

**UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ FAUSTINO
SÁNCHEZ CARRIÓN**

**FACULTAD DE INGENIERÍA AGRARIA, INDUSTRIAS
ALIMENTARIAS Y AMBIENTAL**

**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS
ALIMENTARIAS**



**CONTENIDO DE BETALAINAS, POLIFENOLES TOTALES Y
CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN LAS PARTES DEL FRUTO *Opuntia
soehrensii* Britton & Rose “AYRAMPO”**

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE
INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

ELVIS JHOE GUZMAN ZUÑIGA

HUACHO – PERÚ

2021

**UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ FAUSTINO
SÁNCHEZ CARRIÓN**

**FACULTAD DE INGENIERÍA AGRARIA, INDUSTRIAS
ALIMENTARIAS Y AMBIENTAL**

**ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS
ALIMENTARIAS**

**CONTENIDO DE BETALAINAS, POLIFENOLES TOTALES Y
CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN LAS PARTES DEL FRUTO *Opuntia
soehrensii Britton & Rose* “AYRAMPO”**

Sustentado y aprobado ante el Jurado evaluador

Dr. MIRANDA CABRERA, JORGE DANTON.
PRESIDENTE

Dra. ALFARO CRUZ, SARELA CARMELA.
SECRETARIO

Dr. FERNADEZ HERRERA, FREDESVINDO.
VOCAL

Mg. MACAVILCA TICLAYAURI, EDWIN A.
ASESOR

HUACHO – PERÚ

2021

DEDICATORIA

Dedico esta investigación principalmente a DIOS; por estar siempre, cada uno de mis pasos, brindándome sabiduría, fortaleza y perseverancia para poder concretar una de mis metas.

Para mi madre Norma Luz por su amor invaluable y su fiel apoyo incondicional siendo la guía durante mi desarrollo personal y profesional.

A mi padre () y madrina (), que están en el cielo.

GUZMAN ZUÑIGA, Elvis Jhoe

AGRADECIMIENTO

A la Universidad Nacional José Faustino Sánchez Carrión y a la Facultad de Ingeniería Agrarias e Industrias Alimentarias y Ambiental, alma mater de mi profesión por formarme y orientarme a ser un buen profesional en Ingeniería en Industrias Alimentarias.

A mi asesor Ing. Macavilca Ticlayauri, Edwin Antonio; por su generosidad y oportunidad de realizar este proyecto en el laboratorio de investigación “Formulación de Bebidas Funcionales con Capacidad Antioxidante a Base de Frutas y Verduras”; orientándome con su alta experiencia y conocimientos en un marco de apoyo constante para el logro de este presente trabajo.

A la Ing. Vega Ventocilla, Olga Elena. y a todo el equipo de laboratorio, por su constante y entregado apoyo durante la investigación desarrollada.

A los miembros del jurado por su tiempo y dedicación empleados a revisar la investigación expuesta.

A mi familia que siempre estuvo a mi lado dándome fuerza y apoyándome para concluir esta presente investigación.

A mis compañeros, amigos que de alguna manera colaboraron para realizar este trabajo.

A todos los docentes de mi Escuela Profesional de Ingeniería en Industrias Alimentarias, gracias por brindarme sus conocimientos y su experiencia profesional.

A todos MUCHAS GRACIAS.

ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO.....	iv
ÍNDICE GENERAL.....	v
RESUMEN.....	xi
ABSTRACT.....	xii
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	2
1.1 Descripción de la realidad problemática	2
1.2 Formulación del problema	3
1.2.1 Problema general.....	3
1.2.2 Problemas específicos.....	3
1.3 Objetivos de la investigación.....	3
1.3.1 Objetivo general.....	3
1.3.2 Objetivos específicos.....	3
1.4 Justificación de la investigación.....	4
1.5 Delimitación del estudio	4
1.6 Viabilidad del estudio	4
CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO	6

