



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE NUTRICIÓN

**COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES Y LA CAPACIDAD
ANTIOXIDANTE IN VITRO DEL EXTRACTO ETANÓLICO EN
TRES VARIETADES DE OPUNTIA FICUS-INDICA**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
LICENCIADA EN NUTRICIÓN**

AUTORA:

ORTIZ AGUILA PAMELA ARACELI

ASESOR:

DR. DIAZ ORTEGA JORGE LUIS

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

PROMOCION DE LA SALUD Y DESARROLLO SOSTENIBLE

Trujillo - Perú

2018

PÁGINA DEL JURADO

Mg. Cinthya Stephany Neglia Cermeño
Presidenta.

Mg. Dhyana Alama Huanalaya
Secretaria.

Dr. Jorge Luis Díaz Ortega
Vocal.

DEDICATORIA

A Dios por estar siempre a mi lado, guiarme por el camino del bien y permitirme llegar a este momento tan importante en mi formación académica.

A mis padres por su apoyo y amor incondicional; e incentivarme a cumplir mis metas cada día.

AGRADECIMIENTO

A mis asesores por su paciencia y dedicación.

Agradezco la confianza, comprensión y el apoyo incondicional brindado por mis tíos Jesús y Betzabé, quienes fueron mis segundos padres en todo este tiempo de formación profesional.

DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD

Yo Pamela Araceli Ortiz Aguila con Documento nacional de identidad N° 72742470 a efecto de cumplir con las disposiciones vigentes consideradas en el 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, Diciembre 2018

Pamela Araceli Ortiz Aguila

PRESENTACIÓN

Señores miembros del Jurado:

En cumplimiento del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo presento ante ustedes la Tesis titulada Compuestos Fenólicos Totales y la Capacidad Antioxidante in vitro del Extracto Etanólico en tres Variedades de Opuntia Ficus-Indica, la misma que someto a vuestra consideración y espero que cumpla con los requisitos de aprobación para obtener el título Profesional de Licenciada en Nutrición.

ÍNDICE

DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	iv
DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD	v
PRESENTACIÓN	vi
ÍNDICE	vii
RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
I. INTRODUCCION	1
1.1 Realidad Problemática	1
1.2 Trabajos previos	2
1.3 Teorías relacionadas al tema	5
1.4 Formulación del Problema	7
1.5 Justificación del estudio	8
1.6 Hipótesis	8
1.7 Objetivos	8
II. METODO	9
2.1 Diseño de Investigación.....	9
2.2 Variables, Operacionalización	9
2.3 Población y muestra	10
2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad	11
2.5 Métodos de análisis de datos	14
2.6 Aspectos éticos	14
III. RESULTADOS	15
IV. DISCUSION	16
V. CONCLUSIONES	21
VI. RECOMENDACIONES	22
REFERENCIAS	x
ANEXOS	xiv

RESUMEN

El presente trabajo de investigación es de tipo transversal con un diseño descriptivo comparativo, tuvo como objetivo determinar el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante en el extracto etanólico de tres variedades de *Opuntia Ficus-Indica* procedentes del Departamento de Ancash. Las muestras se seleccionaron del Mercado Municipal de la Ciudad de Caraz para la elaboración de los extractos etanólicos de cada una de las variedades seleccionadas. La actividad antioxidante fue determinada por el método de 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) utilizando cada uno de los extractos etanólicos de las tres variedades de tuna correspondiente a diversas concentraciones (5, 25, 50, 75, 150 $\mu\text{g/mL}$), para determinar la concentración del extracto para el 50% de inhibición del radical DPPH (IC₅₀); el contenido de compuestos fenólicos fue determinada con el método de Folin-Ciocalteu, expresando los resultados en mg AG/100 gr de fruto. Los resultados en el contenido de compuestos fenólicos expresados en equivalentes de ácido gálico (AG) por 100 gr de producto en la tuna amarilla, roja y verde fueron de 18.53 ± 0.38 ; 16.33 ± 0.16 y 16 ± 0.26 respectivamente. En cuanto a la capacidad antioxidante la tuna amarilla presenta 494.02 $\mu\text{g/mL}$ del extracto, la tuna roja tiene 569.47 $\mu\text{g/mL}$ y la tuna verde 88.4 $\mu\text{g/mL}$. Se concluye que la tuna verde contiene mayor capacidad antioxidante con 88.4 $\mu\text{g/mL}$ (inhibición al 50%), y que la tuna amarilla presenta mayor contenido de compuestos fenólicos con 18.53 ± 0.38 mg AG/100 gr de producto.

Palabras Claves: Capacidad antioxidante, Compuestos Fenólicos, Método DPPH, Método Folin-Ciocalteu

ABSTRACT

The present work of investigation is of transversal type with a descriptive comparative design, had as objective to determine the content of phenolic compounds and the antioxidant capacity in the ethanolic extract of three varieties of *Opuntia Ficus-Indica* coming from the Department of Ancash. The samples were selected from the Municipal Market of the City of Caraz for the preparation of the ethanolic extracts of each of the selected varieties. The antioxidant activity was determined by the method of 2,2-Diphenyl-1-Picrilhydrazil (DPPH) using each of the ethanolic extracts of the three varieties of prickly pear corresponding to various concentrations (5, 25, 50, 75, 150 $\mu\text{g} / \text{mL}$), to determine the concentration of the extract for 50% inhibition of the DPPH radical (IC50); the content of phenolic compounds was determined with the Folin-Ciocalteu method, expressing the results in mg AG / 100 g of fruit. The results in the content of phenolic compounds expressed in equivalents of gallic acid (GA) per 100 g of product in the yellow, red and green prickly pear were 18.53 ± 0.38 ; 16.33 ± 0.16 and 16 ± 0.26 respectively. Regarding the antioxidant capacity, the yellow tuna presents 494.02 $\mu\text{g} / \text{mL}$ of the extract, the red tuna has 569.47 $\mu\text{g} / \text{mL}$ and the green tuna has 88.4 $\mu\text{g} / \text{mL}$. It is concluded that the green tuna contains greater antioxidant capacity with 88.4 $\mu\text{g} / \text{mL}$ (50% inhibition), and that the yellow tuna has a higher content of phenolic compounds with 18.53 ± 0.38 mg AG / 100 g of product.

Keywords: Antioxidant capacity, Phenolic compounds, DPPH method, Folin-Ciocalteu method

I. INTRODUCCION

1.1 Realidad Problemática

En nuestra actualidad, hoy en día se está escuchando decir que los antioxidantes están relacionados con el mantenimiento de una buena salud o que son una buena manera de prevenir diversas enfermedades. Cuando mencionamos la palabra antioxidante, se está hablando de la actividad que tanto vitaminas como minerales y entre otros compuestos fitoquímicos tienen en otras sustancias, las cuales son consideradas como nocivas, como se conocen ahora llamados radicales libres, los cuales pueden tener reacciones químicas con diversos componentes de las células, llevándolos a la oxidación, y así lograr alterar su estabilidad y funcionalidad¹.

Las propiedades antioxidantes que aportan los alimentos están siendo consideradas importantes, tanto para el mantenimiento de la salud y sobre todo para la protección del organismo frente a enfermedades degenerativas; es por ello que este tema ha despertado gran interés por parte de los consumidores, los empresarios y sobre todo de los científicos. Diversas investigaciones y estudios epidemiológicos han concluido que las dietas ricas en alimentos de origen vegetal ayudan en la reducción de forma significativa de la mortalidad en la población, debido a enfermedades degenerativas influenciadas por el estrés oxidativo. En los alimentos también se hallan compuestos bioactivos, uno de ellos, los polifenoles, en el que se incluyen a los flavonoides, catequinas, taninos, β -caroteno, vitaminas C y E, entre otros; los cuales brindan efectos beneficiosos para proteger nuestra salud, estos compuestos además pueden aportar un mayor beneficio protector gracias a sus efectos sinérgicos o de unión con otros componentes bioactivos².

