutos de Capulí y Aguaymanto.

Sin embargo, la industria alimentaria se ha enfrentado con éxito a este desafío, ya

sea enmascarando los efectos sensoriales negativos de los fortificadores de hierro o seleccionando compuestos de hierro más sofisticados para fortificar los alimentos para garantizar el éxito de los programas de fortificación con resultados positivos de costo-beneficio (2).

La fortificación de alimentos con hierro se usa ampliamente en muchas partes del mundo. En casi 20 países de América Latina, se han implementado programas de fortificación de hierro, principalmente utilizando maíz o harina de trigo como vehículos alimenticios. En otras regiones del mundo, otros alimentos, como la salsa de pescado, la salsa de soja, la leche, el arroz, los productos de cacao y los subproductos de cereales como el pan, los cereales para el desayuno y los bocadillos se han utilizado como vehículo de hierro. Cabe señalar que la ingesta diaria de hierro depende de la cantidad de alimentos consumidos y el nivel de fortificación (68).

Varios estudios de eficacia y efectividad han demostrado el impacto de la fortificación en la mejora de la ingesta de hierro y, por lo tanto, en la disminución de la prevalencia de anemia. Los ejemplos incluyen los programas de fortificación en Chile (harina de trigo y leche en polvo para lactantes), Ghana (alimentos complementarios para niños), Guatemala (azúcar), Indonesia (salsa de soja), India (sal), México (alimentos complementarios para lactantes y leche en polvo) y Venezuela (harina de maíz y trigo) (71).

En México, un estudio documentó la disminución en la prevalencia de anemia (de 41.4% a 12.1%) durante un período de 6 meses en niños de 12 a 30 meses a través de la ingesta de leche fortificada, que se distribuye por un programa federal a aproximadamente 5 millones de niños viviendo en la pobreza (72).

Otro punto importante a considerar es que, se considera que los compuestos fenólicos (monómeros fenólicos, polifenoles, taninos) interfieren con la absorción de hierro por la formación compleja con hierro en la luz gastrointestinal, lo que hace que el hierro esté menos disponible para la absorción. Se sabe muy poco sobre la medida en que diferentes tipos de compuestos fenólicos de diferente tamaño y estructura química inhiben la absorción de hierro. La relación entre la absorción de hierro y la cantidad y tipo de compuestos fenólicos se estudió mediante el método de etiqueta

extrínseca, así un estudio revela que la inhibición de la absorción de hierro por el ácido tánico estuvo fuertemente relacionada con la dosis. La cantidad más pequeña (5 mg) inhibió la absorción en un 20 por ciento, 25 mg en un 67 por ciento y 100 mg en un 88 por ciento. El ácido gálico inhibió la absorción de hierro en la misma medida que el ácido tánico, por mol de grupos galloilo, mientras que no se observó inhibición cuando se añadió catequina a la comida de prueba. El ácido clorogénico inhibió la absorción de hierro en menor medida. El orégano y el té inhibieron la absorción de hierro en proporción a su contenido respectivo de grupos galloilo, mientras que el efecto inhibitorio de las espinacas fue menos marcado. El efecto inhibitorio del café se explica principalmente por su contenido de grupos galloilo, pero también por algún otro factor, probablemente el ácido clorogénico. Se concluye que el contenido de grupos galloilo que se unen al hierro podría ser un determinante importante del efecto inhibitorio de los compuestos fenólicos sobre la absorción de hierro de la dieta, mientras que los grupos fenólicos de catecol parecen ser de menor importancia. Los resultados sugieren además que el grupo de taninos condensados no interfiere con la absorción de hierro (73).

A diferencia de los grupos funcionales que inhiben la absorción del hierro, se sabe que el ácido ascórbico o vitamina C favorece la absorción del hierro al ser un reductor, la capacidad antioxidante presente en el Capulí y Aguaymanto estaría relacionada más con dicha vitamina que con otros metabolitos secundarios.

