

UNIVERSIDAD CATÓLICA DE SANTA MARÍA

FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS, BIOQUÍMICAS Y
BIOTECNOLÓGICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICAS



**DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS POLIFENÓLICOS Y EVALUACIÓN DEL
EFECTO ANTIOXIDANTE DEL FRUTO DE *Physalis peruviana* "AGUAYMANTO"
COMPARADO CON SU PRODUCTO LIOFILIZADO**

Tesis presentada por los bachilleres en
Farmacia y Bioquímica:

**ARROYO OVIEDO, LEVIN OVAL
DELGADO ANYOSA, LUIS ALONSO**

Para optar el Título Profesional de:
QUIMICO FARMACÉUTICO

Asesor: Ph.D. JAIME CARDENAS GARCIA

Arequipa- Perú

2016

DEDICATORIA

Dedico este trabajo de tesis sobre todo a Dios, a la Virgen del Rosario por iluminarme y derramar sus bendiciones para concluirla, y darme las fuerzas para poder seguir adelante con todos mis proyectos.

A mis abuelos Cancio Arroyo y Manuel Oviedo por sus sabios consejos, ya que desde el cielo me cuidan.

A mi madre ya que tú eres la fuerza que me empuja a seguir hacia adelante, gracias por tus consejos y reprimendas.

A mi padre por apoyarme en mi carrera universitaria y ser el ejemplo de superación.

A mis hermanos Michael y Rubí por apoyarme incondicionalmente en mi vida.

Especialmente este trabajo lo dedico a mi hija Amber Valeria ya que ella es la fuerza para continuar y mis ganas de vivir te amo hijita linda.

A mi esposa Carmen por ser la fuerza en mi hogar y ayudarme a superarme cada día de mi vida quien amo y adoro en esta vida.

“Hay hombres que luchan un día y son buenos. Hay otros que luchan un año y son mejores. Hay quienes luchan muchos años, y son muy buenos. Pero los hay que luchan toda la vida: esos son los imprescindibles.”

Bertolt Brecht

Levin Oval Arroyo Oviedo

Dedico este trabajo de tesis a Dios y a la Virgen María por estar siempre conmigo y darme su amor bondad y fuerzas para seguir adelante y no darme por vencido, a pesar del tiempo y los obstáculos permitiéndome lograr mis objetivos.

A mi madre Blanca Yanina Anyosa Gutiérrez por apoyarme siempre por sobre todas las cosas, por ser la persona más querida en mi vida, sin su ayuda no hubiese terminado esta tesis muchas gracias te amo te quiero mucho mamá

A mi mami Leandra Jesús que siempre desde el cielo me ilumina y me cuida y por siempre te llevare en mi corazón.

A mi tía Lucero Jesús por ser el faro que me guía y me aconsejo en toda mi vida universitaria.

A mi tía Katy por apoyarme y empujarme a seguir adelante en mi vida profesional.

Luis Alonso Delgado Anyosa

AGRADECIMIENTOS

Nos gustaría agradecer a todas las personas que nos ayudaron y apoyaron para concluir este trabajo de tesis.

Agradecimiento especial al Dr. Jaime Cárdenas por brindarnos su ayuda, tiempo y paciencia como también sus consejos para asesorarnos y concluir este trabajo de tesis.

De igual importancia agradecemos Dra. Jesús Zambrano por ser una gran persona brindándonos sus consejos y apoyo para culminar este trabajo de tesis.

Al Dr. Juan Ramírez por sus consejos y apoyo para las correcciones de este trabajo.

Al Dr. Fernando Torres por ayudarnos en la redacción y consejos para nuestra tesis.

Al laboratorio de control de calidad por su apoyo incondicional y amistad brindada por tanto tiempo y al Dr. José Villanueva por brindarnos información y ayuda con los reactivos. De corazón muchas gracias a todos.

INDICE DE CONTENIDOS

DEDICATORIA.....	I
AGRADECIMIENTOS.....	III
RESUMEN.....	VII
ABSTRACT.....	X
INTRODUCCION.....	1
OBJETIVOS.....	3
HIPOTESIS.....	4
CAPITULO I	
MARCO TEORICO	
1.1 <i>PHYSALIS PERUVIANA</i> “AGUAYMANTO”.....	5
1.1.1 CLASIFICACION TAXONOMICA.....	6
1.1.2 DISTRIBUCION GEOGRAFICA, REQUERIMIENTOS CLIMATICOS.....	7
1.1.3 DESCRIPCION BOTANICA.....	7
1.1.4 USOS Y PROPIEDADES MEDICINALES.....	10
1.2 RADICALES LIBRES, ESTRÉS OXIDATIVO Y ANTIOXIDANTE.....	12
1.2.1 RADICALES LIBRES.....	12
1.2.2 DAÑO PRODUCIDO POR LOS RADICALES LIBRES.....	14
1.2.3 ESTRÉS OXIDATIVO.....	15
1.2.4 ANTIOXIDANTES.....	16
1.2.4.1 CLASIFICACION DE LOS ANTIOXIDANTE.....	17
1.3 COMPONENTES BIOACTIVOS CON CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE <i>PHYSALIS PERUVIANA</i>	18
1.3.1 COMPUESTOS FENÓLICOS.....	18
1.3.2 ACCION ANTIOXIDANTE DE LA VITAMINA C.....	19

1.3.3 CAROTENOIDES.....	20
1.3.4 FLAVONOIDES.....	22
1.3.5 ACCION ANTIOXIDANTE DE LOS FLAVONOIDES FRENTE A RADICALES LIBRES.....	24
1.3.6 WITHANOLIDOS.....	25
1.3.7 FISALINAS.....	26
1.4 LIOFILIZACION.....	27

CAPITULO II

MATERIALES Y METODOS

2.1 LUGAR DE INVESTIGACION.....	29
2.2 MATERIALES.....	29
2.2.1 MATERIAL VEGETAL.....	29
2.2.2 REACTIVOS QUIMICOS.....	29
2.2.3 MATERIAL DE LABORATORIO.....	30
2.2.4 EQUIPOS.....	31
2.3 METODOS.....	31
2.3.1 RECOLECCION, SELECCIÓN Y ALMACENAMIENTO DE LA MUESTRA.....	31
2.3.2 OBTENCION DE EXTRACTO.....	32
2.3.2.1. METODO: SISTEMA DE EXTRACCION POR EQUIPO SOXHLET.....	32
2.3.2.1.2 FUNDAMENTO.....	33
2.3.2.1.3 PROCEDIMIENTO.....	33
2.4 METODO GRAVIMETRICO: DETERMINACION DEL EXTRACTO SECO.....	34
2.4.1 FUNDAMENTO.....	34
2.4.2PROCEDIMIENTO.....	34
2.5 LIOFILIZACION.....	35

2.5.1 PROCEDIMIENTO.....	35
2.6 ANALISIS POR CROMATOGRAFIA DE CAPA FINA (CCF).....	36
2.6.1 FUNDAMENTO.....	37
2.6.2 PROCEDIMIENTO.....	37
2.6.3 FACTOR DE RETRASO.....	38
2.6.4 IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS.....	38
2.7 DETERMINACION DE COMPUESTOS POLIFENOLICOS TOTALES (CPT).....	39
2.7.1 METODO DE FOLIN-CIOCALTEU.....	39
2.7.2 DETERMINACION DE COMPUESTOS POLIFENOLICOS POR ESPECTROFOTOMETRIA.....	41
2.8 DETERMINACION DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTES.....	44
2.8.1 METODO CUPRAC (ION CUPRICO REDUCCION DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE).....	44
2.8.2 DETERMINACION DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE POR ESPECTROFOTOMETRIA.....	45
 CAPITULO III RESULTADOS Y DISCUSION 	
3.1.- RECOLECCION.....	47
3.2.- PREPARACION DE LOS EXTRACTOS Y LA DETERMINACION DEL PORCENTAJE DE RENDIMIENTO.....	48
3.2.1 OBTENCION DE EXTRACTOS.....	48
3.2.1.1 EXTRACTO ETANOLICO OBTENIDO POR EL METODO DE EXTRACCION SOXHLET.....	48
3.2.1.2 EXTRACTO METANOLICO OBTENIDO POR EL METODO DE EXTRACCION SOXHLET.....	50
3.2.1.3 EXTRACTO HEPTANICO OBTENIDO POR EL METODO DE EXTRACCION SOXHLET.....	51
3.3 LIOFILIZACION DE MUESTRA DE PHYSALIS PERUVIANA.....	52
3.4 CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA	53

3.4.1 ANÁLISIS FITOQUIMICO PRELIMINAR: CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA.....	53
3.5 DETERMINACION DE COMPUESTOS POLIFENOLICOS TOTALES (CPT).56	
3.5.1 EXTRACTO ETANOLICO DESECADO POR MÉTODO SOXHLET.....	61
3.5.2 EXTRACTO METANOLICO DESECADO POR MÉTODO SOXHLET.....	62
3.5.3 EXTRACTO ETANOLICO LIOFILIZADO POR MÉTODO SOXHLET.....	63
3.5.4 EXTRACTO METANOLICO LIOFILIZADO POR MÉTODO SOXHLET.....	64
3.6 DETERMINACION DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE POR EL METODO DE CUPRAC.....	65
3.7 ANÁLISIS COMPARATIVOS DE LAS MUESTRAS.....	73
3.8 ANALISIS ESTADISTICO.....	75
IV. DISCUSIÓN.....	80
V. CONCLUSIONES.....	81
VI. SUGERENCIAS.....	82
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	83
VIII. ANEXOS.....	89

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se utilizó el fruto de la *Physalis peruviana* “Aguaymanto”, la muestra fue recolectada del distrito de Orcopampa, provincia de Castilla departamento de Arequipa; las cuales se realizaron dos tipos de tratamiento.

Una primera muestra fresca se seleccionó de acuerdo a la Norma técnica Colombiana (NTC 4580) de acuerdo a su color y tamaño, se cortó en rodajas y se llevó al horno desecador por un tiempo de 7 horas a una temperatura de 60°C. Se pesaron 10 gramos de dicha muestra y se realizó las extracciones con el método de Soxhlet con los solventes: etanol, metanol y heptano, se obtuvo el porcentaje de rendimiento de 30.96%, 42,27% y 0,102% respectivamente.

La segunda muestra de aguaymanto se dio un tratamiento de liofilización, el cual se cortó en mitades y se llevó al equipo liofilizador, se pesó 10 gr de dicha muestra y se llevó al equipo de extracción Soxhlet usando como solventes: etanol, metanol y heptano, se obtuvo el porcentaje de rendimiento de 44.82%, 54,77% y 0,815% respectivamente.

En el proceso de investigación se dejó de lado el extracto con heptano ya que este solvente es apolar y la extracción con dicho solvente era poco significativa para la investigación.

Se determinó el contenido de compuesto fenólicos totales por el método de Folin-Ciocalteu el cual los valores son 145.92 mg GAE/10 g de extracto etanolico desecado y de 151,053 mg GAE/10 g de extracto etanolico liofilizado obtenido por método Soxhlet, y la muestra metanolica los valores son de 123,757 mg GAE/10 g de extracto metanolico desecado y de 137,025 mg GAE/10 g de extracto metanolico liofilizado obtenido por método Soxhlet.

Finalmente se determinó la capacidad antioxidante mediante el método de CUPRAC donde la mayor capacidad antioxidante se obtuvo en la muestra liofilizada, para los extractos etanolicos liofilizado se obtuvo 13.8 mmol Eq de ácido ascórbico/10 g muestra, el extracto metanolico de la muestra liofilizada se obtuvo un valor de 12.9 mmol Eq de ácido ascórbico/10 g muestra; en la muestra desecada el extracto etanolico tiene un valor de 8,7 mmol Eq de ácido ascórbico/10 g, el extracto metanolico de la muestra desecada se obtuvo un valor de 7,2 mmol Eq de ácido ascórbico/10 g.

La mayor capacidad antioxidante y compuestos fenólicos se determinó en la muestra liofilizada tanto en los extractos de muestras etanolica y metanolica realizando las extracciones de los principios activos por el método.

ABSTRACT

The present research the fruit of *Physalis peruviana* "Aguaymanto" used the sample was collected from Orcopampa district, province of Castilla department of Arequipa; which two types of treatment were made.

A first fresh sample was selected according to the Colombian Technical Standard (NTC 4580) according to their color and size, cut into slices and took the desiccator oven for a time of 7 hours at a temperature of 60 ° C. 10 grams of the sample were weighed and the extractions was performed with the Soxhlet method with solvents: ethanol, methanol and heptane, 30.96 percent yield%, 42.27% and 0.102% respectively was obtained.

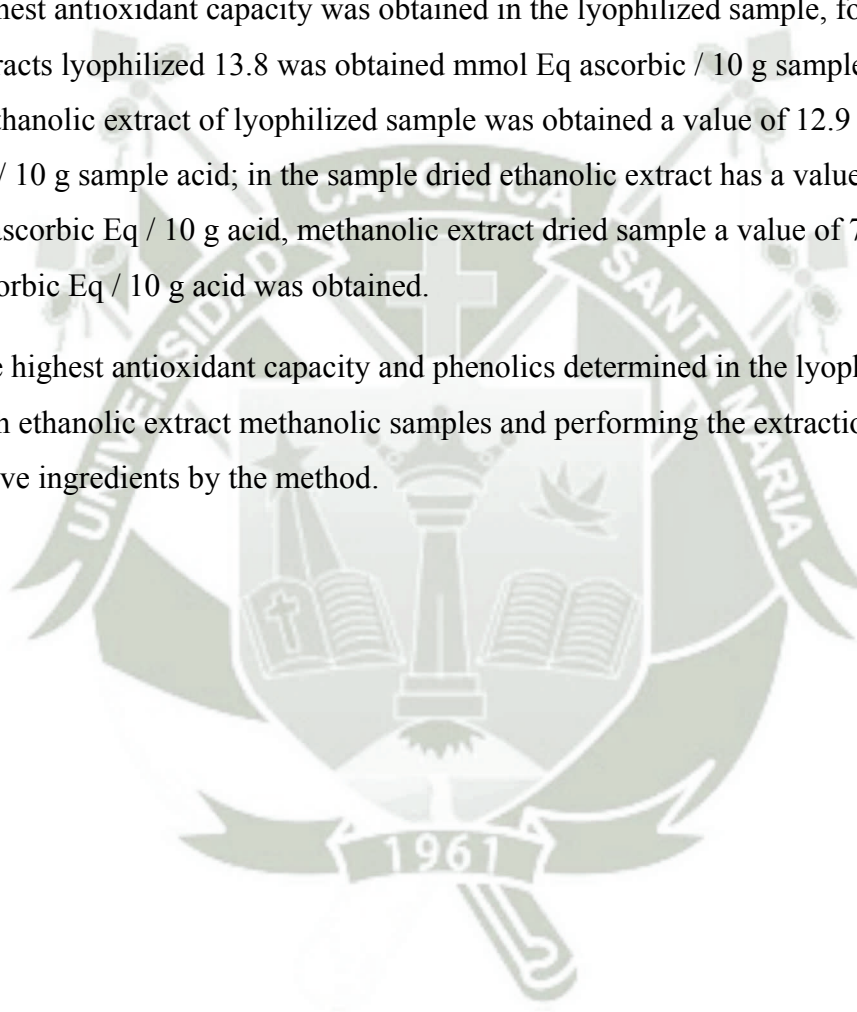
The second sample aguaymanto treatment lyophilization, which was cut into halves and took the lyophilizer equipment, gave 10 g of the sample was weighed and brought to the equipment Soxhlet extraction using as solvents: ethanol, methanol and heptane, the percentage of 44.82% yield, 54.77% and 0.815% respectively was obtained.

In the research process was set aside extract with heptane as this is nonpolar solvent and said solvent extraction was insignificant for research.

the content of total phenolic compound was determined by the Folin-Ciocalteu which values are 145.92 mg GAE / 10 g of dried ethanol extract and 151.053 mg GAE / 10 g of freeze-dried ethanolic extract obtained by Soxhlet method, and the sample methanolic values are of 123.757 mg GAE / 10 g of dried methanol extract and 137.025 mg GAE / 10 g of freeze-dried extract obtained by Soxhlet methanolic method.

Finally antioxidant capacity was determined by the method CUPRAC where the highest antioxidant capacity was obtained in the lyophilized sample, for the ethanolic extracts lyophilized 13.8 was obtained mmol Eq ascorbic / 10 g sample acid, methanolic extract of lyophilized sample was obtained a value of 12.9 mmol ascorbic Eq / 10 g sample acid; in the sample dried ethanolic extract has a value of 8.7 mmol of ascorbic Eq / 10 g acid, methanolic extract dried sample a value of 7.2 mmol of ascorbic Eq / 10 g acid was obtained.

The highest antioxidant capacity and phenolics determined in the lyophilized sample both ethanolic extract methanolic samples and performing the extractions of the active ingredients by the method.



INTRODUCCION

El Perú es un país muy propicio para el cultivo de frutos, tiene una enorme variedad de suelos y climas, hace que sea ideal para el desarrollo de estas diversidades de frutos.

La *Physalis peruviana* más conocida en el Perú por el nombre de “aguaymanto” fue una fruta nativa consumida por antiguos peruanos tales como los incas y cultura anteriores a esta, se relata que en el jardín de los nobles emperadores incas, el “aguaymanto ha sido una de sus plantas preferidas, que fue cultivada en el valle sagrado de los incas con dedicación.

A nivel de América posee distintos nombres en varios dialectos, en quechua “topo” en aymara “Uchuva”, “cuchuva” en español se denomina “Guinda serrana”, “aguaymanto”, “tomatillo”, “uvilla” (Perú); en Bolivia se denomina “capulí o motojobobo embolsado”; En Colombia “Uchuva” “uvilla” “guchuva” en Venezuela se conoce como “cereza de judas”, “Topo-topo” en Ecuador se la conoce como “uvilla” y en México como “cereza del Perú”; por su parte en inglés se le conoce como Golden Berry, cape gooseberry, giant groundcherry, peruvian groundcherry, peruvian cherry (U.S) poha (Hawai), jam fruit (India) *Physalis*. (1)

Numerosas publicaciones confieren a la especie propiedades beneficiosas para el ser humano, tanto medicinales como nutricionales. Posee vitaminas A, C y complejo B (rico en pectinas), además de hierro y fósforo. Por lo tanto, este fruto puede tener más de un uso: alimenticio, medicinal y también ornamental. En cuanto al uso alimenticio puede optar distintas vías de comercialización, como fruto fresco (con/sin cáliz), fruto congelado, fruto deshidratado o fruto para proceso industrial (mermeladas, pulpa, néctares, conservas).

Los antioxidantes constituyen un grupo de sustancias que, cuando están presentes en bajas concentraciones, inhiben o retrasan los procesos oxidativos, a través de mecanismos que conllevan a su propia oxidación. Los suplementos antioxidantes de las frutas que contienen antioxidantes, pueden ser usados para reducir los daños

oxidativos relacionados con la edad y con enfermedades como la arterioesclerosis purificar la sangre, tonifica el nervio óptico y es benéfica para diabéticos, entre otros.

Se estudió la capacidad antioxidantes y determinación de compuestos polifenólicos totales que están presentes en el fruto de *Physalis peruviana*, y así fomentar el consumo de aguaymanto en la dieta diaria y así prevenir enfermedades causadas por procesos oxidativos, y de contribuir a la investigación de la flora científica del Perú.



OBJETIVOS

1. Obtener extractos metanólicos y etanólicos de las muestras desecadas y liofilizadas de *Physalis peruviana* “Aguaymanto” por método Soxhlet y determinación de componentes bioactivos por cromatografía de capa fina.
2. Determinación de los compuestos polifenólicos totales por método de Folin-Ciocalteu y capacidad antioxidante por método de Cuprac de los extractos etanólicos y metanólicos del fruto de “Aguaymanto”
3. Comparación cuantitativa de los compuestos fenólicos totales y capacidad antioxidante de los extractos del fruto de “Aguaymanto” obtenidos en el proceso de liofilización y desecación por estufa.



HIPOTESIS

Dado que algunos componentes polifenólicos presentes en el fruto de aguaymanto podrían tener efecto antioxidante, es probable que estos componentes varíen en su composición cualitativa y cuantitativa, luego del proceso de liofilización.

CAPITULO I MARCO TEORICO

1.1 *Physalis Peruviana* “Aguaymanto”

El “Aguaymanto” pertenece al género *Physalis* y comprende entre 75 y 90 especies familia Solanáceas, cuyos frutos se forman y permanecen dentro del cáliz durante todo su desarrollo. Existen dudas si el “Aguaymanto” (*Physalis peruviana* L.) es originaria del Perú (2) o proviene del Brasil y que ha sido adaptado en los altiplanos de Perú y Chile (3), mientras Bartholomäus et al. (1990) (4) reportan que viene del Ecuador y Perú. La planta crece en zonas altas entre Chile y Colombia en forma silvestre y semisilvestre. En Colombia, las exportaciones iniciaron hace 20 años y durante más de 10 años ocupa el segundo lugar de exportación después del banano. (5)

No se conocen variedades o cultivares de este fruto, sólo ecotipos o clones procedentes de diferentes regiones, las que han sido seleccionadas por tamaño, color, sabor y forma del cáliz. Los más comunes son los ecotipos denominados “Colombia”, “Sudáfrica” y “Kenia”.

Los nombres comunes con que se le conoce son: Tomatillo; Aguaymanto (centro y sur del Perú); capulí (centro del Perú, no confundir con el capulí *Prunus serótina*); uvilla (Cajamarca); Otros: topotopo ; uchuva, motojobobo, embolsado (Bolivia). (6)

1.1.1 CLASIFICACION TAXONOMICA

La clasificación taxonómica de *Physalis peruviana* L., según la National Plant Center USDA (2000) es:



Figura N°1.1 *Physalis peruviana* “Aguaymanto”
Fuente guía de campo de los cultivos andinos (2007)

Tabla 1.1 Clasificación taxonómica de *Physalis peruviana* (6)

REINO	Plantae
SUBREINO	Tracheobionta
DIVISION	Angiospermae
CLASE	Magnoliopsida
SUBCLASE	Asteridae
ORDEN	Solanales
FAMILIA	Solanaceae
GENERO	<i>Physalis</i>
ESPECIE	<i>Physalis peruviana</i> L.

FUENTE: Elaboración propia, 2016

1.1.2 DISTRIBUCION GEOGRAFICA, REQUERIMIENTOS CLIMATICOS

En el Perú se cultiva en la zona agroecológica Quechua de clima templado a templado frío, en localidades ubicadas en la sierra de Ancash, Huánuco, Junín, Ayacucho, Arequipa y Cuzco, generalmente en huertos familiares, pero también en los bordes de chacras, de zanjas y caminos o intercalados con otros cultivos. En Cajamarca se le cultiva sobre todo en las provincias de Cajamarca, Chota, Cajabamba y San Marcos. Se ha iniciado su cultivo en forma comercial en pequeñas áreas, existiendo excelentes posibilidades de extender su cultivo.

Actualmente, se ha extendido a casi todas las tierras altas de los trópicos y a varias partes de los subtropicos, incluyendo Malasia, China y el Caribe.

El aguaymanto prospera desde el nivel del mar hasta los 3 300 msnm. Puede soportar bajas temperaturas, pero sufre daños irreparables por debajo de 0° C; su crecimiento es afectado si persisten temperaturas menores a 10° C. La temperatura óptima es de 18° C; temperaturas muy altas pueden perjudicar la floración y fructificación. Requiere gran luminosidad y debe protegerse del viento excesivo. Debe contar con suficiente agua durante el crecimiento inicial, no así durante la maduración de los frutos. Es una planta con alto potencial, ya que crece en suelos pobres, pero bien drenados, y tiene bajos requerimientos de fertilización. (7)

1.1.3 DESCRIPCION BOTANICA

Se trata de una planta de tipo herbáceo a semi-arbustiva, erecta, perenne en zonas subtropicales y que puede alcanzar una altura de entre 0,6 a 0,9 metros y en algunos casos llega a alcanzar 1,8 metros.

Cáliz: Es veloso con venas salientes y con una longitud de unos tres a cuatro cm. Cubre completamente al fruto durante todo su desarrollo; inicia su alargamiento cuando ha pasado la fecundación del fruto. Durante los primeros 40 a 45 días de su desarrollo es de color verde, con la maduración del fruto va perdiendo clorofila volviéndose pergamino al final. Es importante porque protege el fruto contra insectos, pájaros, enfermedades y situaciones climáticas extremas, además de servir

como una fuente indispensable de carbohidratos durante los primeros 20 días del crecimiento del fruto.

Flor: Es fácilmente polinizada por insectos y por el viento y la auto polinización también es común.

Fruto: Es una baya jugosa de forma globosa u ovoide con un diámetro entre 1,25 y 2,50 cm, pesa entre 4 a 10 g. Contiene unas 100 a 300 semillas pequeñas. La estructura interior del fruto se parece a un tomate en miniatura.

Hojas: El Aguaymanto presenta hojas alternas, simples, pecioladas, acorazonadas y altamente pubescentes. Tienen un tamaño entre 5 a 15 cm de largo y 4 a 10 cm de ancho. Una planta en condiciones de crecimiento muy favorables puede formar hasta mil hojas o más y este número depende del desarrollo del tallo y su cantidad de nudos. Igualmente su área foliar puede llegar hasta 150 dm² planta o más y el tamaño de una hoja hasta 25 a 30 cm².

