



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS
ESCUELA ACADÉMICO PROFESIONAL DE NUTRICIÓN

**Actividad antioxidante *in vitro* de *Passiflora tripartita var. mollisima*
“puro puro” procedente de los distritos de Usquil, Charat y Huaranchal.**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO
EN NUTRICIÓN**

AUTOR:

MERVIN HERNAN GARCÍA GONZÁLES

ASESORES:

Dra. Nélide Milly E. Otiniano García

Ms. Mayra Anticono Barreto

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

ALIMENTACION Y NUTRICIÓN

TRUJILLO - PERU

2017

JURADO CALIFICADOR

Mg. Adrián Quispe Tacunan.

PRESIDENTE

Dra. Karyn Olascuaga Castillo.

SECRETARIA

Dra. Nelida Milly Otiniano García.

VOCAL

DEDICATORIA

A mis padres por su esfuerzo y apoyo incondicional,
a mi mamita Sarita por ser mi inspiración y fortaleza,
a mi hermano por su cariño y amor.

AGRADECIMIENTO

A mis asesoras por su apoyo incondicional y paciencia, a mi compañero Andrés Chávez por su orientación y perseverancia.

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo Mervin Hernán García Gonzáles con DNI N° 73346281, a efecto de cumplir con las disposiciones vigentes consideradas dentro del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo, Facultad de ciencias médicas, Escuela de Nutrición, declaro bajo juramento que toda la documentación que acompaño es veraz y auténtica.

Así mismo, declaro también bajo juramento que todos los datos e información que se presenta en la presente tesis son auténticos y veraces.

En tal sentido asumo la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas de la Universidad César Vallejo.

Trujillo, Junio del 2017.

Mervin Hernán García Gonzáles

PRESENTACIÓN

Señores miembros del Jurado:

En cumplimiento del reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo presento ante ustedes la tesis titulada “Actividad antioxidante in vitro de *Passiflora tripartita* var. *mollisima* “puro puro” Procedente de los Distritos de Usquil, Charat y Huaranchal”, la misma que someto a vuestra consideración y espero que cumpla con los requisitos de aprobación para obtener el título profesional de Licenciado en Nutrición.

El autor.

ÍNDICE.

I.	INTRODUCCIÓN.....	1
1.1	REALIDAD PROBLEMÁTICA	1
1.2	TRABAJOS PREVIOS (ANTECEDENTES)	3
1.3	TEORÍAS RELACIONADAS AL TEMA	5
1.4	FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	7
1.5	JUSTIFICACIÓN	7
1.6	HIPÓTESIS	8
1.7	OBJETIVOS	8
II.	MÉTODO.....	9
2.1	DISEÑO DE INVESTIGACIÓN	9
2.2	VARIABLES Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES.....	9
2.3	POBLACIÓN Y MUESTRA	10
2.4	TÉCNICA E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS, VALIDEZ Y CONFIABILIDAD.	11
2.5	MÉTODO DE ANÁLISIS DE DATOS	14
2.6	ASPECTOS ÉTICOS	14
III.	RESULTADOS	15
IV.	DISCUSIÓN.....	18
V.	CONCLUSIONES:	20
VI.	RECOMENDACIONES.	21
VII.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	22

RESUMEN

Para comparar la actividad antioxidante que presenta *Passiflora tripartita* var. *mollissima* “puro puro” procedente de los distritos de Usquil, Charat y Huaranchal. Se trabajó con un diseño descriptivo, comparativo y transversal. Se contó con una muestra de 9 puro puros; 3 de cada distrito. La actividad antioxidante se evaluó mediante el método DPPH, midiendo las absorbancias de las muestras espectrofotométricamente tanto el inicial, 10', 20', 30'; expresando los resultados en porcentajes. El mayor porcentaje de actividad antioxidante (60.94%) lo obtuvo la muestra procedente del distrito de Usquil, seguida de la muestra del distrito de Charat (59.12 %), finalmente la muestra del distrito de Huaranchal obtuvo (65.42%). Determinándose que la mayor actividad antioxidante la logró la Muestra del distrito de Usquil, seguido del distrito de Charat y la menor actividad la obtuvo la muestra del distrito de Huaranchal. Al evaluar los datos de la actividad antioxidante de las distintas muestras, mediante la prueba paramétrica Análisis de varianza de un factor, se obtuvo un valor p de 0.001, por lo que se concluye que si existe diferencia significativa entre los datos de actividad antioxidante que presenta *Passiflora tripartita* var. *mollissima* “puro puro” procedente de los distritos de Usquil, Charat y Huaranchal.

Palabras claves: Actividad antioxidante, *Passiflora*, absorbancia.

ABSTRACT

To compare the antioxidant activity of *Passiflora tripartite* var. *Mollissima* "puro puro" from the districts of Usquil, Charat and Huaranchal. We worked with a descriptive, comparative and transversal design. There was a sample of 9 puro puros; 3 of each district. The antioxidant activity was evaluated by the DPPH method, measuring the absorbances of the samples spectrophotometrically both the initial, 10', 20', 30'; Expressing the results in percentages. The highest percentage of antioxidant activity (60.94%) was obtained from sample the Usquil district, followed by from the district of Charat (59.12%), finally sample from the district of Huaranchal obtained (65.42%). It was determined that the highest antioxidant activity was obtained by the Usquil district Sample, followed by the Charat district and the lowest activity was obtained by the Huaranchal district sample. When evaluating the antioxidant activity data of the different samples, through parametric Analysis of variance of a factor test yielded a p - value of 0.001, it is concluded that if is significant difference between antioxidant activity data of *Passiflora tripartite* var. *Mollissima* "puro puro" from the districts of Usquil, Charat and Huaranchal.

Key words: Antioxidant activity, *Passiflora*, absorbance.

I. INTRODUCCIÓN

1.1 REALIDAD PROBLEMÁTICA

Actualmente la población mundial está siendo testigo del desarrollo de una amplia variedad de enfermedades crónicas todas estas enfermedades tienen algo en común: ingesta inadecuada de antioxidantes.