## CONCLUSIONES

**Primera:** La concentración de fenoles totales en Capulí con pepa, sin pepa y Aguaymanto son de  $98.3 \pm 0.12$  mg AG/L,  $75.0 \pm 0.20$  mg AG/L y  $26.5 \pm 0.12$  mg AG/L respectivamente encontrando que todas las concentraciones son diferentes al 95 % de confianza.

**Segunda:** La capacidad antioxidante por el método de Cuprac en las muestras de Capulí con pepa, sin pepa y Aguaymanto dieron como resultado  $1.79 \pm 0.14$  mg Trolox /L,  $1.70 \pm 0.13$  mg Trolox /L y  $1.69 \pm 0.12$  mg Trolox/L respectivamente, no existiendo diferencia significativa entre grupos al 95 % de confianza.

**Tercera:** La capacidad antioxidante por el método de DPPH en las muestras de Capulí con pepa, sin pepa y Aguaymanto dieron como resultado  $89.20 \pm 1.21$  mg DPPH/L,  $97.24 \pm 1.15$  mg DPPH /L y  $78.83 \pm 1.57$  mg DPPH /L respectivamente encontrando que todos los grupos difieren estadísticamente al 95 % de confianza.

**Cuarta:** Las muestras de Capulí con pepa, sin pepa y Aguaymanto presentan concentraciones de hierro de 15.12, 4.25 y 15.67 mg/Kg respectivamente.

## SUGERENCIAS

- Se sugiere cuantificar el ácido ascórbico o Vitamina C en los frutos de Capulí y Aguaymanto y relacionarla con la absorción del hierro.
- Se sugiere hacer estudios biológicos de captación de hierro y compuestos fenólicos.
- Se sugiere hacer estudios farmacológicos referidos a la absorción de compuestos antioxidantes y hierro



## REFERENCIA

1. Kędziora-Kornatowska K, Mađra-Gackowska K, Gackowski M. Anemia. Reference Module in Biomedical Sciences. Elsevier; 2019.
2. Shamah T, Villalpando S, De la Cruz V. Anemia. Segunda ed. Cuernavaca: International Encyclopedia of Public Health; 2016.
3. Alleyne M, McDonald K, Miller J. Individualized Treatment for Iron-deficiency Anemia in Adults. The American Journal of Medicine. 2008; 121(11): p. 943-948.
4. Abbaspour N, Hurrell R, Kelishadi R. Review on iron and its importance for human health. J Res Med Sci. 2014; 19(2): p. 164–174.
5. Xu D, Li Y, Xiao M, Zhou T, Zhou T, Zheng J, et al. Natural Antioxidants in Foods and Medicinal Plants: Extraction, Assessment and Resources. Int J Mol Sci. 2017; 18(1): p. 96.
6. Hough F. Black cherry (*Prunus serotina* Ehrh.). In Silvics of forest trees of the United States. Agriculture Handbook. Washington, DC: U.S. Department of Agriculture; 1965.
7. Marquis D. *Prunus serotina* Ehrh. Black Cherry Burns R, Honkala B, editors. Washington, D.C., USA.: Silvics of North America. Volume 2. Hardwoods. USDA Forest Service Agricultural Handbook USDA Forest; 1990.
8. Lull W. A forest atlas of the Northeast. USDA Washintong: Forest Service. Northeastern Forest Experiment Station Upper Darby; 1968.