Sin embargo, en condiciones desfavorables las hojas pueden alcanzar solamente 10 cm². Después de la maduración del fruto, las hojas amarillean y caen.

Raíz: La mayoría de las raíces son fibrosas y se encuentran a unos 10 a 15 cm de profundidad; el sistema radical es ramificado y profundiza con sus raíces principales hasta unos 50 a 80 cm. Las raíces que se forman de estas no son pivotantes y crecen más superficiales, causando un sistema radical débil, una mayor precocidad de la producción y un ciclo de vida más corto de la planta. El desarrollo de las raíces depende del tipo y textura del suelo y especialmente de la aireación, la temperatura y la humedad del mismo. En zonas altas, el Aguaymanto desarrolla un sistema de raíces más superficiales con el fin de aprovechar mejor el calor del mediodía.

Ciclo vegetativo

El tiempo entre la iniciación de germinación y la primera cosecha es de aproximadamente nueve meses y medio. El periodo útil de producción de la planta es de nueve a once meses desde el momento de la primera cosecha, ya que a partir de entonces disminuye tanto la productividad como la calidad de la fruta.

Variedades

En la Universidad del Cuzco se han logrado dos selecciones y se les ha asignado los nombres de Urubamba y *K'ayra*. En Cajamarca se ha efectuado una evaluación de

200 ecotipos (Franco, 2000) y entre los más relevantes se han seleccionado tres de ellos por su mejor calidad, siendo los ecotipos Cajamarca, San Marcos y Cajabamba.(7)

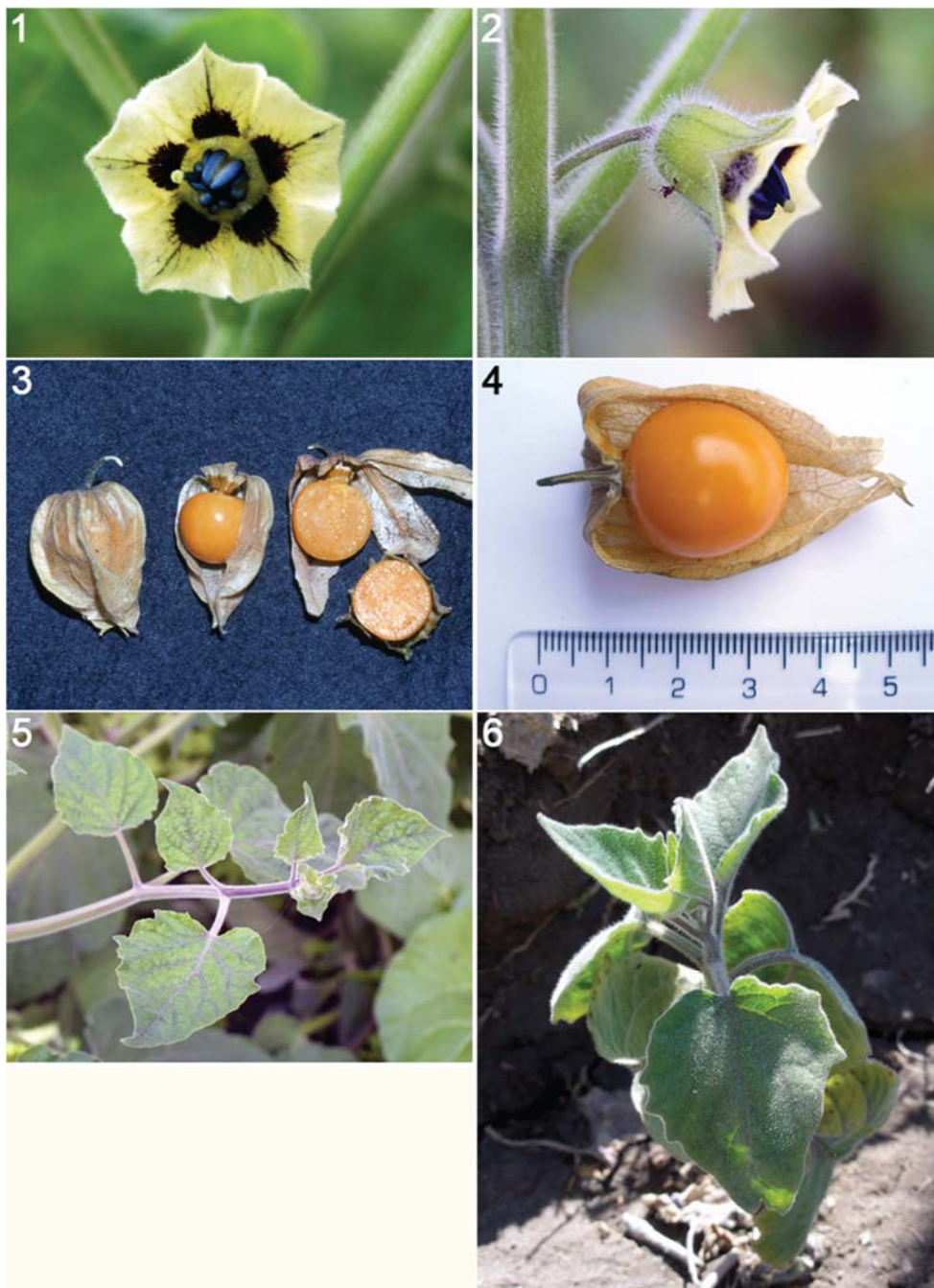


Figura N°1.2 *Physalis peruviana* “Aguaymanto” estadios de la planta

1, 2) Flores de *Physalis peruviana*; 3) Fruto; 4) Fruto; 5) Hoja; 6) Plántula.

Fuente: Datos tomados de Dostert N, Roque J, Cano A, La Torre M y Weigend M.

Hoja Botánica: Aguaymanto (2012)

1.1.4 USOS Y PROPIEDADES MEDICINALES

El fruto de *Aguaymanto*, del que se puede obtener un aceite, este es muy rico en aceites esenciales, en carotenoides (fuente excelente de pro vitamina A, 3000 unidades de caroteno por 100g) en vitamina C, vitamina E y en fitosteroles. Tiene además trazas de complejos de vitamina B. Pocas proteínas (0,3%) y una cantidad excepcional de fósforo (55%). (8)

El *Aguaymanto* es también bueno para reforzar el nervio óptico y aliviar dolores de garganta. Está recomendada para personas que sufren de diabetes tipo I y II, favorece los tratamientos de próstata es buen diurético y purifica la sangre. Por su contenido de flavonoides se le utiliza como tranquilizante natural. (8)

Existen numerosas plantas en nuestra medicina tradicional peruana que no han sido estudiadas científicamente en su mayoría. Una de estas es el *Aguaymanto*, que es usada empíricamente para tratar el cáncer y otras enfermedades, como asma, hepatitis, dermatitis y malaria. (9)

Por ser digestiva, ayuda a prevenir el cáncer de estómago, colon y del intestino. El fruto de *Aguaymanto* ayuda a purificar la sangre, ayuda a eliminar la albúmina de los riñones, reconstituye el nervio óptico, limpia las cataratas, contribuye contra la diabetes, la artritis incipiente y alivia eficazmente las afecciones de la garganta. Por su contenido de vitamina A se le considera un fruto carotenógeno.

Ayuda a combatir las siguientes enfermedades:

- Controla la amibiasis.
- Combate el asma.
- Alivia los problemas bronquiales.
- Ayuda con la formación de los dientes y los huesos por su contenido de calcio.
- Previene la aparición del cáncer por sus propiedades digestivas.

- Combate el cansancio mental.
- Disminuye los niveles de colesterol en sangre.
- Combate la depresión.
- Consumir el fruto del aguaymanto ya que tiene una sustancia similar a la insulina.
- Previene el envejecimiento.
- Alivia los problemas de la garganta.
- Favorece la cicatrización de las heridas.
- Alivia los síntomas característicos de este periodo.
- Alivia los cólicos menstruales.
- Favorece el tratamiento de las personas con problemas de la próstata gracias a sus propiedades diuréticas.
- Combate la sinusitis.
- fortalece el sistema inmunológico.
- Combate el stress. (10)

El ácido ascórbico (presente en el fruto de *Aguaymanto* está alrededor de 28,55 mg/100g) es requerido para el crecimiento y reparación de tejidos en todo el cuerpo. Es necesario para la formación de colágeno, el tejido cicatricial, los ligamentos, los tendones y los vasos sanguíneos. El ácido ascórbico es un antioxidante por lo tanto es un nutriente que actúa bloqueando parte del daño causado por los radicales libres (RL). (11)

Los polifenoles tienen propiedades molusquicidas, antihelmínticas, antihepatotóxicas, antiinflamatorias, antidiarreicas, antiúlceras, antivirales, antialérgicas y vasodilatadoras. Se ha determinado que inhiben la replicación del virus de la inmunodeficiencia Humana (HIV) y del virus simplex humano (HSV), inhiben las glucosil transferasas del *Streptococcus mutans* causante de la caries dental, inhiben la autoxidación del ascorbato, también inhiben efectos citotóxicos, la promoción del crecimiento tumoral y la enzima xantina mono-amina oxidasa. La actividad antioxidante de los fenoles es el origen de funciones biológicas tales como la antimutagénica, anticancerígena y antienvjecimiento. (12)

La mayoría de los antioxidantes naturales, en especial los flavonoides, muestran una amplia gama de efectos biológicos, incluyendo antibacteriano, antiviral, anti-inflamatorio, antitrombótico y acciones vasodilatadoras antialérgicos. La actividad antioxidante es una propiedad fundamental importancia para la vida. (13)

1.2 RADICALES LIBRES, ESTRÉS OXIDATIVO Y ANTIOXIDANTES

1.2.1 RADICALES LIBRES

Se define como cualquier especie química, esta puede ser atómica o molecular ya que tiene uno o más electrones desapareados en el orbital más extremo **(14)** los cuales darán un carácter muy inestable y altamente reactivas y con la capacidad de atacar cualquier tipo de biomoléculas **(15)**.

Estos tienden a captar electrones de otros átomos con el fin de alcanzar la estabilidad, una vez que se ha conseguido sustraer el electrón, la otra molécula estable al perder su electrón se oxida y a su vez se convierte en un radical libre por quedar con un electrón desapareado dando así el inicio de una reacción en cadena. **(16)**

Ya sea por ganancia o pérdida de un electrón de un no radical o por la ruptura del enlace químico cada átomo participante del enlace retiene un electrón par que constituía la unión formándose radicales libres de una molécula. **(17)**

Las fuentes de RL estos pueden ser tipo endógeno y exógeno:

Los radicales libres de tipo endógeno se producen normalmente y de forma continua en el metabolismo celular principalmente en las mitocondrias, por las diversas reacciones redox, realizadas por las enzimas como la NADHP oxidasa, lipooxigenasas, ciclooxigenasas y peroxidasas. Pero también existen otras fuentes endógenas de RL como las oxidaciones microsomales, los fagosomas, La auto oxidación de sustratos y los neutrófilos. Los RL endógenos juegan un papel importante en la defensa del organismo contra infecciones y virus si bien la concentración de estos puede ser controlada por los sistemas antioxidantes endógenos. El problema es cuando los RL provienen de fuentes exógenas tales como el consumo de alimentos con alto contenido de grasa, alimentos procesados también el excesivo consumo de alcohol, la exposición a diversos químicos como pinturas, pegamentos y tipos de contaminantes del medio ambiente como el humo del tabaco, herbicidas, smog etc. Solo al encontrarse dos radicales libres cesa el proceso.(18)

El oxígeno molecular al ser consumido por organismos aerobios va a dar la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS) son considerados RL ya que son moléculas cuyo átomo carecen de electron, esto hacen que sean más reactivos ya que toman el electrón faltante de una molécula vecina lo que provocaría la oxidación de esta última molécula, y así esta tomaría su electro faltante de otra y lo que se generaría una reacción en cadena lo cual cesaría cuando llegase a encontrar otra molécula con un electron libre para poder estabilizarse.(18)

Estas moléculas son productos peligrosos del metabolismo celular debido a que no hay un equilibrio entre las ROS y sustancias antioxidantes lo que generaría estrés oxidativo, y lo que provocaría una serie de procesos patológicos.(18)

Las principales especies reactivas del oxígeno (ROS) o sustancias prooxidantes son: Radical hidroxilo (HO^\cdot), Peróxido de hidrógeno (H_2O_2), Anión superóxido (O_2^-), Oxígeno singlete ($^1\text{O}_2$), Óxido nítrico (NO), Peróxido (ROO), Semiquinona (Q) y el Ozono (O_3). (19)

En 1954 la Doctora Rebeca Gerschman sugirió por primera vez que las ROS eran agentes tóxicos y generadores de patologías, estableciendo tres postulados básicos:

1. Los RL constituyen un mecanismo molecular común de daño cuando los animales son sometidos a altas presiones de oxígeno y a radicales ionizantes.

2. El desequilibrio entre oxidantes y antioxidantes producían los efectos tóxicos.
3. La producción de RL es un fenómeno continuo con implicaciones en el envejecimiento y la carcinogénesis.

Actualmente estos postulados se mantienen vigentes y son la base para múltiples investigaciones. (20)

1.2.2 DAÑO PRODUCIDO POR LOS RADICALES LIBRES

Los radicales libres son elementos fundamentales en el metabolismo, también son un riesgo especialmente para las células y biomoléculas como los ácidos nucleicos, las proteínas, y lípidos y polisacáridos. (16)

El daño celular producido por las especies reactivas del oxígeno ocurre sobre diferentes macromoléculas:

1. Lípidos. Es donde se produce el mayor daño en un proceso conocido como peroxidación lipídica, este afecta a las estructuras ricas en ácidos grasos poliinsaturados, alterando la permeabilidad de la membrana celular produciendo edema y muerte celular. el enranciamiento oxidativo o peroxidación lipídica representa una forma de daño hístico que puede ser desencadenado por el oxígeno, el peróxido de hidrógeno, el oxígeno singlete y el radical oxidrilo. los componentes esenciales de las membranas celulares son los ácidos grasos insaturados , por lo que se cree son importantes para su funcionamiento normal, sin embargo, son vulnerables al ataque oxidativo iniciado por los radicales libres del oxígeno.(21)
2. Proteínas. Hay oxidación de un grupo de aminoácidos como fenilalanina, tirosina, histidina y metionina; además la formación de entrecruzamientos de cadenas peptídicas, y la formación de grupos carbonilos.(22)
3. Ácido desoxirribonucleico (ADN). Ocurren fenómenos de carcinogénesis y mutaciones, hay pérdida de expresión o síntesis de una proteína por daño a un gen específico, modificaciones oxidativas de las bases, deleciones, fragmentaciones, interacciones estables ADN-proteínas, reordenamientos cromosómicos y desmetilación de citosinas del ADN que activan genes.

El daño se puede realizar por la alteración (inactivación/pérdida de algunos genes supresores de tumores que pueden conducir a la iniciación, progresión, o ambas de la carcinogénesis).

Los genes supresores de tumores pueden ser modificados por un simple cambio en una base crítica de la secuencia del ADN. (21)

4. Carbohidratos. El daño ocasionado por los radicales libres en carbohidratos seda en menor proporción que otras moléculas.

Los azúcares como la glucosa, manitol o ciertos desoxiazúcares reaccionan con el radical oxidrilo para producir sustancias reactivas. Así mismo, el ataque producido por los radicales libres en los polisacáridos a la fragmentación en unidades más sencillas como en el caso de la despolimerización del ácido hialurónico. (23)

1.2.3 ESTRÉS OXIDATIVO

Por diversas causas se produce un desequilibrio, haciendo perder el balance entre condiciones oxidantes y defensas antioxidantes: esto puede deberse a un aumento en la producción de especies reactivas de oxígeno (ERO) o a una disminución en los sistemas antioxidantes o de reparación, o a una combinación de estos factores. (17)

A todo esto se le conoce como estrés oxidativo que es la responsable de la degeneración celular debido a que los RL pueden reaccionar químicamente con proteínas, lípidos y DNA. (18)

El Estrés oxidativo produce deterioro celular el cual es responsable de diversas enfermedades, de manera directa e indirectamente son generados por los radiales libres.(18)

Este daño puede ser prevenido por el uso de moléculas antioxidantes , elcual donan electrones estabilizando y neutralizando los R.L y asi eliminando los efectos dañinos de estas moléculas. (18)

Existe un equilibrio apropiado entre prooxidantes y antioxidantes en una célula normal. Sin embargo este balance puede alterarse cuando la producción de prooxidantes aumenta de modo considerable. Esta circunstancia se presenta después de la introducción en el organismo de ciertos fármacos o venenos insecticidas y/o

pesticidas. También este desbalance puede presentarse, debido a una mal nutrición disminuyendo así la concentración de antioxidantes por ejemplo la hipovitaminosis E, o a un fallo funcional de alguna de las enzimas involucradas en la respuesta antioxidante del organismo. (24)

1.2.4 ANTIOXIDANTES

Un antioxidante es una sustancia que previene o retarda la oxidación de un sustrato oxidable puede ser lípido, proteína, DNA, o cualquier otro tipo de molécula. (15)

Los antioxidantes que actúan como mecanismo de defensa en el organismo. A concentraciones normales poseen una afinidad mayor que cualquier otro molécula para interactuar y neutralizar los RL, estos actúan donando electrones a los RL y de esta manera los transforman en débiles y no tóxicos.(25)

No todos los antioxidantes actúan de esta manera, los llamados enzimáticos catalizan o aceleran reacciones químicas que utilizan sustratos que reaccionan con los RL.

Los antioxidantes se clasifican en dos grupos:

- Antioxidantes endógenos (superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa, catalasa)
- Antioxidantes exógenos estos ingresan a través de la dieta (vitamina C, vitamina E, los carotenoides, flavonoides y los licopenos). (20)

En algunas investigaciones se muestra a la terapia antioxidante como una alternativa para prevenir y contrarrestar a las diversas enfermedades asociadas al estrés oxidativo, manteniendo el balance entre la formación y neutralización de los radicales libres. (26)

Los antioxidantes obtenidos a través de la dieta, puede actuar de dos formas:

- Primero previniendo la generación excesiva de los radicales libres, y así evitar que se produzca el daño celular por efecto del estrés oxidativo.
- Segundo, una vez ya producido el daño oxidativo los antioxidantes puedan mantener los niveles de radicales libres y así evitar que el daño continúe

avanzando y con ello algunos síntomas de las enfermedades producidas por el efecto del estrés oxidativo pueden disminuir. (27)

1.2.4.1 CLASIFICACION DE LOS ANTIOXIDANTES

Los antioxidantes se pueden clasificar de manera simple en endógenos y exógenos:

Antioxidantes Endógenos

- **Glutación peroxidasa (GPx).**- Es una seleno proteína en presencia de glutatión (GHS), como agente reductor cataliza la reducción del peróxido de hidrogeno.(15)
- **Catalasa.**- Es una hemoproteína se encuentra en el interior de los gránulos citoplasmáticos llamados peroxisomas se encarga de catalizar la descomposición del peróxido de hidrogeno en agua y oxígeno. (15)
- **Superóxido dismutasa (SOD).**- Actúa neutralizando los radicales superóxido y así transformarlo en peróxido de hidrogeno en presencia de zinc.(15) :

Antioxidantes Exógenos

- **Vitamina E.**- Es un conjunto de compuestos fenólicos conocidos como tocoferoles y tocotrienoles, siendo el alfa tocoferol el más activo es de carácter lipofílico y es el más importante protector de las moléculas lipídicas.(25)
- **Polifenoles.**- Son un conjunto heterogéneo de las moléculas que comparten las características de poseer en su estructura varios grupos fenólicos, tienen una potente actividad antioxidante estos pigmentos naturales están en los vegetales. (25)
- **Carotenoides.**- Son hidrocarburos polienicos no contienen oxígeno y son los más activos por poseer un sistema de dobles enlaces conjugados mucho más largos lo que facilita su acción antioxidante y son responsables del intenso color amarillo, anaranjado o rojo de un gran número de vegetales. (25)

- **Vitamina C.-** Es un antioxidante hidrosoluble que potencia la acción antioxidante de otros antioxidantes como la vitamina E y el selenio, no es sintetizado en el organismo, es consumida por medio de los alimentos; su función principal es neutralizar el oxígeno singlete (O_2), captura radicales oxidrilo y aniones superóxido y realiza la regeneración de la forma oxidada de la vitamina E una vez que se ha unido a un RL.

Destruye eficazmente a las nitrosaminas y posee efecto anticarcinogenico frente al humo del tabaco por concentrarse en los alveolos pulmonares. (25)

1.3 COMPONENTES BIOACTIVOS CON CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE PHYSALIS PERUVIANA

1.3.1 COMPUESTOS FENÓLICOS

Las plantas vasculares sintetizan una gran cantidad de moléculas orgánicas, como consecuencia de su metabolismo secundario.

Muchos de Los fenoles son clasificados como metabolitos secundarios y están ampliamente distribuidos en el reino vegetal. Se localizan en todas las partes de las plantas y su concentración es variable a lo largo del ciclo vegetativo. Estos compuestos participan de diversas roles, tales como la asimilación de nutrientes, la síntesis proteica, la actividad enzimática, la fotosíntesis, soporte mecánico de la planta, la alelopatía y la defensa ante los factores adversos del ambiente.

Los fenoles están asociados al color, las características sensoriales como, sabor, astringencia, dureza, las características nutritivas y las propiedades antioxidantes de los alimentos de origen vegetal. La característica antioxidante de los fenoles se debe a la reactividad del grupo fenol. (28)

1.3.2 ACCION ANTIOXIDANTE DE LA VITAMINA C.

La vitamina C o L-ascorbato es un derivado ácido de la glucosa. Su obtención en la dieta es esencial para la supervivencia del hombre (y los primates en general, además de cobayos, murciélagos y algunas aves y peces).

Presenta una configuración de lactona, en la que los grupos oxidrilos asociados al doble enlace funcionan como agentes con alto potencial reductor, lo que le permite, incluso, participar en la reducción directa del oxígeno, funcionando así como sustrato donante en las reacciones de las peroxidasas. (29)

Las vitaminas C y E, así como la A, clasifican como antioxidantes interruptores, porque actúan interrumpiendo la reacción en cadena de formación de radicales libres, atrapándolos y reduciéndolos, a diferencia de los antioxidantes preventivos (entre los que se encuentran las enzimas peroxidasas), que evitan la iniciación de la secuencia de reacciones. (30)

El ácido ascórbico es oxidado en dos pasos en los que pierde cada vez un electrón, pasando por una forma ascorbilo de radical libre. Este intermedio es seguidamente oxidado de ácido dehidroascórbico que es irreversiblemente hidrolizado para dar ácido 2,3-dicetogulónico. (31)

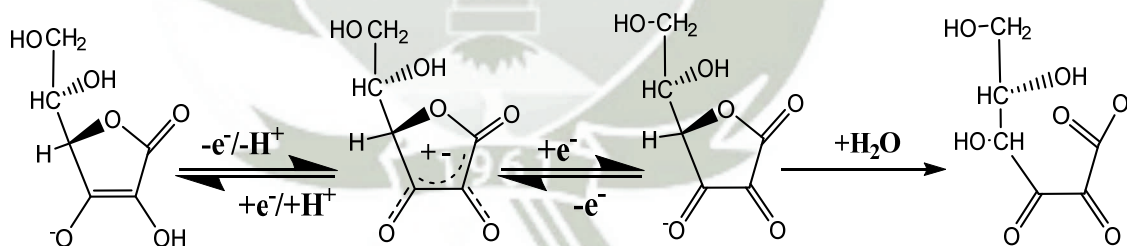


Figura N° 1.3 Ascorbato, radical ascorbil, ácido dehidroascorbico y 2,3dicetogulonico

FUENTE: Elaboración propia, 2016

1.3.3 CAROTENOIDES

Los carotenoides son pigmentos orgánicos del grupo de los isoprenoides compuestos responsables de la coloración de gran número de alimentos vegetales y animales, como zanahorias, zumo de naranja, tomates, salmón y yema de huevo. Desde hace muchos años, se sabe que algunos de estos compuestos, como α y β caroteno, así como la β -criptoxantina, son provitaminas A. No obstante, estudios recientes han puesto de manifiesto las propiedades antioxidantes de estos pigmentos, así como su eficacia en la prevención de ciertas enfermedades del ser humano, como la aterosclerosis o incluso el cáncer. Todo ello ha hecho que desde un punto de vista nutricional, el interés por estos pigmentos se haya incrementado notoriamente.