La mayor parte de los compuestos fenólicos que están presentes en los vegetales y en las frutas, aumentan la capacidad antioxidante que ellos puedan tener y por ello se les atribuyen, como ya se había mencionado, múltiples beneficios relacionados a combatir o a prevenir el desarrollo de enfermedades originadas por los radicales libres. Como manifiesta Coronado et al¹, en la Ciudad de México, se estudió la capacidad antioxidante que la tuna tiene tanto en la elaboración de alimentos funcionales como

en la industria cosmetología y en la farmacéutica. En el estudio se reafirmó que la tuna, como fruto, contiene diversos compuestos bioactivos, entre ellos la vitamina C, vitamina E y los polifenoles; y que además que los aspectos físicos, químicos y biológicos de la fruta, como la especie y el estado de madurez, influyen en la cantidad de nutrientes presentes.

1.2 Trabajos previos

1.2.1 INTERNACIONAL

En una recopilación de Ochoa y Guerrero³, ellos atribuyen que muchos de los beneficios que nos aportan el consumo de la tuna es debido a que es fuente importante de componentes funcionales nutraceuticos, es decir que proporciona beneficios médicos en la salud, en la prevención y en el tratamiento de diversas enfermedades; entre los compuestos se pueden mencionar tales como el ácido ascórbico, los compuestos fenólicos, α -tocoferol, los flavonoides y las betalainas en tunas de colores rojos y amarillos, además mencionan que en un estudio hecho por Butera, se determinó la actividad antioxidante en la tuna, analizando tres variedades, de color amarillo, rojo y blanco, siendo la muestra amarilla la que tiene mayor concentración de betalaina, predominando el pigmento indicaxantina en un 89% y en la tuna roja un 66%, mientras que en la tuna blanca la cantidad de betalainas es menor, lo que indica que la actividad antioxidante es mayor en la tuna de variedad amarilla, sabiendo que los pigmentos betalainicos son los que contribuyen en las tunas a que tengan esa propiedad antioxidante.

Ramírez et al⁴ en su investigación utilizó once variedades de tuna en diversos estados; inmadurez hortícola (IH, 10 días antes de la madurez hortícola), madurez hortícola (MH) y en postcosecha (PC, 10 días después de la madurez hortícola). Los métodos utilizados en el estudio fueron: para la cuantificación de betacianinas y betaxantinas se utilizó el método descrito por Stintzing; para determinar el contenido de fenoles totales se aplicó el método hecho por Waterman y Mole (1994). Los resultados demostraron que los niveles encontrados de betacianinas (0.21 a 59.18 mg/100 g⁻¹ pf (peso fresco)) son superiores a los de betaxantinas (0.12 a 24.07 mg/100 g⁻¹ pf (peso fresco)) en las tunas de variedades púrpura y roja en

los tres estados de maduración, además durante la postcosecha (PC), en el almacenamiento los contenidos de betacianinas aumentaron (de 0.46 a 49.15 mg/100 g⁻¹ pf), al igual que en las betaxantinas (de 0.57 a 19.91 mg 100 g⁻¹ pf (peso fresco), y en los compuestos fenólicos (de 106.60 a 165.56 mg EAG 100 g⁻¹ pf (peso fresco)).

En otro estudio realizado por Figueroa et al⁵ en doce variedades de tunas, en estos resultados se concluyó que la mayor concentración de compuestos fenólicos se presentó en Tapón Aguanoso (420.66 mg L⁻¹) de color púrpura, Amarilla Diamante (348.16 mg L⁻¹) y Mango (328.74 mg L⁻¹) de color amarillo. En cuanto a la determinación de la capacidad antioxidante, el resultado fue muy parecido en todas las variedades, con concentraciones que iban desde 6.12 a 9.58 μmol eq TROLOX g⁻¹ (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid; es un análogo hidrosoluble de la vitamina E). Los métodos empleados fueron: el método descrito en Litwack para los fenoles totales y el método dihidrocloruro de N,N-dimetil-p-fenil-N-diamina (DMPD) para la capacidad antioxidante.

1.2.2 NACIONAL

Coavoy⁶ en su investigación sobre la tuna morada resalta como variables: concentración de etanol (40% y 80%) y temperatura (30°C y 60 °C) en relación al contenido de fenoles totales (mg ácido gálico/L de muestra) y porcentaje de la capacidad antioxidante. Se obtuvo un pH de 6.61, una acidez de 0.06 g. de ácido cítrico/100 mL muestra, y la cuantificación de fenoles totales fue realizada de acuerdo al método espectrofotométrico Folin-Ciocalteu y la capacidad antioxidante según Mensor, el mayor contenido de compuestos fenólicos fue de 1002.47 mg ácido gálico/L de muestra y con una capacidad antioxidante del 40.18% a una concentración de etanol de 80%, y a una temperatura de 60°C.

Cabanillas et al⁷ al medir el efecto antioxidante de las tres variedades de los frutos *Opuntia ficus-indica* “tuna” procedentes de la Región Cajamarca, a través de los ensayos del DPPH (2,2-Diphenyl-1-picryl-hidrazyl), AAPH (2,2'-Azobis- (2-

aminopropano) – dihidrocloruro) y la cuantificación de polifenoles totales, obtuvo como resultados del DPPH, que los tres frutos de *Opuntia ficus-indica* “tuna” poseen actividad antioxidante y que el efecto va aumentando según aumenta la concentración, además se observa que el fruto de color morado de *Opuntia ficus-indica* “tuna”, presenta una mayor capacidad atrapadora de radicales libres DPPH con un porcentaje de 65,5%, en segundo lugar está el fruto de color blanco con un porcentaje de 27,6%, y por último el fruto de color amarillo con un porcentaje 27,2%, mostrando diferencia estadísticamente significativa con el estándar ($p < 0,05$).

Para su investigación Meza⁸ utilizó tunas provenientes de Chupaca, Huancayo y de Junín. Las muestras de pulpa se concentraron a 30°Brix con temperaturas de 40°C, 50°C y 60°C, empleando condiciones de vacío; y se evaluó el contenido de fenólicos totales y actividad antioxidante, los resultados demostraron concentraciones de 159.67 mg de ácido gálico/ por cada 100 g de muestra en la pulpa sin concentrar, y la pulpa concentrada de 98.72; 85.06 y 79.04 mg de ácido gálico/ por cada 100 g de muestra, la actividad antioxidante encontrada fue de 898 $\mu\text{mol eq. de trolox/por cada 100 g de muestra}$ en la pulpa sin concentrar, y en la pulpa concentrada de 748.26, 621.07 y 325.85 $\mu\text{mol eq. trolox/por cada 100 g de muestra}$, con lo que se encontró una diferencia significativa entre cada uno de los tratamientos a los que la pulpa fue sometida.

Ramos⁹ decidió evaluar la capacidad antioxidante a través de tres métodos (DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo), ABTS (2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6 ácido sulfónico) y ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity)), y los compuestos fenólicos (CFT (compuestos fenólicos totales), y Flavanoles), y analizar los resultados de nueve productos andinos del departamento de Junín; entre ellos la tuna. Los resultados encontrados al evaluar la Tuna fueron: los Fenólicos totales $36,7 \pm 1,21$ mg AGE/100g, y la capacidad antioxidante fue $4,7 \pm 0,22$ ABTS ($\mu\text{mol TE/g}$), $0,7 \pm 0,06$ DPPH ($\mu\text{mol TE/g}$) y $8,4 \pm 3,67$ ORAC ($\mu\text{mol TE/g}$).

1.2.3 LOCAL

Muñoz y Pulido¹⁰ manifiestan que para su investigación de medir la capacidad antioxidante del zumo de tuna amarilla frente al método DPPH utilizaron zumos a diferentes concentraciones: 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90, 95 y 100 uL; y lo midieron a los 0 y 30 minutos, por lo que a medida que aumenta la concentración del zumo, el porcentaje de captación del reactivo DPPH aumenta considerablemente. En la concentración de 5uL de zumo el % de captación fue 28,513 a los 0 minutos y a los 30 fue de 30,394; y en las concentraciones de 50uL hasta 100uL de zumo el porcentaje de captación fue 84, 715 y a los 30 minutos fue 87, 302.