9. Agapito F, Sung I. Fitomedicina:1100 Plantas Medicinales. Lima: Isabel; 2005.
10. Horsley B. Glucose-1-benzoate and prunasin. *Phytochemistry*. 1981; 20: p. 1127-1128.
11. Kingsbury J. Poisonous plants of the United States and Canada Washinton D.C.: 626 p.; 1964.
12. Hough F. Black cherry (*Prunus serotina* Ehrh.). In *Silvics of forest trees of the United States*. Fowells A, editor. Washington, DC.: Agriculture Handbook; 1965.
13. Bartholomäus A, de la Rosa A, Santos J, Acero L, Moosbrugger W. El Manto de la tierra Flora de los Andes: Guía de 150 especies de la flora andina. Tercera ed. Bogotá: CAR; 1998.
14. Evaluación de medios de cultivo para la micropropagación "in vitro" de Capulí (*Prunus serotina* ssp capulí Cav) a partir de segmentos nodales Quito, Pichincha. Tesis de título profesional. Quito: Universidad Central de Ecuador; 2014.
15. Cedeño M, Montenegro D. Plan exportador, logístico y comercialización de uchuva al mercado de Estados Unidos para FRUTEXPO SCI Ltda. Tesis de título profesional. Bogotá: Pontificia Universidad Javeriana; 2004.
16. Tapia M, Fries A. Guía de campo de los cultivos andino Lima: FAO y ANPE; 2007.
17. Legge A. Notes on the history, cultivation and uses of *Physalis peruviana* L. *Journal of the Royal Horticultural Society*. 1974; 99(7): p. 310–314.
18. Brito D. Producción de uvilla para exportación. Agroexportación de productos no tradicionales Quito: Fundación Aliñamb; 2002.
19. Almanza P, Espinosa C. Desarrollo morfológico y análisis físico químico de frutos de uchuva *Physalis peruviana* L. para identificar el momento óptimo de cosecha. Tesis de especialidad. Tunja: Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia; 1995.
20. Fischer G, Florez V, Sora A. Producción, poscosecha y exportación de la uchuva. Tesis de título profesional. Bogotá: Universidad Nacional de Colombia; 2000.

21. Puente L, Pinto C, Castro E, Cortés M. *Physalis peruviana* Linnaeus, the multiple properties of a highly functional fruit: A review. *Food Research International*. 2011; 44: p. 1733–1740.
22. Rodríguez S, Rodríguez E. Efecto de la ingesta de *Physalis peruviana* (aguaymanto) sobre la glicemia postprandial en adultos jóvenes. *Revista Médica Vallejana*. 2007; 4(1): p. 43–52.
23. CCI. Uchuva. Perfil de producto. Corporación Colombia Internacional. Bogotá: Sistema de Inteligencia de Mercados; 2001.
24. Zavala D, Mauricio Q, Pelayo A, Posso M, Rojas J, Wolach V. Citotoxic effect of *Physalis peruviana* (capuli) in colon cancer and chronic myeloid leukemia. *Anales de la Facultad de Medicina*. 2006; 67(4): p. 283–289.
25. Franco L, Matiz G, Calle J, Pinzon R, Ospina L. Antiinflammatory activity of extracts and fractions obtained from *Physalis peruviana* L. calyces. *Biomedica*. 2007; 27(1): p. 110–115.
26. Valko M, Rhodes C, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interact*. 2006; 160(1): p. 1–40.
27. Seifried H, Anderson D, Fisher E, Milner J. A review of the interaction among dietary antioxidants and reactive oxygen species. *J. Nutr. Biochem*. 2007; 18(9): p. 567–579.
28. Winterbourn C. Are free radicals involved in thiol-based redox signaling? *Free Radic. Biol. Med*. 2015; 80: p. 164–170.
29. Phaniendra A, Jestadi D, Periyasamy L. Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian J. Clin. Biochem*. 2015; 30(1): p. 11–26.
30. Liochev S. Reactive oxygen species and the free radical theory of aging. *Free Radic. Biol. Med*. 2013; 60: p. 118–126.