Si analizamos la enfermedad más mortal como el cáncer, según el estudio realizado por el Ministerio de Salud (MINSA) junto con la Dirección General de Epidemiología en noviembre 2013, en el que los datos estadísticos sobre la incidencia registrada en el Instituto Nacional de Enfermedades Neoplásicas (INEN) se muestra como el más resaltante según su localización el de cáncer de cuello uterino con 1579 casos registrados, dando un total de casos nuevos registrados para ese año de 11265¹.

La fuente de estrés oxidativo es una cascada de especies reactivas de oxígeno (ROS) que migran descontroladamente de la mitocondria. Este proceso ha sido asociado con la aparición de diabetes tipo 1 a través de la apoptosis de las células beta pancreáticas, la aparición de la diabetes tipo 2 a través de resistencia a la insulina y las demás afecciones a la salud mencionadas anteriormente².

Los radicales libres son compuestos resultantes de los distintos procesos metabólicos. En el organismo, el equilibrio redox es normalizado por las sustancias antioxidantes. Sin embargo, la sobreproducción de ROS puede superar las diferentes barreras antioxidantes, lo que produce un fenómeno conocido comúnmente como estrés oxidativo, que causa grandes daños en las proteínas, ácidos nucleicos y lípidos; esto puede ocasionar múltiples patologías crónicas degenerativas. Múltiples trabajos epidemiológicos muestran una correlación inversa entre el consumo de frutas, verduras y la mortalidad³. Los compuestos bioactivos como los polifenoles incluyendo flavonoides, taninos, catequinas, vitaminas C y E, β -caroteno, etc., y varios otros confieren efectos benéficos en la protección de la salud, estos compuestos pueden proporcionar una mejor protección debido a sus efectos sinérgicos con otros compuestos

bioactivos². El gran porcentaje de compuestos polifenólicos presentes en las frutas les otorga una mayor capacidad antioxidante y les confiere múltiples acciones benéficas vinculadas a patologías ocasionadas por radicales libres. Un claro ejemplo, son los taninos condensados, flavonoides, ácidos fenólicos como el clorogénico, cumárico y elálgico, los cuales poseen el poder de atrapar radicales libres desencadenantes de daño oxidativo, y con ello disminuir las posibilidades de sufrir enfermedades crónicas³.

Las sustancias bioactivas encontradas en frutas confieren además capacidades antiinflamatorias, antialérgicas, antitrombóticas, antimicrobianas y antineoplásicas³.

En la actualidad hay una variedad de estudios sobre nuevos alimentos con actividad antioxidante, los cuáles combaten a los radicales libres para prevenir las distintas afecciones oncológicas, uno de ellos, aunque no muy conocido es el purpuro, con nombre taxonómico *Passiflora mollissima*, originaria de las tierras altas tropicales de América del Sur. El género *Passiflora*, es el de más abundancia en la familia *Passifloraceae*, muy pocas se caracterizan por tener un gran porcentaje de sustancias polifenólicas; excepto *Passiflora mollissima* (Kunth) L.H. Bailey (Purpuro) que es un fruto con una gran capacidad antioxidante.³

Es un producto con una gran actividad fitogenética, usado por que posee frutos de gran aroma y apetecibles, los cuales son ampliamente ingeridos en su estado natural y utilizados en la gastronomía. Otro uso que se le da es en medicina, como ornamental e industrialmente. En la actualidad, es aún una fruta que carece de reconocimiento en el mercado de todo el mundo, catalogada como exótica y destinada al rubro del mercado de gastronomía fina. Confiere un gran potencial y nueva opción para el nuevo mercado, pudiendo conseguir en corto tiempo gigantes cifras de producción, alcanzando una gran rentabilidad. Además por sus beneficios y cualidades que posee, puede convertirse en una de las mejores alternativas a futuro dentro de las frutas convencionales. Se debe dar incentivo y facilidades en lo que concierne al cultivo, conservación y producción industrial de este alimento en nuestro país, en donde es poco conocido en relación al resto de países andinos en donde habita.⁴

1.2 TRABAJOS PREVIOS (ANTECEDENTES)

Rojano y Acosta ³ (Colombia 2012), realizaron un estudio para evaluar la capacidad que poseen los extractos acuosos de puro puro, para atrapar radicales libres totales e hidroxilos, esta capacidad se evaluó por procedimientos de fluorescencia y los radicales superóxido por métodos espectrofotométricos. Se determinó que los extractos acuosos de curuba poseen un alto contenido de polifenoles, específicamente en flavonoides, ácidos fenólicos y taninos. También tienen una elevada capacidad para atrapar las múltiples especies reactivas de oxígeno, en especial el radical ROO•, más elevado que la gran mayoría de frutas y verduras.

Chaparro et al⁵ (Colombia 2015), realizaron un trabajo con el objetivo evaluar el efecto de la ingesta frecuente de curuba en la prevención del cáncer colorrectal en un modelo pre-clínico experimental inducido con azoximetano. Se evaluó la capacidad quimiopreventiva mediante el conteo de Focos de Criptas Aberrantes en el colon de ratones. El suministro de fruta se hizo antes y después de haberse inducido el cáncer. La presencia de fenoles, flavonoides y carotenoides totales se determinó por espectrofotometría. La capacidad antioxidante por los procedimientos FRAP, DPPH y ORAC. Se concluyó que la ingesta regular de curuba confiere efectos dosis-dependiente en la disminución de Focos de Criptas Aberrantes en el modelo in vivo estudiado.

Sánchez et al⁶ (Colombia 2013), realizaron un trabajo para evaluar el efecto de añadir extractos de puro puro en concentraciones de 0,4%, 0,6% y 0,8% p/p en comparación a un blanco (0%), sobre la capacidad antioxidante y la estabilidad oxidativa de una bebida fermentada con lactosuero, mientras está almacenado. Se lograron determinar las características fisicoquímicas de las bebidas, su composición en fenoles totales, su capacidad antioxidante o reductora mediante los métodos DPPH y ORAC; obteniéndose los siguientes resultados en la prueba triangular 0,4% y 0,6% no se encontró diferencias significativas ($p > 0,05$), a diferencia de 0,8% ($p < 0,05$), demostrando que los extractos de curuba (purpuro) incrementan

la capacidad antioxidante y reducen procesos oxidativos de la bebida láctea con relación al blanco.