La principal función de los pigmentos carotenoides, tanto en vegetales como en bacterias, es captar energía luminosa, energía que es luego transferida a las clorofilas para ser transformada durante la fotosíntesis. (32)

Proporcionan color a las frutas y verduras. Debido a la presencia en su molécula de un cromóforo consistente total o principalmente en una cadena de dobles enlaces conjugados dando colores amarillos, anaranjados y rojizos a los frutos. Están presentes en todos los tejidos fotosintéticos, junto con las clorofilas, así como en tejidos vegetales no fotosintéticos, como componentes de cromoplastos, que pueden ser considerados como cloroplastos degenerados. Los carotenoides siempre acompañan a la clorofila en una relación de tres a cuatro partes de clorofila por una parte de carotenoide. Estos pigmentos se encuentran en frutas y vegetales amarillos y en los cloroplastos de tejidos verdes, donde están enmascarados por la clorofila hasta que el tejido envejece. El contenido en carotenoides de las frutas aumenta durante la maduración, si bien parte de la intensificación del color se debe a la pérdida de clorofila.(33)

Algunos pigmentos carotenoides poseen actividad provitamínica A por lo que hasta hace unos años han tomado importancia nutricional, si bien recientemente se ha puesto de manifiesto que la importancia de estos compuestos va más allá, y se ha demostrado que juegan un papel importante en la prevención de diversas enfermedades degenerativas humanas. (33)

La función biológica principal de los carotenoides es servir como pigmentos accesorios en la recolección de la luz durante el proceso fotosintético, y como sustancias fotoprotectoras, inhibiendo la propagación de especies reactivas de oxígeno y otros radicales libres, por tanto impiden la acción nociva de éstos a nivel celular. En los animales, este conjunto de pigmentos presenta varias actividades biológicas muy importantes desde el punto de vista nutricional y fisiológico. (34)

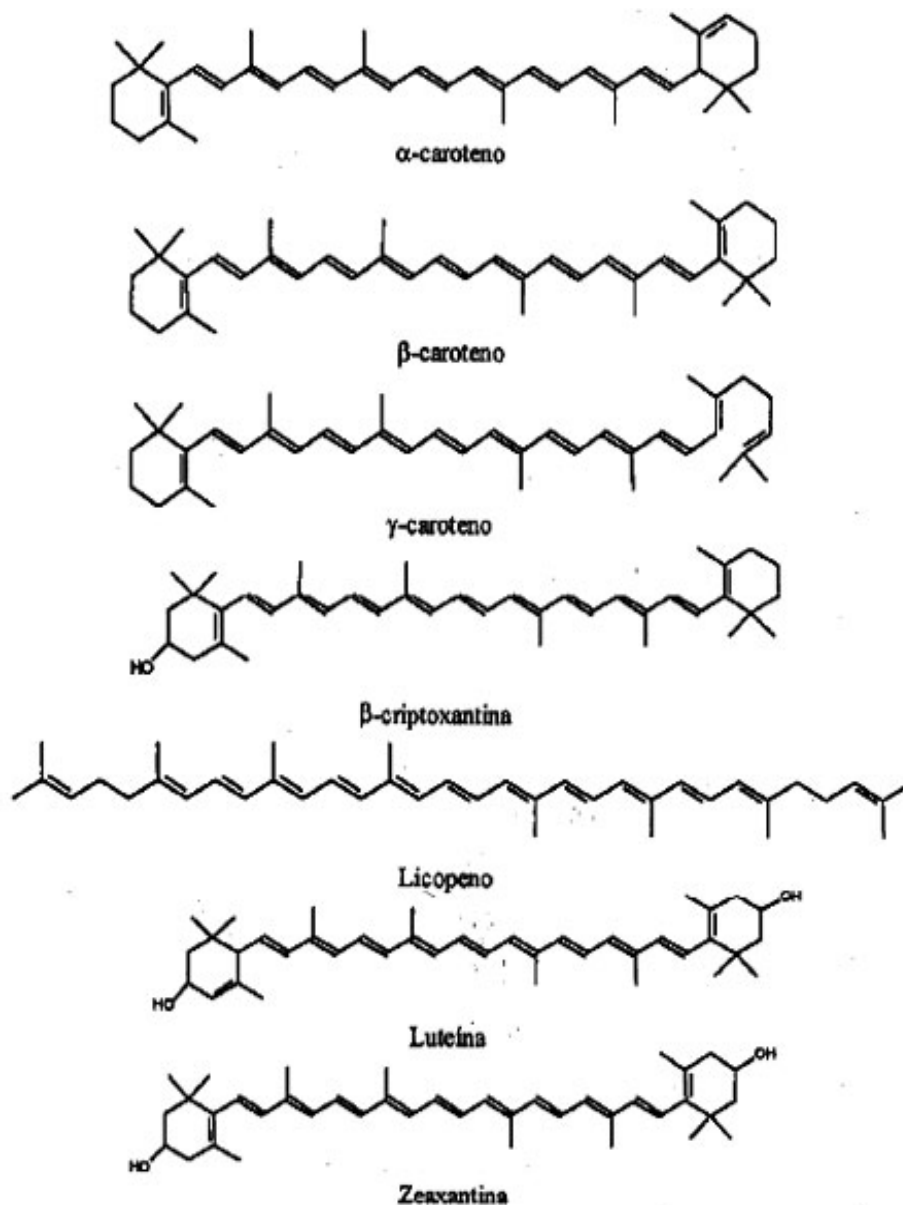


Figura N° 1.4 Estructura de los principales carotenoides

Fuente: Importancia nutricional de los pigmentos carotenoides Antonio J. Meléndez-Martínez

1.3.4 FLAVONOIDES

Los flavonoides comprenden un grupo de compuestos polifenólicos ampliamente distribuidos en las frutas y en los vegetales, así como en el té negro, el café, la cocoa, la cerveza y el vino rojo. (35)

Pueden aparecer desde simples moléculas fenólicas hasta compuestos muy polimerizados con pesos moleculares superiores a los 30 000 Da. (35)

De todas sus propiedades biológicas las de mayor interés han sido sus efectos antioxidantes, los cuales han sido blancos de un sin número de estudios principalmente de corte clínico y nutricional, teniendo en cuenta que a menudo dosis farmacológicas de antioxidantes dietéticos comúnmente como es el caso de las combinaciones vitamínicas (vitamina E más vitamina C y b-caroteno), no producen los efectos esperados o estos resultan dañinos, por lo que para lograr una mejor acción antioxidante se prefiere incluir en la dieta una mezcla de flavonoides y taninos. (36)

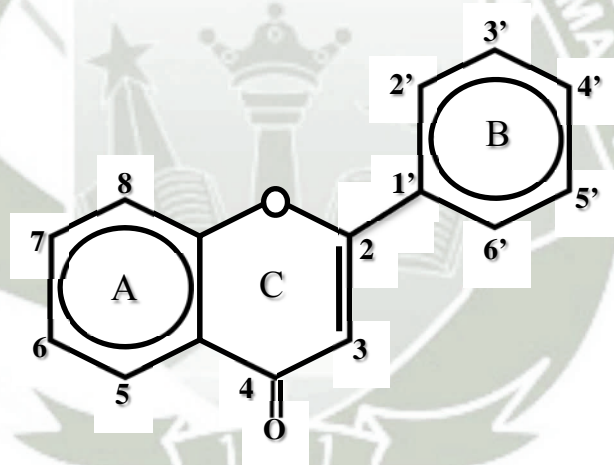


Figura. N° 1.5 Estructura básica de los flavonoides y sistema de numeración

FUENTE: Elaboración propia, 2016

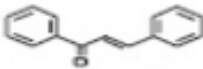
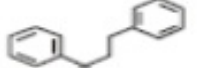

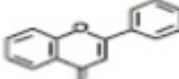
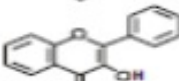
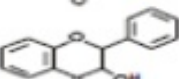
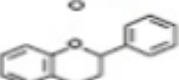
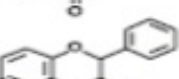
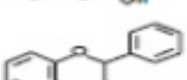
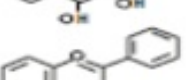


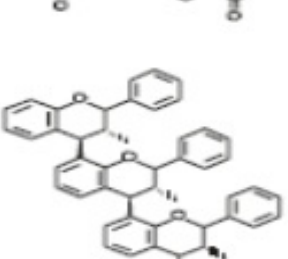
Flavonoide	Estructura básica
Chalconas	
Dihidrochalconas	
Auronas	
Flavonas	
Flavonoles	
Dihidroflavonoles	
Flavanonas	
Flavanol	
Flavandioles o Leucoantocianidinas	
Antocianidina	
Isoflavonoides	
Biflavonoides	
Proantocianidinas o Taninos condensados	

Figura. N° 1.6 Subclase de flavonoides

Fuente: Los flavonoides: antioxidantes o prooxidantes, Instituto de Ciencias Básicas y Preclínicas "Victoria de Girón" Gilberto Pérez Trueba

1.3.5 ACCION ANTIOXIDANTE DE LOS FLAVONOIDES FRENTE A RADICALES LIBRES

Los flavonoides son sustancias beneficiosas para la salud ya que un elevado consumo de frutas, vegetales y sus derivados ayudan a eliminar numerosos radicales libres. Numerosas investigaciones demuestran que los flavonoides son poderosas sustancias antioxidantes. Los mecanismos de acción descriptos que definen la capacidad antioxidante de los flavonoides son: a) el atrapamiento de especies activas del oxígeno y del nitrógeno; y b) la quelación de metales de transición (hierro, cobre) que pueden iniciar reacciones de oxidación. La capacidad antioxidante de los flavonoides depende, del número de localización de sus grupos hidroxilo. Se han determinado otros mecanismos por el cual los flavonoides podrían proteger a los lípidos del daño por sustancias oxidantes o por otros compuestos que podrían afectar la estructura y/o función de las membranas biológicas.(37)

La acción antioxidante de los polifenoles vegetales actúan en los sistemas biológicos, esto provocó un gran interés en estos flavonoides ya que tienen una actividad farmacológica amplia, pueden unirse al ADN en enzimas como además producir quelación de iones metálicos como el Fe^{+2} Cu^{+2} y Zn^{+2} además de eliminar radicales libres. Es usado para enfermedades como diabetes mellitus, cáncer, cardiopatías, infecciones vírales, ulcera estomacal y duodenal y en inflamaciones, su capacidad antioxidante se debe a que los flavonoides presentan en su estructura los sustituyentes dihidroxílicos en posiciones 3' y 4' en el anillo B se muestran más actividad como antioxidantes y que este efecto antioxidante es potenciado por la presencia de enlaces dobles entre los carbonos 2 y 3, un grupo hidroxilo (OH) libre en la posición 3 y un grupo carbonilo en la posición 4; como sucede con la quercetina. (38)(39)(40)

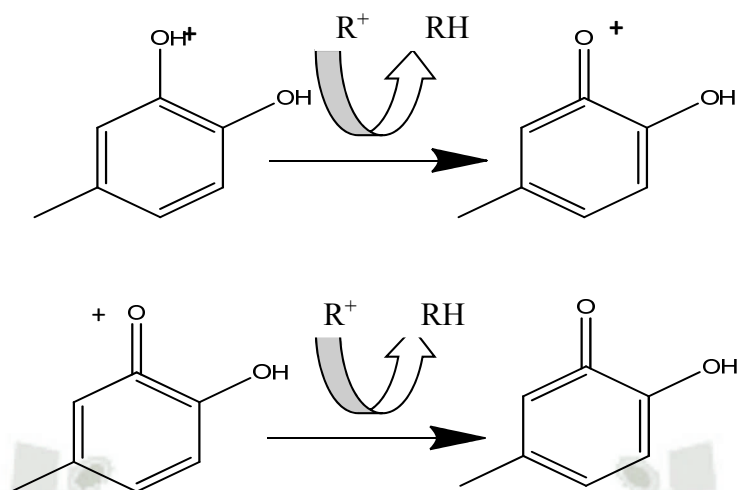


Figura N° 1.7 Formación de radical flavínico por la captura de radicales libres por los polifenoles.

FUENTE: Elaboración propia, 2016

1.3.6 WITHANOLIDOS

Son un grupo de esteroides naturales contruidos sobre un esqueleto de tipo ergostano. Se caracterizan por poseer una cadena lateral de nueve átomos de carbono, con una lactona de seis miembros formada por los carbonos 22 a 26.

Los primeros constituyentes de este grupo fueron descubiertos de la planta a la cual deben su nombre *withania somnifera*. Estos han sido hallados además en otras plantas del genero *withania*, y también en plantas de los generos *acnistus (dunalia)*, *jaborosa*, *nicandra*, *physalis*, *datura*, *lycium*, etc, todas ellas pertenecientes a la familia de las *solanáceas* encontrándose principalmente en las hojas de los vegetales mencionados.(41)

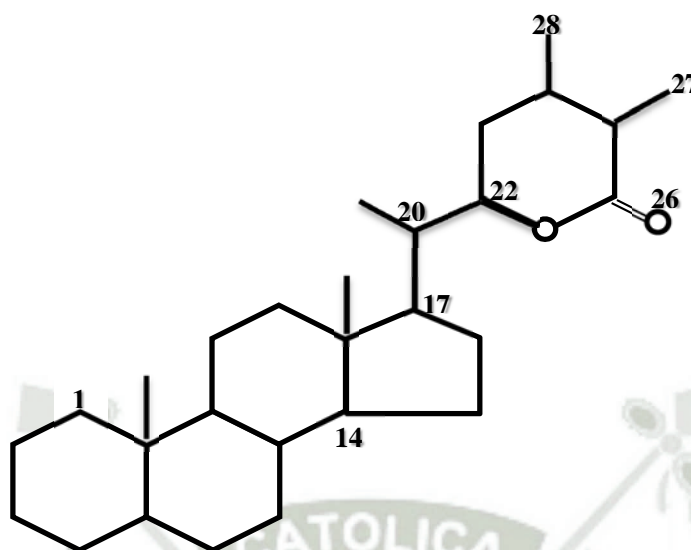


Figura. N° 1.8 Esqueleto withanolido

FUENTE: Elaboración propia, 2016

1.3.7 FISALINAS

Son de estructuras muy complejas, porque además de la lactona presentan otro anillo de γ -lactona fusionada al anillo D. Se derivan de los seco esteroides 16,24 13,14 ergostano ciclo de tipo carbonilado C-15.

Han sido utilizadas como sustancias inmunosupresoras para evitar respuestas del sistema inmune, por ejemplo cuando se hace un trasplante de órganos, presencias de alergias y enfermedades autoinmunes. Los principales compuestos activos en el aguaymanto son las fisalinas A, B, D, F y glucósidos.(42)

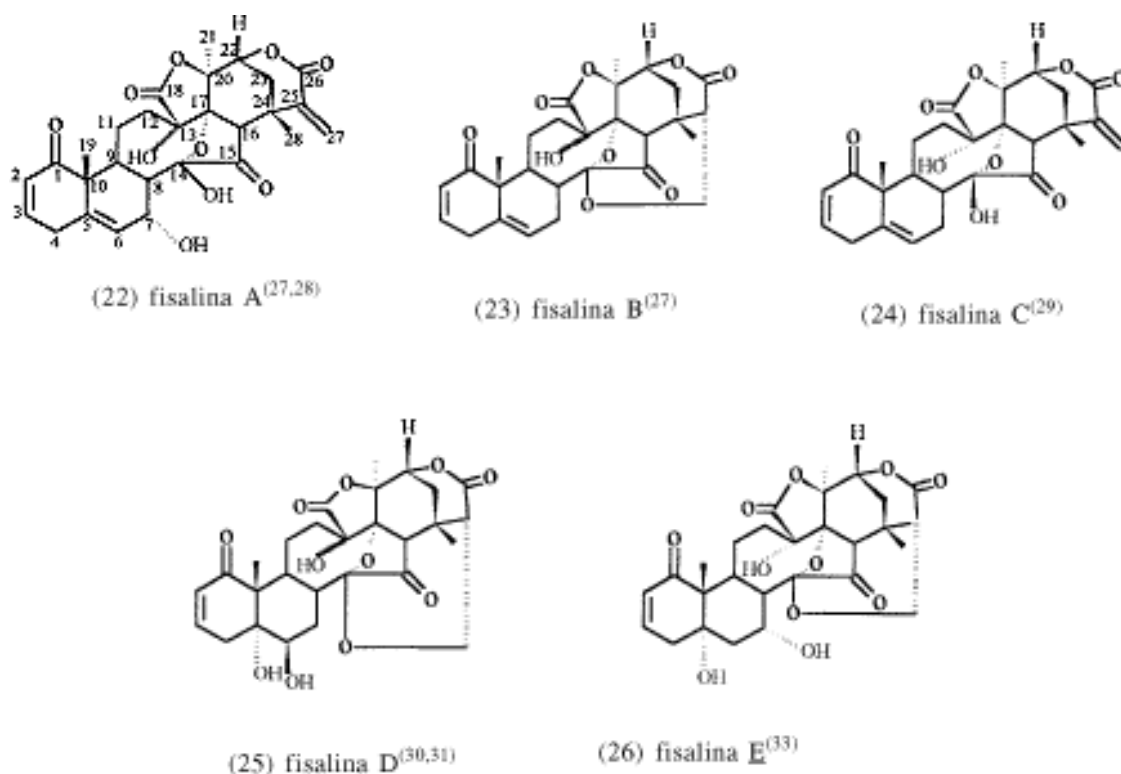


Figura. N° 1.9 Tipos de fisalinas

Fuente: Género *Physalis* - uma revisão sobre vitaesteróides Therezinha C. B. Tomassini

1.4 LIOFILIZACION

Se conoce como liofilización al proceso de conservación que utiliza a la sublimación con el fin de reducir pérdidas de los componentes volátiles o termo sensibles. Es el proceso más noble de conservación de productos biológicos, porque junta dos métodos de conservación que son muy fiables, la congelación y la deshidratación. Sin utilizar productos químicos o conservantes, este proceso es el más adecuado para preservar células, enzimas, vacunas, virus, levaduras, sueros, derivados sanguíneos, algas, así como frutas, vegetales, carnes, peces y alimentos en general. En este proceso de secado los productos que se obtienen no se ven alterados y se pueden hidratar fácilmente. (43)

Las principales ventajas de la liofilización son:

- Al aplicar bajas temperaturas al producto las sustancias inestables presentes no sufren cambios por lo que la pérdida de compuestos volátiles es mínima.
- Durante el proceso de liofilización no hay formación de burbujas ni espumas, lo que hace suponer procesos de desnaturalización de las proteínas.
- Los compuestos presentes permanecen uniformemente disperso y distribuido sin sufrir cambio de su concentración ni tendencia a la congelación.
- El producto liofilizado se presenta como un armazón sólido sumamente poroso y ocupa esencialmente el mismo espacio total que ocupaba la solución original; el residuo final consta de una estructura desmenuzable, entrelazada y extraordinariamente porosa. Como resultado de estas características, su solubilidad es extremadamente rápida y completa.
- El producto final tiene después del proceso de liofilización un contenido muy bajo en humedad pudiendo llegar a ser inferior al 0.5%.
- El desarrollo de bacterias y cambios enzimáticos no se puede realizar durante el proceso de la liofilización ni cuando el producto está desecado.
- Dado que durante todo el proceso de sublimación se efectúa un elevado vacío, el cual puede ser conservado una vez liofilizado el producto, por tanto la cantidad de oxígeno presente es nula, con lo que los constituyentes fácilmente oxidables quedan protegidos. (44)

CAPITULO II

MATERIALES Y METODOS

2.1 LUGAR DE INVESTIGACION

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo durante los meses de diciembre a marzo 2016, en los Laboratorios (Laboratorio de control de Calidad H-203 y H103) de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica De Santa María.

2.2 MATERIALES

2.2.1 MATERIAL VEGETAL

El material de investigación usado para este trabajo es el fruto de Aguaymanto.

2.2.2 REACTIVOS QUIMICOS

- Estándar de ácido ascórbico (Merck)
- Alcohol metílico
- Alcohol etílico
- Heptano
- Reactivo de Follin-Ciocalteau
- Ácido Gálico

- Carbonato de Sodio
- Acetato de etilo
- Cloruro de cobre (II)
- Neocuproina 98%
- Agua destilada
- Hidróxido de amonio.
- Amoniac
- Vainillina
- Ácido sulfúrico
- Tricloruro de aluminio
- Solución de Dragendorff
- Estándar de Quercetina
- Estándar de rutina
- Cloruro férrico

2.2.3 MATERIAL DE LABORATORIO

- Fiolas (5,10, 25, 50,10 y 250 ml) (Marca Kimax).
- Frascos ámbar tapa rosca.
- Micropipetas de 0-100 ul y 100 – 1000 ul (Marca Transderpette)
- Papel Aluminio
- Papel filtro (Marca Whatman).
- Pipetas de 0.5, 1, 2, 5, y 10 ml (Marca Hirschmann).
- Probetas de 10 y 100 ml.
- Tubos de ensayo
- Vaso de precipitado de 10 y 100 ml. (Marca Pírex)
- Capilares de vidrio.
- Cuba de TLC.
- Placas de Silica Gel 60 F254 (Marca Merck).
- Bagueta de vidrio
- Pizetas

2.2.4 EQUIPOS

- Balanza Analítica (Marca
- Equipo de extracción Soxhlet
- Lámpara de Luz UV (Marca Camag).
- Equipo de liofilización labconco
- Cámara para Cromatografía de capa Fina.
- Espectrofotómetro UV/V
- Rotavapor (Marca Buchi).
- Agitador
- Refrigerador.
- Cocina eléctrica.
- Baño María.

2.3 METODOS

2.3.1 RECOLECCION, SELECCIÓN Y ALMACENAMIENTO DE LA MUESTRA

La recolección de aguaymanto se realizó en horas de la mañana en un vivero ubicado en el departamento de Arequipa provincia de Castilla distrito de Orcopampa.

La selección de los frutos de aguaymanto fueron clasificados según el color, teniendo en cuenta la carta de color establecida por la Norma Técnica Colombiana 4580, el cual se usó el tipo 6 para la recolección de la muestra (45)

Una vez que se seleccionó se procedió a lavar la fruta con agua potable corriente y se enjuagó con agua destilada luego, se procedió al secado del fruto con tela de algodón; se procedió a guardarlos a refrigeración a 4°C para luego ser llevadas al laboratorio H-103 para su respectiva investigación.

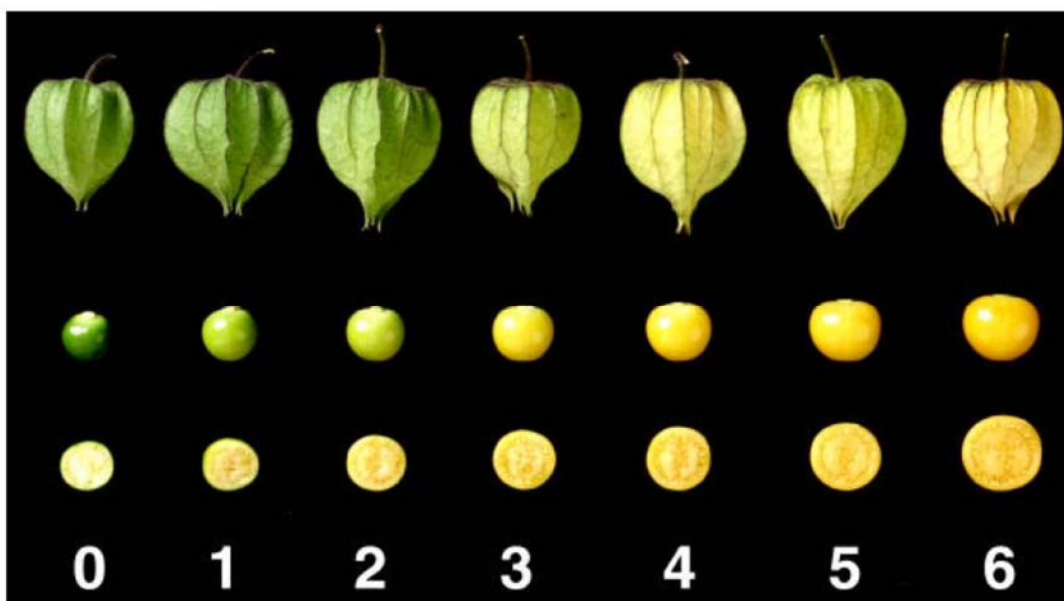


Figura N° 2.1 Tabla de color de la *Physalis peruviana* “Aguaymanto”

Fuente: NTC 4580⁽⁴⁵⁾

2.3.2 OBTENCION DE EXTRACTO

Los métodos de extracción para obtener los principios activos o metabolitos secundarios del fruto se usó el método de extracción por Soxhlet, la extracción solo separa las sustancias que pueden ser disueltas en líquidos o mezcla de estos llamados en laboratorio como solventes.

Los solventes empleados para la extracción por método de Soxhlet son: Etanol, Metanol y Heptano; el cual se hicieron por duplicado y se determinó el porcentaje de rendimiento por diferencia de pesada.

2.3.2.1. METODO: SISTEMA DE EXTRACION POR EQUIPO SOXHLET

La obtención de extractos con los diversos solventes se empleó el método de extracción Soxhlet, el cual se hicieron por duplicado y después determinar su rendimiento por diferencia de pesadas.

2.3.2.1.2 FUNDAMENTO

Se define como la acción de separar con un solvente una fracción específica de una muestra, dejando el resto lo más íntegro posible. Se pueden realizar desde los tres estados de la materia, y se llaman de la siguiente manera. La extracción Soxhlet se fundamenta en las siguientes etapas

- 1) Se añade el solvente en un balón.
- 2) Ebullición del solvente que se evapora hasta un condensador a reflujo.
- 3) El solvente condensado cae sobre un recipiente que contiene un cartucho poroso con la muestra en su interior en la que es cubierta por el solvente.
- 4) Ascenso del nivel del solvente cubriendo el cartucho hasta un punto en que se produce el reflujo que vuelve el solvente con el material extraído al balón.
- 5) Se vuelve a producir este proceso la cantidad de veces que sea necesaria para que la muestra quede agotada. Lo extraído se va concentrando en el balón del solvente.