2.1	Antecedentes de la investigación	6
2.1.1	Antecedentes Nacionales.....	6
2.1.2	Antecedentes Internacionales.....	8
2.2	Bases teóricas de la investigación.....	10
2.2.1	Ayrampo (opuntia soehrensii Britton & Rose).....	10
2.2.2	Betalainas	16
2.2.3	Método de la absorbancia de los extractos de las muestras.....	18
2.2.4	Polifenoles.....	19
2.2.4.1	Método de la reacción colorimétrica de Folin-Ciocalteu	19
2.2.5	Capacidad de antioxidante.....	20
2.2.5.1	Método para determinar capacidad de antioxidante.....	21
2.3	Definiciones conceptuales	24
2.4	Formulación de la hipótesis	24
2.4.1	Hipótesis general	24
2.4.2	Hipótesis específicas	25
CAPÍTULO III. METODOLOGÍA		26
3.1	Diseño metodológico	26
3.1.1	Tipo de investigación	26
3.1.2	Nivel de investigación.....	26

3.1.3	Diseño de investigación.....	26
3.1.4	Enfoque de la investigación	26
3.2	Población y muestra	28
3.3	Operacionalización de variables e indicadores	29
3.4	Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	29
3.4.1	Materiales y equipos.....	29
3.4.2	Técnicas a emplear	32
3.4.3	Descripción de los instrumentos.....	36
3.5	Técnicas para el procesamiento de la información	41
CAPITULO IV. RESULTADOS		42
	Propiedades físicas y físico-químicas de la materia prima	42
	Cuantificación betalainas totales.....	43
	Determinar las partes del fruto ayrampo <i>Opuntia soehrensii Britton & Rose</i> que tienen mayor contenido de polifenoles totales.....	45
	Conocer las partes del fruto ayrampo <i>Opuntia soehrensii Britton & Rose</i> que contiene mayor capacidad antioxidante.....	46
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN.....		50
5.1	Discusión de resultados.....	50
CAPITULO VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES		53
6.1	Conclusiones	53

6.2 Recomendaciones.....	53
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	54
7.1 TESIS	54
7.1.1 Tesis en fisico.....	54
7.1.2 Tesis online	54
7.2 ARTÍCULOS	55
7.2.1 Artículos con doi.....	55
7.2.2 Artículos sin doi	57
7.2.3 Artículos Online.....	58
7.3 LIBROS.....	59
7.3.1 Libros con autor	59
7.3.2 Libros con editor	60
7.3.3 Libros Online	61
7.4 REVISTA.....	61
7.4.1 Revista impresa.....	61
ANEXOS.....	62

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Composición química de ayrampo por 100 g de porción comestible	14
Tabla 2. Composición química del ayrampo.....	15
Tabla 3. Métodos para determinar la Capacidad de Antioxidante	23
Tabla 4. Identificación de la muestra.....	28
Tabla 5. Operacionalización de las variables.....	29
Tabla 6. Resultados de las propiedades físicas y físico-químicas del fruto del ayrampo <i>Opuntia soehrensii</i> Britton & Rose como media \pm SD (n=3)	42
Tabla 7. Resultados del contenido de betalainas totales (BET) de los extractos frescos en las partes del ayrampo <i>Opuntia soehrensii</i> Britton & Rose como media \pm SD (n=3)	44
Tabla 8. Resultados de polifenoles totales (mg de ácido gálico/g) en los extractos liofilizados y frescos en las partes del ayrampo <i>Opuntia soehrensii</i> Britton & Rose como media \pm SD (n=3).	45
Tabla 9. Resultados de captación de radicales libres ABTS* (uMol Equivalente Trolox/g) en los extractos del ayrampo <i>Opuntia soehrensii</i> Britton & Rose como media \pm SD (n=3).....	46
Tabla 10. Resultados de captación ferrica FRAP(uMol ácido gálico/g) en los extractos de ayrampo <i>Opuntia soehrensii</i> Britton & Rose como media \pm SD (n=3).....	47
Tabla 11. Resultados de disminución de la fluorescencia ORAC _{FL} (uMol Equivalente Trolox/g) en los extractos de ayrampo <i>Opuntia soehrensii</i> Britton & Rose como media \pm SD (n=3).....	48
Tabla 12. Resultados de PLC fotoquimioluminiscencia (uMol Equivalente Trolox/g) en los extractos del ayrampo <i>Opuntia soehrensii</i> Britton & Rose como media \pm SD (n=3).....	49