López et al⁷ (España 2013), realizaron un estudio para determinar la composición química, las propiedades físico-químicas, las propiedades tecnológicas, fenoles totales y el contenido de flavonoides, las propiedades antioxidantes y las propiedades antibacterianas de polvo de fibra dietética obtenida de la fruta de la pasión (*Passiflora edulis var. flavicarpa*) Co-productos (pulpa y semillas o albedo) para determinar su idoneidad para su uso como ingrediente alimenticio natural. Para la actividad antioxidante, se utilizaron tres sistemas de prueba diferentes (DPPH, FIC y FRAP), mientras que la actividad antibacteriana se determinó utilizando el método de microdilución. El contenido de fibra dietética de las semillas y la pulpa de fruta de la pasión (PPIP) fue 53.51 g / 100 g, mientras que el contenido de fibra en el albedo de maracuyá (PFA) fue 71,79 g / 100 g. Ambos tipos de fibra mostraron buenas propiedades tecnológicas. El fenol y la recuperación de flavonoides era dependiente del tipo de fibra y el sistema disolvente utilizado, DMSO es un disolvente más eficiente en este respecto que el metanol o el agua. Todas las muestras analizadas mostraron una buena capacidad antioxidante y capacidades antibacterianas.

Saravanan y Parimelazhagan² (India 2014), realizaron un estudio para evaluar la actividad antioxidante, actividades anti-diabéticos y antimicrobianas de diferentes extractos en disolventes de *Passiflora ligularis*. Entre los diversos disolventes, extracto de acetona está representada máximo total fenólico (640,70 mg GAE / g de extracto), taninos (214.30 mgGAE / g de extracto) y el contenido de flavonoides (387,33 mg RE / g de extracto). Los resultados de estudios antioxidantes revelaron que el extracto de acetona de frutas poseía una eficiente actividad antioxidante frente al radical 2,2-difenil-1-picrilo-hidrácilo (DPPH •). La cuantificación de los polifenoles por HPLC mostró la presencia de ácido elágico, ácido gálico. Por lo tanto, los resultados indican que la pulpa del fruto de *Passiflora ligularis* puede servir en las industrias de alimentos, farmacéuticas, y como potencial antioxidante.

1.3 TEORÍAS RELACIONADAS AL TEMA

La familia de las pasifloras está formado por 500 especies aproximadamente, las cuales se encuentran en zonas tropicales y subtropicales, la mayor parte de los géneros se sitúa en África oriental, pero solo 4 de sus 22 géneros en América. El puro puro es originaria del norte de los Andes, en Perú se encuentra sembrada desde los 2.000 hasta los 2.600 msnm en las regiones de cordillera de la zona Andina⁸.

El puro puro es un arbusto de característica trepadora que se adhiere de los árboles, muros y distintas estructuras de crecimiento mediante zarcillos que se forman en la axila de la hoja, dicha planta se ramifica a lo largo todo su crecimiento, aun en épocas prematuras de crecimiento y desarrollo se manifiestan ramificaciones o tallos a los 20 centímetros de altura de la planta⁸.

El puro puro (*Passiflora tripartita var. mollisima*) es comúnmente conocida como taxo, curuba, parcha o tumbo. Pertenece a la familia de las pasifloráceas. Es una planta de característica enredadera de tallo de forma cilíndrica pubescente, de hojas obovadas, posee tres lóbulos, comúnmente pubescentes en ambas caras; el cáliz es tuberoso y glabro; los pétalos son de color blanco, rosa pálido o rosa intenso, tienen forma oblonga y el ápice es obtuso. El fruto del purpuro es una baya de forma oblonga u ovoide con pericarpio coriáceo o blando, de color amarillo o naranja cuando está maduro; semillas obovadas, con arilo anaranjado, de gran sabor y comestibilidad⁸.

En cuanto a los radicales libres, estos son grupos de átomos que poseen un electrón desapareado o libre lo que les otorga una gran reactividad, captan electrones de moléculas estables con la finalidad de estabilizarse electroquímicamente. Cuando el radical libre ha logrado obtener el electrón de su necesidad, la molécula estable que se lo confiere se transforma en un radical libre por haberse quedado con un electrón desapareado, generándose una cascada de reacciones que causan

apoptosis en nuestras células. La vida media del radical libre es muy corta, de microsegundos, pero tiene la particularidad de reaccionar con todo lo de su alrededor, ocasionando un gran daño molecular, a membranas celulares y tejidos. Los radicales libres no son del todo maléficos; de hecho, nuestro propio organismo los genera en pequeñas cantidades para combatir bacterias y virus⁹. Se forman como producto de múltiples reacciones bioquímicas, pero cuando se sintetiza en exceso puede dar lugar a daño oxidativo al ADN, proteínas y lípidos. Los radicales libres de oxígeno, conocidos como especies reactivas del oxígeno (ROS), son los radicales libres biológicamente más significativos. ROS incluyen el superóxido y el radical hidroxilo, además de derivados de oxígeno que no contienen electrones desapareados, tales como peróxido de hidrógeno, oxígeno singlete, y ácido hipocloroso¹⁰.

Los antioxidantes son compuestos que protegen de la oxidación a otras moléculas mediante la terminación de la iniciación o propagación de la oxidación de reacciones en cascada. Restricción en el uso de antioxidantes sintéticos debido a su carácter cancerígeno, ha dado lugar a un creciente interés en los últimos años en antioxidantes naturales de origen vegetal con baja citotoxicidad para su aplicación en la industria alimentaria para combatir el deterioro de los alimentos. Los antioxidantes naturales presentes en los alimentos han atraído el interés debido a su seguridad, además de sus efectos nutricionales y terapéuticos. Se reconoce que, además de un papel en la defensa endógena de las plantas, el consumo humano de antioxidantes en la dieta protege contra algunos eventos patológicos¹¹.