(40)

2.3.2.1.3 PROCEDIMIENTO

Para la extracción de los principios activos de la muestra de aguaymanto se hicieron 2 extracciones, se usaron dos tipos de muestras, una muestra fresca que se la estabilizo y deseco, y otra muestra liofilizada, en ambas muestras se tomaron 10 g, luego se procedió a envolver con papel filtro formando unos pequeños cartuchos que fueron colocados en el cuerpo del equipo de extracción. En el balón del equipo de extracción se colocó 150 ml de solvente; los solventes usados fueron etanol, metanol y heptano.

El proceso de extracción se controló la temperatura a baño maría para no exceder el punto de ebullición del solvente.

Una vez que el solvente llego a su punto que ebullición, asciende por el conducto lateral en estado gaseoso y al pasar por los refrigerantes, estos vapores se condensan y caen al cuerpo del equipo estando en contacto con la muestra (cartucho de papel

filtro con 10 g de muestra) cubriendo el solvente toda la muestra, una vez que el solvente alcance el nivel del sifón del equipo este solvente desciende retornando al balón con los principios activos extraídos, inicialmente contenían el solvente puro, este procedimiento se repite varias veces hasta agotar la muestra con el fin de poder así extraer la mayor cantidad de sustancias activas que contiene el fruto.

La extracción se realizó por igual y con las mismas condiciones para los tres solventes evitando que cada solvente sobrepase su punto de ebullición.

2.4 METODO GRAVIMETRICO: DETERMINACION DEL EXTRACTO SECO

2.4.1 FUNDAMENTO

Para la determinación del porcentaje de sólido soluble conocido como %RE (Porcentaje de rendimiento de extracción) se basa en el método gravimétrico.

Este método consiste en la determinación de la diferencia de peso al evaporar todo el solvente del extracto obtenido con el peso inicial de la muestra antes de la extracción.

2.4.2 PROCEDIMIENTO

Primeramente se tomó un balón previamente tarado y se colocó las muestras de los extractos obtenidos por diferentes solventes, para su evaporación mediante el equipo de rotavapor, luego se llevó el balón al horno desecador a una temperatura de 40°C por 4 horas para la eliminación total del solvente por evaporación hasta la aparición del residuo con un peso constante, al término del cual se procedió a determinar el porcentaje de rendimiento de los extractos secos.

El porcentaje de rendimiento del extracto seco se realiza con la siguiente fórmula:

$$\%ES = Pf / Pi \times 100$$

Dónde:

Pi = Peso inicial

Pf = Peso Final

%ES = Porcentaje de extracto seco

2.5 LIOFILIZACION

2.5.1 PROCEDIMIENTO

Método de Liofilización

El fruto de aguaymanto se lavó y se cortó en mitades, luego fueron colocadas en una bandeja y esparcidas por toda la bandeja



Figura. N° 2.2 Aguaymanto colocado en la bandeja de liofilización

Fuente: Elaboración propia, 2016

Luego se colocó dentro del liofilizador y se le colocó el sensor de temperatura



Figura. N° 2.3 Colocando el sensor de temperatura en la bandeja de liofilización

Fuente: Elaboración propia, 2016

Luego se graduó el liofilizador, se le aplicó a la muestra de aguaymanto un pre congelamiento por 8 horas

Un primer segmento se llevó a una temperatura de congelación por -50°C por un tiempo de 24 horas.

En el segundo segmento se llevó a una temperatura de congelación de -20°C por un tiempo de 20 horas.

Y por último en el tercer segmento se llevó a una temperatura de congelación de 5°C por un tiempo de 10 horas.

2.6 ANALISIS POR CROMATOGRAFIA DE CAPA FINA (CCF)

La cromatografía de capa fina (en inglés Thin Layer Chromatography o tlc) es una técnica analítica rápida y sencilla.

Permite determinar el grado de pureza de un compuesto, comparar muestras, realizar el seguimiento de una reacción.(46)

2.6.1 FUNDAMENTO

Es un procedimiento que se utiliza para separar moléculas relativamente pequeñas. Al igual que otras cromatografías, consiste de una fase estacionaria y una fase móvil. (47)

La muestra se desplaza con una fase móvil que es un líquido. Esta fase móvil se hace pasar a través de una fase estacionaria de gel de sílice o alúmina con la que es inmisible, y que se fija a una superficie sólida como una lámina de vidrio, plástico, o aluminio. (48)

2.6.2 PROCEDIMIENTO

Se procedió a cortar placas de Silica gel con dimensiones de 10 x 3 cm y trazamos con lápiz dos márgenes: superior e inferior, cada uno a 1 cm del borde de la placa. Sobre la línea de la base inferior sembramos en banda, con los capilares pequeñas cantidades de muestra, dejando secar bien antes de la siguiente siembra.

Secar bien la placa y colocarla en la cuba de desarrollo con su respectiva fase móvil (previamente saturada 30 min antes).

Se hizo desarrollar el cromatograma hasta que la fase móvil llegó a la línea horizontal superior marcada anteriormente.

Si la mezcla de muestras que se está analizando presenta color, se verán los distintos colores migrando a distintas velocidades.

Se retiró la placa de la cuba de desarrollo y se dejó secar por 30 minutos aproximadamente y se observó a luz UV/V a 254 nm, procediéndose a marcar las cuidadosamente las manchas donde se podía visualizar un componente de la muestra.

Si son incoloras hay que someter la placa a algún tratamiento con una sustancia reveladora para poder determinar la presencia de sustancias sobre el silicato. El tipo de revelador dependerá del tipo de moléculas que se analizan.

2.6.3 FACTOR DE RETRASO

La constante RF (Ratio of Front) es simplemente una manera de expresar la posición de un compuesto sobre una placa como una fracción decimal, mide la retención de un componente. Se define como:

$$R_f = \frac{\text{Distancia recorrida desde el origen por el compuesto}}{\text{Distancia recorrida desde el origen por el frente del eluyente}}$$

La distancia recorrida por el compuesto se mide generalmente desde el centro de la mancha, los cálculos se simplifican si el denominador es 10. Para que los RF sean reproducibles deben ser fijadas una serie de condiciones (Espesor de la placa, fase móvil, fase estacionaria, cantidad de muestra). El máximo valor de RF que se puede alcanzar es de 1, lo ideal es un RF entre 0.65 y 0.7.(49)

2.6.4 IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS

Para la identificación de taninos por cromatografía de capa fina se utilizó como fase móvil, metanol y acetato de etilo (50:50) y revelador FeCl_3 al 1% en etanol, pudiendo dar un color azul negruzco o color verde.

Para el caso de flavonoides se aplicó cromatografía de capa fina, se utilizó como fase móvil metanol y acetato de etilo (50:50) y reveladores AlCl_3 al 1% en etanol: a luz UV a 366nm y vapores de amoníaco a luz UV a 366 Nm. En la placa cromatográfica colocamos estándar de quercetina y rutina, además se colocó muestra de extracto etanólico de fruto desecado y extracto etanólico liofilizado donde se espera la aparición de manchas fluorescentes amarillas.

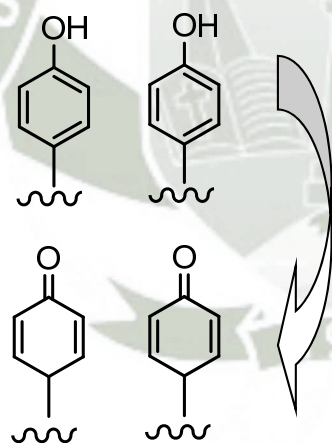
En la identificación de alcaloides por cromatografía de capa fina se utilizó como fase móvil metanol y acetato de etilo (50:50) que es adecuado como sistema de screening para muchos alcaloides y revelador Dragendorff, si hay presencia de alcaloides se evidenciara manchas de color marrón o anaranjado intenso.

2.7 DETERMINACION DE COMPUESTOS POLIFENOLICOS TOTALES (CPT)

El método que se utilizó para la determinación de compuestos fenólicos totales (CPT) se realizó el ensayo de Folin-Ciocalteu.

2.7.1 METODO DE FOLIN-CIOCALTEU

El Fundamento del método Folin-Ciocalteu se utiliza como medida del contenido en compuestos fenólicos totales en productos vegetales. Está basado que los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu, a pH basal, el cual da lugar a una coloración azul susceptible de ser determinada espectrofotométricamente a 765 nm. Este reactivo contiene una mezcla de wolframato sódico y molibdato sódico en ácido fosfórico y reacciona con los compuestos fenólicos presentes en la muestra. El ácido fosfomolibdotúngstico (formado por las dos sales en el medio ácido), de color amarillo, al ser reducido por los grupos fenólicos da lugar a un complejo de color azul intenso, cuya intensidad es la que medimos para evaluar el contenido en polifenoles. (50)



El reactivo de Folin inicialmente (W^{6+} , Mo^{6+}) es de color amarillo.

Luego de la reacción este reactivo queda reducido (W^{5+} , Mo^{5+}) dando una coloración azul, el cual se lleva a lectura al espectrofotómetro

Figura N° 2.4 Mecanismo de acción del reactivo de Folin-Ciocalteu.

Fuente: Elaboración propia, 2016

El mecanismo de reacción es una reacción redox, por lo que además puede considerarse también, como un método de medida de la actividad antioxidante total. La oxidación de los polifenoles presentes en la muestra, causa la aparición de una

coloración azulada que presenta un máximo de absorción a 765 nm, y que se cuantifica por espectrofotometría en base a una recta patrón de ácido gálico. Se trata de un método preciso y sensible, que puede padecer numerosas variaciones, fundamentalmente en lo relativo a los volúmenes utilizados de la muestra a analizar, concentración de reactivos y tiempo de reacción.

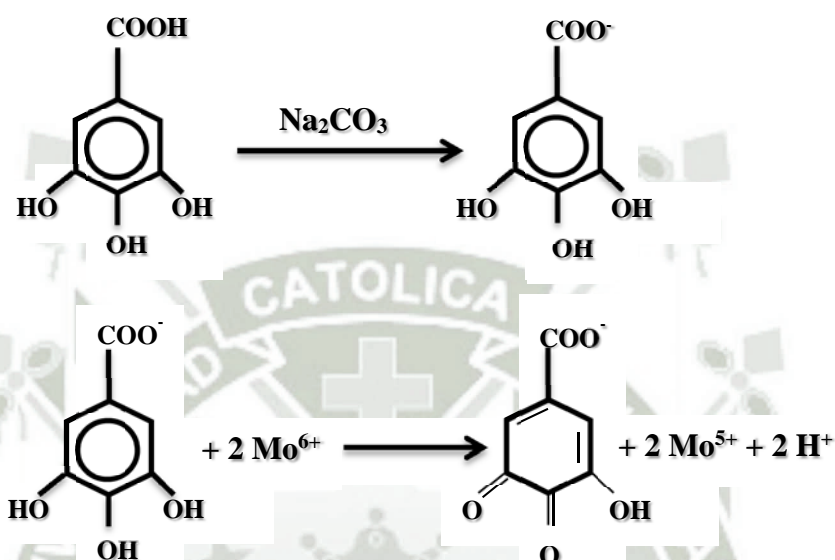


Figura N° 2.5 Reacción del ácido gálico con el reactivo de folin-ciocalteu
FUENTE: Elaboración propia, 2016

También se pueden producir variaciones en el modo de expresar los resultados, sin embargo, el patrón recomendado es el ácido gálico. Este ensayo de análisis de los polifenoles totales, se utiliza con frecuencia en el estudio de las propiedades antioxidantes de alimentos vegetales, como zumos de fruta, al tratarse de un parámetro que generalmente, muestra una estrecha correlación con los diferentes métodos de medición de la actividad antioxidante. (50)

2.7.2 DETERMINACION DE COMPUESTOS POLIFENOLICOS POR ESPECTROFOTOMETRIA

El uso del método de Folin-Ciocalteau se utiliza para determinar compuesto fenólicos, el cual necesariamente utiliza los siguientes reactivos.

- Se prepara una solución de carbonato de sodio al 20% (Na_2CO_3) en una fiola, para lo cual se pesó 10 g de carbonato de sodio y se disolvió en 50 ml de agua destilada.
- Se preparó una solución de madre de ácido gálico de 1000 ppm lo cual se pesó 0.05 g de ácido gálico y se transfirió a una fiola de 50 ml se disolvió y se enrazó con agua destilada. A partir de esta solución madre se preparó 5 diluciones de diferentes concentraciones en un rango de 2 ppm-10 ppm siguiendo la siguiente ecuación de dilución.

$$C \times V = C_1 \times V_1$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 2 \text{ ppm} \times 10 \text{ ml}$$

$$V_1 = 0.02 \text{ ml} = 20 \text{ ul}$$

- Se prepararon 05 diluciones con concentraciones de 2, 4, 6,8 y 10 ppm a partir de la solución madre de 1000 ppm los cuales son llevados a fiolas de 10 ml a partir del cual se utilizara para obtener la curva de calibración de ácido gálico.

TABLA N° 2.1 Diluciones Para La Curva De Calibración De Ácido Gálico

Concentración de Acido Gálico (ppm)	Solución Patrón de Acido Gálico 1000 ppm (ul)
2 ppm	20
4 ppm	40
6 ppm	60
8 ppm	80
10 ppm	100

FUENTE: Elaboración propia, 2016

En la Tabla N° 2.2 se muestran los valores a utilizarse para la preparación de la curva de calibración. Luego de realizada la mezcla se dejó reaccionar por 2 horas en oscuridad, se preparó un blanco para ajustar la absorbancia a cero.

TABLA N° 2.2 Valores para preparar la curva de calibración de ácido gálico

N° Patrón	Blanco	Std 1	Std 2	Std 3	Std 4	Std 5
Concentración de ácido gálico ppm	0	2	4	6	8	10
Solución patrón de ácido gálico 1000 ppm (ml)	0	1	1	1	1	1
Agua destilada (ml)	4	4	4	4	4	4
Reactivo de Folin-Ciocalteau (ul)	250	250	250	250	250	250
Carbonato de Sodio al 20% (ml)	2	2	2	2	2	2
Volumen final de los tubos de ensayo	7.25	7.25	7.25	7.25	7.25	7.25

FUENTE: Elaboración propia, 2016

2.8 DETERMINACION DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTES

La determinación de la capacidad antioxidante de muestras naturales o sintéticas, existe muchos métodos, para este trabajo de investigación se realizó el método CUPRAC (Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity).

2.8.1 METODO CUPRAC (ION CUPRICO REDUCCION DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE)

Método de Cuprac

En el presente trabajo se determinara la capacidad antioxidante del aguaymanto. Para ello se utilizará un procedimiento en que consiste en utilizar el reactivo Cu(II)-Neocuproina[Cu(II)-Nc] como agente oxidante cromogénico. El procedimiento se denomina CUPRAC, acrónimo del inglés “copper reducing antioxidant capacity”.

Los protones liberados pueden neutralizarse con la solución de acetato amónico. En esta reacción los polifenoles (-OH) se oxidan a las correspondientes formas quinónicas (=O) y el Cu (II)-Nc es reducido a Cu(I)-Nc que es muy coloreado y muestra un máximo de absorción a 450 nm.

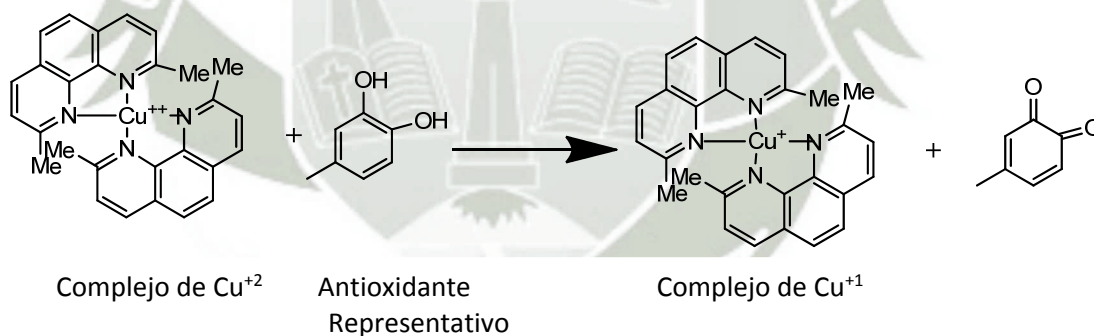


Figura N° 2.7 Reducción del cobre y formación de complejo

Fuente: Elaboración propia, 2016

Las ventajas del método de Cuprac para la evaluación de la capacidad antioxidante son:

- El método Cuprac actúa lo suficiente rápido para oxidar antioxidantes que poseen grupo tiol, que no son detectados por otros métodos.

- Este reactivo (Cuprac) esta disponible en la mayoría de laboratorios.
- El reactivo es mucho más estable y fácilmente accesible que los reactivos cromogénico radicales.
- El quelato producido por el Cu^{+1} no puede actuar como un prooxidante por lo que no se podría dar un error negativo en la determinación antioxidante del Cu^{+1}
- La absorbancia CUPRAC frente a las curvas de concentración están perfectamente lineal en un amplio intervalo de concentración, a diferencia de los de otros métodos que producen curvas polinómicas.
- Los valores de TAC (Capacidad antioxidante total de antioxidantes) que se encuentran con CUPRAC son perfectamente aditiva, es decir, los TAC de una mezcla fenólica es igual a la suma de los valores de TAC de sus polifenoles constituyentes.
- Este método mide simultáneamente antioxidante lipofilicos e hidrofílicos.(51)

Reactivos a Preparar:

- Acetato de Amonio: Solución Buffer 1M a pH7.
- Neocuproina: Solución 7.5×10^{-3} M en Etanol.
- Cloruro de cobre Di hidratado: Solución 1.2×10^{-2} M en Agua.
- Ácido Ascórbico: Stock 2.0×10^{-4} M en Etanol.

2.8.2 DETERMINACION DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE POR ESPECTROFOTOMETRIA

Para la determinación de la capacidad antioxidante se preparó una curva de calibración de ácido ascórbico para lo cual se usaron 6 tubos de ensayo, de los cuales un tubo es el tubo blanco y 5 tubos son los estándares, a los cuales se le añadió las siguientes soluciones: 1 ml de Buffer Acetato de Amonio, 1 ml de Neocuproina, 1 ml de CuCl_2 , Ácido Ascórbico 0.25ml, 0.5ml, 1ml, 1.5ml, 2ml, con excepción del blanco, finalmente se agregaron 2ml, 1.75ml, 1.5ml, 1ml, 0.5ml excepto al tubo número 5.(Tabla N°4)

Luego de ser mezcladas y dejadas en reposo a temperatura ambiente por 30 minutos en oscuridad, y fueron leídas en el espectrofotómetro a 450 nm.

TABLA N°2.3 Valores para preparar la curva de calibración con ácido ascórbico

	Blanco	Std.1	Std.2	Std.3	Std.4	Std.5
Buffer Acetato (ml)	1	1	1	1	1	1
Neocuproina (ml)	1	1	1	1	1	1
CuCl₂ (ml)	1	1	1	1	1	1
Ácido Ascórbico (ml)	-	0.25	0.5	1	1.5	2
Agua Destilada (ml)	2	1.75	1.5	1	0.5	

FUENTE: Elaboración propia, 2016

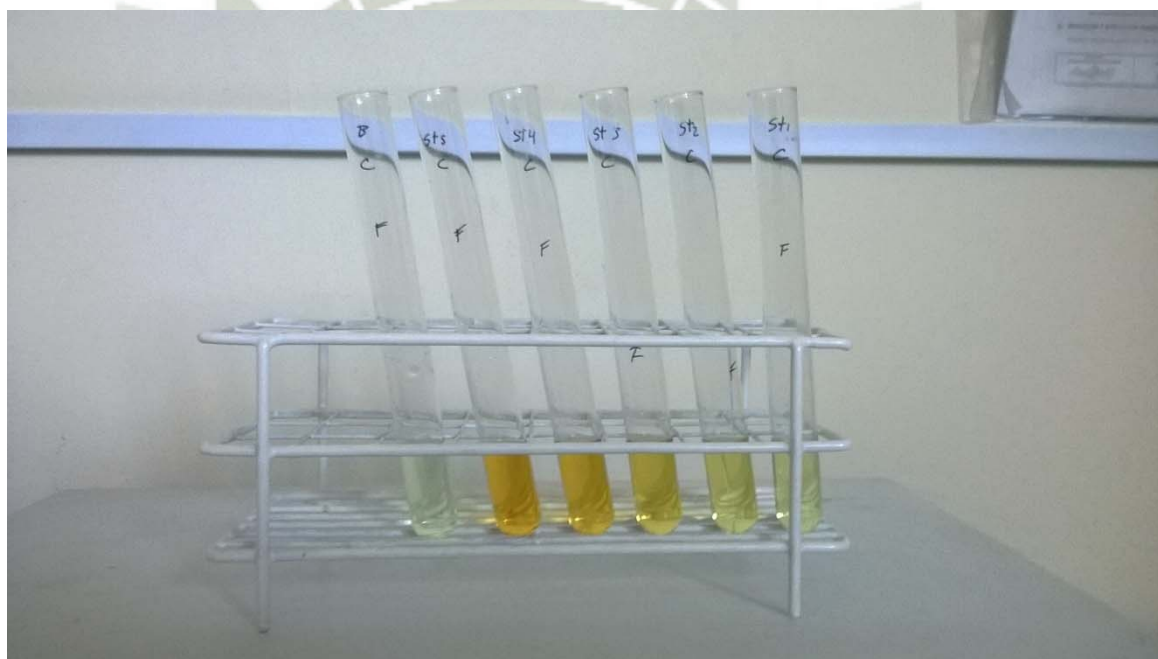


FIGURA N° 2.8 Tubos con estándares para hacer la lectura en el espectrofotómetro

FUENTE: Elaboración propia, 2016

CAPITULO III

RESULTADOS Y DISCUSION

3.1.- RECOLECCION

La recolección del fruto de aguaymanto fue recolectada en un vivero del distrito de Orcopampa, provincia de Castilla departamento de Arequipa se recolectaron en horas de la mañana aproximadamente 6 kilos de fruto de aguaymanto.

Luego se lavaron los frutos con agua corriente y se finalmente se enjuagaron con agua destilada se secaron con tela de algodón, una vez estando seco se procedió a seleccionar el fruto por su tamaño, su estado de maduración y que no estén golpeadas, no deben recolectarse cuando están bañadas por el rocío o lluvia y deben desecharse si están descoloridos o atacados por insectos, luego se almaceno bajo una temperatura de 4C° para luego llevarlas a la ciudad de Arequipa a los laboratorios de la Universidad Católica de Santa María.

Estas muestras del fruto de aguaymanto en los laboratorios de la Universidad Católica de Santa María se procedieron a cortarlos en rodajas para llevarlas el horno desecador a una temperatura de 60°C por un tiempo de 7 horas hasta sequedad, luego

se pesó 10 g del fruto desecado, se procedió a realizar las extracciones con los respectivos solventes.

En el caso de la liofilización también se procedió a cortar el fruto en mitades con un cuchillo de plástico para evitar la oxidación del fruto y se procedió a colocarlas en la bandeja del liofilizador para que empiece su tratamiento, luego terminado el mismo se procedió a pulverizar el producto para también realizar las extracciones con los respectivos solventes.

Para la identificación taxonómica del fruto se envió una muestra al laboratorio de biología de la Universidad Nacional de San Agustín.

3.2. PREPARACION DE LOS EXTRACTOS Y LA DETERMINACION DEL PORCENTAJE DE RENDIMIENTO

Se realizaron extracciones con diversos solventes (etanol, metanol y heptano) por duplicado bajo las mismas condiciones, lo cual se empleó el método de extracción por Soxhlet.

Luego para evaluar la capacidad antioxidantes y la determinación de compuesto fenólicos totales se usaron los métodos de CUPRAC y FOLIN-CIOCALTEU respectivamente, se realizaron extracciones continuas la cual se usaron el método de extracción Soxhlet usado los solventes etanol, metanol y heptano.

3.2.1 OBTENCION DE EXTRACTOS

3.2.1.1 EXTRACTO ETANOLICO OBTENIDO POR EL METODO DE EXTRACCION SOXHLET

Para realizar la extracción con etanol se realizó el método de extracción Soxhlet la cual se realizó 2 veces, en las mismas condiciones en 2 días consecutivos de manera independientes.

Para la extracción de los principios activos de la muestra de aguaymanto se usaron dos tipos de muestras, una muestra fresca la cual se estabilizo y se deseco, y otra muestra que se liofilizo, en ambas muestras se tomaron 10 g, luego se procedió a envolver con papel filtro formando unos pequeños cartuchos de papel filtro que

fueron colocados en el cuerpo del equipo de extracción. En el balón del equipo de extracción se colocó 150 ml de etanol como menstruo, la extracción hasta el agotamiento de la muestra que duro aproximadamente 5 horas, obteniéndose al final del extracto etanolico una coloración dorado.