1.3 Teorías relacionadas al tema

La Tuna es una fruta que pertenece a la familia de las cactáceas, en nuestro país el cultivo de esta fruta se encuentra ampliamente distribuida, especialmente en los valles interandinos, donde las condiciones climáticas encontradas son adecuadas para su siembra. La mayor producción de tunas en los andes del Perú, se encuentra las regiones de Ancash, Lima, Ayacucho, Huancavelica, Cusco, Apurímac, Arequipa, entre otras. Estos frutos se consumen de forma natural, tanto por los agricultores, y en los principales mercados cuando se comercializan y la población accede a su consumo. Actualmente el consumo de esta fruta en nuestro país y en otros países está aumentando gracias a los valores nutricionales que contiene, así como también por sus características organolépticas apropiadas como el sabor, el aroma y color; por lo que es importante hacer conocer a la población de los beneficios de esta fruta como sus propiedades antioxidantes e incentivar su consumo ya que la FAO a reconocido a la tuna como alimentos que puede ayudar en el desarrollo de las regiones áridas y semi áridas, debido a los pocos requisitos climáticos y cuidados que se necesitan en su producción¹¹.

La tuna es considerada un vegetal arborescente que mide de 3 a 5 metros de alto, su tronco es leñoso con un diámetro de 20 a 50 cm. En nuestro país las plantas de estas frutas llegan a medir entre 1.5 a 2 metros de altura. En comparación a otras especies de esta familia de cactáceas, el tallo está constituido por un tronco y ramas de forma

aplanada unidos a una cutícula gruesa de color verde, que cumple la función de fotosíntesis y de almacenar agua en los tejidos; forma pencas llamadas también cladodios de 2 a 3cm de espesor, unos 30 a 60cm de largo y 20 a 40cm de ancho; las ramas están formadas por pencas verdes con areolas que tienen espinas de color amarillo; las hojas tienden a desaparecer cuando las pencas terminan de desarrollarse y en su reemplazo solo quedan las espinas. De cada aérola se origina una flor de unos 6 a 7 cm de longitud que se encuentran en la parte superior de la penca, en cuanto a la fruta, esta es una baya polisperma de forma ovoide esférica, al principio adquiere un color verde y se va transformando en diferentes colores cuando llegan a cierto estado de madurez, este fruto es comestible, de sabor agradable y dulce; la pulpa es algo gelatinosa con numerosas semillas, las dimensiones en cuanto a tamaño y color de la fruta varían según la especie; además en la cáscara se presentan ciertas espinas finas y frágiles que miden unos 2 a 3 mm de longitud¹¹.

Los radicales libres son especies químicas que tienen uno o más electrones desapareados en sus orbitales externos, es decir que el electrón desapareado ocupa por sí solo un único orbital molecular o atómico. Son altamente reactivas y sirven para formar otros radicales libres en cadena, tienen una vida media corta y una concentración muy baja. Un radical libre para poder alcanzar un equilibrio químico, tiene que sustraer o quitar un electrón a otra molécula, provocando así la oxidación de la misma, de esta manera logra alterar su estructura y la convierte en otro radical libre con mayores efectos de agresividad oxidativa; generando de esta manera una reacción en cadena¹.

Dentro de los antioxidantes se pueden destacar diversas familias de principios activos como los polifenoles y los fitoestrógenos. Hay antioxidantes naturales que pueden favorecer la respuesta antioxidante endógena, es decir que contribuyen a la depuración de diversas especies reactivas de oxígeno, disminuyendo su efecto oxidativo en el riñón. Estos compuestos están presentes en las vitaminas C y E, β carotenos, las proantocianidinas, el selenio, el zinc y en algunas otras enzimas antioxidantes, como la catalasa, la reductasa, glutatión peroxidasa, la superóxido y la superóxido dismutasa. En diversos estudios in vitro, se han encontrado que la mayoría de polifenoles naturales actúan mucho mejor como antioxidantes que las vitaminas E y C. Además, la capacidad que tienen de poder precipitar metales, especialmente el cobre y el hierro,

los hace actuar indirectamente como antioxidantes, ya que contribuyen a la inhibición de la acción de los metales como catalizadores en la formación de radicales libres¹.

Los compuestos fenólicos en cambio son el grupo más amplio, en el que se encuentran sustancias no energéticas que están presentes en los alimentos de origen vegetal. Entre los principales grupos de polifenoles se destacan: los ácidos fenólicos (derivados del ácido hidroxibenzoico o del ácido hidroxicinámico), los estilbenos, los lignanos, alcoholes fenólicos y los flavonoides. En los últimos años se ha demostrado que una dieta rica en polifenoles vegetales contribuyen a mejorar la salud y por ende a disminuir la prevalencia de enfermedades cardiovasculares².

Una de las técnicas para determinar la capacidad antioxidante es el método DPPH, el cual se fundamenta en reducir la absorbancia medida a 517 nm del radical DPPH, por los antioxidantes de las muestras (el método ha presentado modificaciones por diferentes autores). La concentración del reactivo DPPH en la reacción se calcula a partir de la curva de calibración que se obtiene por regresión lineal. El radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo), se reduce en presencia de antioxidantes produciéndose un cambio de color en la solución. Los resultados se expresan en porcentaje y en TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity), o sea, actividad equivalente a Trolox ($\mu\text{M/g}$ de muestra peso fresco)^{12,13}.

Para determinar los compuestos fenólicos presentes en los alimentos uno de los métodos empleados es el propuesto por Muñoz para la extracción de compuestos fenólicos, en el cual las muestras son sometidas a una reducción de tamaño y la extracción se realiza en etanol al 60% (la disolución de los compuestos fenólicos se ve favorecida por el etanol.); y para la cuantificación de compuestos fenólicos se siguió el método espectrofotométrico Folin-Ciocalteu descrito por Paladino, en el que se emplea agua destilada como solvente por 20 minutos a 90°C⁶.

1.4 Formulación del Problema

Ante lo expuesto anteriormente se plantea la siguiente problemática ¿Existe diferencia entre el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante presentes in

vitro en los extractos etanólicos de diferentes variedades de Opuntia Ficus-Indica?

1.5 Justificación del estudio

El propósito del presente estudio, es lograr determinar la actividad antioxidante y los compuestos fenólicos presentes en las diferentes variedades de tuna que se cultivan en nuestro país, la cual es muy accesible a la población y puede ser consumida en fresco sin necesidad de llevarse a algún proceso químico y así aprovechar mejor sus nutrientes; además por la capacidad antioxidante que se les atribuye, pueden ayudar al mantenimiento de la salud y a la protección del organismo frente a diversas enfermedades cancerígenas que hoy en día se presentan en nuestra población, mejorando así su calidad de vida; además es el primer estudio realizado en Trujillo en el que no solo se estudia una variedad, sino que se compara la actividad antioxidante entre las diversas variedades de tuna que el mercado nacional ofrece a los consumidores.

1.6 Hipótesis

La investigación es implícita, por tanto no tiene hipótesis.

1.7 Objetivos

Objetivo General

Comparar los compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante del extracto etanólico presentes en las diferentes variedades de Opuntia Ficus-Indica procedentes de Ancash.

Objetivos Específicos:

- Determinar los compuestos fenólicos de Opuntia Ficus-Indica verde, roja y amarilla procedentes de Ancash.
- Determinar la capacidad antioxidante de Opuntia Ficus-Indica verde, roja y amarilla procedentes de Ancash.


II. METODO

2.1 Diseño de Investigación


DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

En presente estudio se realizó a través de un diseño descriptivo comparativo.


G1:

1A: Tuna Verde procedente de Ancash  O1: compuestos fenólicos
O2: capacidad antioxidante

G2:

2A: Tuna Roja procedente de Ancash  O1: compuestos fenólicos
O2: capacidad antioxidante

G3:

3A: Tuna Amarilla procedente de Ancash  O1: compuestos fenólicos
O2: capacidad antioxidante

2.2 Variables, Operacionalización

VARIABLE

Variables Cuantitativa Continúa: Actividad Antioxidante y Compuestos Fenólicos

OPERACIONALIZACION

Para la operacionalización de las variables, ya identificadas, se consideró realizar el siguiente cuadro:

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
Compuestos Fenólicos	Están presentes en los alimentos de origen vegetal como las verduras y frutas, conforman uno de los grupos más extensos de sustancias no energéticas. Las plantas son las encargadas de sintetizarlas en gran cantidad, como producto de su metabolismo secundario. Por la acción antioxidante que tienen, los polifenoles poseen efectos vasodilatadores, antiinflamatorios, antitrombóticos y antiapoptóticos ² .	El contenido de compuestos fenólicos se medirá con el método de Folin-Ciocalteu.	mg equivalentes de ácido gálico en 100 g de peso fresco (mg EAG 100 g ⁻¹ pf).	Cuantitativa Continua Razón
Capacidad Antioxidante	Los antioxidantes son compuestos, que tienen la propiedad de inhibir la oxidación de otras moléculas, es decir retardan el proceso de propagación o de iniciación, de estas reacciones en cadena que originan los radicales libres ¹³ .	La capacidad antioxidante se medirá con la técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH), que se basa en medir la captación del radical libre.	% de inhibición del radical DPPH	Cuantitativa Continua Razón

2.3 Población y muestra

Población:

Tunas adquiridas en el mercado Municipal, procedente del Distrito de Caraz, se utilizó el fruto para obtener la pulpa y realizar el extracto.