En la dieta los antioxidantes juegan un rol crucial en la defensa ante el envejecimiento y las patologías crónico degenerativas con gran prevalencia a nivel mundial. Los antioxidantes combaten los radicales libres causantes del estrés oxidativo e inhiben su propagación¹².

La actividad antioxidante de un determinado alimento o sus componentes, está dado por interacciones entre distintos compuestos con múltiples mecanismos de acción. Por esta razón, la determinación de la actividad reductora o antioxidante de extractos complejos se realiza por distintos métodos de complemento, que evalúen diversos mecanismos de acción¹³.

En un estudio de optimización del método captación del radical 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para evaluar actividad antioxidante en bebida de café, según los resultados obtenidos se afirma que la actividad antioxidante radica en la presencia y cantidad de compuestos fenólicos que presenten los alimentos en esta caso como el café, que presentan generalmente una significativa actividad captadora frente al radical DPPH¹⁴.

El Radical DPPH, la molécula 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH) es un radical orgánico estable, posee una coloración violeta. El método fue realizado por Brand Williams, y se basa en la evaluación de la actividad antioxidante o reductora que tiene para estabilizar el radical DPPH. Cuando la solución de DPPH reacciona con la muestra o el sustrato antioxidante que va a otorgar un átomo de hidrógeno, la coloración violeta se desvanece. La variación del color es monitoreado en espectrofotómetro y es necesario para determinar los parámetros de las propiedades antioxidantes que son obligatorias para lograr el estado estacionario y lograr la reacción redox¹⁵.

1.4 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Existe diferencia entre la actividad antioxidante que presenta *Passiflora tripartita var. mollissima* “puro puro” procedente de los distritos de Usquil, Charat y Huaranchal?.

1.5 JUSTIFICACIÓN

Se ha visto necesario realizar este estudio debido a que las enfermedades crónicas degenerativas causadas por radicales libres son muy preponderantes en la actualidad, y los datos estadísticos aumentan más cada año. La intención es dar a conocer a la población sobre la capacidad antioxidante del puro – puro para prevenir las múltiples enfermedades inflamatorias cancerígenas, y como consecuencia mejorar la calidad de vida, además de ser una fruta nativa, muy accesible sobre todo para la población rural, la cual no tiene acceso a otros productos que tienen similares características.

Existen estudios de la actividad antioxidante del puro -puro, realizados en otros países, donde los resultados obtenidos se mostraron muy favorables para mejorar la salud humana.

Es por todo eso que es muy importante estudiar la actividad antioxidante de *Passiflora tripartita var. mollisima* peruana “puro - puro”, por ser nativa y además porque no existen estudios nacionales sobre su gran aporte que sería para la salud pública, siendo el primer estudio realizado en la ciudad de Trujillo y así motivar futuras investigaciones sobre intervención y prevención temprana en las posibles apariciones de enfermedades causadas por radicales libres.

1.6 HIPÓTESIS

Existe diferencia significativa entre la actividad antioxidante que presenta *Passiflora tripartita var. mollisima* “puro puro” procedente de los distritos de Usquil, Charat y Huaranchal.

1.7 OBJETIVOS

GENERAL

Comparar la actividad antioxidante in vitro que presenta *Passiflora tripartita var. mollisima* “puro puro” procedente de los distritos de Usquil, Charat y Huaranchal

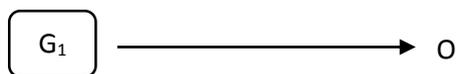
ESPECÍFICOS

Determinar la capacidad antioxidante de cada una de las muestras de puro puro, provenientes de Usquil, Huaranchal y Charat.

II. MÉTODO

2.1 DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

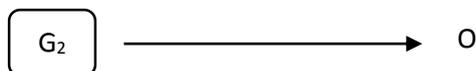
La presente investigación se realizó mediante un diseño descriptivo, comparativo y transversal.



Donde:

G₁: Muestra de puro puro del Distrito de Usquil.

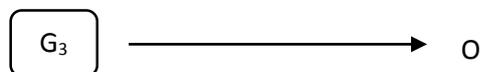
O: Medición de la Actividad antioxidante del puro puro expresado en %.



Donde:

G₂: Muestra de puro puro del Distrito de Charat.

O: Medición de la Actividad antioxidante del puro puro expresado en %.



Donde:

G₃: Muestra de purpuro del Distrito de Huaranchal.

O: Medición de la Actividad antioxidante del puro puro expresado en %.

2.2 VARIABLES Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLE

Variable Cuantitativa Continúa: actividad antioxidante.

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE	Es la capacidad que tiene una sustancia de reducir o neutralizar la acción oxidante de las especies reactivas de oxígeno mediante la liberación de electrones que son captados por los radicales libres para ser eliminados ¹²	Es la relación que existe entre la disminución de la observancia medida del radical libre (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) a un determinado tiempo sobre su absorbancia inicial ¹² . Se utilizará el método DPPH.	% de actividad antioxidante	Cuantitativa continua

2.3 POBLACIÓN Y MUESTRA

POBLACIÓN

La población estuvo conformada por frutos de “puro – puro”, provenientes de los Distritos de Usquil, Huaranchal y Charat.

Criterios de inclusión:

- Puro – puros con características organolépticas adecuadas.
- Puro – puros maduros.
- Puro – puros aptos para el consumo humano.

Criterios de exclusión

- Puro – puros que se encuentren en estado de deterioro.

- Puro – puros que no se cultiven en Usquil, Huaranchal y Charat.

MUESTRA

El tamaño de la muestra fue determinado por conveniencia para asegurar el logro de los objetivos; siendo ésta de 9 muestras de Puro – puro, tres de cada distrito (Usquil, Huaranchal y Charat), que además cumplieron con los criterios de inclusión mencionados.

MUESTREO

No probabilístico por conveniencia.

2.4 TÉCNICA E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS, VALIDEZ Y CONFIABILIDAD.

TÉCNICA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Se utilizó la observación experimental.