Para la obtención del extracto seco se llevó el extracto etanolico al equipo de rotavapor a una temperatura de 78°C (punto de ebullición del etanol) hasta obtener un volumen menor a 20 ml, luego se llevó el balón al horno desecador hasta realizar desecación completa a un peso constante.

Una vez realizada la desecación individual de cada muestra tanto la muestra, desecada y liofilizada se procedió a calcular el porcentaje de rendimiento de cada una de las extracciones. (Tabla N° 3.1)

Una vez que se determinó el porcentaje de rendimiento en los dos tipos de muestras, se realizó la reestructuración de las muestras en los balones con el mismo tipo de solvente de extracción (etanol) a un volumen final de 150 ml para luego colocarlos en un frasco color ámbar rotulados y llevarlos a refrigeración de 4°C, se reserva estos extractos para luego ser usados.

Tabla N° 3.1 Porcentaje de rendimiento de los extractos etanolicos de las muestras desecada y muestra liofilizada del fruto de aguyamanto obtenidos por método soxhlet

Muestra	Peso del Extracto	Porcentaje de
	(g)	Rendimiento (%)
Desecada	3,265	32,65
	2,928	29,28
	Promedio	30,965
Liofilizada	4,704	47,04
	4,261	42,61
	Promedio	44,825

FUENTE: Elaboración propia, 2016

3.2.1.2 EXTRACTO METANOLICO OBTENIDO POR EL METODO DE EXTRACCION SOXHLET

Para realizar la extracción con metanol se usó extracción por Soxhlet, esto se realizó 2 días consecutivos de manera independiente, usando una muestra de 10g.

Para la extracción de los principios activos de las muestra de aguaymanto se usó la misma técnica de extracción con etanol la que se usó 10 g de muestra, tanto desecada como liofilizada del cual se envolvió en papel filtro formando cartuchos pequeños para que puedan ser colocados dentro del cuerpo del equipo de extracción.

En el balón del equipo de extracción se colocó 150 ml de metanol como menstro, la extracción se realizó hasta agotamiento de la muestra que aproximadamente duro 5 horas y así obteniéndose un extracto metanolico con una coloración amarillo claro.

Para la obtención del extracto seco se llevó el extracto metanolico al equipo de rota vapor a una temperatura de 64°C (punto de ebullición del metanol) hasta obtener un volumen menor a 20 ml, luego se llevó el balón al horno desecador hasta realizar desecación completa a un peso constante..

Una vez realizada la desecación tanto en la muestra liofilizada y desecada se procedió a realizar el porcentaje de rendimiento de la muestra (Tabla N° 3.2).

Después de calcular el porcentaje de rendimiento se procedió a disolver la muestra desecada y liofilizada a un volumen de 150 ml y se guardó en frascos color Ámbar, se almaceno a temperatura menor de 4°C hasta ser empleado.

Tabla N° 3.2 Porcentaje de rendimiento de los extractos metanolicos de la muestra desecada y muestra liofilizada del fruto de aguaymanto obtenidos por método soxhlet

Muestra	Peso del Extracto	Porcentaje de
	(g)	Rendimiento (%)
Desecada	4,432	44,32
	4,022	40,22
	Promedio	42,27
Liofilizada	5,928	59,28
	5,026	50,26
	Promedio	54,77

FUENTE: Elaboración propia, 2016

3.2.1.3 EXTRACTO HEPTANICO OBTENIDO POR EL METODO DE EXTRACCION SOXHLET

La extracción con heptano se realizó como en las extracciones anteriores durante 2 días consecutivos de manera independiente usando una muestra de 10 g.

Para los principios activos de la muestra de aguaymanto se usó el mismo tipo de técnica realizada anteriormente, el cual se usó también 10 g de muestra liofilizada y desecada, siguiendo el procedimiento anteriormente descrito.

Se colocó 150 ml de heptano como solvente de extracción, se trabajó hasta agotamiento de la muestra, esto duro aproximadamente 6 horas, obteniendo un extracto heptanico.

La coloración de los extractos tanto liofilizado y desecado mostro dos coloraciones distintas, en el caso del extracto con muestra desecada y liofilizada se obtuvo una coloración casi transparente pero ligeramente amarillo muy tenue.

Los extractos heptanicos se llevaron al equipo de rotavapor a una temperatura de 98°C (punto de ebullición del Heptano) hasta obtener un volumen menor a 20 ml, el

balón se llevó al horno desecador para la eliminación total del solvente a una temperatura de 40°C hasta sequedad.

Luego de realizar la desecación de las muestras liofilizada y desecada se realizó el cálculo del porcentaje de rendimiento de la muestra (Tabla N° 3.3).

Una vez determinada su porcentaje de rendimiento, las dos tipos de muestras se volvieron a reconstituir con sus respectivo solvente, se le agrego 150 ml de solvente (heptano).

TABLA N° 3.3 Porcentaje de rendimiento de los extractos heptanico de la muestra desecada y muestra liofilizada del fruto de aguaymanto obtenidos por método soxhlet

Muestra	Peso del Extracto	Porcentaje de
	(g)	Rendimiento (%)
Desecada	0,011	0,11
	0,0094	0,094
	Promedio	0,102
Liofilizada	0,085	0,85
	0,078	0,78
	Promedio	0,815

FUENTE: Elaboración propia, 2016

3.3 LIOFILIZACION DE MUESTRA DE *PHYSALIS PERUVIANA*

Inicialmente se pesó 750 g de muestra el cual se colocó en la bandeja del liofilizador, luego de terminada la liofilización se volvió a pesar la muestra ya estando dentro de una bolsa herméticamente cerrada para que dicha muestra liofilizada no tome humedad, el cual se calculó la perdida de agua después de la liofilización:

Pi = Peso inicial de la muestra cortada en mitades: 750 g

Pf = Peso de la muestra liofilizada: 105 g

$$P_i - P_f = 645 \text{ g}$$

El cual se puede observar que la liofilización realizó la extracción del 86 % del peso inicial el cual se puede concluir que se eliminó el agua contenida en el fruto.

3.4 CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA

3.4.1 ANÁLISIS FITOQUIMICO PRELIMINAR: CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA

La cromatografía en capa fina del extracto etanolico de Aguaymanto, se realizó con el objetivo de identificar algunos de los principales metabolitos secundarios que serían los responsables del efecto Fito farmacológico.



Figura N° 3.1 IDENTIFICACION DE TANINOS LUZ VISIBLE

Fuente: Elaboración Propia, 2016

La placa cromatográfica para taninos que utilizo como fase móvil una mezcla de metanol y acetato de etilo (50:50) y como revelador cloruro férrico en etanol; muestra en detalle una banda que podría corresponder a este tipo de metabolito se observa mancha color verde (Rf de 0.89)

IDENTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES

Fase Móvil : metanol y acetato de etilo (50:50)

Revelador: AlCl₃ al 1% en etanol a luz UV a 366 nm

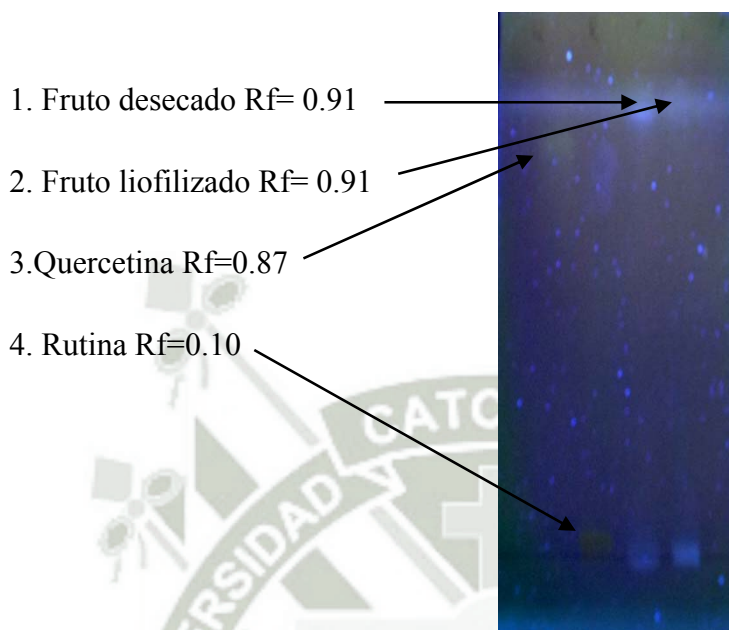


Figura N° 3.2 IDENTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES

Fuente: Elaboración Propia, 2016

Tabla N° 3.4 Cuadro de identificación de flavonoides

Muestra	Muestra extracto Desecado		Muestra Extracto Liofilizado		Estándar Quercetina		Estándar rutina	
	color	Rf	Color	Rf	color	R	Color	Rf
1	Azul-turqueza	0.91	-	-	-	-	-	-
2	-	-	Azul-turqueza	0.91	-	-	-	-
3	-	-	-	-	Amarillo	0.87	-	-
4	-	-	-	-	-	-	Amarillo-naranja	0.10

Fuente: Elaboración propia, 2016

La placa cromatografica para flavonoides utilizo como fase movil una mezcla de metanol y acetato de etilo (50:50) y como revelador $AlCl_3$ al 1% en etanol a luz UV a 366 nm, muestra en detalle las bandas que podría corresponder a este tipo de metabolitos, se observan manchas azul turquesa (R_f de 0.91) en muestra desecada y liofilizada y se observa mancha color amarillo (R_f de 0.87) en estándar de Quercetina y mancha color naranja café (R_f de 0.10) para estándar de Rutina.

IDENTIFICACION DE FLAVONOIDES ESTÁNDAR QUERCETINA Y RUTINA

Fase Móvil : metanol y acetato de etilo (50:50)
Revelador: vapores de amoniaco a luz UV a 366 nm

1. Fruto desecado $R_{f1} = 0.91$
2. Fruto desecado $R_{f2} = 0.57$
3. Fruto liofilizado $R_f = 0.91$
4. Quercetina $R_f = 0.87$



Fuente: Elaboración Propia, 2016

Tabla N° 3.5 Identificación de flavonoides estándar quercetina y rutina

Muestra	Muestra extracto Desecado		Muestra Extracto Liofilizado		Estándar Quercetina	
	Color	Rf	Color	Rf	color	Rf
1	Azul-turqueza	0.91	-	-	-	-
2	Azul-turqueza	0.57	-	-	-	-
3	-	-	Azul-turqueza	0.91	-	-
4	-	-	-	-	Amarillo	0.87

Fuente: Elaboración Propia, 2016

La placa cromatografica para flavonoides que utilizo como fase móvil una mezcla de metanol y acetato de etilo (50:50) y como revelador vapores de amoniaco a luz UV a 366 nm, muestra en detalle las bandas correspondientes a este tipo de metabolito, se observan manchas azul turquesa (Rfs 0.57, 0.91) en muestra desecada y muestra liofilizada se observa una mancha color azul-turquesa (0.91), Se observa una mancha color amarillo (Rf de 0.87) para estándar de quercetina.

IDENTIFICACIÓN DE ALCALOIDES

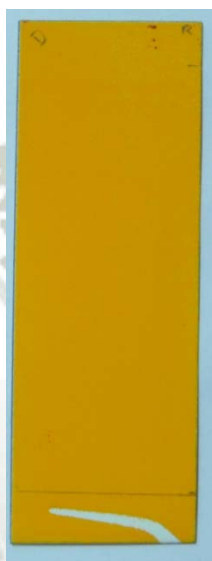


Figura N° 3.4 IDENTIFICACIÓN DE ALCALOIDES

Fuente: Elaboración Propia, 2016

La placa cromatografica para alcaloides que utilizo como fase móvil una mezcla de metano: acetato de etilo(50:50) y como revelador reactivo Dragendorf a luz UV a 366 nm el cual tiene un color naranja muy intenso el cual se observó que no contiene sustancias alcaloides (negativo)

3.5 DETERMINACION DE COMPUESTOS POLIFENOLICOS TOTALES (CPT)

Para la determinación de compuestos fenólicos totales (CPT) se realizó un ensayo de FOLIN-CIOCALTEU. Este método es usado para la determinación de compuesto fenólicos ya que es un método bastante fácil de usar y además se usa técnicas espectrofotométricas usando como curva de calibración el ácido gálico previamente calibrado como solución patrón.

Se procedió en primer lugar a obtener la curva de calibración de ácido gálico, para ello se utilizó 6 tubos de ensayo previamente rotulados en los cuales se le agregaron en forma ordenada primero ácido gálico, agua destilada, reactivo de Folin-Ciocalteu y finalmente Carbonato de sodio al 20% obteniendo un volumen final de 7.25 ml en este caso el tubo blanco no se le agrego ácido gálico, más detallado se describió en el **Capítulo II** una vez terminado el procedimiento se llevó a reposar a oscuridad para que reaccionaran por 2 horas, luego de concluido se llevó al pabellón H 201 (laboratorio de control de calidad) para las lecturas en el espectrofotómetro UV/V a 765nm.(Tabla N° 3.6)

Este procedimiento se realizó por triplicado en días consecutivos, usando las mismas condiciones que la primera vez.

Tabla N°3.6 Datos de la curva de calibración de ácido gálico

N°	Concentración (mg/L)	Absorbancias a760 nm			Absorbancia Promedio	Desviación Estándar
		Abs 1	Abs 2	Abs 3		
1	2	0.025	0.024	0.026	0.025	0.00100
2	4	0.054	0.054	0.055	0.054	0.00058
3	6	0.083	0.086	0.084	0.084	0.00153
4	8	0.112	0.113	0.112	0.112	0.00058
5	10	0.142	0.147	0.143	0.144	0.00265

FUENTE: Elaboración Propia, 2016

Estos datos de la tabla N° 3.6 fueron sometidos a un análisis estadístico de regresión lineal, el objetivo de este análisis es poder obtener una curva de calibración del método y que la ecuación sea capaz de vincular las dos variables (concentración y absorbancia). El análisis de la regresión va permitir obtener un modelo de relación la que se obtiene una variable dependiente “Y” (absorbancia) y una variable independiente “X” (concentración de Acido Gálico mg/L), el coeficiente de determinación r^2 va a indicar cuál es el porcentaje de variabilidad en que la variable “Y” pueda ser explicada por la variable “X”.

Se puede observar en la Figura N° 3.5 que la respuesta es lineal ya que el coeficiente de determinación es cercano a la unidad, lo que indica que hay una relación directa entre la concentración de los compuestos fenólicos del extracto de aguaymanto y la absorbancia.

En la curva de calibración se obtuvo el coeficiente de determinación (r^2) igual a 0.9997, teniendo una pendiente (b) de **0.0148** y teniendo un intercepto (α) **0.0048**.

Esto indica un buen ajuste de datos por lo que la ecuación de regresión va a quedar de la siguiente manera:

$$Y = b(x) + a$$

$$y = 0.0148 x - 0.0048$$

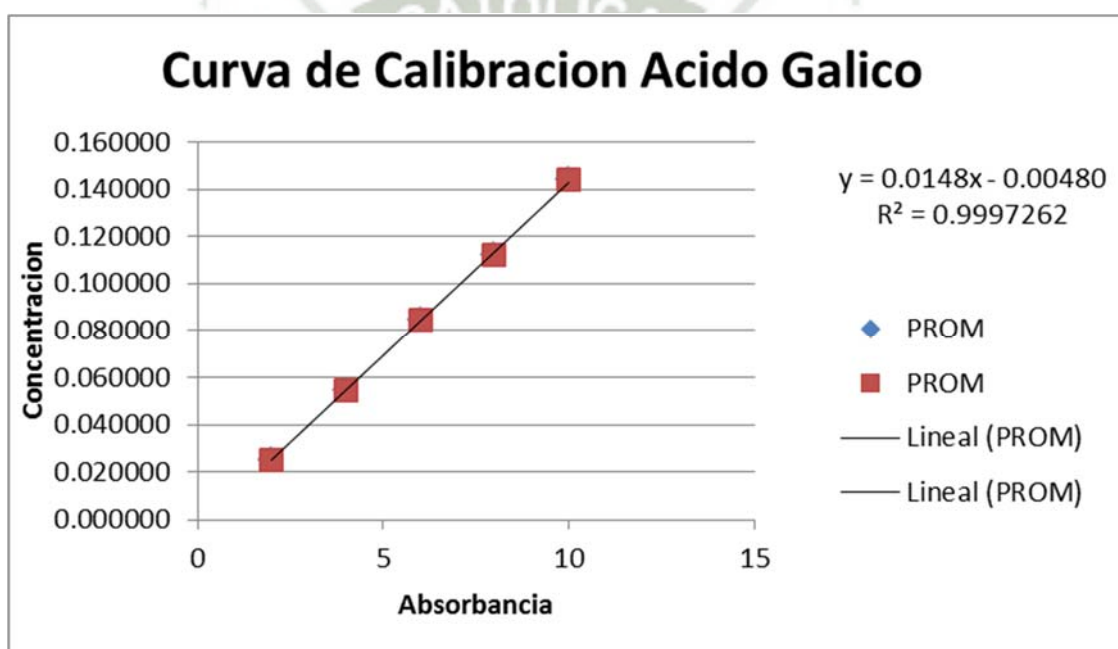


Figura N°3.5 Grafica de calibración usando como estándar ácido gálico

FUENTE: Elaboracion Propia, 2016

La determinación de los límites de detección y cuantificación se realizó el siguiente cálculo llevado la concentración a 0

Para calcular **Y_{bl}** se lleva la concentración igual a 0.

$$y = 0.0148 (0) - 0.0048$$

$$\text{Por lo tanto } Y_{bl} = 0.0048$$

Para la determinación de **S_{bl}** se tiene que relacionar la Concentración Vs Desviación Estándar dándonos la siguiente ecuación:

$$y = 0.000165x + 0.000278$$

Ahora determinamos el cálculo de la Desviación Estándar de la absorbancia a la concentración 0:

$$a=0.000278$$

$$b=0.000165$$

$$y = 0.000165(0) + 0.000278$$

$$\text{Por lo tanto } S_{bl} = 0.000278$$

Determinación de los Límites de detección para Fenoles Totales

$$LDD = \frac{Y_{bl} + 3 S_{bl}}{b} \times \frac{1}{\sqrt{n_1}}$$

$$LDD = \frac{0,0048 + 3(0,000278)}{0,0148} \times \frac{1}{\sqrt{5}}$$

$$LDD = 0.170$$

Determinación de los Límites de cuantificación para Fenoles Totales

$$LDQ = \frac{Y_{bl} + 10 S_{bl}}{b} \times \frac{1}{\sqrt{n_1}}$$

$$LDQ = \frac{0,0048 + 10(0,000278)}{0,0148} \times \frac{1}{\sqrt{5}}$$

$$LDQ = 0,229 \text{ ppm}$$

En la curva de calibración obtenida (Figura N° 3.5) para la cuantificación de fenoles totales se determinó que tiene un límite de detección de 0.170 ppm y un límite de cuantificación de 0.229 ppm, lo que se deduce que los valores por debajo de estas concentraciones no serán detectables ni cuantificables con este método utilizado.

Como se puede observar en las tablas las concentraciones de fenoles totales hallados en la extracción etanolica por soxhlet de la muestra de “aguaymanto”, desecada y liofilizada se demuestra que son detectables y cuantificables.

El contenido de compuestos fenólicos totales que se encontraron en la extracción etanolica por soxhlet se expresa en miligramos (mg) de Acido Gálico equivalente (GAE) /10 g de aguaymanto

En las Tabla N° 3.7 se puede apreciar las absorbancias y las concentraciones finales de los extractos etanolicos de “aguaymanto” la que se encontró compuestos fenólicos los cuales los valores oscilan de 145.17 a 146.64 mg GAE/10 g de extracto Etanolico desecado obtenido por método soxhlet y valores que oscilan de 148.11 a 153.99 mg GAE/10 g de extracto etanolico liofilizado obtenido por método soxhlet.

Además se puede observar en las tablas las concentraciones de fenoles totales hallados en la extracción metanolica por soxhlet de la muestra de “aguaymanto”, desecada y liofilizada se demuestra que son detectables y cuantificables.

En las Tabla N° 3.7 se puede apreciar las absorbancias y las concentraciones finales de los extractos con metanol de “aguaymanto” la que se encontró compuestos fenólicos los cuales los valores oscilan de 123.12 a 124.59 mg GAE/10 g de extracto con metanol desecado obtenido por método soxhlet y valores que oscilan de 136.35 a 137.82 mg GAE/10g de extracto con metanol liofilizado obtenido por método soxhlet.

Tabla N° 3.7 Extracción SOXHLET

Extracción Etanolica			
Muestra desecada	Absorbancias	Concentración (mg/L)	mg GAE/ 10 g de muestra
1	0.095	6.743	146.64
2	0.094	6.675	145.17
Promedio	0.0945	6.709	145.92

Extracción Metanólica

Muestra desecada	Absorbancias	Concentración (mg/L)	mg GAE/ 10 g de muestra
1	0.079	5.662	123.12
2	0.08	5.729	124.59
Promedio	0.0795	5.69	123.7575

Extracción Etanólica

Muestra liofilizada	Absorbancias	Concentración (mg/L)	mg GAE/ 10 g de muestra
1	0.1	7.081	153.99
2	0.096	6.162	148.11
Promedio	0.098	6.945	151.053

Extracción Metanólica

Muestra liofilizada	Absorbancias	Concentración (mg/L)	mg GAE/ 10 g de muestra
1	0.088	6.27	136.35
2	0.089	6.337	137.82
Promedio	0.0885	6,304	137.112

3.5.1 EXTRACTO ETANOLICO DESECADO POR MÉTODO SOXHLET

Se parte desde la ecuación de la recta del ácido gálico.

$$Y = 0.0148 (x) - 0.0048$$

$$0.0945 = 0.0148 (x) - 0.0048$$

$$X = 6.709 \text{ mg/L}$$

Hallando las concentraciones en cada disolución que se realizó para la muestra

$$(C1)(1\text{ml}) = (6.709\text{mg/L})(7.25\text{ml})$$

$$C1 = 48.64 \text{ mg/L}$$

$$(C2)(0.5\text{ml}) = (48.64 \text{ mg/L})(10\text{ml})$$

$$C2 = 972.8 \text{ mg/L}$$

Determinando la cantidad de compuestos fenólicos de la muestra

$$X = \frac{972.8 \text{ mg} \times 150 \text{ ml}}{1000 \text{ ml}}$$

$$X = 145.92 \text{ mg GAE/10 g de muestra}$$

Determinando la cantidad porcentual de fenoles totales obtenidos en la muestra promedio de extracción.

$$\% \text{Fenoles Totales} = \frac{145.92 \text{ mg} \times 100}{3096.5 \text{ mg}}$$

$$\% \text{Fenoles Totales} = 4.712\%$$

3.5.2 EXTRACTO METANOLICO DESECADO POR MÉTODO SOXHLET

Se parte desde la ecuación de la recta del ácido gálico.

$$Y = 0.0148 (x) - 0.0048$$

$$0.0795 = 0.0148 (x) - 0.0048$$

$$X = 5.69 \text{ mg/L}$$

Hallando las concentraciones en cada disolución que se realizó para la muestra

$$(C1)(1 \text{ ml}) = (5.69 \text{ mg/L})(7.25 \text{ ml})$$

$$C1 = 41.2525 \text{ mg/L}$$

$$(C2)(0.5 \text{ ml}) = (41.2525 \text{ mg/L})(10 \text{ ml})$$

$$C2 = 825.05 \text{ mg/L}$$

Determinando la cantidad de compuestos fenólicos en la muestra

$$X = \frac{825.05 \text{ mg} \times 150 \text{ ml}}{1000 \text{ ml}}$$

$$X = 123.7575 \text{ mg GAE/ 10 g de muestra}$$

Determinando la cantidad porcentual de fenoles totales obtenidos en la muestra promedio de extracción.

$$\% \text{Fenoles Totales} = \frac{123.7575 \text{ mg} \times 100}{4227 \text{ mg}}$$

$$\% \text{Fenoles Totales} = 2.927\%$$

3.5.3 EXTRACTO ETANOLICO LIOFILIZADO POR MÉTODO SOXHLET

Se parte desde la ecuación de la recta del ácido gálico.

$$Y = 0.0148 (x) - 0.0048$$

$$0.098 = 0.0148 (x) - 0.0048$$

$$X = 6.945 \text{ mg/L}$$

Hallando las concentraciones en cada disolución que se realizó para la muestra

$$(C1)(1 \text{ ml}) = (6.945 \text{ mg/L})(7.25 \text{ ml})$$

$$C1 = 50.351 \text{ mg/L}$$

$$(C2)(0.5 \text{ ml}) = (50.351 \text{ mg/L})(10 \text{ ml})$$

$$C2 = 1007.02 \text{ mg/L}$$

Determinando la cantidad de compuestos fenólicos en la muestra

$$X = \frac{1007.02 \text{ mg} \times 150 \text{ ml}}{1000 \text{ ml}}$$

$$X = 151.053 \text{ mg GAE/ 10 g de muestra}$$

Determinando la cantidad porcentual de fenoles totales obtenidos en la muestra promedio de extracción.

$$\% \text{Fenoles Totales} = \frac{151.053 \text{ mg} \times 100}{4482.5 \text{ mg}}$$

$$\% \text{Fenoles Totales} = 3.37\%$$

3.5.4 EXTRACTO METANOLICO LIOFILIZADO POR MÉTODO SOXHLET

Se parte desde la ecuación de la recta del ácido gálico.

$$Y = 0.0148 (x) - 0.0048$$

$$0.0885 = 0.0148 (x) - 0.0048$$

$$X = 6.304 \text{ mg/L}$$

Hallando las concentraciones en cada disolución que se realizó para la muestra

$$(C1)(1\text{ml}) = (6.304 \text{ mg/L})(7.25\text{ml})$$

$$C1 = 45.704 \text{ mg/L}$$

$$(C2)(0.5\text{ml}) = (45.704 \text{ mg/L})(10\text{ml})$$

$$C2 = 914.08 \text{ mg/L}$$

Determinando la cantidad de compuestos fenólicos en 10 g de muestra

$$X = \frac{914.08 \text{ mg} \times 150 \text{ ml}}{1000\text{ml}}$$

$$X = 137.112 \text{ mg GAE/ 10 g de muestra}$$

Determinando la cantidad porcentual de fenoles totales obtenidos en la de muestra promedio de extracción.

$$\% \text{Fenoles Totales} = \frac{137.112 \text{ mg} \times 100}{5477 \text{ mg}}$$

$$\% \text{Fenoles Totales} = 2.50 \%$$

3.6 DETERMINACION DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE POR EL METODO DE CUPRAC

Para la realización de la determinación de la capacidad antioxidante de la aguaymanto, para este trabajo se utilizó el método de CUPRAC, la cual se realizó por triplicado.