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Tunilla soehrensii.	12
Figura 2. Flor de la Tunilla soehrensii.	12
Figura 3. Fruto ayrampo <i>Opuntia soehrensii</i>	13
Figura 4. Ácido betálamico.	17
Figura 5. Esquema de proceso experimental de la presente investigación.	27
Figura 6. Diagrama de flujo para la obtención de la cascara, semilla y pulpa del Ayrampo <i>Opuntia soehrensii</i> Britton & Rose.	33
Figura 7. Diagrama de flujo durante el proceso de liofilizado del Ayrampo <i>Opuntia soehrensii</i> Britton & Rose.	34

CONTENIDO DE BETALAINAS, POLIFENOLES TOTALES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN LAS PARTES DEL FRUTO *Opuntia soehrensii* Britton & Rose “AYRAMPO”

Guzman Zuñiga, Elvis Jhoe¹. Macavilca Ticlayauri, Edwin Antonio¹.

RESUMEN

Objetivo: Determinar el contenido de betalainas, polifenoles totales y capacidad antioxidante en las partes del fruto ayrampo *Opuntia soehrensii* Britton & Rose. **Materiales y Métodos:** Se emplearon frutos llamado Ayrampo *Opuntia soehrensii* Britton & Rose, determinación: Sólidos Solubles Totales (SST), PH, Acidez (% Ácido tartárico) y Humedad (%). Extracción para muestras liofilizadas y frescas obteniendo los sobrenadantes o extractos cascara, semilla y pulpa codificadas; se determinaron: concentración de betalainas totales (BT) mediante dos métodos, polifenoles totales (PT), captación de radicales libre (ABTS), captación férrica (FRAP), fotoquimioluminiscencia (PLC), disminución de la fluorescencia (ORAC) todo para medir la capacidad antioxidante in vitro. **Resultados:** Para la determinación de betalainas totales en los extractos frescos con agua resultan mayor en la cascara para el método directo y desconvolucion respectivamente (1,686 mg/g) y (1,443 mg/g); en la determinación de polifenoles totales del extracto liofilizado metanol/acetona presenta un alto contenido en la cascara (11,117 mg ácido gálico/g); finalmente en la determinación de capacidad de antioxidante el contenido más alto corresponde al extracto liofilizado metanol/acetona en la parte de la cascara por el método ORAC (674,571uMolET/g). **Conclusiones:** Las partes del fruto ayrampo *Opuntia soehrensii* Britton & Rose con mayor contenido de betalainas (1,686 mg/g) es correspondiente a la cascara; las partes del fruto ayrampo *Opuntia soehrensii* Britton & Rose que tiene mayor contenido de polifenoles totales (11,117mg/g), responde a la formada por la cascara; las partes del fruto *Opuntia soehrensii* Britton & Rose que contiene mayor capacidad de antioxidante (674,571uMol/g), es igual a las propiedades anteriores por la cascara. Ofrece una relación significativa entre la existencia de betalainas con presencia de polifenoles y capacidad de antioxidante.

Palabras claves: partes del ayrampo, betalainas, polifenoles, antioxidante.

¹ Facultad de Ingeniería Agraria, Industrias Alimentarias y Ambiental.

CONTENT OF BETHALAINS, TOTAL POLYPHENOLS AND ANTIOXIDANT CAPACITY IN FRUIT

PARTS *Opuntia soehrensii* Britton & Rose “AYRAMPO”

Guzman Zuñiga, Elvis Jhoe¹. Macavilca Ticlayauri, Edwin Antonio¹.