Las plantas fueron identificadas taxonómicamente en el herbario de la Universidad Nacional de Trujillo, la planta que se caracterizó fue del distrito de Usquil (anexo N° 9).

La actividad antioxidante se evaluó mediante el método DPPH, desarrollado por Brand Willams¹⁶, consiste en que el DPPH posee un electrón desapareado y es de color violeta, decolorándose hacia amarillo pálido cuando entra en contacto con una sustancia reductora o antioxidante; la absorbancia fue monitoreada espectrofotométricamente a una longitud de 515 nm. La diferencia de absorbancia sirvió para obtener el porcentaje de captación de radicales libres¹⁷.

TECNICA	INSTRUMENTO
Observación experimental	Ficha de observación

INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Se elaboró una ficha de observación donde está indicado las muestras utilizadas, la absorbancia del radical DPPH (2,2 difenil-1-picrilhidrazilo) a 515NM en tiempos de 0 min, 10 min, 20 min y 30 min el porcentaje de actividad antioxidante de las muestras.

VALIDEZ Y CONFIABILIDAD DEL INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

La validez del instrumento de recolección de datos se ha dado a través de juicio de expertos, contando con la participación de tres profesionales destacados en la materia de estudio, quienes propusieron observaciones para mejorar el instrumento.

Los datos fueron obtenidos siguiendo estos procedimientos:

- Se presentó el presente proyecto de investigación a los asesores de tesis, para su respectiva aprobación.
- Se solicitó la autorización de ejecución de la presente investigación a la Universidad César Vallejo para el uso de sus instalaciones de laboratorio.
- Se recolectó las muestras de *Passiflora tripartita var. Mollissima* "Puro Puro" en los distritos mencionados.
- Se almacenó y transportó en coolers en cadena de frío, se refrigeró por 3 días, para posteriormente realizar la determinación de actividad antioxidante.
- En el presente trabajo de investigación descriptiva y transversal se utilizó la determinación de la actividad antioxidante de 3 extractos acuosos de *Passiflora tripartita var. Mollissima* "Puro Puro" procedentes de los distritos de Usquil, Charat y Huaranchal, mediante el método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo).
- El fundamento del método DPPH, desarrollado por BRAND-WILLAMS¹⁶, consiste en que el DPPH posee un electrón desapareado y es de color violeta, decolorándose hacia amarillo pálido cuando entra en contacto con una sustancia reductora o antioxidante; la absorbancia fue monitoreada

espectrofotométricamente a una longitud de 515 nm. La diferencia de absorbancia, permitió obtener el porcentaje de captación de radicales libres¹⁷.

PREPARACION DEL ZUMO

- Los frutos de *passiflora tripartita var. Mollisima* “Puro – Puro” fueron adquiridos en los distritos mencionados y codificados de acuerdo al lugar de procedencia.
- Se peló 20 gramos de pulpa de fruta, se colocó en el mortero y machacó hasta obtener zumo.
- Se realizó una dilución del zumo 1/20 (se midió 1 ml de zumo + 19 ml de agua destilada).¹⁹

Determinación de la actividad antioxidante:

- Se contó con el apoyo de un docente especializado en el manejo de DPPH.
- De la dilución de zumo de cada fruta se midió 0.1ml (100ul) se colocó en tubos de ensayo respectivos y rotulados que contenían 3.9ml de reactivo DPPH⁰ se hizo por triplicado este proceso por cada muestra de puro puro¹⁹.
- Finalmente se homogenizó la mezcla de cada reacción, se midió la absorbancia inicial de cada una de las muestras, luego se llevó a la oscuridad por 10 minutos, 20 minutos y después por 30 minutos.
- Transcurrido el tiempo las muestras de reacción del radical y el diluido de cada muestra de puro puro, fueron llevadas al espectrofotómetro a 515nm para ser medidas las absorbancias a los 10, 20 y 30 minutos, se observó que hubo una disminución del color de la dilución³.
- La actividad antioxidante para cada una de las muestras se determinará utilizando la siguiente fórmula¹⁸:

$$\% \text{ Actividad Antioxidante} = \left[\frac{\text{Absorbancia INICIAL} - \text{absorbancia DPPH}^0_{\text{FINAL}}}{\text{Absorbancia INICIAL}} \right] \times 100$$

2.5 MÉTODO DE ANÁLISIS DE DATOS

Para el procesamiento de los datos obtenidos a nivel descriptivo, se utilizó medias, tablas, y gráficos propios de la estadística descriptiva de análisis univariado, que se procesaron con el programa IBM Spss Statistics. Para evaluar la diferencia entre la actividad antioxidante de las muestras de puro puro procedente de Usquil, Charat y Huaranchal, se empleó la prueba paramétrica de análisis de varianza (ANOVA), con un nivel de significancia de 0.05.

2.6 ASPECTOS ÉTICOS

En esta investigación se tomó en cuenta, aspectos de veracidad y autenticidad de los datos obtenidos y reflejados en la investigación, priorizando la protección del medio ambiente, propiedad intelectual, se consideró que los resultados sean reales, no alterados o plagiados.

III. RESULTADOS

Tabla 1. Promedios del porcentaje de actividad antioxidante *Passiflora tripartita* de Usquil Charat y Huaranchal, según el método DPPH.

Muestras (procedencia)	Actividad antioxidante (%)
1. Usquil	60.94
2. Charat	59.12
3. Huaranchal	51.68

Tabla 2. Análisis de varianza de un factor, utilizado para evaluar las medias poblacionales de la actividad antioxidante de *Passiflora tripartita* var. *mollissima* de Usquil Charat y Huaranchal, según el método DPPH a los 30 minutos.