En la construcción de la curva de calibración de este método se usó el ácido ascórbico del cual se dispuso 6 tubos del cual incluyo el blanco la cual las absorbancias de dichos tubos se leen en el espectrofotómetro a 450 nm.

Los 6 tubos que han sido leídos en el espectrofotómetro contienen soluciones de buffer acetato de amonio 1M, Neocuproina 7.5×10^{-3} M, cloruro de cobre II 1.2×10^{-2} M y ácido ascórbico 2.0×10^{-4} M (el tubo blanco no contiene ácido ascórbico) luego a final se le agrega agua destilada a todos los tubos, más detalladamente se explica en el capítulo II de este trabajo, luego estos tubos se colocan en una gradilla cubiertas en papel aluminio cada tubo el cual se coloca dicha gradilla en una zona oscura sin contacto con la luz, se deja reaccionar por 30 minutos los cuales estos tubos presenta coloración anaranjado claro muy tenue que luego se llevó al pabellón H 201 (laboratorio de control de calidad) para las lecturas en el espectrofotómetro UV/V a 450nm. Esta lectura se realizó por triplicado en tres días consecutivos las cuales tuvieron las mismas condiciones para realizar la lectura en la primera vez.

Tabla N° 3.8 Absorbancias por triplicado, curva de calibración de ácido ascórbico

N°	Concentración	Absorbancias a 450 nm			Absorbancia	Desviación
	(mM)	Abs 1	Abs 2	Abs 3	Promedio	Estándar
1	0.01	0.3570	0.3610	0.3590	0.35900	0.0020000
2	0.02	0.5480	0.5420	0.5620	0.55067	0.0102632
4	0.04	0.9270	0.9310	0.9420	0.93333	0.0077675
6	0.06	1.2920	1.2850	1.3200	1.29900	0.0185203
8	0.08	1.6820	1.6730	1.6850	1.68000	0.0062450

FUENTE ELABORACION PROPIA, 2016

Los valores obtenidos en la Tabla N° 3.8 son sometidos estos datos a un análisis estadístico de regresión lineal del cual se obtuvo un coeficiente de determinación r^2 igual a 0.9999393, una pendiente (b) 18.8270325, y un intercepto (α) 0.1736646

Por lo tanto esto indica un buen ajuste de los datos lo que la ecuación de regresión queda de la siguiente manera:

$$Y = b(x) + a$$

$$y = 18.8270x + 0.17366$$

Se graficó la curva de calibración usando como estándares las soluciones de ácido ascórbico a diferentes concentraciones.

En la Figura N° 3.6 se puede observar que esta curva de calibración de calibración obtenida, presenta un valor de $R^2 = 0.9999393$, muy cercano a la unidad lo que indica que hay una relación directa entre la absorbancia y la concentración del ácido ascórbico, por lo tanto dicha ecuación va a servir de referencia para la determinación de la capacidad antioxidante de la muestra en estudio.

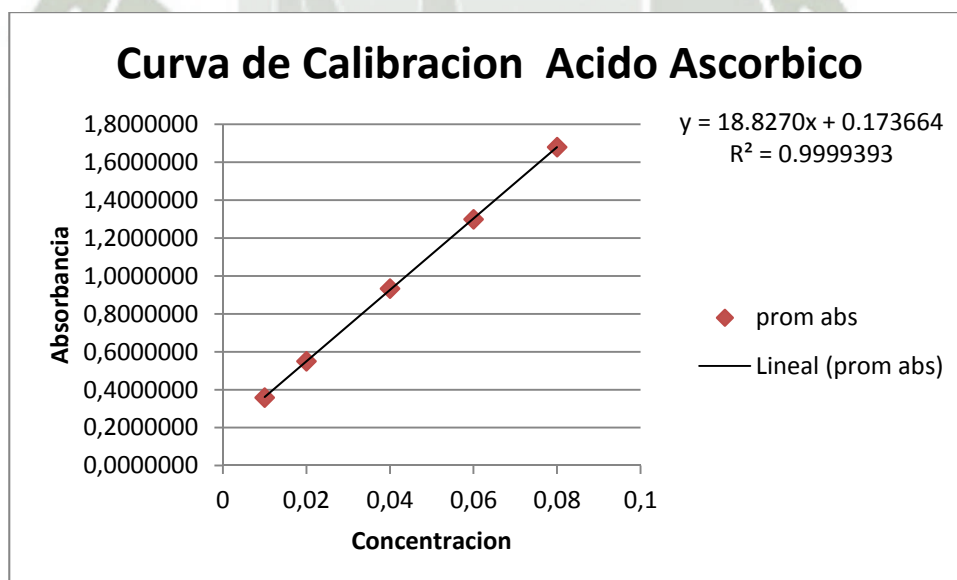


Figura N° 3.6 Grafica de calibración usando como estándar ácido ascórbico

Fuente de elaboración propia, 2016

La determinación de los límites de detección y cuantificación se realizó el siguiente cálculo llevado la concentración a 0

Para calcular **Ybl** se lleva la concentración igual a 0.

$$y = 18.8270 (0) + 0.173664$$

$$\text{Por lo tanto } Ybl = 0.173664$$

Para la determinación de **Sbl** se tiene que relacionar la Concentración Vs Desviación Estándar dándonos la siguiente ecuación:

$$y = 0.080899 x + 0.0055614$$

Ahora determinamos el cálculo de la Desviación Estándar de la absorbancia a la concentración 0:

$$a=0.080899$$

$$b= 0.0055614$$

$$y = 0.080899 (0) + 0.0055614$$

$$\text{Por lo tanto } Sbl= 0.0055614$$

Determinación de los Límites de detección.

$$LDD = \frac{Ybl + 3 Sbl}{b} \times \frac{1}{\sqrt{n1}}$$

$$LDD = \frac{0.1736 + 3(0.00556)}{18.8270} \times \frac{1}{\sqrt{5}}$$

$$LDD= 0,0045 \text{ mM}$$

Determinación de los Límites de cuantificación.

$$LDQ = \frac{Ybl + 10 Sbl}{b} \times \frac{1}{\sqrt{n1}}$$

$$LDQ = 0.0054 \text{ mM}$$

$$LDQ = \frac{0.1736 + 10(0.00556)}{18.8270} \times \frac{1}{\sqrt{5}}$$

$$LDQ = 0,0054 \text{ mM}$$

La curva de calibración para determinar la capacidad antioxidante, muestra un límite de detección de **0.0045 mM** y un límite de cuantificación de **0.0054 mM** lo que va a indicar que los valores por debajo de estas concentraciones no serán detectable ni cuantificables.

Utilizando el método CUPRAC, los resultados serán expresados como capacidad antioxidante equivalente a ácido ascórbico que se reporta como mg de ácido ascórbico/ g de extracto.

Usando la ecuación de la curva de calibración teniendo como estándar el ácido ascórbico se realizó los cálculos de contenido de mg equivalente de ácido ascórbico/10 g de muestra el cual se puede apreciar en la tabla N° 3.9 y se determino mg eq. Ácido ascórbico/10 g de muestra desecada de los extractos etanolicos y metanolicas, y de muestra liofilizada de los extractos etanolicos y metanolicos

La muestra usada para la determinación de capacidad antioxidante de la aguaymanto se usó 5 ml del extracto enrasado en una fiola de 10ml.

Tabla N° 3.9 Absorbancias De Los Extractos

Extracción Etanolica			
Muestra desecada	Absorbancias	Concentración (mM)	mg eq. Ácido ascórbico/10 g de muestra
1	0.285	8.85	1558.66
2	0.284	8.70	1532.24
Promedio	0.2845	8.7	1532.24

Extracción Metanolica			
Muestra desecada	Absorbancias	Concentración (mM)	mg eq. ácido ascórbico/10 g de muestra
1	0.266	7.35	1294.48
2	0.265	7.2	1268.06
Promedio	0.2655	7.2	1268.06

Extracción Etanólica			
Muestra liofilizada	Absorbancias	Concentración (mM)	mg eq. Ácido ascórbico/10 g de muestra
1	0.35	13.95	2456.87
2	0.347	13.86	2441.02
Promedio	0.3485	13.8	2430.456

Extracción Metanólica			
Muestra liofilizada	Absorbancias	Concentración (mM)	mg eq. Ácido ascórbico/10 g de muestra
1	0.338	13.05	2298.36
2	0.336	12.9	2271.94
Promedio	0.337	12.9	2271.95

Fuente de elaboración propia, 2016

- **Cálculos extracto Etanólico desecado**

Se parte desde la ecuación de la curva de calibración

$$ABS = 0.2845 \text{ CC} = 0.0058 \text{ mM}$$

Hallando las concentraciones en cada disolución que se realizó para la muestra

$$(C1)(1 \text{ ml}) = (5 \text{ ml})(0.0058 \text{ mM})$$

$$C1 = 0.029 \text{ mM}$$

$$(C2)(5 \text{ ml}) = (10 \text{ ml})(0.0295 \text{ mM})$$

$$C2 = 0.058 \text{ mM}$$

Determinando la cantidad de capacidad antioxidante 10 g de muestra contenidos en 150 ml de solvente

$$0.058 \frac{\text{mmol}}{\text{ml}} \times 150 \text{ ml} = 8.7 \text{ mmol}$$

$$X = 8.70 \text{ mmol eq. Ácido ascórbico/10 g de muestra}$$

$$176,12 \frac{\text{mg}}{\text{mmol}} \times 8.7 \text{ mmol} = 1532.244 \text{ mg}$$

$$X = 1532.244 \text{ mg Eq. Ácido ascórbico/10 g de muestra}$$

Determinando la cantidad porcentual de capacidad antioxidante obtenidos en la muestra de extracción.

$$\% \text{capacidad antioxidante} = \frac{1532.244 \text{ mg}}{3096.5 \text{ mg}} \times 100$$

$$\% \text{ capacidad antioxidante} = 49.48 \%$$

- **Cálculos Extracto Metanólico desecado**

Se parte desde la ecuación de la curva de calibración

$$\text{ABS} = 0.2655 \text{ CC} = 0.0048 \text{ mM}$$

Hallando las concentraciones en cada disolución que se realizó para la muestra

$$(C1)(1 \text{ ml}) = (5 \text{ ml})(0.0048 \text{ mM})$$

$$C1 = 0.024 \text{ mM}$$

$$(C2)(5 \text{ ml}) = (10 \text{ ml})(0.0245 \text{ mM})$$

$$C2 = 0.048 \text{ mM}$$

Determinando la cantidad de capacidad antioxidante 10 g de muestra contenidos en 150 ml de solvente

$$X = 0.048 \frac{\text{mmol}}{\text{ml}} \times 150 \text{ ml} = 7.2 \text{ mmol}$$

$$X = 7.2 \text{ mmol eq. Ácido ascórbico/10 g de muestra}$$

$$\frac{176.12 \text{ mg} \times 7.2 \text{ mmol}}{\text{mmol}} = 1268.064 \text{ mg}$$

$$X = 1268.064 \text{ mg Eq. ácido ascórbico/10 g de muestra}$$

Determinando la cantidad porcentual de capacidad antioxidante obtenidos en la muestra de extracción.

$$\% \text{capacidad antioxidante} = \frac{1268.064 \text{ mg} \times 100}{4227 \text{ mg}}$$

$$\% \text{ capacidad antioxidante} = 29.99 \%$$

- **Cálculos Extracto Etanólico liofilizado**

Se parte desde la ecuación de la curva de calibración

$$\text{ABS} = 0.3485 \text{ CC} = 0.0092 \text{ mM}$$

Hallando las concentraciones en cada disolución que se realizó para la muestra

$$(C1)(1 \text{ ml}) = (5 \text{ ml})(0.0092 \text{ mM})$$

$$C1 = 0.046 \text{ mM}$$

$$(C2)(5 \text{ ml}) = (10 \text{ ml})(0.046 \text{ mM})$$

$$C2 = 0.092 \text{ mM}$$

Determinando la cantidad de capacidad antioxidante 10 g de muestra contenidos en 150 ml de solvente

$$X = 0.092 \frac{\text{mmol}}{\text{ml}} \times 150 \text{ ml}$$

$$X = 13.8 \text{ mmol eq. Ácido ascórbico/10 g de muestra}$$

$$176,12 \frac{\text{mg}}{\text{mmol}} \times 13.8 \text{ mmol} = 2430.456 \text{ mg}$$

$$X = 2430.456 \text{ mg Eq. Ácido ascórbico/10 g de muestra}$$

Determinando la cantidad porcentual de capacidad antioxidante obtenidos en la muestra de extracción.

$$\% \text{capacidad antioxidante} = \frac{2430.456 \text{ mg} \times 100}{4482.5 \text{ mg}}$$

$$\% \text{ capacidad antioxidante} = 54,22 \%$$

- **Cálculos Extracto Metanólico Liofilizado**

Se parte desde la ecuación de la curva de calibración

$$\text{ABS} = 0.337 \text{ CC} = 0.0086 \text{ mM}$$

Hallando las concentraciones en cada disolución que se realizó para la muestra

$$(C1)(1 \text{ ml}) = (5 \text{ ml})(0.0086 \text{ mM})$$

$$C1 = 0.043 \text{ mM}$$

$$(C2)(5 \text{ ml}) = (10 \text{ ml})(0.043 \text{ mM})$$

$$C2 = 0.086 \text{ mM}$$

Determinando la cantidad de capacidad antioxidante 10 g de muestra contenidos en 150 ml de solvente

$$X = 0.086 \frac{\text{mmol}}{\text{ml}} \times 150 \text{ ml}$$

$$X = 12.9 \text{ mmol eq. Ácido ascórbico/10 g de muestra}$$

$$176,12 \frac{\text{mg}}{\text{mmol}} \times 12.9 \text{ mmol} = 2271.948 \text{ mg}$$

$$X = 2271.948 \text{ mg Eq. ácido ascórbico/10 g de muestra}$$

Determinando la cantidad porcentual de capacidad antioxidante obtenidos en la muestra de extracción.

$$\% \text{capacidad antioxidante} = \frac{2271.948 \text{ mg} \times 100}{5477 \text{ mg}}$$

$$\% \text{ capacidad antioxidante} = 41.48 \%$$

3.7 ANÁLISIS COMPARATIVOS DE LAS MUESTRAS

- En el presente trabajo se puede observar que la comparación de las muestras de los compuesto fenólicos totales usando el método de *Folin-Ciocalteu*, tanto de la muestra desecada y liofilizada el cual en la tabla N° 3.10 se puede observar que hay una variación debido al tipo de extracción de los principios activos de la muestra; el cual la muestra liofilizada contiene mayor cantidad de compuestos fenólicos comparadas con las muestras desecadas.
- La capacidad antioxidante se analizó con el método de Cuprac el cual se pudo observar que las muestras liofilizadas contienen mayor capacidad antioxidante que las muestra desecada lo cual se puede verse en la tabla N° 3.10
- En el trabajo se observó que el contenido de fenoles y la capacidad antioxidante se obtiene en mayor cantidad en la muestra liofilizada que la muestra desecada en sus dos extracciones tanto etanolico y metanolico.(Figura N° 3.7)

Tabla N° 3.10 Comparación de compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante

	Compuestos Polifenolicos	Capacidad Antioxidante
Muestra	<i>mgGAE/10g</i>	<i>mg eq AA/10g</i>
EtOH Desecado	145.920	1532.24
MeOH desecado	123.757	1268.06
EtOH liof	151.053	2430.45
MeOH liof	137.025	2271.95

Fuente de elaboración propia, 2016

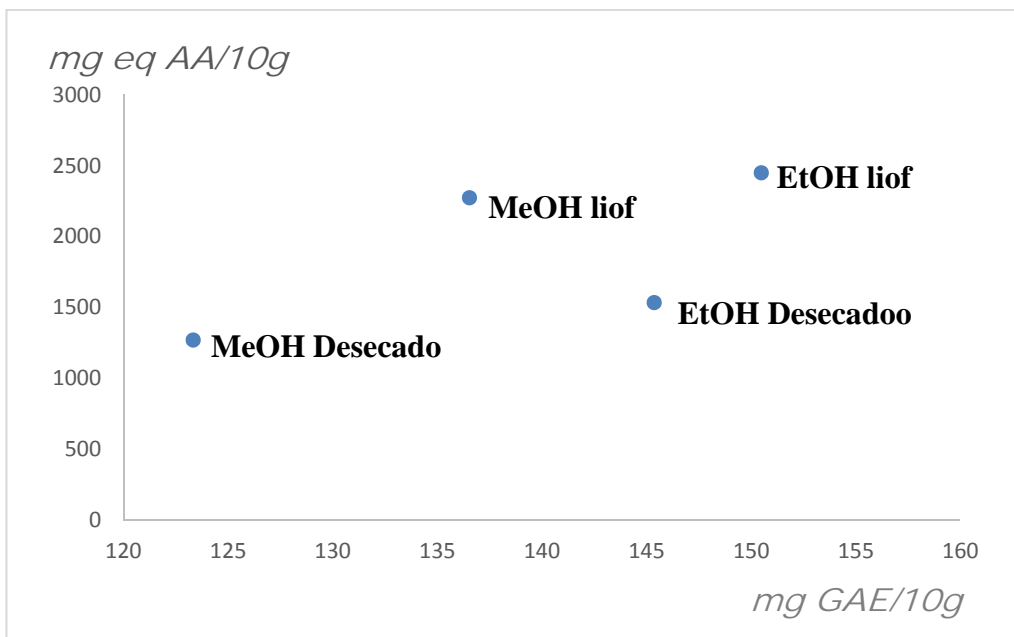


Figura N° 3.7 Grafica de comparación de compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante

Fuente de elaboración propia, 2016

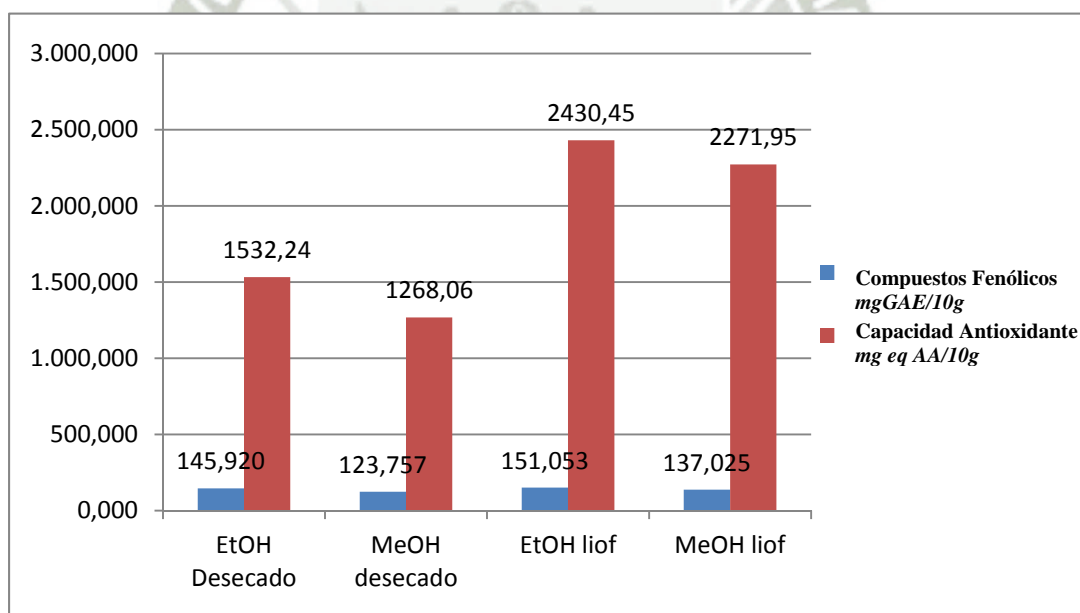


Figura N° 3.8 Grafico Comparativo de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante

Fuente de elaboración propia, 2016

3.8 ANALISIS ESTADISTICO

Compuestos fenólicos mg GAE/10g muestra

Se realizó análisis de varianza para los compuestos fenólicos mg GAE/10g de muestra el cual se realizó en 4 diferentes extractos (extracto desecado etanolico y metanolico, extracto liofilizado etanolico y metanolico).

Tabla N° 3.11 Concentraciones De Los Compuestos Fenólicos De Las Muestras Etanolicos Liofilizadas Y Desecadas

	EtOH Desecado	EtOH liofilizado	MetOH Desecado	MetOH Liofilizado
mg GAE/10g muestra	146.64	153.99	123.12	136.35
	145.17	148.11	124.59	137.82

Fuente de elaboración propia, 2016

El análisis estadístico con estos datos se lleva a cabo el ANOVA de una sola vía (mg GAE/10 g muestra) a un nivel de confianza del 95% obteniéndose los resultados de la tabla N° 3.12.

Tabla N° 3.12 Tabla ANOVA para Compuestos Fenolicos por Extractos

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	850,044	3	283,348	55,21	0,0010
Intra grupos	20,5285	4	5,13214		
Total (Corr.)	870,573	7			

Fuente de elaboración propia, 2016

Esto indica que la Razon-F (55.21) sea mayor al valor de tablas o en todo caso el valor $P < 0,05$ indica que hay diferencia significativa en los 4 grupos de estudio en relación a su concentración de mg GAE/10 g muestra

Para determinar cuál o cuáles grupos son diferentes se llevó a cabo el *Test De Tukey* obteniéndose los resultados de la tabla N°3.13

Tabla N° 3.13 Pruebas De Múltiple Rangos Para Compuestos Fenólicos Por Extractos

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>EXTRACTOS</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
MetOH Dsecado	2	123,855	X
MetOH liof	2	137,085	X
EtOH Dsecado	2	145,905	XX
EtOH liof	2	151,05	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
EtOH Dsecado - EtOH liof		-5,145	9,22235
EtOH Dsecado - MetOH Dsecado	*	22,05	9,22235
EtOH Dsecado - MetOH liof		8,82	9,22235
EtOH liof - MetOH Dsecado	*	27,195	9,22235
EtOH liof - MetOH liof	*	13,965	9,22235
MetOH Dsecado - MetOH liof	*	-13,23	9,22235

Fuente de elaboración propia, 2016

* indica una diferencia significativa.

Además se infiere que el solvente de elección es el etanol ya que por su carácter lipofílicos este tiene más afinidad por los compuestos fenólico por lo que los extractos de etanol liofilizado y etanol desecado no hay diferencia significativa entre ellos de igual manera el extracto de etanol desecado y el metanol liofilizado no hay diferencia significativa.

De acuerdo a este análisis estadístico se resuelve que los extractos etanolicos de muestras liofilizada y desecada son más adecuados para la extracción de compuestos fenólicos en este tipo de muestra.