- Criterios de inclusión:

- Tunas con características organolépticas adecuadas.
- Tunas aptas para el consumo humano.

- Sólidos solubles: >16 °Brix

- **Criterios de exclusión:**

- Tunas en estado de deterioro.

Muestra:

El tamaño de la muestra fue de 5 unidades de cada una de las variedades de tuna de la Ciudad de Caraz que además cumplieron con cada uno de los criterios de inclusión mencionados.

2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad

Técnica de Recolección de Datos

La técnica que se utilizó fue la Observación Experimental. Para el caso de la determinación de la capacidad antioxidante se utilizó el método del DPPH y para determinar los compuestos fenólicos se utilizó el método de Folin-Ciocalteu.

Como instrumento de recolección de datos se elaboró una ficha de observación en el que se registró el tipo de muestras utilizadas, el contenido de fenoles totales y la absorbancia del DPPH a 517 nm en los extractos de las tres variedades de tuna.

Validez y Confiabilidad del Instrumento de Recolección de datos

La validez del instrumento de recolección de datos se dio a través de la evaluación de expertos, profesionales destacados en la materia de estudio, quienes propusieron observaciones para mejorar el instrumento.

Preparación del extracto para compuestos fenólicos y capacidad antioxidante

Se seleccionaron los frutos de la tuna al azar, teniendo en cuenta el estado de maduración, excluyendo los dañados y en mal estado del Mercado Municipal de la ciudad de Caraz; se procedió a lavar los frutos con agua potable a chorro, luego con agua destilada, por último se desinfectó con 0.05 ml de dióxido de cloro al 10% en 2.5L de agua por 15 minutos, para finalmente secar la superficie con papel toalla¹⁰.

Ya secos los frutos, se realizó el pelado de la cáscara y se picó en trozos pequeños cada una de las variedades de tuna, luego se pesó cada muestra y se llevó a la estufa a una temperatura de 40°C para su deshidratación, en un aproximado de 20 días. Transcurrido esos días, las muestras fueron sacadas del horno y trituradas con ayuda del mortero. El peso utilizado para cada muestra fue de 20 gramos en 100 ml de volumen de solución diluido al 80% de etanol. Cada muestra se colocó en frascos ámbar y se dejó macerar por 8 días, pasado el tiempo las muestras fueron filtradas y se leyó el % de Brix de cada variedad de Tuna en el Refractómetro para poder realizar las disoluciones del DPPH.

Determinación de la actividad antioxidante in vitro frente a DPPH

Se evaluó la actividad antioxidante in vitro de los extractos hidroalcohólicos de la tuna, para ello se preparó diluciones en etanol acuoso al 80% para los extractos hidroalcohólicos hasta obtener concentraciones de 0,0 a 150,0 µg/mL.

	5 µg/ml	25 µg/ml	50 µg/ml	75 µg/ml	150 µg/ml
Solución Madre del extracto (ml)	33 µL	167 µL	0.330 ml	0.5 ml	1 ml
Etanol 80%	9.967 ml	9.833 ml	9.670 ml	9.5 ml	9 ml
TOTAL	10 ml	10 ml	10 ml	10 ml	10 ml

Luego se mezcló 1,0 mL de cada una de las disoluciones hechas con 0,5 mL de la solución 0,3 mM de DPPH en etanol ya preparada y se dejó reaccionar por espacio de 60 minutos a temperatura ambiente; al terminar el tiempo se midió la absorbancia de la mezcla a 517

nm. Las pruebas se hicieron por triplicado¹⁰. La capacidad antioxidante de cada muestra se determinó de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{Actividad antioxidante (\%)} = (\text{AC}-\text{AM}-\text{AB}/\text{AC}) \times 100$$

Donde:

AM: Corresponde a la absorbancia de la mezcla de 1 ml de muestra + 0,5 ml DPPH

AB: Corresponde a la absorbancia del blanco (1 ml de muestra + 0,5 ml de etanol)

AC es la absorbancia del blanco del reactivo (0,5 ml de DPPH + 1 ml de etanol)

La concentración del extracto etanólico que inhibe al 50 por ciento de los radicales de DPPH (IC₅₀, concentración inhibitoria media) se consiguió de la recta obtenida al graficar el porcentaje de actividad antioxidante versus la concentración de cada una de las diluciones del extracto hidroalcohólico de cada variedad de tuna expresada en µg/mL).

Se utilizó el intercepto y la pendiente de la línea de regresión lineal para poder calcular el valor del IC₅₀, teniendo en cuenta la siguiente fórmula:

$$IC_{50} = \frac{50 - b}{m}$$

Donde:

IC₅₀ : cantidad necesaria de la muestra para reducir en un 50% la concentración inicial del radical DPPH (µL)

b : Intercepto de línea de regresión lineal

m : Pendiente de la línea de regresión lineal

Determinación de la cantidad de fenoles totales

El contenido de compuestos fenólicos se determinó mediante el método de Folin-Ciocalteu desarrollado por Dewanto. El procedimiento se realizó de la siguiente manera: se midió 125 µL de la solución patrón de ácido gálico, en este caso se reemplazó por la solución de la muestra, se le adicionó 0,5 mL de H₂O destilada y 125 µL del reactivo de Folin-Ciocalteu; se dejó reaccionar por 6 minutos y se agregó 1,25mL de una solución de

Na₂CO₃ al 7 %, por último se agregó agua destilada para ajustar a 3 mL de solución total, y se dejó reposar por 90 minutos. Las soluciones patrón y un blanco se llevaron a un espectrofotómetro para realizar las lecturas de las absorbancias a la longitud de onda de 760 nm¹⁴.

Luego, cada extracto del fruto a evaluar se diluyó con agua destilada en la proporción 1:5 y se determinó el contenido de compuestos fenólicos totales de la misma forma como se hizo con los patrones de la muestra o ácido gálico. Después por interpolación de las absorbancias de los extractos de la muestra en la curva del ácido gálico se determinó el contenido de compuestos fenólicos totales. Para obtener mejores resultados las mediciones se realizaron tres veces¹⁴.

2.5 Métodos de análisis de datos

Para el procesamiento de los resultados que se obtuvieron a nivel descriptivo comparativo, se hizo uso de tablas y gráficos propios de la Estadística descriptiva, los cuales se procesaron en el programa Excel 2013.

2.6 Aspectos éticos

En esta investigación se ha desarrollado bajo los estándares del comité de ética de la escuela Profesional de Nutrición, se tomó en cuenta, aspectos de veracidad y autenticidad de los datos obtenidos y reflejados en la investigación, priorizando la protección del medio ambiente, la propiedad intelectual y la veracidad de los resultados.

III. RESULTADOS

Tabla 1. Contenido de Compuestos Fenólicos en tres variedades de Opuntia Ficus-Indica, según el método Folin-Ciocalteu.

Variedad de Opuntia ficus indica	Compuestos fenólicos	
	$\mu\text{g AG/ml}$ de extracto etanólico	mg AG/100 g de producto
Amarilla	46.83 ± 0.99	18.53 ± 0.38
Roja	45.97 ± 0.48	16.33 ± 0.16
Verde	44.39 ± 0.77	16 ± 0.26

Tabla 2. Capacidad antioxidante en tres variedades de Opuntia Ficus-Indica, según el método DPPH.