Actividad Antioxidante.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	152,016	2	76,008	30,082	,001
Intra-grupos	15,160	6	2,527		
Total	167,176	8			

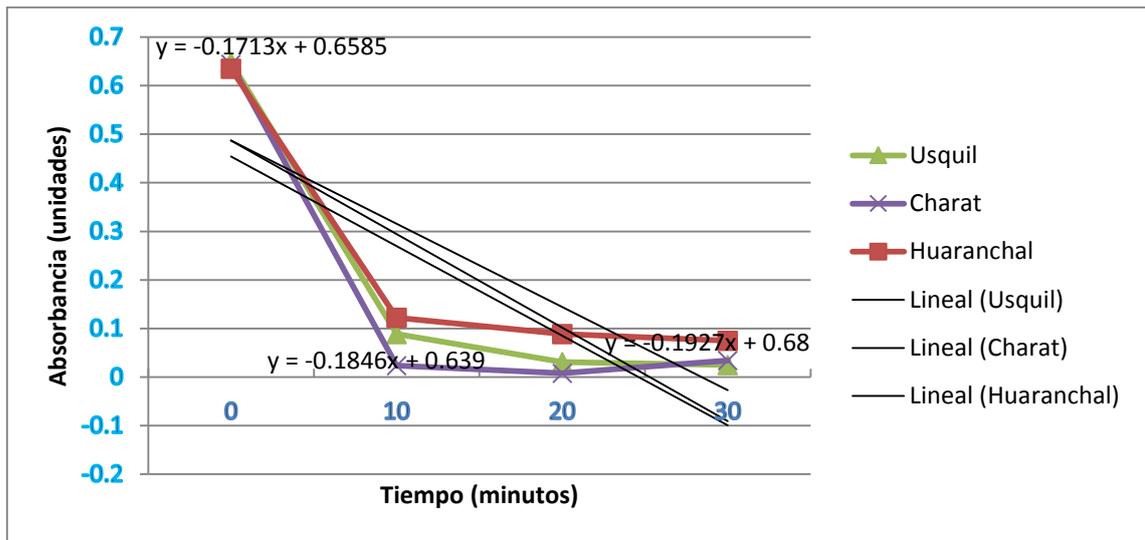


Figura 1. Variación de la actividad antioxidante de *Passiflora tripartita* de Usquil, Charat y Huaranchal según las unidades de absorbancia por el tiempo.

IV. DISCUSIÓN.

En múltiples estudios se viene demostrando los beneficios que una adecuada ingesta de antioxidantes presentes en las frutas, verduras y otros alimentos, están favoreciendo a la prevención de enfermedades degenerativas como el cáncer, enfermedades inflamatorias y las crónicas no transmisibles.

La mayor parte de la actividad antioxidante de frutas y vegetales se le atribuye a su contenido en vitamina E, C y carotenos, así como de diferentes polifenoles¹⁹. Por lo que en esta investigación se enfocó en la determinación de la actividad antioxidante de 3 muestras de *Passiflora tripartita variedad mollisima* provenientes de los distritos de Usquil, Charat y Huaranchal respectivamente, sometidas a un radical libre de tipo sintético el 2,2 Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH).

En la Tabla 1, se muestra la actividad antioxidante del puro puro procedente del distrito de Usquil evaluada por el método de DPPH, a los 30 minutos presentó mayor actividad antioxidante con un valor correspondiente a 60.94%, seguido de un 59.12% para la muestra del distrito de Charat y un 51.68% de la muestra del distrito de Huaranchal. Estos resultados se asemejan a los que tuvo Chaparro⁵, en su investigación realizada para demostrar la actividad reductora que tiene la curuba (puro puro) con finalidad quimiopreventiva frente al cáncer colorrectal; en su trabajo refleja un porcentaje de 65 % de actividad antioxidante, con lo cual nos muestra que no hay una gran diferencia en la actividad antioxidante de las muestras peruanas de puro puro (Usquil) frente a la muestra de Curuba (Colombia).

Agregado a esto, Chaparro⁵ también menciona que la actividad antioxidante puede variar por factores genéticos, factores medioambientales, y está influenciado por la especie, el método de cultivo, el clima, el estado de madurez, la época de cultivo, las condiciones de poscosecha y almacenamiento, y por ello puede influenciar la bioactividad de estos componentes.

Los datos obtenidos en esta investigación, guardan relación con lo que sostiene Kuskoski²⁰, quien en su trabajo denominado aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos,

menciona que el tiempo de medida necesario para evaluar las medidas de DPPH es de 30', debido a que a tiempos menores es difícil obtener datos concisos, debido a la alta inestabilidad de la muestra de DPPH. También Kuskoski²⁰, muestra la evaluación de la actividad antioxidante de múltiples frutos de gran consumo dentro de la población, tales como la piña con una actividad antioxidante a los 30' de (41,1 %); Guanábana (57.1%); Cupuazú (43.1%); Maracuyá (46.66 %); lo que permite afirmar que el puro puro tiene mayor actividad antioxidante que los frutos antes mencionados, y sería una gran opción para ampliar la variedad de frutos dentro la ingesta diaria y al mismo tiempo aprovechar al máximo todos sus beneficios ya mencionados.

En la Tabla 2, se muestran los resultados de la evaluación de las medias poblacionales de la actividad antioxidante de las tres muestras evaluadas, utilizando la prueba paramétrica ANOVA, en donde se obtuvo un valor p de 0.001, con lo cual se interpreta que las medias poblacionales son distintas, por lo que se determina que si existe diferencia significativa entre la actividad antioxidante que presenta *Passiflora tripartita var. mollissima* "puro puro" procedente de los distritos de Usquil, Charat y Huaranchal.

En la Figura 1 se observa la variación de la actividad antioxidante de las 3 muestras estudiadas en función del tiempo en las que fueron medidas tanto al inicio como a los 10', 20' y 30'; observándose de manera clara que hay una gran actividad antioxidante durante los primeros 10', tendiendo a estabilizarse hasta los 30'. Son varios los factores que pueden influir en la actividad antioxidante de una fruta, así Sánchez⁶, en su trabajo denominado desarrollo de una bebida láctea con extractos de curuba (*Passiflora mollissima* Bailey) como antioxidante natural, nos menciona que a mayor tiempo de almacenamiento de la fruta, menor será su actividad antioxidante, de lo que podemos deducir que mientras más frescos sean los frutos y rápidos sean los procesos de análisis, se podrá obtener una actividad antioxidante aún mayor que la que se obtuvo en la investigación.