31. Jomova K, Valko M. Free radicals, signal transduction, and human disease. In: *Oxidative Stress in Vertebrates and Invertebrates: Molecular Aspects of Cell Signaling* Farooqui T, Farooqui A, editors.: Wiley-Blackwell; 2012.
32. Singh R, Devi S, Gollen R. Role of free radical in atherosclerosis, diabetes and dyslipidaemia: larger-than-life. *Diabetes Metab. Res. Rev.* 2015; 31(2): p. 113–126.
33. Del Rosario G. Evaluación de la Actividad Antioxidante de la Chaya (*Cnidocolus chayamansa*) en un Modelo Experimental de Diabetes en Ratas Wistar. Tesis de Maestría. Santiago de Querétaro: Instituto Politécnico Nacional; 2007.
34. Dixon R, Paiva N. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plan Cell.* 1995; 7: p. 1085 – 1097.
35. D'Archivio M, Filesi C, Di Benedetto R, Gargiulo R, Giovannini C, Masella R. Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali-Istituto Super. Sanita.* 2007; 43: p. 348.
36. Holland B, Agyei D, Akanbi T, Wang B, Barrow C.. Bioprocessing of plant-derived bioactive phenolic compounds A2-grumezescu, Alexandru mihai. In: Holban, A.M.: *Food Biosynthesis.* Academic Press; 2017.
37. Jiménez P, Girbes J. Radicales libres y capacidad antioxidante dietarios. Índice de capacidad antioxidante total mediante el método Cuprac. Tesis de especialidad. Valladolid: Universidad de Valladolid; 2013.
38. Nayra E. Estudio fitoquímico preliminar y actividad antioxidante de las hojas de *Achyrocline alata* DC. (Huirra-Huirra) y su relación con su contenido de compuestos fenólicos totales”, Arequipa 2014. Tesis de Título Profesional. Arequipa: Universidad Católica de Santa María; 2014.
39. Naczk M, Shahidi F. Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and análisis. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* 2006; 41: p. 1523 –1542.

40. García M. De Palcual-Teresa S, Santos-Buelga C, Rivas-Gonzalo JC. Evaluation of the antioxidant properties of fruit. *Food Chemistry*. 2004; 84: p. 13 – 18.
41. Arts I, Hollman P. Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. *American Journal of Clinical Nutrition*. 2005; 81: p. 317 – 325.
42. Carratú B, Sanzini E. Sostanze biologicamente attive presenti negli limenti di origine vegetale. *Ann. Ist. Super Sanita*. 2005; 41: p. 7 – 16.
43. Teves F, Torres R. Estudio comparativo de la actividad antioxidante in vitro de los extractos antociánicos y caracterización de las antocianidinas en los frutos de las especies vegetales *Prunus serotina* (Capuli), *Muehlenbeckia volcanica* (Benth.) Endl. (Mullak'a), *Monnina*. Tesis de Título Profesional. Cusco: Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; 2011.
44. Bruneton J. *Pharmacognosie-Phytochimie-Plantas medicinales*. Segunda ed. Zaragoza: Editorial Acribia S.A.; 2001.
45. Kapur D, Agarwal K, Agarwal D. Nutritional anemia and its control. *Ind. J. Pediatr*. 2002; 69: p. 607–616.
46. Galloway R. e International Nutritional, Anemia Consultative, Group (INACG). *Anemia Prevention and Control: What Works. Part I. Program Guidance*. Washington, DC.: USAID; 2003a.
47. UNICEF. *Vitamin and Mineral Deficiency. Global Progress Report. The Micronutrient Initiative*. Ottawa; 2004.
48. Galloway, R. e International Nutritional, Anemia Consultative, Group (INACG). *Anemia Prevention and Control: What Works. Part II Tools and Resources* Washington, DC.: USAID; 2003b.
49. Beard J. Iron requirements in adolescent females. *J. Nutr*. 2000; 130: p. 440–442.
50. Beutler E, Waalen J. The definition of anemia: what is the lower limit of normal of the blood hemoglobin concentration ? *Blood*. 2006; 107(5): p. 1747–1750.

51. OMS. Assessing the Iron Status of Populations: Including Literature Reviews: Report of a Joint World Health Organization/Centers for Disease Control and Prevention Technical Consultation on the Assessment of Iron Status at the Population Level. Segunda ed. Switzerland,: Organización Mundial de la Salud; 2004.
52. OMS. Worldwide Prevalence of Anaemia Benoist B, Mclean E, Egli I, Cogswell M, editors.: Organización Mundial de la Salud; 2005.
53. Kassebaum N. A systematic analysis of global anemia burden from 1990 to 2010. *Blood*. 2014; 123(5): p. 615–624.
54. Grantham-McGregor S, Ani C. A review of studies on the effect of iron deficiency on cognitive development in children. *J. Nutr*. 2001; 131: p. 649–668.
55. INACG. Iron deficiency in early life: challenges and progress. In: Report of the 2004 International Nutritional Anemia Consultative Group Symposium. Lima: International Nutritional Anemia Consultative Group ; 2004.
56. Langseth L. Oxidants, Antioxidants and Disease Prevention Brussels: International Life Science Institute,; 1996.
57. Quattrocchi O, Abelaira S, Laba E. Introducción al HPLC. Aplicación y Práctica Buenos Aire: Universitaria de Buenos Aires; 1992.
58. Liu H, Qiun , Ding H, Yao R. Polyphenols contents and antioxidant capacity of 68 Chinese herbals suitable for medical or food uses. *Food Research International*. 2008; 41(4): p. 363–370.
59. Vijaya C, Sreeramulu D, Raghunath M. Antioxidant activity of fresh and dry fruits commonly consumed in India. *Food Research International*. 2010; 43(1): p. 285–288.
60. Baniyas C, Oreopoulou V, Thomopoulos C. The effect of primary antioxidants and synergists on the activity of plant extracts in lard. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 1992; 69(6): p. 520–524.