ABSTRACT

Objective: To determine the content of betalains, total polyphenols and antioxidant capacity in the parts of the Ayrampo fruit *Opuntia soehrensii* Britton & Rose. **Materials and Methods:** Fruits called Ayrampo *Opuntia soehrensii* Britton & Rose were used, determination: Total Soluble Solids (SST), PH, Acidity (% Tartaric Acid) and Humidity (%). Extraction for lyophilized and fresh samples obtaining the supernatants or extracts of the shell, seed and coded pulp; were determined: total betalain concentration (BT) by two methods, total polyphenols (PT), free radical uptake (ABTS), iron uptake (FRAP), photochemiluminescence (PLC), fluorescence reduction (ORAC) all to measure the in vitro antioxidant capacity. **Results:** For the determination of total betalains in fresh extracts with water, they are higher in the shell for the direct method and deconvolution respectively (1,686 mg / g) and (1,443 mg / g); in the determination of total polyphenols, the lyophilized methanol / acetone extract has a high content in the shell (11,117 mg gallic acid / g); Finally, in the determination of antioxidant capacity, the highest content corresponds to the lyophilized methanol / acetone extract in the part of the peel by the ORAC method (674.571uMolET / g). **Conclusions:** The parts of the Ayrampo fruit *Opuntia soehrensii* Britton & Rose with the highest betalain content (1,686 mg / g) corresponds to the shell; the parts of the Ayrampo fruit *Opuntia soehrensii* Britton & Rose that have the highest content of total polyphenols (11,117mg / g), respond to that formed by the peel; the parts of the *Opuntia soehrensii* Britton & Rose fruit that contain the highest antioxidant capacity (674.571uMol / g), is equal to the previous properties for the peel. It offers a significant relationship between the existence of betalains with the presence of polyphenols and antioxidant capacity.

Keywords: parts of the ayrampo, betalains, polyphenols, antioxidant.

INTRODUCCIÓN

La utilización de los alimentos cultivados en la tierra se ha expandido últimamente no sólo a la luz del hecho de que son una gran fuente de nutrientes, minerales y fibra, finalizando como resultado de sus características utilitarias. El ayrampo *Opuntia soehrensii* Britton & Rose es vegetal rustico que se desarrolla a lo alto de 3.000 metros respecto al nivel medio del mar, local región andina y es una pieza significativa de la categoría de alimentos útiles ya que tiene un alto movimiento de refuerzo celular debido a su alta convergencia de betalainas, polifenoles y antioxidantes, que se describen como mezclas bioactivas (Butera et al., 2002 , De Ancos et al., 2005).

Por tanto, la presente investigación planteo determinar el contenido de betalainas, polifenoles totales y capacidad antioxidante en las partes del fruto ayrampo *Opuntia soehrensii* Britton & Rose, basado en la a posibilidad de esta como alternativa de bebidas o alimentos procesados que brinden contenido rico en betalainas, polifenoles y antioxidantes. Es por lo anterior que, para dar cumplimiento a los objetivos establecidos, la presente investigación está estructurada por seis capítulos. La importancia de la presente investigación se pretende aprovechar los altos contenidos bioactivos presentes en las partes del fruto ayrampo semilla, cascara y pulpa, en consecuencia, es urgente del interés de la contribución con la investigación por lo tanto se ha desarrollado el presente trabajo que lleva como título “Contenido de Betalainas, Polifenoles Totales y Capacidad Antioxidante en las Partes del Fruto *Opuntia soehrensii* Britton & Rose “Ayrampo” que contribuirá al aprovechamiento de las partes del fruto, lo que permitirá un porte que se pueda diseñar una tecnología que conduce a menores costos económicos y aumentar valor agregado en la línea de los alimentos y bebidas en general.