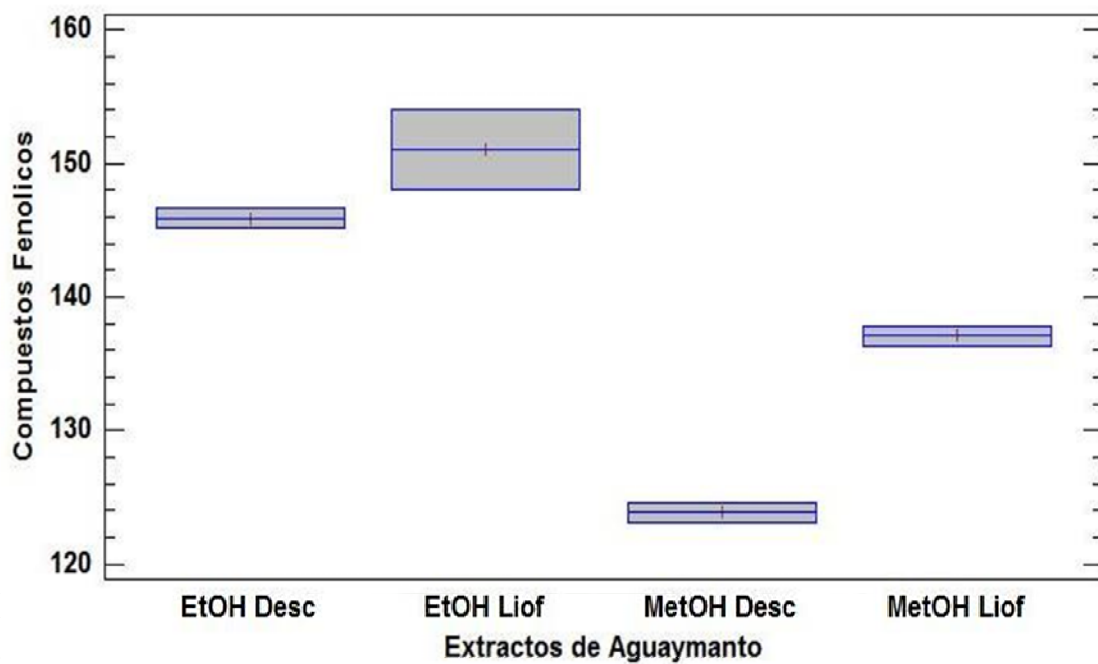


Figura N° 3.9 Caja de bigotes análisis de compuestos fenólicos

Fuente: elaboración Propia, 2016



Capacidad Antioxidante Mg Eq Ácido Ascórbico/10g De Muestra

Al realizar el análisis de varianza para Capacidad Antioxidante mg Eq ácido ascórbico/10g de muestra en la que se realizó 4 extractos diferentes (extracto desecado etanolico y metanolico, extracto liofilizado etanolico y metanolico).

Tabla N° 3.14 Concentraciones de la capacidad antioxidante de las muestras etanolicas liofilizadas y desecadas

	EtOH Desecado	EtOH liofilizado	MetOH Desecado	MetOH Liofilizado
mg Eq AA/10g muestra	1558.66	2456.87	1294.48	2298.36
	1532.24	2441.02	1268.06	2271.94

Fuente de elaboración propia, 2016

El análisis estadístico con estos datos se lleva a cabo el ANOVA de una sola vía (mg Eq AA/10 g muestra) a un nivel de confianza del 95% obteniéndose los resultados de la tabla N° 3.13

Tabla N° 3.15 Tabla ANOVA para Capacidad Antioxidante por Extracto

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	1,91566E6	3	638553,	2178,18	0,0000
Intra grupos	1172,64	4	293,159		
Total (Corr.)	1,91683E6	7			

Fuente de elaboración propia, 2016

Esto indica que la Razon-F (2178,18) sea mayor al valor de tablas o en todo caso el valor $P < 0,05$ indica que hay diferencia significativa en los 4 grupos de estudio en relación a su concentración de mg Eq AA/10 g muestra

Para determinar cuál o cuáles grupos son diferentes se llevó a cabo el *Test De Tukey* obteniéndose los resultados de la tabla N°3.16

Tabla N° 3.16 Pruebas de Múltiple Rangos para Capacidad Antioxidante por Extracto

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Extracto</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
MetOH Desc	2	1281,27	X
EtOH Desc	2	1545,45	X
MetOH Liof	2	2285,15	X
EtOH Liof	2	2448,94	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
EtOH Desc - EtOH Liof	*	-903,495	69,7018
EtOH Desc - MetOH Desc	*	264,18	69,7018
EtOH Desc - MetOH Liof	*	-739,7	69,7018
EtOH Liof - MetOH Desc	*	1167,67	69,7018
EtOH Liof - MetOH Liof	*	163,795	69,7018
MetOH Desc - MetOH Liof	*	-1003,88	69,7018

Fuente de elaboración propia, 2016

* indica una diferencia significativa.

Se deduce que en las 4 muestras no hay diferencia significativa esto se puede observar en la Tabla N° 3.16, también se puede observar que la capacidad antioxidante se obtiene en mayor concentración en las muestras liofilizadas de los extractos etanólicos y metanólicos.

Gráfico Caja y Bigotes

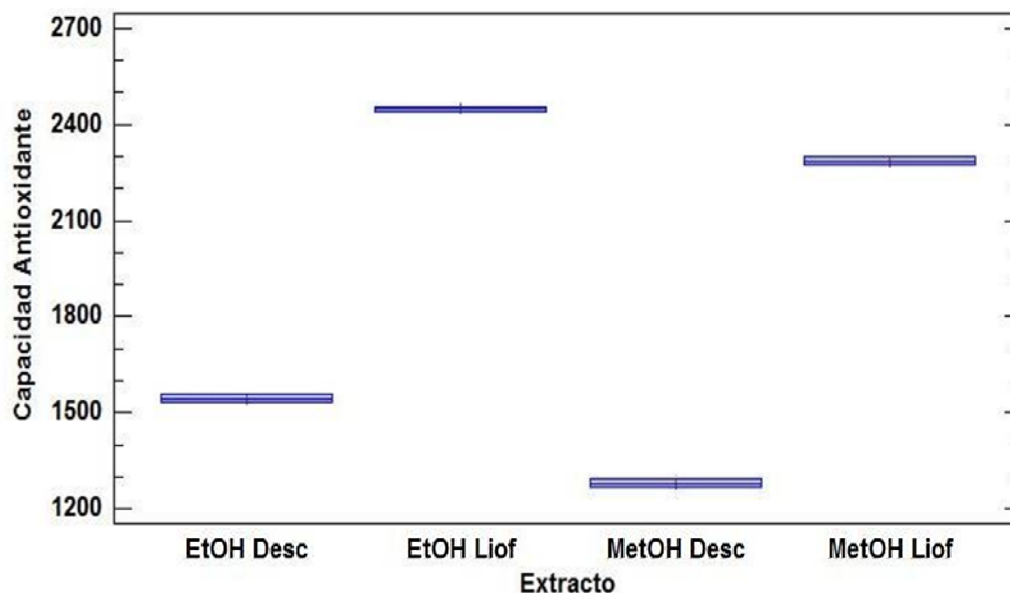


Figura N° 3.10 Caja de bigotes análisis de capacidad antiosidente

Fuente: elaboración Propia, 2016

IV. DISCUSIÓN

En el extracto etanólico, metanólico y heptánico de la muestra desecada se obtuvieron un rendimiento de 30,96% , 42,27% y 0,102% respectivamente; en el extracto etanólico, metanólico y heptánico de la muestra liofilizada se obtuvo un rendimiento de 44,82%, 54,77% y 0.815% respectivamente, el cual comparando con citado en la tesis Aparcana y Villareal(55) reportaron que el rendimiento del extracto etanólico es de 10% el cual difiere completamente a la de este trabajo debido que la muestra usada por Aparcana y Villareal(55) es una muestra fresca usando como método de extracción maceración. En el presente trabajo se usó la muestra desecada y método de extracción soxhlet con el que hubo mayor rendimiento en las extracciones.

En la determinación de compuestos polifenólicos totales por el método de Folin-Ciocalteu (tabla 3.10) el contenido de compuestos fenólicos de la muestra desecada fueron expresadas en miligramos de ácido gálico por cada 10 g de muestra donde se obtuvo 145,92 mg GAE/10g (14592 mg GAE/100g) en extracto etanólico y 123,757 mgGAE/10g (1237,57 mgGAE/100g) en extracto metanólico, lo cual lo reportado por Aparcana y Villareal (55) es de 106 y 149 mg/Eq.AG/100g. Esta diferencia se debe al tipo de muestra usada, siendo la muestra de Aparcana y Villareal (55) una muestra fresca y en este trabajo se usó muestra desecada. El valor reportado por Repo y Encina (56) fue de 154 mg Eq.AG/100g y por Mier et al. (57) 240,16 mg Eq.AG/100g son muestras donde se han usado extracciones metanolicas.

En los extractos etanólicos y metanólicos de la muestra liofilizada se obtuvieron valores de 151,053 mg GAE/10g y 137,025 mg GAE/10g respectivamente, las cuales no se pudieron comparar.

La capacidad antioxidante de los extractos etanólicos y metanólicos de las muestras desecadas y liofilizada son los siguientes valores 1532,24 mg Eq AA/10g y 1268,06 mg Eq AA/10g respectivamente, 2430,45 mg Eq AA/10g y 2271,95 mg Eq AA/10g muestra liofilizada el cual no se pudo comprar debido a que no se encontró trabajos para poder comparar, pero se determina que hay una mayor capacidad antioxidante debido a que se conserva los principios activos en este tipo e muestra.

V. CONCLUSIONES

1. El mayor porcentaje de rendimiento se obtuvo en el extracto metanólico tanto en la muestra desecada como liofilizado siendo sus valores de 42.27% y 54.77% ; extracto etanólico tiene un porcentaje de rendimiento de las muestras desecada y liofilizadas de 30.96% y 44.82% respectivamente, y por último el porcentaje de rendimiento del extracto heptánico tanto de la muestra desecada y liofilizada es de 0.102% y 0.815% respectivamente, este extracto heptánico no se tomó en cuenta debido a que su rendimiento es significativamente bajo para análisis de cuantificación. Se logró determinar la presencia de taninos y flavonoides por cromatografía de capa fina a partir del extracto etanólico desecado y liofilizado del aguaymanto.
2. El contenido de compuestos fenólicos por el método de *Folin-Ciocalteu* fue mayor en los extractos etanólicos y metanólicos de las muestras liofilizadas, el cual se obtuvieron 151,053 mg GAE /10g de muestra y 137.025 mg GAE /10g de muestra respectivamente y en menor cantidad en la muestra desecada de los extractos etanólicos y metanólicos la que se obtuvieron 145.92 mg GAE /10g de muestra y 123.757 mg GAE /10g de muestra respectivamente.
La capacidad antioxidante por el método de *Cuprac* se realizó con los extractos etanólicos y metanólicos de la muestra liofilizada siendo su mayor capacidad antioxidante de 2430,45 mg Eq. Ácido Ascórbico/10 g de muestra y 2271.95 mg Eq. Ácido Ascórbico/10 g de muestra respectivamente y de menor capacidad antioxidante de las muestra desecada de los extractos etanólicos y metanólicos siendo su capacidad antioxidante de 1532.24 mg Eq. Ácido Ascórbico/10 g de muestra y 1268.06 mg Eq. Ácido Ascórbico/10 g de muestra respectivamente.
3. La comparación cuantitativa de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en los extractos etanólico y metanólico de las muestras desecadas y liofilizadas es mayor en el extracto liofilizado en ambos métodos (ver Tabla N°3.10); lo que hace suponer que en el proceso de liofilización los principios activos presentes se encuentran estabilizados y no sufrirían algún tipo de cambio.

VI. SUGERENCIAS

1. Se sugiere un estudio de compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante de la cascara del fruto del aguaymanto.
2. Se sugiere realizar la determinación de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante en cada estadio del fruto de aguaymanto de acuerdo a la tabla de la norma técnica colombiana 4580.
3. Se propone darle una forma farmacéutica al fruto de aguaymanto desecado para ser consumido en la dieta diaria.



VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Saludeo.com, propiedades y beneficios medicinales del aguaymanto [acceso el 12 de enero 2016]. Disponible en: <http://www.saludeo.com/propiedades-beneficios-medicinales-aguaymanto-salud/> Copyright © 2016 Saludeo. Todos los derechos reservados. Powered by TRESMEDIA
2. Legge, a.p. 1974. Notes on the history, cultivation and uses of *Physalis peruviana* l. J. Royal hort. Soc., 310-314.
3. Crfg. 1997. Cape gooseberry *physalis peruviana* l. California rare fruit growers, p. 1-3. ©Woodhead publishing limited, 2011
4. Bartholomäus, a., a. De la rosa, j.o. Santos, l.e. Acero y w. Moosbrugger. 1990. El manto de la tierra - flora de los andes. Guía de 150 especies de la flora andina. Ed. Lerner, bogotá.
5. Fisiología del cultivo de la uchuva (*physalis peruviana* l.) Pedro José almanza-merchán y gerhard Fischer. Rev. Bras. Frutic. vol.36 no.1 Jaboticabal Jan./Mar. 2014
6. Usda.gov, clasificación taxonómica de la *physalis peruviana* l según national plants center usda (2000) [acceso el 12 de enero 2016] disponible en: <http://plants.usda.gov/java/classificationservlet?source=display&classid=phpe4#>
7. Fao.org, guía de campo de los cultivos andinos pag 105,106 y 107 [ultimo acceso el 12 de enero 2016] disponible en: <http://www.fao.org/docrep/010/ai185s/ai185s.pdf> Como citar la publicación: Tapia, M. E. y A.M. Fries. 2007. Guía de campo de los cultivos andinos. FAO y ANPE. Lima.
8. Eurohydro.com, *physalis peruviana* [acceso el 12 de enero 2016] disponible en: www.eurohydro.com/pdf/articles/sp_hydroponia-y-physalis-peruviana.pdf
9. Efecto citotóxico de *Physalis peruviana* (capulí) An Fac Med Lima 2006; Trabajos Originales1Estudiantes de la Escuela Académico Profesional de Medicina Humana.Facultad de Medicina, UNMSM. Lima, Perú.2Docente del Laboratorio de Virología. Facultad de Ciencias y Filosofía,Universidad Peruana Cayetano Heredia (UPCH). Lima, Perú.ISSN 1025 - 5583Págs. Anales de la Facultad de MedicinaUniversidad Nacional Mayor de San Marcos

10. Sierraexportadora.gob.pe, aguaymanto deshidratado sierra exportadora, [ultimo acceso el 12 de marzo del 2016] disponible en: www.sierraexportadora.gob.pe/perfil_comercial/perfil%20comercial%20aguaymanto.pdf como citar la publicación: Arex asociación regional de exportadores de Lambayeque.
11. Encina, c. Influencia del descerado y composición del almíbar en la optimización del tratamiento térmico de la conserva de aguaymanto (*physalis peruviana* L.) Para la mayor retención de ácido ascórbico [tesis de maestría en scientiae]. Lima: universidad nacional agraria la molina, 2006. [ultimo acceso el 12 de marzo del 2016] disponible en: biblioteca.ucsp.edu.pe/biblioteca/catalogo/ver.php?id=33923&idx=1005893
12. bdigital.uncu.edu.ar, actividad antioxidante de los compuestos fenólicos contenidos en las semillas de la vid (*vitis vinifera* L.) Disponible en: bdigital.uncu.edu.ar/objetos_digitales/2627/tesispaladino.pdf
13. Researchgate.net, antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products [ultimo acceso el 12 de marzo del 2016] disponible en: www.researchgate.net/publication/215523945_antioxidant_activity_and_total_phenolics_in_selected_fruits_vegetables_and_grain_products
14. halliwell, 1996-venero, 2002.Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes [ultimo acceso el 17 de junio del 2016] disponible en: http://www.bvs.sld.cu/revistas/mil/vol31_2_02/mil09202.pdf
15. Lucia Constanza, Maira M Muñoz. Estrés oxidativo: origen y consecuencias de la toxicidad del oxígeno [internet]. 2012 [ultimo acceso el 17 de marzo del 2016];vol 10(18) 135-215 Disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v10n18/v10n18a08.pdf>

16. Octavio Maldonado Saavedra , Eric Nahúm Jiménez Vázquez. Radicales libres y su papel en las enfermedades crónico-degenerativas [internet]2010 [ultimo acceso el 17 de marzo del 2016];vol 10(18) 135-215 Disponible en:
https://www.uv.mx/rm/num_anteriores/revmedica_vol10_num2/articulos/radicales.pdf
17. Noemí Cárdenas-Rodríguez y José Pedraza-Chaverri. Especies reactivas de oxígeno y sistemas antioxidantes: aspectos básicos [internet]201[ultimo acceso el 17 de marzo del 2016] disponible en:
www.educacionquimica.info/include/downloadfile.php?pdf=pdf928.pdf
18. Luis Delgado Olivares, Gabriel Betanzos Cabrera, Teresa Sumaya. Importancia de los antioxidantes dietarios en la disminución del estrés oxidativo [internet] 2010 vol 50(10-15) [ultimo acceso el 17 de marzo del 2016] disponible en:
<http://www.uaa.mx/investigacion/revista/archivo/revista50/Articulo%202.pdf>
19. Piñas Caballero y m. López tema 2: lesiones inducidas por radicales libres. Necrosis: morfología y tipos. [ultimo acceso el 12 de marzo del 2016] disponible en:
http://eusalud.uninet.edu/apuntes/tema_02.pdf
20. Rosa Mayor Oxilia. Estrés Oxidativo y Sistema de Defensa Antioxidante [internet] 2010;5(2):23-29 [ultimo acceso el 12 de marzo del 2016] disponible en:
<http://www.imt.edu.py/admin/uploads/Documento/v5n2a05.pdf>
21. Scielo.sld.cu/,daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes cap. Justo r. Venereo Gutiérrez1 [ultimo acceso el 17 de junio del 2016] disponible en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=s0138-65572002000200009&script=sci_arttext
22. WEBB A. ; Complementos Nutricionales Y Alimentos Funcionales.; c EDITORIAL ACRIBIA s.a. Zaragoza españa; 2006
23. Revista de educación bioquímica .La capacidad antioxidante total. Bases y aplicaciones, vol. 28, núm. 3, septiembre, 2009, pp. 89-101 Disponible en:
<http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=49016098004>

24. Lic. Daniel Eugenio Benítez Zequeira. Vitaminas y oxidorreductasas antioxidantes: defensa ante el estrés oxidativo [ultimo acceso el 17 de junio del 2016] disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/ibi/vol25_2_06/ibi10206.pdf
25. Esther Molina. El papel de los antioxidantes como desaceleradores del envejecimiento [internet] 2012 6:3(1109-1119) [ultimo acceso el 17 de junio del 2016] disponible en:
[http://www.iidenut.org/pronj/kaslos/solidos/pdf_revista_tec/Renut%2021/Renut_21_\(2012\)_7_El_papel_de_los_antioxidantes_como_desaceleradores_del_envejecimiento.pdf](http://www.iidenut.org/pronj/kaslos/solidos/pdf_revista_tec/Renut%2021/Renut_21_(2012)_7_El_papel_de_los_antioxidantes_como_desaceleradores_del_envejecimiento.pdf)
26. Antioxidant therapy for the prevention of cardiovascular [ultimo acceso el 17 de junio del 2016] disponible en:
<http://qjmed.oxfordjournals.org/content/qjmed/92/5/239.full.pdf>
27. Www.sciencedirect.com, Oxidative stress hypothesis in alzheimer's diseases (William R. Markesbery) [ultimo acceso el 17 de junio del 2016] disponible en:
<http://www.sciencedirect.com/science/a1584996006296>
28. Silvia cristina paladino .Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos contenidos en las semillas de la vid (vitis vinifera.) disponible en:
http://bdigital.uncu.edu.ar/objetos_digitales/2627/tesispaladino.pdf
29. Mayes pa. Estructura y función de vitaminas hidrosolubles. En: bioquímica de harper. Murray rk, mayes pa, graner dk eds. México df:el manual moderno, s. A.; 1997. P.719-20.
30. Shite j., et all. Antioxidant vitamins attenuate oxidative stress and cardiac dysfunction in tachycardia – induced cardiomyopathy. J am college cardiol 2001;38(6):1734-40). © 2016 American College of Cardiology Foundation
31. Dieta y nutrición; aplicaciones medicas y terapéuticas (Vitamina c) [ultimo acceso el 17 de mayo del 2016] disponible en:
<http://www.iqb.es/nutricion/vitaminac/vitaminac.htm#absorcion>
32. Palazzo P. Prooxidant actions of carotenoids in biological systems. Nutr Rev 1998; 56: 257-265. [ultimo acceso el 17 de febrero del 2016] disponible en:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9763875>

33. Importancia nutricional de los pigmentos carotenoides; idus.us.es [revisado el 25 de enero del 2016] disponible en : <https://idus.us.es/xmlui/bitstream/handle/11441/26406/Importancia%20nutricional%20de%20los%20pigmentos%20carotenoides.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
34. Pigmentos carotenoides en frutas y vegetales; mucho más que simples “colorantes” naturales; digital.csic.es [revisado el 25 de enero del 2016] disponible en : http://digital.csic.es/bitstream/10261/5754/1/IG_AGROCSIC_4.pdf
35. Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. Free radic biol med 1996;20:331-42. van acquire sa, et al.
36. Carlos eduardo núñez. Extracciones con soxhlet. Cenunez.com.ar. 2008 [revisado el 12 de enero del 2016] disponible en: <http://www.cenunez.com.ar/archivos/39-extraccinconequipo Soxhlet.pdf>
37. Patricia i. Oteiza, flavonoides y procianidinas: mecanismos de accion antioxidante iquifib- dep. química biológica (conicet-uba), facultad de farmacia y bioquímica, universidad de buenos aires, argentina [consultado 25 de enero 2016]. Disponible en: www.idecefyn.com.ar/clf12002/archivos/C_17_OteizaPI.doc
38. TRUEBA PG, Et al, Evaluación de la actividad antioxidante de la gossypitrina através de ensayos in vitro e in vivo. Tesis de diploma. Universidad de la habana. Pags. 10-14, 1997.
39. Structural aspects of antioxidant activity of flavonoids. Free radic biol med 1996;20:331-42. van acquire sa, et al.
40. Gilberto perez trueba Los flavonoides: antioxidantes y prooxidantes, centro de investigación biomédica , instituto de ciencias básicas y preclínicas “victoria de giron” rev cubana invest biomed 2003;22(1):48-57
41. Aislamiento y elucidación estructural de Withanolidos de la planta Acnistus Breviflorus :Estudios preliminares sobre su biosíntesis, autor: Veleiro, Adriana Silvia 1985 Tesis Doctoral

42. Gênero Physalis - uma revisão sobre vitaesteróides Therezinha C. B. Tomassini, Nancy S. Barbi, Ivone M. Ribeiro, Deise C. D. Xavier Far-Manguinhos/FIOCRUZ - Rua Sizenando Nabuco, 100 - Manguinhos - 21041-250 - Rio de Janeiro – RJ
43. Juan Sebastián Ramírez Navas Liofilización de alimentos universidad del valle cali – Colombia. 2006 revista reciteia - v.6 n.2.
44. José Luis Vila Jato, Tecnología Farmacéutica, Editorial: Síntesis Año: 1999 (496-497)
45. Helen J. Mier G., Gabriela Caez. RNTC 4580. Norma Técnica Colombiana. Frutas frescas. Uchuva. Especificaciones.1999.
46. www.uam.es, cromatografía en placa fina [revisado el 25 de enero del 2016] disponible en: www.uam.es/docencia/jppid/documentos/practicas/actuales/guion-p6.pdf
47. uprm.edu, cromatografía de capa fina [revisado el 25 de enero del 2016] disponible en: www.uprm.edu/biology/profs/velez/fina.htm
48. Estudio fitoquímico preliminar y actividad antioxidante de las hojas de *Achyrocline alata* DC. (huira-huira) y su relación con su contenido de compuestos fenólicos totales”, Arequipa 2014 Nayra Alvarado, Edith / código de tesis 65.1505.fb
49. Textoscientificos.com, cromatografía en capa fina [revisado el 25 de enero del 2016] disponible en: www.textoscientificos.com/quimica/cromatografia/capa-fina.
50. Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu [revisado el 25 de enero del 2016]
<https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/52056/Garcia%20Mart%C3%ADnez%20et%20al.pdf?sequence=1>
51. Reşat Apak et al., Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assays Applied to Phenolic Compounds with the CUPRAC Assay [revisado el 25 de mayo del 2016] <http://www.mdpi.com/1420-3049/12/7/1496>

VIII. ANEXOS

Anexo 1: ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N°1.1 Physalis peruviana “Aguaymanto”.....	6
Figura N°1.2 Physalis peruviana “Aguaymanto” estadios de la planta.....	9
Figura N° 1.3Ascorbato, radical ascorbil, acido dehidroascorbico y 2,3dicetogulonico.....	19
Figura N° 1.4 Estructura de los principales carotenoides.....	21
Figura. N° 1.5 Estructura básica de los flavonoides y sistema de numeración.....	22
Figura. N° 1.6 Subclase de flavonoides.....	23
Figura N° 1.7 Formación de radical flavinico por la captura de radicales libres por los polifenoles.....	25
Figura. N° 1.8 Esqueleto withanolido.....	26
Figura. N° 1.9 Tipos de fisalinas.....	27
Figura N° 2.1 Tabla de color de la Physalis peruviana “Aguaymanto”.....	32
Figura. N° 2.2 Aguaymanto colocado en la bandeja de liofilización.....	35
Figura. N° 2.3 Colocando el sensor de temperatura en la bandeja de liofilización...36	
Figura N° 2.4 Mecanismo de acción del reactivo de Folin-Ciocalteu.....	39
Figura N° 2.5 Reacción del ácido gálico con el reactivo de folin-ciocalteu.....	40
Figura N° 2.6 Tubos con estándares para hacer la lectura en el espectrofotómetro..43	