Variedad de Opuntia ficus indica	Capacidad antioxidante del extracto etanólico	
	$\mu\text{g/mL}$	ng AG/ml
Amarilla	494.02	91.57 ± 1.89
Roja	569.47	93 ± 0.96
Verde	88.4	14.17 ± 0.21

IV. DISCUSION

Muchos estudios aseguran de las propiedades antioxidantes que presentan los polifenoles, por ello en el presente trabajo se cuantificaron compuestos fenólicos que se realizó en las tres variedades del fruto de *Opuntia ficus-indica*, a través del método Folin-Ciocalteu, el cual se basa en la reacción de sus compuestos fenólicos de una sustancia con el reactivo de Folin-Ciocalteu, a un pH básico, produciendo una coloración azul susceptible que es determinada a través del espectrofotómetro tal y como se explica en el informe de García et al¹⁷.

En la Tabla 1, se muestran los resultados de la evaluación del contenido de Compuestos Fenólicos en las tres variedades de *Opuntia Ficus-Indica* cuyos datos encontrados refieren que, la tuna de color amarillo contiene 46.83 ± 0.99 $\mu\text{g AG/ml}$ de extracto es decir que hay 18.53 ± 0.38 mg AG/100 g de producto; en cuanto a la tuna de color rojo se halló 45.97 ± 0.48 $\mu\text{g AG/ml}$ de extracto, es decir en cada 100 gr de producto hay 16.33 ± 0.16 mg AG; y en la tuna de color verde el contenido de compuestos fenólicos fue de 44.39 ± 0.77 $\mu\text{g AG/ml}$ de extracto lo que nos indica que hay 16 ± 0.26 mg AG/100 g de producto. En la investigación de Ochoa y Guerrero¹⁸ los resultados difieren con lo encontrado en la investigación, ya que mencionan que Stintzing obtuvo valores de $24,2 \pm 13,4$ mg ácido gálico/100 mL de jugo en la tuna verde, $24,7 \pm 23,1$ mg ácido gálico/100 mL de jugo en la tuna naranja, $33,5 \pm 19,3$ mg ácido gálico/100 mL de jugo en la tuna roja, y $66 \pm 35,8$ en la tuna morada mg ácido gálico/100 mL de jugo; concluyendo que el contenido de compuestos fenólicos depende de la variedad de tuna ya que estos de alguna forma son los principales responsables de la actividad antioxidante que se les atribuye.

Bonilla P. et al¹⁹ en su investigación evidenciaron la presencia de metabolitos secundarios tales como taninos, compuestos fenólicos tipo flavonoides y glicósidos en mayor cantidad en la tuna verde, encontrando cinco flavonoides presentes, tales como 5,7-Dihidroxi-6-metoxiflavona (crisina); 4',5,6,7-tetrahidroxiflavona; 4',5,7-trihidroxi-6-metoxiflavona (hispidulina); 5,7-Dihidroxi-4',6-dimetoxiflavona; 6-hidroxi-4'-metoxiflavona.

Por otro lado, el organismo posee antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos que actúan como protectores de estos radicales; sin embargo, la fuente más importante de estos se encuentran en las plantas, y precisamente el estudio de estos compuestos es importante para la protección del cuerpo frente a las enfermedades degenerativas que hoy en día se presentan y afectan a la población. Cabanillas y Vasquez⁷ mencionan que los hallazgos experimentales afirman que hay protección de las funciones biológicas de las células, las cuales, actúan en contra de la acción de los radicales libres (estrés oxidativo); a su vez se están incrementando los estudios de la *Opuntia ficus-indica* “tuna” debido a sus diferentes beneficios para la salud, demostrándose que los frutos presentan actividad antioxidante, esto gracias a los diferentes fitoconstituyentes presentes en esta especie vegetal. Por lo que esta investigación se orientó a determinar de la actividad antioxidante de tres variedades de *Opuntia Ficus-Indica* provenientes del Departamento de Ancash.

La inhibición realizado por el método DPPH se fundamenta en que el radical libre y estable 2,2-difenil-1-picrilhidrazila (DPPH) tiene un electrón desapareado y tiene una coloración azul violeta al disolverse en una solución, y una vez mezclado con una sustancia antioxidante se decolora hacia un tono amarillo pálido reaccionando de esta manera a una sustancia capturadora (polifenol) de radicales libres; la absorbancia se mide en el espectrofotómetro a 517 nm. Se observa, además que la capacidad antioxidante está relacionada con la concentración del agente antioxidante, ya que como se puede ver, conforme se aumenta la concentración de los extractos hidroalcohólicos de la tuna la capacidad atrapadora de radicales libres, también aumenta⁷.

En la Tabla n°2 se muestra el valor promedio de la capacidad antioxidante encontrada en los extractos etanólicos de las tres variedades de *Opuntia Ficus Indica*, los resultados fueron los siguientes, en la variedad de tuna amarilla se encontró 494.02µg/mL de extracto a su vez se encontró 91.57ng AG/ml±1.89; en la variedad de tuna roja el resultado fue de 569.47µg/mL de extracto con 93ng AG/ml±0.96; y para la variedad de tuna verde se halló 88.4µg/mL de extracto y 14.17ng AG/ml±0.21. Al analizar los datos, en la investigación de Cabanillas y Vásquez⁷ el resultado que se obtuvo fue que el fruto de color morado presenta mayor capacidad de reducción de radicales libres con un porcentaje del 65,5% a comparación con las

de color amarilla y blanca con porcentajes de 27,2% y 27,6% respectivamente. En otro estudio hecho por Repo y Encina¹⁶, ellos hacen referencia de la capacidad antioxidante de tres tunas estudiadas, dando como resultado que la tuna roja con 77.65% tuvo la mayor capacidad antioxidante en comparación con la tuna anaranjada con 41.65 % y finalmente la tuna verde con un valor de 34.20%.

Los métodos empleados en la elaboración de los extractos utilizados en los estudios fueron muy diferentes a lo empleado en esta investigación. La mayoría utilizó como muestra para determinar tanto los compuestos fenólicos y la actividad antioxidante al fruto fresco; por lo contrario en este estudio se procedió a deshidratar cada muestra de las variedades para eliminar el agua y concentrar mejor sus propiedades antioxidantes, de esta manera obtener mejores resultados.

Con lo encontrado, podemos decir que los pigmentos que contienen cada una de las variedades del fruto han influenciado en el resultado final, Figueroa et al⁵ en su estudio encontró que los pigmentos varían en cada una de las tunas; se halló mayor cantidad de clorofila (verde) en las tunas de color verde seguida de la tuna amarilla y en menor proporción la tuna roja; los carotenos están presentes en las tunas amarillas; el contenido de betacianinas (rojo-violeta) es mayor en las tunas púrpuras y en las tunas rojas; y de betaxantinas (amarillo-naranja) en las tunas amarillas. Las betalaínas (betacianinas y betaxantinas), que son metabolitos secundarios nitrogenados presentes en las plantas que actúan como pigmentos rojos y amarillos; además contribuyen en la actividad antioxidante de las tunas; los cuales como manifiesta Vergara¹⁵ en su investigación estos compuestos son inestables frente a diversos factores ambientales (como la luz, la temperatura, el oxígeno y el agua) por lo tanto pueden llegar a degradarse y perder su capacidad colorante y sobre todo antioxidante; así mismo Meza⁸ afirma que el proceso de deshidratación y de cocción llegan a alterar de manera considerable la estabilidad del ascorbato, los tocoferoles y de los carotenoides, otros tratamientos como el aire, la luz ultravioleta, el calor y otras condiciones ambientales tienen el mismo efecto; reduciendo la eficiencia antioxidante por descomposición térmica; esto es probable que haya sucedido en el proceso de deshidratación por efecto de la temperatura y el tiempo que las muestras permanecieron en la estufa (20 días), esto debido a que las muestras de variedad roja y amarilla no lograban deshidratarse por completo.