61. Peyrat M, Bonnely S, Rondini L, Berset C. Effect of vitamin E and vitamin C on the antioxidant activity of malt rootlets extracts. *Lebensmittel Wissenschaft und Technologie*. 2001; 34(3): p. 176–182.
62. Kayashima T, Katayama T. Oxalic acid is available as a natural antioxidant in some systems. *BBA-General Subjects*. 2002; 1573(1): p. 1-3.
63. Scalzo J, Politi A, Pellegrini N, Mezzetti B, Battino M. Plant genotype affects total antioxidant capacity and phenolic contents in fruit. *Nutrition*. 2005; 21(2): p. 207–213.
64. Burdurlu H, Koca N, Karadeniz F. Degradation of vitamin C in citrus juiceconcentrates during storage. *Journal of Food Engineering*. 2006; 74(2): p. 211–216.
65. Cheel J, Theoduluz C, Rodriguez J, Caligari P, Schmeda-Hirschmann G. Free radical scavenging activity and phenolic content in achenes and thalamus from *Fragaria chiloensis* ssp. *chiloensis*, *F. vesca* and *F. x ananassa* cv. Chandler. *Food Chemistry*. 2007; 102(1): p. 36–44.
66. Restrepo A. Nuevas perspectivas de consumo de frutas: Uchuva (*Physalis peruviana* L.) y Fresa (*Fragaria vesca* L.) mínimamente procesadas fortificadas con vitamina E. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Tesis de Maestría. Medellín: Universidad Nacional de Colombia; 2008.
67. Botero A. Aplicación de la Ingeniería de Matrices en el desarrollo da la uchuva mínimamente procesada fortificada con calcio y vitaminas C y E.. Tesis de Maestría. Medellín: Universidad de Antioquía; 2008.
68. Allen L, de Benoist B, Dary O, Hurrell R. Guidelines on Food Fortification with Micronutrients Geneva: World Health Organization (WHO/FAO); 2006.
69. Cogswell M, Parvanta I, Ickes L, Yip R, Brittenham G. Iron supplementation during pregnancy, anemia, and birth weight: a controlled trial. *Am. J. Clin. Nutr.* 2003; 78: p. 773–781.

70. Beaton G, McCabe G. Efficacy of Intermittent Iron Supplementation in the Control of Iron Deficiency Anaemia in Developing Countries: An Analysis of Experience Ottawa: Micronutrient Initiative; 1999.
71. Zimmermann B, Zeder C, Chaouki N, Saad A, Terresani T, Hurrell R. Dual fortification of salt with iodine and microencapsulated iron: a randomized, double-blind, controlled trial in Moroccan schoolchildren. *Am. J. Clin. Nutr.* 2003; 77: p. 425–432.
72. Villalpando S, Shamah T, Rivera J, Lara Y, Monterrubio E. Fortifying milk UIT ferrous gluconate and zinc oxide in a public nutrition program reduced the prevalence of anemia in toddlers. *J. Nutr.* 2006; 24: p. 2633–2637.
73. Brune M, Rossander L, Hallberg L. Iron absorption and phenolic compounds: importance of different phenolic structures. *European Journal of Clinical Nutrition.* 1989; 43(8): p. 547-557.
74. Bresson, C.; Vio, L.; Vercouter Leclercq, A.; Nonell, A.; Todolí Torró, J. L.; T.; Chartier, F., Introduction of organic/hydro-organic matrices in inductively coupled plasma optical emission spectrometry and mass spectrometry: A tutorial review. Part II. Practical considerations. *Analytica Chimica Acta* 2015, 885, 57-92
75. Brunton (Ed). Goodman & Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 11th ed. Section XV. Toxicology. Chapter 65. Heavy metals and heavy-metal antagonists. Pp. 1126-1140
76. Huang D, Ou B, Prior R. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *J Agric Food Chem.* 2005;53(6):18–41–56.
77. Huang D, Ou B, Prior R. The Chemistry behind Antioxidant Capacity Assays. *J Agric Food Chem.* 2005;53(6):1841–57.
78. Forman HJ, Zhang H, Rinna A. Glutathione: Overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis. *Mol Aspects Med.* 2009;30(2):1–12.