Figura N° 2.7 Reducción del cobre y formación de complejo.....	44
Figura N° 2.8 Tubos con estándares para hacer la lectura en el espectrofotómetro...	46
Figura N° 3.1 Identificación de taninos luz visible.....	53
Figura N° 3.2 Identificación de flavonoides.....	54
Figura N°3.3 Identificación de flavonoides estándar quercetina y rutina.....	55
Figura N° 3.4 Identificación de alcaloides.....	56
Figura N°3.5 Grafica de calibración usando como estándar ácido gálico.....	58
Figura N° 3.6 Grafica de calibración usando como estándar ácido ascórbico.....	66
Figura N° 3.7 Grafica de comparación de compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante.....	74
Figura N° 3.8 Grafico Comparativo de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante.....	74
Figura N° 3.9 Caja de bigotes análisis de compuestos fenólicos.....	77
Figura N° 3.10 Caja de bigotes análisis de capacidad antioxidante.....	79

Anexo 2: ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1 Clasificación taxonómica de <i>Physalis peruviana</i>	6
Tabla N° 2.1 diluciones para la curva de calibración de ácido gálico.....	42
Tabla N° 2.2 valores para preparar la curva de calibración de ácido gálico.....	42
Tabla N°2.3 valores para preparar la curva de calibración con ácido ascórbico.....	46
Tabla N° 3.1 porcentaje de rendimiento de los extractos etanolicos de la muestra desecada y muestra liofilizada del fruto de aguaymanto obtenidos por método soxhlet.....	49
Tabla N° 3.2 porcentaje de rendimiento de los extractos metanolicos de la muestra desecada y muestra liofilizada del fruto de aguaymanto obtenidos por método soxhlet.....	51
Tabla N° 3.3 porcentaje de rendimiento de los extractos heptanico de la muestra desecada y muestra liofilizada del fruto de aguaymanto obtenidos por método soxhlet.....	52
Tabla N° 3.4 cuadro de identificación de flavonoides.....	54
Tabla N° 3.5 identificación de flavonoides estándar quercetina y rutina.....	55
Tabla N°3.6 datos de la curva de calibración de ácido gálico.....	57
Tabla N° 3.7 extracción soxhlet.....	60
Tabla N° 3.8 absorbancias por triplicado, curva de calibración de ácido ascórbico..	65
Tabla N° 3.9 absorbancias de los extractos.....	68
Tabla N° 3.10 comparación de compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante.	73
Tabla N°3.11 Concentraciones De Los Compuestos Fenólicos De Las Muestras Etanolicas Liofilizadas Y Desecadas.....	75

Tabla N° 3.12 Tabla ANOVA para Compuestos Fenolicos por Extractos.....	75
Tabla N° 3.13 Pruebas de múltiple rangos para compuestos fenolicos por extractos.....	76
Tabla N° 3.14 Concentraciones de la capacidad antioxidante de las muestras etanolicas liofilizadas y desecadas.....	78
Tabla N° 3.15 Tabla ANOVA para Capacidad Antioxidante por Extracto.....	78
Tabla N° 3.16 Pruebas de Múltiple Rangos para Capacidad Antioxidante por Extracto.....	79



Anexo 3: ABREVIATURAS

HIV	Virus De La Inmunodeficiencia Humana
HSV	Virus Simplex Humano
RL	Radicales Libres
ROS	Especies Reactivas De Oxigeno
EO	Estrés Oxidativo
GSH-Prx	Glutación Peroxidasa
SOD	Superoxido Dismutasa
CPT	Compuestos Polifenólicos Totales
CUPRAC	Cupric Ion Reducing Antioxidant Capacity
GAE	Equivalentes de ácido gálico
TAC	Capacidad antioxidante total

Anexo 4: mg Eq ácido gálico/10g me muestra de las Extracciones etanolica realizadas en las muestras desecada y liofilizada

mg GAE/10g de muestra	
EtOH desecado	EtOH liofilizado
146.64	153.99
145.17	148.11

Anexo 5: Prueba F de varianza de las concentraciones de los extractos etanolicos desecada y liofilizada

Prueba F para varianzas de dos muestras		
	EtOH liof	EtOH desecado
Media	151.05	145.905
Varianza	17.2872	1.08045
Observaciones	2	2
Grados de libertad	1	1
F	16	
P(F<=f) una cola	0.155958261	
Valor crítico para F (una cola)	161.4476387	

Anexo 6: Prueba de T-students de las concentraciones de los extractos etanolicos desecada y liofilizada

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales		
	EtOH desecado	EtOH liof
Media	145.905	151.05
Varianza	1.08045	17.2872
Observaciones	2	2
Varianza agrupada	9.183825	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	2	
Estadístico t	-1.69774938	
P(T<=t) una cola	0.11582509	
Valor crítico de t (una cola)	2.91998558	
P(T<=t) dos colas	0.23165018	
Valor crítico de t (dos colas)	4.30265273	

Anexo 7: mg Eq ácido gálico/10g me muestra de las Extracciones metanolica realizadas en las muestras desecada y liofilizada

mg GAE/10g de muestra	
MeOH desecado	MeOH liof
123.12	136.35
124.59	137.82

Anexo 8: Prueba de T-students de las concentraciones de los extractos etanolicos desecada y liofilizada

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales		
	<i>MeOH desecado</i>	<i>MeOH liof</i>
Media	123.855	137.085
Varianza	1.08045	1.08045
Observaciones	2	2
Varianza agrupada	1.08045	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	2	
Estadístico t	-12.72792206	
P(T<=t) una cola	0.003058133	
Valor crítico de t (una cola)	2.91998558	
P(T<=t) dos colas	0.006116265	
Valor crítico de t (dos colas)	4.30265273	

Anexo 9: ANOVA Simple - Compuestos Fenolicos por Extractos

Variable dependiente: Compuestos Fenolicos (mg GAE/10 muestra)

Factor: Extractos

Número de observaciones: 8

Número de niveles: 4

El StatAdvisor

Este procedimiento ejecuta un análisis de varianza de un factor para Compuestos Fenolicos. Construye varias pruebas y gráficas para comparar los valores medios de Compuestos Fenolicos para los 4 diferentes niveles de Extractos. La prueba-F en la tabla ANOVA determinará si hay diferencias significativas entre las medias. Si las hay, las Pruebas de Rangos Múltiples le dirán cuáles medias son significativamente diferentes de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir la Prueba de Kruskal-Wallis la cual compara las medianas en lugar de las medias. Las diferentes gráficas le ayudarán a juzgar la significancia práctica de los resultados, así como le permitirán buscar posibles violaciones de los supuestos subyacentes en el análisis de varianza.

Resumen Estadístico para Compuestos Fenolicos

<i>Extractos</i>	<i>Recuento</i>	<i>Promedio</i>	<i>Desviación Estándar</i>	<i>Coficiente de Variación</i>	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>
EtOH Desc	2	145,905	1,03945	0,712414%	145,17	146,64
EtOH Liof	2	151,05	4,15779	2,75259%	148,11	153,99
MetOH Desc	2	123,855	1,03945	0,839245%	123,12	124,59
MetOH Liof	2	137,085	1,03945	0,75825%	136,35	137,82
Total	8	139,474	11,152	7,99578%	123,12	153,99

<i>Extractos</i>	<i>Rango</i>	<i>Sesgo Estandarizado</i>	<i>Curtosis Estandarizada</i>
EtOH Desc	1,47		
EtOH Liof	5,88		
MetOH Desc	1,47		
MetOH Liof	1,47		
Total	30,87	-0,547103	-0,597575

El StatAdvisor

Esta tabla muestra diferentes estadísticos de Compuestos Fenolicos para cada uno de los 4 niveles de Extractos. La intención principal del análisis de varianza de un factor es la de comparar las medias de los diferentes niveles, enlistados aquí bajo la columna de Promedio. Selecciones Gráfica de Medias de la lista de Opciones Gráficas para mostrar gráficamente las medias.

ADVERTENCIA: Hay una diferencia de más de 3 a 1 entre la desviación estándar más pequeña y la más grande. Esto puede causar problemas puesto que el análisis de varianza asume que las desviaciones estándar de todos los niveles es igual. Seleccione Verificación de Varianza de la lista de Opciones Tabulares para ejecutar una prueba estadística formal para la diferencia entre las sigmas. Podría considerar transformar los valores de Compuestos Fenolicos para eliminar cualquier dependencia de la desviación estándar de la media.

Tabla ANOVA para Compuestos Fenolicos por Extractos

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	850,044	3	283,348	55,21	0,0010
Intra grupos	20,5285	4	5,13214		
Total (Corr.)	870,573	7			

El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la varianza de Compuestos Fenolicos en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 55,2105, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de Compuestos Fenolicos entre un nivel de Extractos y otro, con un nivel del 95,0% de confianza. Para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras, seleccione Pruebas de Múltiples Rangos, de la lista de Opciones Tabulares.

Pruebas de Múltiple Rangos para COMPUESTOS FENOLICOS por EXTRACTOS

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>EXTRACTOS</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
MetOH Dsecado	2	123,855	X
MetOH liof	2	137,085	X
EtOH Dsecado	2	145,905	XX
EtOH liof	2	151,05	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
EtOH Dsecado - EtOH liof		-5,145	9,22235
EtOH Dsecado - MetOH Dsecado	*	22,05	9,22235
EtOH Dsecado - MetOH liof		8,82	9,22235
EtOH liof - MetOH Dsecado	*	27,195	9,22235
EtOH liof - MetOH liof	*	13,965	9,22235
MetOH Dsecado - MetOH liof	*	-13,23	9,22235

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 4 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95,0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 3 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Verificación de Varianza

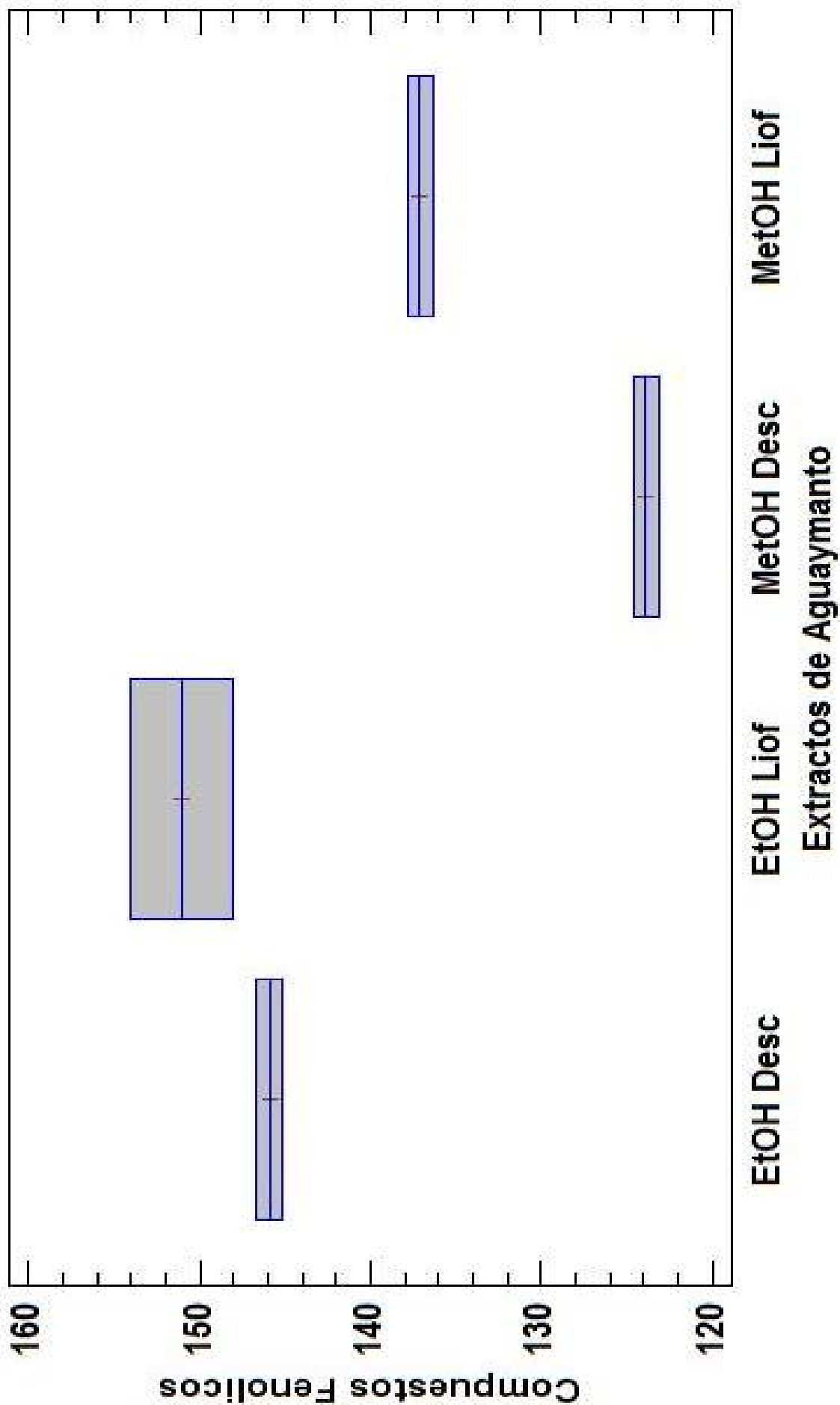
	<i>Prueba</i>	<i>Valor-P</i>
Levene's	1,20378E28	0

<i>Comparación</i>	<i>Sigma1</i>	<i>Sigma2</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Valor</i>
EtOH Dsecado / EtOH liof	1,03945	4,15779	0,0625	0,3119
EtOH Dsecado / MetOH Dsecado	1,03945	1,03945	1,0	1,0000
EtOH Dsecado / MetOH liof	1,03945	1,03945	1,0	1,0000
EtOH liof / MetOH Dsecado	4,15779	1,03945	16,0	0,3119
EtOH liof / MetOH liof	4,15779	1,03945	16,0	0,3119
MetOH Dsecado / MetOH liof	1,03945	1,03945	1,0	1,0000

El StatAdvisor

El estadístico mostrado en esta tabla evalúa la hipótesis de que la desviación estándar de COMPUESTOS FENOLICOS dentro de cada uno de los 4 niveles de EXTRACTOS es la misma. De particular interés es el valor-P. Puesto que el valor-P es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar, con un nivel del 95,0% de confianza. Esto viola uno de los supuestos importantes subyacentes en el análisis de varianza e invalidará la mayoría de las pruebas estadísticas comunes.

La tabla también muestra una comparación de las desviaciones típicas para cada par de muestras. P-valores por debajo de 0.05, de los cuales hay 0, indican una diferencia estadísticamente significativa entre las dos sigmas al 5% de nivel de significación.



Anexo 10: ANOVA Simple - Capacidad Antioxidante por Extracto

Variable dependiente: Capacidad Antioxidante (mg Eq AASC/10g muestra)

Factor: Extracto

Número de observaciones: 8

Número de niveles: 4

El StatAdvisor

Este procedimiento ejecuta un análisis de varianza de un factor para Capacidad Antioxidante. Construye varias pruebas y gráficas para comparar los valores medios de Capacidad Antioxidante para los 4 diferentes niveles de Extracto. La prueba-F en la tabla ANOVA determinará si hay diferencias significativas entre las medias. Si las hay, las Pruebas de Rangos Múltiples le dirán cuáles medias son significativamente diferentes de otras. Si le preocupa la presencia de valores atípicos, puede elegir la Prueba de Kruskal-Wallis la cual compara las medianas en lugar de las medias. Las diferentes gráficas le ayudarán a juzgar la significancia práctica de los resultados, así como le permitirán buscar posibles violaciones de los supuestos subyacentes en el análisis de varianza.

Resumen Estadístico para Capacidad Antioxidante

<i>Extracto</i>	<i>Recuento</i>	<i>Promedio</i>	<i>Desviación Estándar</i>	<i>Coficiente de Variación</i>	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>
EtOH Desc	2	1545,45	18,6818	1,20882%	1532,24	1558,66
EtOH Liof	2	2448,94	11,2076	0,457652%	2441,02	2456,87
MetOH Desc	2	1281,27	18,6818	1,45807%	1268,06	1294,48
MetOH Liof	2	2285,15	18,6818	0,817529%	2271,94	2298,36
Total	8	1890,2	523,291	27,6844%	1268,06	2456,87

<i>Extracto</i>	<i>Rango</i>	<i>Sesgo Estandarizado</i>	<i>Curtosis Estandarizada</i>
EtOH Desc	26,42		
EtOH Liof	15,85		
MetOH Desc	26,42		
MetOH Liof	26,42		
Total	1188,81	-0,0949082	-1,38128

El StatAdvisor

Esta tabla muestra diferentes estadísticos de Capacidad Antioxidante para cada uno de los 4 niveles de Extracto. La intención principal del análisis de varianza de un factor es la de comparar las medias de los diferentes niveles, enlistados aquí bajo la columna de Promedio. Selecciones Gráfica de Medias de la lista de Opciones Gráficas para mostrar gráficamente las medias.

Tabla ANOVA para Capacidad Antioxidante por Extracto

<i>Fuente</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Cuadrado Medio</i>	<i>Razón-F</i>	<i>Valor-P</i>
Entre grupos	1,91566E6	3	638553,	2178,18	0,0000
Intra grupos	1172,64	4	293,159		
Total (Corr.)	1,91683E6	7			

El StatAdvisor

La tabla ANOVA descompone la varianza de Capacidad Antioxidante en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 2178,18, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de Capacidad Antioxidante entre un nivel de Extracto y otro, con un nivel del 95,0% de confianza. Para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras, seleccione Pruebas de Múltiples Rangos, de la lista de Opciones Tabulares.

Pruebas de Múltiple Rangos para Capacidad Antioxidante por Extracto

Método: 95,0 porcentaje Tukey HSD

<i>Extracto</i>	<i>Casos</i>	<i>Media</i>	<i>Grupos Homogéneos</i>
MetOH Desc	2	1281,27	X
EtOH Desc	2	1545,45	X
MetOH Liof	2	2285,15	X
EtOH Liof	2	2448,94	X

<i>Contraste</i>	<i>Sig.</i>	<i>Diferencia</i>	<i>+/- Límites</i>
EtOH Desc - EtOH Liof	*	-903,495	69,7018
EtOH Desc - MetOH Desc	*	264,18	69,7018
EtOH Desc - MetOH Liof	*	-739,7	69,7018
EtOH Liof - MetOH Desc	*	1167,67	69,7018
EtOH Liof - MetOH Liof	*	163,795	69,7018
MetOH Desc - MetOH Liof	*	-1003,88	69,7018

* indica una diferencia significativa.

El StatAdvisor

Esta tabla aplica un procedimiento de comparación múltiple para determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras. La mitad inferior de la salida muestra las diferencias estimadas entre cada par de medias. El asterisco que se encuentra al lado de los 6 pares indica que estos pares muestran diferencias estadísticamente significativas con un nivel del 95,0% de confianza. En la parte superior de la página, se han identificado 4 grupos homogéneos según la alineación de las X's en columnas. No existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's. El método empleado

actualmente para discriminar entre las medias es el procedimiento de diferencia honestamente significativa (HSD) de Tukey. Con este método hay un riesgo del 5,0% al decir que uno o más pares son significativamente diferentes, cuando la diferencia real es igual a 0.

Verificación de Varianza

	<i>Prueba</i>	<i>Valor-P</i>
Levene's	5,40268E26	0

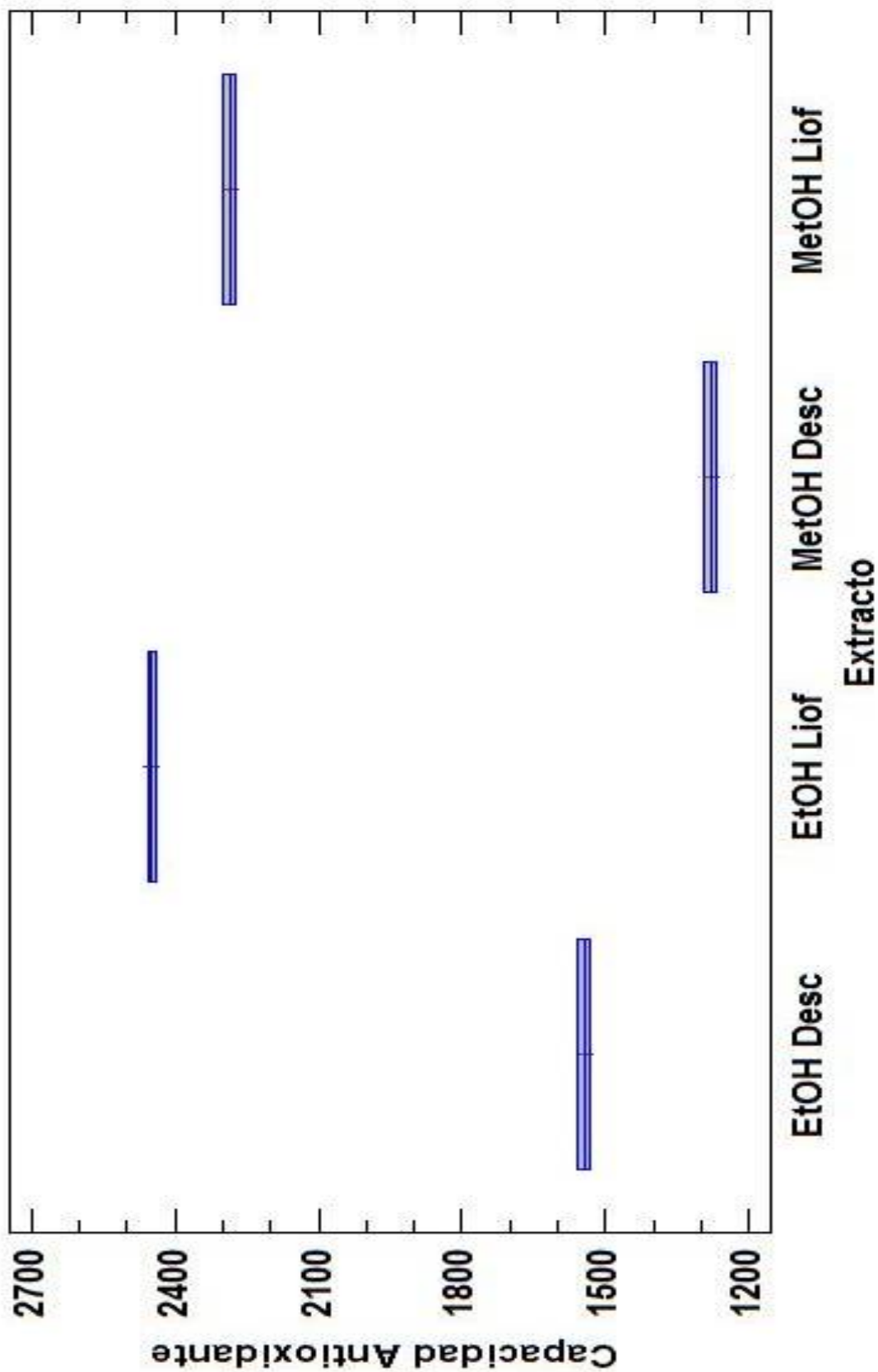
<i>Comparación</i>	<i>Sigma1</i>	<i>Sigma2</i>	<i>F-Ratio</i>	<i>P-Valor</i>
EtOH Desc / EtOH Liof	18,6818	11,2076	2,77848	0,6880
EtOH Desc / MetOH Desc	18,6818	18,6818	1,0	1,0000
EtOH Desc / MetOH Liof	18,6818	18,6818	1,0	1,0000
EtOH Liof / MetOH Desc	11,2076	18,6818	0,359909	0,6880
EtOH Liof / MetOH Liof	11,2076	18,6818	0,359909	0,6880
MetOH Desc / MetOH Liof	18,6818	18,6818	1,0	1,0000

El StatAdvisor

El estadístico mostrado en esta tabla evalúa la hipótesis de que la desviación estándar de Capacidad Antioxidante dentro de cada uno de los 4 niveles de Extracto es la misma. De particular interés es el valor-P. Puesto que el valor-P es menor que 0,05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre las desviaciones estándar, con un nivel del 95,0% de confianza. Esto viola uno de los supuestos importantes subyacentes en el análisis de varianza e invalidará la mayoría de las pruebas estadísticas comunes.

La tabla también muestra una comparación de las desviaciones típicas para cada par de muestras. P-valores por debajo de 0.05, de los cuales hay 0, indican una diferencia estadísticamente significativa entre las dos sigmas al 5% de nivel de significación.

Gráfico Caja y Bigotes





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



“AÑO DE LA CONSOLIDACION DEL MAR DE GRAU”

CONSTANCIA Nº 10-2016-HUSA

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


HACE CONSTAR:

Que la muestra de los frutos frescos presentada por el Bach. Levin Arroyo Oviedo y Bach. Luis Alonso Delgado Anyosa de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas Bioquímicas y Biotecnológicas de la Universidad Católica de Santa María de Arequipa, los muestras fueron traídos al Laboratorio de Botánica al estado fenológico fresco, para su determinación en el *Herbarium Arequipense* (HUSA) y corresponde a la especie:

Division **Magnoliophyta**
Clase **Magnoliopsidae**
Subclase **Asteridae**
Orden **Solanales**
Familia **Solanaceae**
Genero **Physalis**
Especie ***Physalis peruviana* L**

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

Arequipa 02 de Junio del 2016.


Blgo. Leoncio Mariño Herrera
DIRECTOR
Herbarium Arequipense (HUSA)



Avenida Daniel Alcides Carrión s/n cercado
Teléfono: (054) 237755 / 984248674
Apartado Postal: 0028
AREQUIPA – PERÚ