Otra de las explicaciones de los resultados encontrados tiene que ver con los taninos, que son sustancias orgánicas que se combinan con las proteínas, polisacáridos, alcaloides y la gelatina, además son responsables de la astringencia de los alimentos. Encontramos taninos en aquellos alimentos que al ser ingeridos causan una sensación de sequedad, amargor o aspereza, como es el caso de la fruta inmadura. Los taninos pueden clasificarse como taninos hidrolizables (compuestos por ácidos fenólicos como el ácido gálico y elálgico) y los taninos condensados (que se forman mediante la antocianina²⁰. En un estudio hecho por Tomás G. et al²¹, titulado “Estudio químico y fitoquímico de la opuntia ficus-indica “tuna”, y elaboración de un alimento funcional”, dan a conocer que la pulpa de las tunas presentan cierto porcentaje de taninos, encontrando que la tuna blanca presenta 0.56%, la tuna morada 0.66% y la tuna roja 0.62%. Al ser una de las nuestras la tuna de variedad verde, de alguna forma al ser una fruta inmadura, por efecto de la temperatura a la que fue sometida en el proceso de deshidratación se produjo una hidrólisis de los taninos, es decir los compuestos fenólicos del fruto poco a poco se fueron liberando, de esta manera el resultado final fue mayor capacidad antioxidante en esta variedad. El contenido de taninos y en especial de los taninos hidrolizables actúa mejor como agente antioxidante²².

En el caso de las otras variedades de tuna, como la roja y la amarilla, lo que sucedió fue una degradación de tipo oxidativo de algunas enzimas, lo que originó que la actividad antioxidante disminuyera, debido al calor y por la presencia de algún metal (cobre) o enzima que actúan como catalizadores en un ambiente el cual dificulta la conservación de los productos que tienen moléculas susceptibles a la oxidación. El resultado de este proceso es la transformación de los fenoles en quinonas²³. La explicación está dada en el hecho de que al momento de preparar la muestra, estas fueron machacadas con ayuda del mortero y sufrieron lesión de sus tejidos; al romperse, por lo que se liberaron unas enzimas denominadas fenolasas que actuaron sobre los compuestos fenólicos (tirosina, ácido clorogénico, ácido gálico) presentes en la fruta. Para que esta reacción se lleve a cabo es necesaria la presencia de ciertos agentes como el oxígeno y el cobre (que puede estar presente en la fruta). De esta manera, si todos los agentes están presentes es más factible que ocurra la reacción, es decir la enzima (fenolasa o polifenol oxidasa), sustrato (tirosina, ácido

clorogénico), oxígeno y cobre. Al final del proceso se producen ciertos pigmentos, manifestando un cambio de color a pardo oscuro, llamados melaninas; como se evidenció en las muestras ya deshidratadas de color rojo y amarillo, dándose un cambio de color más oscuro²⁴. Como se sabe cada enzima tiene una temperatura óptima de actuación, se ha observado que varias de las enzimas, tienden a duplicar su velocidad de reacción enzimática cuando la temperatura aumenta a 10°C y luego la velocidad disminuye a una temperatura de 40°C. En temperaturas más altas encima de 60 - 70°C se produce un aumento en la velocidad de reacción, ya que hay más moléculas de sustrato con suficiente energía para poder reaccionar; la disminución de la velocidad de la reacción se debe a la desnaturalización de la enzima²⁵. En este estudio la temperatura a la que fueron deshidratadas las muestras fue de 40°C, es decir dentro de la temperatura óptima, entonces lo que ocurrió fue una oxidación de las enzimas pero no por efecto de la temperatura sino por efecto del tiempo al que fueron sometidos al calor para llevarse a cabo el proceso de deshidratación.

En la investigación de Ramírez M. et al⁴, concluyen que la vitamina C llega a aportar aproximadamente un 15 % de la actividad antioxidante total de la tuna, mientras que los flavonoides, las betalaínas y los compuestos polifenólicos, contribuyen con un 85 %; estos autores atribuyen la actividad antioxidante de tuna a la presencia de flavonoides (glucósido de isoramnetina y rutina) y de compuestos fenólicos (ácido ferúlico).

V. CONCLUSIONES

- Se determinó el contenido de Compuestos Fenólicos presentes en la tres variedades de Opuntia Ficus-Indica, dando como resultado que la tuna de color amarillo contiene mayor compuestos 18.53 mg AG/100 g de producto ± 0.38 ; luego le sigue la tuna roja con 16.33 mg AG/100 g de producto ± 0.16 , y por último la tuna verde con 16 mg AG/100 g de producto ± 0.26 .
- Al comparar la capacidad antioxidante de los extractos de tres variedades de Opuntia Ficus-Indica, se haya una diferencia significativa de porcentaje de inhibición de DPPH, dando como resultado que la tuna de color verde tiene más capacidad antioxidante en comparación de las otras variedades, con 88.4 $\mu\text{g/mL}$ del extracto etanólico, frente a 494.02 $\mu\text{g/mL}$ la tuna amarilla y 569.47 $\mu\text{g/mL}$ de la tuna roja.

VI. RECOMENDACIONES

- ✓ Promover el consumo de la tuna en la población, con la finalidad de aprovechar al máximo las propiedades nutricionales y obtener los beneficios de este en la salud, además de ser una fruta que se puede consumir al natural cómo también en distintas preparaciones.

- ✓ Incentivar al estudio de determinar y comparar la actividad antioxidante y compuestos fenólicos de la tuna en la Región; con la finalidad de evaluar si hay diferencia significativa o no entre cada una de las variedades.

- ✓ Promover la mejora del método de preparación de la muestra en otras investigaciones y así poder obtener mejores resultados en el hallazgo de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante de la tuna.

REFERENCIAS

1. Coronado M, Vega S, Gutiérrez R, Vázquez M, Radilla C. Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. Rev Chil Nutr. [Revista en Internet] 2015. [Citado: 05 marzo 2018] 42(2):206-12. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/rchnut/v42n2/art14.pdf>
2. Quiñones M, Miguel M, Aleixandre A. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. Nutrición Hospitalaria. [Revista en Internet] 2012. [Citado: 07 de marzo 2018] 27(1):76-89. Disponible en: http://scielo.isciii.es/pdf/nh/v27n1/09_revision_08.pdf
3. Ochoa C, Guerrero J. La tuna: una perspectiva de su producción, propiedades y métodos de conservación. 2010. [Citado: 15 marzo 2018] 4(1):49-63. Disponible en: [http://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No4-Vol-1/TSIA-4\(1\)-Ochoa-Velasco-et-al2010.pdf](http://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No4-Vol-1/TSIA-4(1)-Ochoa-Velasco-et-al2010.pdf)
4. Ramírez M, García M, Corrales J, Ibarra C, Castillo A. Compuestos antioxidantes en variedades pigmentadas de Tuna (Opuntia sp.). [Artículo Científico]. 2015. [Citado: 15 marzo 2018] 38(4):349-357. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/rfm/v38n4/v38n4a2.pdf>
5. Figueroa Inés, Martínez M, Rodríguez E, Colinas M et al. Contenido de pigmentos, otros compuestos y capacidad antioxidante en 12 cultivares de tuna (opuntia spp.) de México. Agrociencia. [Artículo Científico]. 2010. [Citado: 17 marzo 2018] 44:763-771. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/agro/v44n7/v44n7a3.pdf>
6. Coavoy I. Evaluación de la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos de la tuna morada (Opuntia Ficus-Indica) Del Distrito De San Bartolomé, Huarochirí, Lima. 2015. [Citado: 15 marzo 2018]. Disponible en: http://repositorio.upeu.edu.pe/bitstream/handle/UPEU/232/Ibeth_Tesis_bachiller_2015.pdf?sequence=1&isAllowed=y
7. Cabanillas J, Vásquez M. Comparación del efecto antioxidante de las tres variedades de los frutos Opuntia ficus-indica “tuna”, en la provincia de Cajamarca. 2017. [Citado: 15 marzo 2018]. Disponible en: <http://repositorio.upagu.edu.pe/bitstream/handle/UPAGU/460/FYB-004-2017.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