CAPÍTULO I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción de la realidad problemática

“El ayrampo *Opuntia soehrensii Britton & Rose* es un vegetal rustico que crece a lo alto de 3000 msnm, originario de los andes”. “Tiene flores grandes y fragantes y frutos comestibles; utilizado de varias formas, como dar un valor agregado a los postres, helados, confitería y bebidas específicamente”. “Su mayor productividad se desarrolla en la región de Huancavelica en las áreas que corresponde desde 3300 a 4000 metros respecto al nivel medio del mar; el aprovechamiento del fruto se da en tiempos (frio, seco, lluvioso y heladas)”.(Agustín, 2012).

El ayrampo *Opuntia soehrensii Britton & Rose* no es una fruta muy conocida, pero tiene origen inca. Es popular como pigmento natural y saludable en la familia de las cactáceas. Por tanto, es una planta incaica con propiedades farmacéuticas, se presenta como una posible solución a la actual carencia nutricional y los efectos benéficos que presentan para la salud.

En la región andina existen frutos con alto contenido de sustancias antioxidantes, las cuales no son aprovechadas como fuente de total de antioxidantes, una de ellas es el ayrampo *Opuntia soehrensii Britton & Rose* a la cual se le atribuye la presencia de pigmentos naturales (rojos y amarillos) hidrosolubles, conociendo la importancia que tiene los biocomponentes del ayrampo y extendiendo la disponibilidad del fruto, así también, este fruto no solo es consumido directamente, teniendo muy poca información ordenada sistemáticamente; surge el interés de investigar el método adecuado para determinar el contenido de betalainas, polifenoles totales y capacidad de antioxidante total en el fruto para adecuarlo a nuestra dieta si fuera el caso; siendo esta la principal problemática, con posibilidad de industrialización si se requiera.

En este proyecto de investigación se identificó el contenido de betalainas, polifenoles totales y capacidad de antioxidantes en las partes del fruto (semilla, cascara y pulpa), se analizó en el cual se observó cuál de todas las muestras posibles de acuerdo a los métodos experimentados contiene mayor contenido mediante su comparación.

1.2 Formulación del problema

1.2.1 Problema general

¿Cuál es el contenido de betalainas, polifenoles totales y capacidad antioxidante en las partes del fruto ayrampo *Opuntia soehrensii* Britton & Rose?

1.2.2 Problemas específicos

¿Qué partes del fruto ayrampo *Opuntia soehrensii* Britton & Rose tiene mayor contenido de betalainas?

¿Qué partes del fruto ayrampo *Opuntia soehrensii* Britton & Rose tiene mayor contenido de polifenoles totales?

¿Qué partes del fruto ayrampo *Opuntia soehrensii* Britton & Rose tiene mayor capacidad antioxidante?

1.3 Objetivos de la investigación

1.3.1 Objetivo general

Determinar el contenido de betalainas, polifenoles totales y capacidad antioxidante en las partes del fruto ayrampo *Opuntia soehrensii* Britton & Rose.

1.3.2 Objetivos específicos

Determinar las partes del fruto ayrampo *Opuntia soehrensii* Britton & Rose con mayor contenido de betalainas

Determinar las partes del fruto ayrampo *Opuntia soehrensii* Britton & Rose que tienen mayor contenido de polifenoles totales

Determinar las partes del fruto ayrampo *Opuntia soehrensii* Britton & Rose que contiene mayor capacidad antioxidante

1.4 Justificación de la investigación

El interés principal de realizar la presente tesis de pregrado a partir del tema “Contenido de betalainas, polifenoles totales y capacidad antioxidante en las partes del fruto *Opuntia soehrensii* Britton & Rose Ayrampo”. El autor considera que, en la actualidad existe mayor enfoque en adquirir productos orgánicos con alto contenido de antioxidantes para prevenir enfermedades degenerativas como cardiovasculares, debido a la escasa información surge el interés a investigar.