## ANEXOS

### Anexo 1. Identificación taxonómica de Capulí



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



#### CONSTANCIA Nº 048-2019-HUSA

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

HACE CONSTAR:

Que la muestra fresca del espécimen presentada por **Watson Carlos Castillo Apaza y Daniel Tony Manchego Vera**, egresado de la de la Universidad Católica de Santa María, para la ejecución de su Tesis "Determinación de hierro total, polifenoles y capacidad antioxidante del extracto de *Prunus serótina* "CAPULI" y *Physalis peruviana* "AGUAYMANTO". Arequipa 2019". La muestra fue traída al Laboratorio de Botánica al estado fenológico fresco, para su determinación en el *Herbarium Arequipense (HUSA)* y corresponde a la siguiente clasificación y especie.

Reino	Plantae
Division	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Rosidae
Orden	Rosales
Familia	Rosaceae
Genero	<i>Prunus</i>
Especie	<i>Prunus serotina</i> Ehrh.

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

Arequipa 28 de mayo del 2019.

  
Blgo. Leoncio Mariño Herrera  
DIRECTOR  
*Herbarium Arequipense (HUSA) / NSA*



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

**Anexo 2.** Identificación taxonómica de Aguaymanto



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



**CONSTANCIA Nº 047-2019-HUSA**

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

HACE CONSTAR:

Que la muestra fresca del espécimen presentada por **Watson Carlos Castillo Apaza** y **Daniel I Tony Manchego Vera**, egresado de la de la Universidad Católica de Santa María, para la ejecución de su Tesis "**Determinación de hierro total, polifenoles y capacidad antioxidante del extracto de Prunus serótina "CAPULI" y Physalis peruviana "AGUAYMANTO". Arequipa 2019**". La muestra fue traída al Laboratorio de Botánica al estado fenológico fresco, para su determinación en el *Herbarium Arequipense* (HUSA) y corresponde a la siguiente clasificación y especie.

Reino	Plantae
Division	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Asteridae
Orden	Solanales
Familia	Solanaceae
Genero	<i>Physalis</i>
Especie	<i>Physalis peruviana</i> L.

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

Arequipa 28 de mayo del 2019.

  
Blgo. Leoncio Mariño Herrera  
DIRECTOR  
*Herbarium Arequipense* (HUSA) UNSA



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

**Anexo 3. ANOVA fenoles totales**

<b>Fuente</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>Gl</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
Entre grupos	803603.	2	401801.	180810.60	0.0000
Intra grupos	13.3333	6	2.22222		
Total (Corr.)	803616.	8			

**Anexo 4. ANOVA Cuprac**

<b>Fuente</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>Gl</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
Entre grupos	0.0176889	2	0.00884444	0.52	0.6196
Intra grupos	0.102267	6	0.0170444		
Total (Corr.)	0.119956	8			

**Anexo 5. ANOVA DPPH**

<b>Fuente</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>Gl</b>	<b>Cuadrado Medio</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
Entre grupos	584.611	2	292.306	146.14	0.0000
Intra grupos	12.0009	6	2.00016		
Total (Corr.)	596.612	8			