V. CONCLUSIONES:

- La mayor actividad antioxidante (60.94 %) la presentó la muestra de Usquil, seguida de la muestra de Charat (59.12 %) y finalmente la muestra de Huaranchal (51.68%).
- Si existe diferencia significativa entre las actividades antioxidantes de las muestras de *Passiflora tripartita var. mollisima* “puro puro” procedente de los distritos de Usquil, Charat y Huaranchal ($p = 0.001$).

VI. RECOMENDACIONES.

- Promover el consumo del “Puro Puro” tanto en la zona rural como la urbana, dónde es poco conocido, con la finalidad de aprovechar sus propiedades nutricionales y beneficios para la salud, además de ser una fruta nativa de nuestra región, la cual se puede consumir al natural cómo también en distintas preparaciones. Se puede consumir hasta dos porciones por día.
- Recomendar el consumo del puro puro en el tiempo correcto, siendo éste de máximo 30 minutos una vez abierto su cáscara, con la finalidad de no alterar sus propiedades nutricionales.
- Incentivar el estudio de todas sus propiedades nutricionales del Puro Puro, tanto en vitaminas, minerales, como polifenoles con el objetivo de dar a conocer objetivamente los beneficios de este fruto para la salud.
- Promover la comparación de la actividad antioxidante del Puro Puro de la Región, con otras muestras de distintas regiones que difieran en clima, suelo, altitud, etc; con la finalidad de evaluar si tiene diferencia significativa o no la tiene.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.

1. MINSA, dirección general de epidemiología. Análisis de la situación del cáncer en el Perú. Estudio realizado en el Perú [Internet]. 2013[18 de agosto del 2016]1(1):35-52.
2. Saravanan P, Parimelazhagan T. In vitro antioxidant, antimicrobial and anti-diabetic properties of polyphenols of *Passiflora ligularis* Juss. fruit pulp Shanmugam. *Food Science and Human Wellness* 3 (2014) 56–64.
3. Rojano B, Acosta K, Correa F. Capacidad atrapadora de radicales libres de *Passiflora mollissima* (Kunth) L. H. Bailey (curuba). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 2012; 17(4): 408-419.
4. Rodríguez E, Arroyo S. *Passiflora tripartita* var. *mollissima* (Passifloraceae) "poro-poro", "puro-puro". *INNOVA NORTE*. 2(1):11-29. 2009
5. Chaparro C, Maldonado M, Urango L, Rojano B. Propiedades quimiopreventivas de *Passiflora mollissima* (Kunth) L. H. Bailey (curuba larga) contra cáncer colorrectal. *Revista Cubana de Plantas Medicinales* 2015;20(1):62-74.
6. Sánchez N, Sepúlveda J, ROJANO B. Desarrollo de una bebida láctea con extractos de curuba (*Passiflora mollissima* Bailey) como antioxidante natural. *Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*. Vol 11 No. 1 (164 -173) Enero - Junio 2013.
7. López J, Fernández J, Pérez J, Viuda M. Chemical profiles of traditional preparations of four South American *Passiflora* species by chromatographic and capillary electrophoretic techniques. *Revista Brasileira de Farmacognosia* 26 (2016) 451–458.
8. Becerra D. Efecto del origen del material vegetal y la edad sobre la capacidad morfogenética de dos especies de passiflora (*Passiflora*

mollissima) H. B. K. *Bailey* y *pasiflora edulis* var. *Flavicarpa*) Cultivadas in vitro. [Tesis para optar el título de Biólogo]. Colombia: Pontificia Universidad Javeriana, 2013.

9. Avello M y Suwalsky M. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. SCIELO [internet] 2006[citado el 02 de marzo del 2016]; 494(2) 161 – 172.
10. Reenu J, Aziz Sh, y Bhageerathy Ch. In vitro potencial antioxidante en secuenciales Los extractos de cúrcuma caesiaRoxb. Rizomas. PUBMED [internet] 2015[citado 18 de agosto 2016]; 77(1) 41-8.
11. Cuerda C, Luengo L, Valero M, Vidal A, burgos R, Calvo F, y Martínez C. Antioxidantes y diabetes mellitus: revisión de la evidencia. SCIELO [Internet] 2011 [citado el 10 de setiembre del 2016]; 26(1) 68-78.
12. Oliveira D, Angonese M, Gomes C, Ferreira S. Valorization of passion fruit (*Passiflora edulis* sp.) by-products:Sustainable recovery and biological activities. J. of Supercritical Fluids 111 (2016) 55–62.
13. Mercado G, Carrillo L, Wall A, López J y Álvarez E. Compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante de especias típicas consumidas en México. SCIELO [Internet] 2013 [citado el 24 de setiembre del 2016]; 28-(1) 0212-1611.
14. Monreal A, Sánchez M, Martínez M. Optimización del método captación del Radical 2,2- Difenil-1-Picrilhidrazilo (Dpph) para evaluar actividad antioxidante en bebida de café. An Vet Murcia [internet] 2012[citado el 24 de setiembre del 2016]; 28 67 - 78.
15. Aparcana I, Villareal L. Evaluación de la capacidad antioxidante de los extractos etanólicos del fruto de *Physalis peruviana* "aguaymanto" de

diferentes lugares geográficos del Perú. [Tesis de grado]. Lima, Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2014.

16. Muños A, Ramos F, Alvarado C, Castañeda B, Barnett E, Yáñez J, Cajaleón D. Evaluación del contenido de fitoesteroles, compuestos fenólicos y métodos químicos para determinar la actividad antioxidante en semilla de Sacha Inchi. SCIELO [Internet] 2010[citado el 14 de octubre del 2016]; 76(3) 1810-634. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1810634X2010000300005&script=sci_arttext.
17. Mesa A, Zapata S, Arana L, Zapata I, Monsalve Z, Rojano B. Actividad antioxidante de extractos de diferente polaridad de *Ageratum conyzoides* L. REDALYC [Internet] 2015[citado el 14 de octubre del 2016]; 14(1) 1-10. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85632845001>.
18. Giraldo L, y Ramírez L. Evaluación de la actividad antioxidante de extractos de *Palicourea guianensis* (Rubiaceae). SCIELO [Internet] 2013 [citado el 4 de noviembre del 2016]; 47-(4) 0034-7515. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152013000400008
19. Calderón_P. Determinación de las propiedades antioxidantes de jugos de naranja comerciales sometidos a distintas condiciones de almacenamiento [Tesis para optar el título de Químico Biólogo]. Guatemala julio del 2007.
20. Kuskoski M. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciênc. Tecnol. Aliment.*, Campinas, 25(4): 726-732, out.-dez. 2005.