El principal objetivo de la presente investigación fue “Determinar el contenido de betalainas, polifenoles totales y capacidad antioxidante en las partes del fruto ayrampo *Opuntia soehrensii* Britton & Rose”. La finalidad de esta investigación fue evidenciar cuál de las partes del fruto (semilla, cascara y pulpa) del ayrampo obtenga mayor contenido de betalainas, polifenoles totales y capacidad antioxidante mediante los seis métodos experimentados; de acuerdo a mis resultados, sugiero darle mayor valor agregado al producto como; emplear como colorante en la industria alimentaria, desarrollo de alimentos y bebidas con alto contenido de antioxidantes y brindar conocimientos al campo de la ciencia, a los productores y los consumidores respectivamente.

1.5 Delimitación del estudio

La delimitación tuvo como propósito determinar el contenido de betalainas, polifenoles totales y capacidad de antioxidantes presentes en el fruto “Ayrampo” *Opuntia soehrensii* Britton & Rose; esta investigación se ejecutó en el laboratorio de procesos e Ingeniería de Alimentos, Escuela de Ingeniería de Industrias Alimentarias de la UNJFSC; la misma se extendió desde el mes de agosto del 2019 hasta el mes de febrero 2021.

1.6 Viabilidad del estudio

La viabilidad de la investigación estuvo vinculada directamente a la disponibilidad de recursos humanos, materiales, financieros, tiempo y de información; con la ejecución de esta investigación los beneficios aportados a la sociedad en general generan nuevas oportunidades de trabajo, impacto en el medio ambiente, mejora de las condiciones de vida de la población y posibles soluciones a las enfermedades degenerativas con el consumo de

compuestos antioxidantes presentes en el fruto “Ayrampo” *Opuntia soehrensii Britton & Rose*. Por lo tanto, con la presente investigación se mantuvo la perspectiva de realizar el contenido de betalainas, polifenoles totales y capacidad de antioxidantes presentes en el fruto “Ayrampo” *Opuntia soehrensii Britton & Rose*.

A nivel experimental las pruebas fueron realizadas en el laboratorio de procesos e Ingeniería de Alimentos de UNJFSC. Para medir los resultados del estudio, se estableció parámetros de mediciones adecuadas en función del tiempo, permitieron los correspondientes análisis en la evaluación de betalainas, polifenoles totales y capacidad de antioxidante presentes, siempre teniendo en cuenta viabilidad parte de inocuidad que permitieron comprender y mejorar el proceso experimental.



CAPÍTULO II. MARCO TEÓRICO

2.1 Antecedentes de la investigación

Para el correcto desarrollo de la presente investigación, se evaluaron una serie de estudios anteriores a este, con la finalidad de generar y analizar un marco de referencia, que sirva de orientación en el transcurrir del proceso investigativo, de lo anterior surge:

2.1.1 Antecedentes Nacionales

Inicialmente, se consideró a Jorge & Troncoso, (2016); en su investigación titulada “Capacidad de antioxidante del fruto de la *Opuntia apurimacensis* (ayrampo) y de la *Opuntia ficus-indica* (tuna)” realizado en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. como objetivo “determinar la capacidad de antioxidante en los extractos del ayrampo y la tuna realizando determinación de vitamina C, polifenoles totales y capacidad de antioxidante (FRAP)”. En los resultados. El ayrampo presenta una alta concentración de vitamina C, polifenoles totales y capacidad de antioxidante a diferencia que la tuna teniendo una la correlación entre antioxidantes y vitamina C es mayor, existe una alta correlación entre capacidad de antioxidante de la tuna y el contenido polifenoles totales. Finalizando, el ayrampo tiene una mayor capacidad de antioxidante que la tuna”.

Así mismo Aguilar, (2019); en su tesis titulada “Fenoles y capacidad de antioxidante de guayaba (*Psidium guajava*), arándano (*vacinium myrtillus*) y fracciones comestibles de pitahaya (*Selenicereus megalanthus*) y aguaymanto (*Physalis peruviana*)” realizada en la Universidad Nacional, Chachapoyas (Peru).Objetivo principal fue “determinar el contenido fenolico y capacidad de antioxidante en guayaba , arándano y porciones comestibles de pitahaya y aguaymanto”. En la metodología experimental; se trabajó tecnología de captura de radicales libres y tecnología de Folin Ciocalteu; que utilizan DPPH y ABTS+ respectivamente; de las cuales los extractos etanolicos fueron adquiridas en Brazil y Peru.