8. Meza R. Evaluación del efecto de la temperatura de concentración en los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en pulpa concentrada de tuna anaranjada (*Opuntia* spp.). 2014. [Citado: 10 marzo 2018]. Disponible en: <http://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/UNCP/1234/MEZA%20SOSA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
9. Ramos R. Evaluación de la capacidad antioxidante de productos tradicionales de la Región Junín “granadilla, guinda, habas, quiwicha, oca, quinua, tuna, tumbo y yacón”. 2011. [Citado: 10 marzo 2018]. Disponible en: <http://repositorio.uncp.edu.pe/bitstream/handle/UNCP/1219/TESIS%20RICARDO%20A.%20RAMOS%20CRISPIN.pdf?sequence=4&isAllowed=y>
10. Muñoz C, Pulido D. Capacidad antioxidante del zumo de *Opuntia ficus-indica* var. Amarillo (tuna) frente al 2,2-difenil-1-picrilhidrazil in vitro. 2012. [Citado: 10 de marzo 2018] Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/1782/Mu%C3%B1oz%20Varon%20Christian%20Emanuel.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
11. Amaya J. CULTIVO DE TUNA (*Opuntia ficus indica*). Gerencia Regional Agraria La Libertad. 2009. [Citado: 15 marzo 2018]. Disponible en: <http://www.agrolalibertad.gob.pe/sites/default/files/MANUAL%20TECNICO%20DE%20TUNA.pdf>
12. Kuskoski E, Asuero A, Troncoso A, Mancini J, Fett R. Aplicación De Diversos Métodos Químicos Para Determinar Actividad Antioxidante En Pulpa De Frutos. 2004. [Citado: 18 marzo 2018]. Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/cta/v25n4/27642.pdf>
13. Muñoz M, Gutiérrez D. Determinación de actividad antioxidante de diversas partes del árbol *Nicotiana Glauca*. [Citado: 26 setiembre 2017]. Disponible en: <http://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias-2008/7VeranoUAQ/14MunozJuarez.pdf>
14. Dewanto V, Wu X, Adom K, Hai R. Thermal Processing Enhances the Nutritional Value of Tomatoes by Increasing Total Antioxidant Activity. *J. Agric. Food Chem.* 2002; 50(10):3010-4. Disponible en: <http://ucanr.edu/datastoreFiles/608-418.pdf>
15. Vergara C. Extracción y estabilización de betalaínas de tuna púrpura (*Opuntia ficus-indica*) mediante tecnología de membranas y microencapsulación, como colorante alimentario. 2013. Disponible en:

http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/114868/vergara_cc.pdf?sequence=1&isAllowed=y

16. Repo R, Encina C. Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas peruanas. *Revista Sociedad Química Perú* 2008; 74(2):108-124. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v74n2/a04v74n2.pdf>
17. García E, Fernández I, Fuentes A. Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu. Valencia: Universidad Politécnica de Valencia; 2010. Disponible en: <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/52056/Garcia%20Mart%C3%ADnez%20et%20al.pdf?sequence=1>
18. Ochoa C, Guerrero J. Efecto del Almacenamiento a Diferentes Temperaturas sobre la Calidad de Tuna Roja (*Opuntia ficus indica* (L.) Miller). 2012, Vol. 23(1), 117-128. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/infotec/v23n1/art13.pdf>
19. Bonilla P. et al. Determinación estructural de flavonoides en el extracto etanólico de cladodios de *Opuntia ficus-indica* (L.) Mill. “Tuna Verde”. *Rev Peru Med Integrativa*. 2017;2(4):835-40. Disponible en: <file:///C:/Users/POS/Downloads/71-237-1-PB.pdf>
20. Monreal A. Efectos del jugo de tunas sobre el metabolismo energético de ratas sanas. México. 2014. Disponible en: <http://ninive.uaslp.mx/jspui/bitstream/i/3828/3/MCA1EJT01401.pdf>
21. Tomás G. et al. Estudio químico y fitoquímico de la opuntia ficus-indica “tuna”, y elaboración de un alimento funcional., *Revista Peruana Quím. Ing. Quím.* 2012; Vol. 15 N.º 1, 70-74. Disponible en: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/quim/article/view/4772/3846>
22. Olivas F. et al. Taninos hidrolizables; bioquímica, aspectos nutricionales y analíticos y efectos en la salud. México. *Nutr Hosp.* 2015;31(1):55-66. Disponible en: <http://scielo.isciii.es/pdf/nh/v31n1/05revision05.pdf>
23. Casado J. Purificación y caracterización cinética de polifenol oxidasa de tomate. 33-60. Disponible en: https://rua.ua.es/dspace/bitstream/10045/9919/4/Casado-Vela-Juan_3.pdf

- 24.** Morante J. et al. Distribución, localización e inhibidores de las polifenol oxidasas en frutos y vegetales usados como alimento. Ecuador. Artículo de Revisión en Ciencia y Tecnología. 2014; 7(1): 23-31. Disponible en: http://www.uteq.edu.ec/revistacyt/publico/archivos/C2_Doc2.pdf
- 25.** Franklin B. Capítulo I. Las enzimas. 2011. 41-137. Disponible en: <https://addi.ehu.es/bitstream/handle/10810/14292/4-%20Cap%C3%ADtulo%20I.%20Las%20enzimas.pdf?sequence=4>

ANEXOS

ANEXO N°1: FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

GUIA DE OBSERVACIÓN DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

MUESTRA	ABSORVANCIA DEL DPPH	ABSORVANCIA DE LA MUESTRA	% DE INHIBICIÓN DE DPPH
TUNA VERDE		0'	
		25'	
		50'	
		75'	
		150'	
TUNA ROJA		0'	
		25'	
		50'	
		75'	
		150'	
TUNA AMARILLA		0'	
		25'	
		50'	
		75'	
		150'	

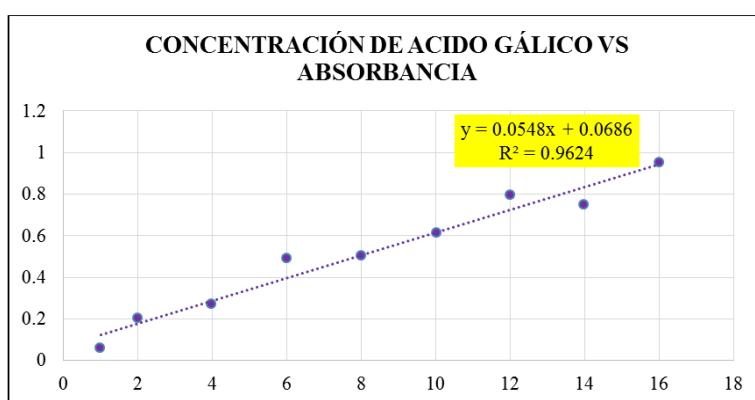
GUIA DE OBSERVACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS

MUESTRA	ABSORVANCIA DE LA MUESTRA	
TUNA VERDE	1	
	2	
	3	
TUNA ROJA	1	
	2	
	3	
TUNA AMARILLA	1	
	2	
	3	

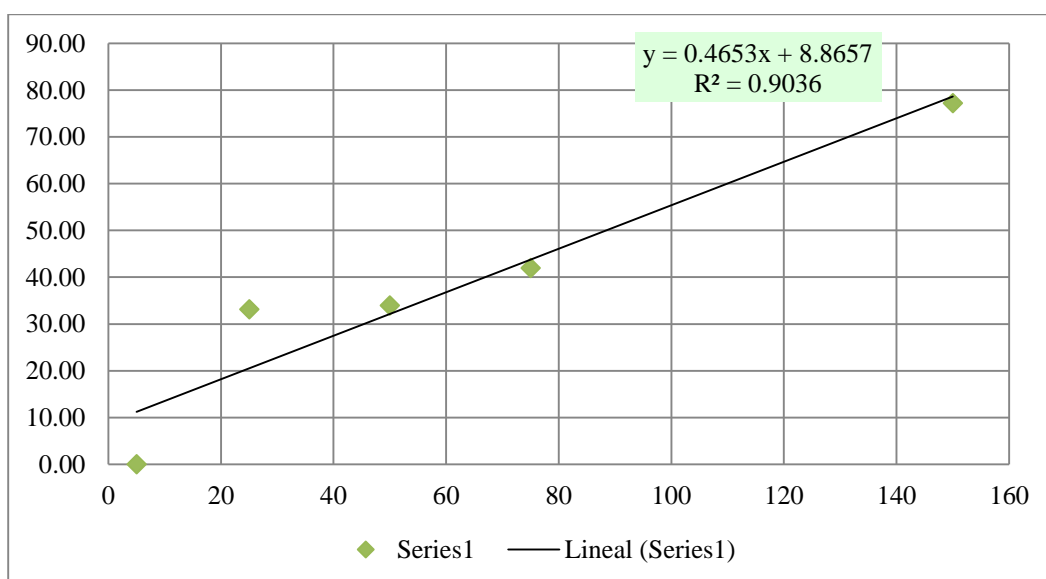
ANEXO N°2: PORCENTAJE DE GRADOS BRIX

MUESTRA	% BRIX
TUNA VERDE	24.9
TUNA ROJA	24.2
TUNA AMARILLA	24.8

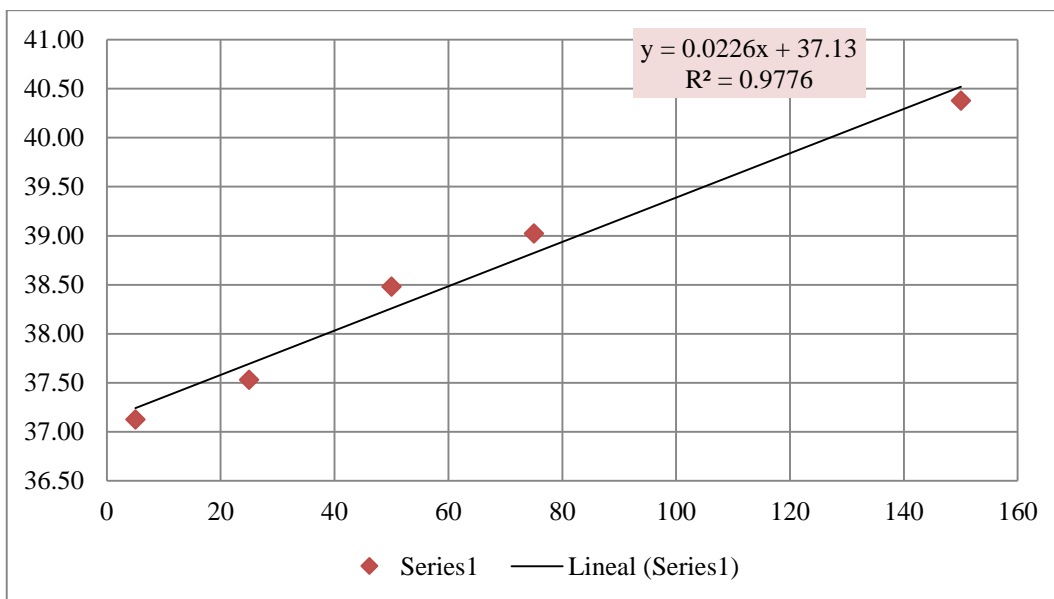
ANEXO N°3: CONCENTRACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS



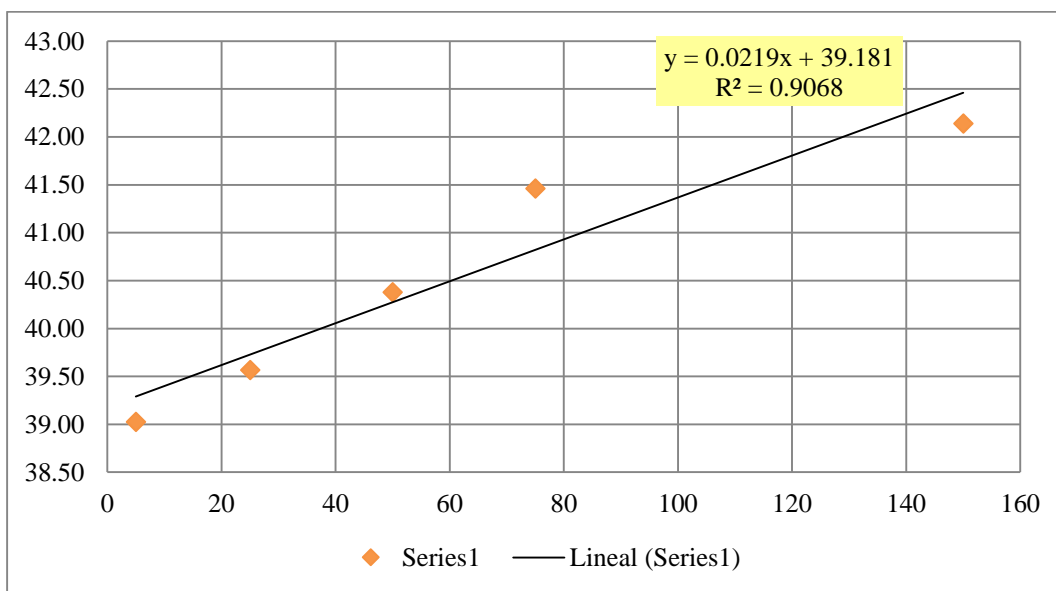
ANEXO N°4: PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DE DPPH DE OPUNTIA FICUS INDICA VERDE



ANEXO N°5: PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DE DPPH DE OPUNTIA FICUS INDICA ROJA



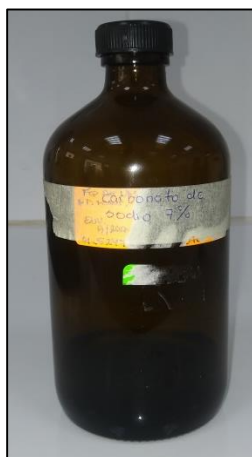
ANEXO N°6: PORCENTAJE DE INHIBICIÓN DE DPPH DE OPUNTIA FICUS INDICA AMARILLA



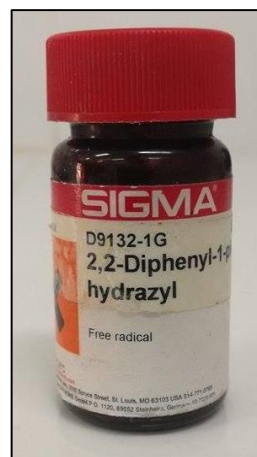
ANEXO N°7: REACTIVOS UTILIZADOS



Folin-Ciocalteu



Carbonato de Sodio



DPPH

ANEXO N°8: PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS



Muestras frescas



Muestras deshidratadas

ANEXO N°9: PESADO DE LAS MUESTRAS DESHIDRATADAS



Tuna Verde



Tuna Roja



Tuna Amarilla

ANEXO N°10: FILTRADO DE LOS EXTRACTOS ETANÓLICOS



ANEXO N°11: MEDICIÓN DE LOS °BRIX



Tuna Roja



Tuna Verde



Tuna Amarilla

ANEXO N°12: DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS



Muestras sin reactivos

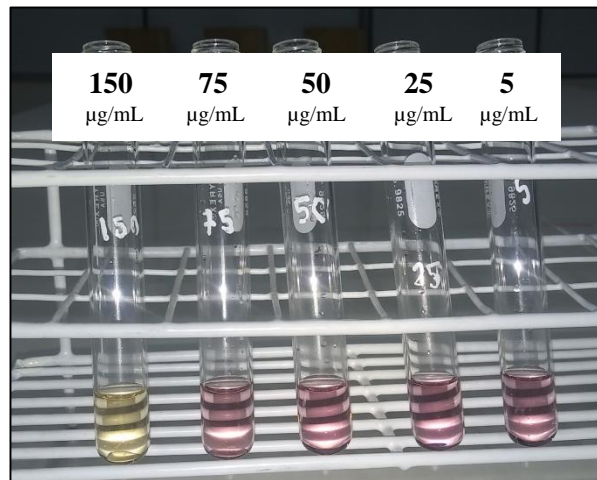


Muestras con Folin-Ciocalteu

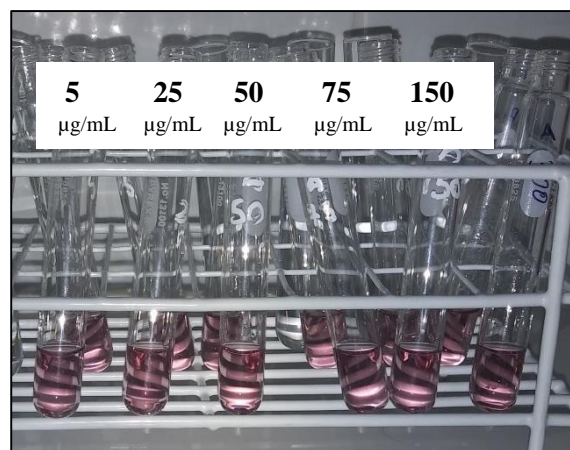


Muestras con Na₂CO₃

ANEXO N°13: METODO DE DPPH PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE TRES VARIEDADES DE TUNA



Tuna Verde



Tuna Roja



Tuna Amarilla