ANEXOS.

Anexo 1.

Cuadro de recolección de datos sobre la determinación de la capacidad antioxidante por el método DPPH (2,2-DIFENIL-1-PICRILHIDRAZILO)

PROCEDENCIA:					
MUESTRA	RADICAL A 5015NM DPPH(1,1-DIFENIL-2-PICRILHIDRAZILO)				% CAPACIDAD ANTIOXIDANTE
	INICIAL	10 MIN	20 MIN	30 MIN	30 MIN
PURO – PURO Nº1					
PURO – PURO Nº2					
PURO – PURO Nº3					

Anexo 2.

Tabla N° 1: Absorbancias obtenidas al inicio, 10, 20 y 30 minutos de las muestras de *Passiflora tripartita* de Usquil, Charat y Huaranchal según el método DPPH.

Zumo de Puro Puro.	Absorb. Inicial	10'	20'	30'
USQUIL	0.648	0.092	0.049	0.022
	0.640	0.083	0.019	0.026
	0.656	0.091	0.025	0.028
CHARAT	0.636	0.024	0.002	0.029
	0.656	0.025	0.019	0.036
	0.639	0.023	0.002	0.037
HUARANCHAL	0.648	0.136	0.062	0.072
	0.622	0.088	0.092	0.076
	0.636	0.144	0.113	0.076

Anexo 3.

Tabla N° 2: % Actividad antioxidante de las muestras de *Passiflora tripartita* de Usquil, Charat y Huaranchal según el método DPPH.

Zumo de Puro Puro.	Absorb. Inicial	Absorb. Final	% Act. Antiox
USQUIL	0.648	0.022	61.4
	0.640	0.026	59.9
	0.656	0.028	61.3
CHARAT	0.636	0.029	61.7
	0.656	0.036	60.1
	0.639	0.037	58.1
HUARANCHAL	0.648	0.072	53.7
	0.622	0.076	49.9
	0.636	0.076	51.6

Anexo 4.

Tabla 3. Unidades de absorbancia reducidas por minuto, debido a la actividad antioxidante de *Passiflora tripartita* de Usquil Charat y Huaranchal, según el método DPPH.

Procedencia (Unidades de absorbancia/minuto)	
Usquil	0.19
Charat	0.18
Huaranchal	0.17

Anexo 5.

Tabla 4. Prueba de Homogeneidad de Varianzas de la actividad antioxidante de *Passiflora tripartita var. mollisima* de Usquil, Charat y Huaranchal, según el método DPPH a los 30 minutos.

Actividad Antioxidante			
Estadístico de Levene	gl1	gl2	Sig.
0.590	2	6	0.583

Anexo 6. Prueba de normalidad.

Pruebas de normalidad

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Estadístic	gl	Sig.	Estadístic	gl	Sig.
	o			o		
Actividad Antioxidante	,254	9	,097	,836	9	,052

a. Corrección de la significación de Lilliefors

Anexo 7. Estadístico descriptivo del análisis de varianza.

Descriptivos								
ActividadAntioxidante								
	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
1	3	60,8667	,83865	,48419	58,7833	62,9500	59,90	61,40
2	3	59,9667	1,80370	1,04137	55,4860	64,4473	58,10	61,70
3	3	51,7333	1,90351	1,09899	47,0048	56,4619	49,90	53,70
Total	9	57,5222	4,57132	1,52377	54,0084	61,0360	49,90	61,70

Anexo 8. Solicitud de determinación Taxonómica.

DESGLOSABLE
 Apellidos y Nombres: García González Mervin Hernán DNI 73346281
 Objeto de la Solicitud: (Indicar en forma clara lo que solicita y detallar documentos que adjunta)
Determinación taxonómica de una planta

N° Procedimiento del TUPA: 142

Recibo de Caja: N° 123-150-1

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO

FACULTAD U OFICINA Herbario HUT

FECHA 24/XI/2016 HORA: 12:10pm

RECEPCIONISTA: Eric F. Rodríguez R.

AUTOMATICO S.A. (+) S.A.

PLAZO ATENCIÓN (Según TUPA): 07 días háb.

REGISTRO _____ FIRMA _____

DISTRIBUCIÓN GRATUITA

Anexo 9. Etiqueta de determinación Taxonómica.

ETIQUETA DE DETERMINACIÓN TAXONÓMICA



UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO
HERBARIUM TRUXILLENSE (HUT)
FLORA PERUANA



Familia: PASSIFLORACEAE
Nombre Científico: *Passiflora tripartita* var. *mollissima* (Kunth) Holm-Niels. & P. Jørg.
N. Vulgar: "puro puro" **Det. por:** Herbario HUT
Hábito: Planta trepadora de ca. 3 m de alto, flores rosadas..
Procedencia: Usquil.
Prov.: Otuzco **Dpto.:** La Libertad
Hábitat: En huerto familiar de ciudad Usquil, suelos negros.
Altitud: 3015 m **Fecha:** 09/11/2016
Colector: Mervin Hernán García Gonzales **N°:** s.n.

Universidad Cesar Vallejo
 Facultad Ciencias Médicas. Escuela Profesional de Nutrición
 Proyecto de Tesis: " "

Anexo 10. Fotografías de los procedimientos y metodología utilizada en la investigación.



1. PLANTA DE PURO PURO



2. RADICAL DPPH



3. MUESTRAS DE PURO PURO AGRUPADAS DE ACUERDO A ZONAS DE ORIGEN.