En los resultados obtenidos, el contenido de compuestos fenolicos de los extraxtos de arandando respecto a la guayaba los mejores resultados acutales son 22,70 y 15,78 mg GAE/g respectivamente, que tambien alcanzaron los valores mas altos para las dos metodologias de actividad antioxidante DPPH Y ABTS+(205,33 y 123,14 umol trolox) y

(238,37 y 98,78 μmol Trolox). En conclusión en el contenido de compuestos fenólicos en muestras de Perú es mejor que las de Brazil.

Igualmente, Contreras Orellana, (2019) ; en su tesis titulado “Determinación de Capacidad Antioxidante y Fenoles Totales en Semillas de *Vitis Vinifera* L. “Vid”, del Valle De cañete”. Reporto lo siguiente, está presente investigación su principal objetivo “determinación de la capacidad de antioxidantes y la cuantificación de fenoles totales de las semillas de uvas (*vitis vinifera*) cultivadas y más representativas del valle de cañete – lima”. En la metodología experimental se emplearon siete variedades de semillas de uvas, después del proceso de fermentación, luego de secarlas y molerlas se realizó una extracción de dos fases (Metanol/agua 1/1 v/v y pH=2.2 y Acetona/Agua 70/30 v/v) y en ella se determinó los antioxidantes mediante los siguientes métodos; DPPH, ABTS+ y FRAP, también el contenido de polifenoles totales mediante el ensayo de Folin- Ciocalteu. En los resultados obtenidos; todos los extractos mostraron actividad inhibitoria en los ensayos, los extractos se obtuvieron 181.08-53.46 μMol DPPH Inhibido/g semilla, un Índice de Capacidad de Inhibición que va de 207.49 a 86.11 μMol DPPH secuestrado/g de semilla y un IC50 entre 0.21 a 0.55 mg semilla/mL de extracto, en el ensayo ABTS+ resultado 1292.94 a 660.4 μMol Equiv. Trolox/g de semillas, en la prueba de FRAP se obtuvo 451.19 a 225.01 μMol Equiv. Ácido gálico/g de semilla y en la cuantificación de polifenoles se obtuvo el mismo orden de las semillas Quebranta con mayor promedio y la Borgoña negra con el mínimo, los valores fueron de 97.26 a 63.23 mg Equiv. Ácido gálico/g de semilla. En conclusión, la variedad Quebranta mostro mayor promedio las semillas de uvas procedentes del Valle de Cañete son una fuente natural de compuestos fenólicos y tienen una excelente actividad antioxidante.

Finalmente, Vicente Ochoa, (2019); en su tesis titulada “Determinación de capacidad de antioxidante en fenoles totales en frutos de *Vitis Vinifera* L. Vid, del valle de cañete”. “Su objetivo general fue determinar la capacidad de antioxidante y el contenido de polifenoles totales en las uvas (*vitis vinifera*)”.

“En primera parte de la investigación se emplearon seis variedades de uva previa selección en el año 2018: quebranta, italia, uvina, borgoña blanca, red globe y borgoña negra. Se evaluaron en la cascara y pulpa en el estado fresco, mediante un proceso por separado la extracción en dos fases: (metanol/agua 1/1 v/v pH=2.2 y acetona/agua 70/30 v/v) para luego

determinar la capacidad de antioxidante por los métodos DPPH, ABTS+, FRAP y contenido de polifenoles totales con el ensayo de Folin-Ciocalteu. En los resultados indicaron en la parte de la cascara presentan mayor capacidad de antioxidante a diferencia de la pulpa del fruto; por el método DPPH, ABTS+ y FRAP; dio un rango 35.12 a 15.46 uMol DPPH/g cascara (borgoña negra a uva italia), 383.71 a 205.99 uMol TE ABTS/g cascara (borgoña blanca a uva italia), 5.04 a 1.64 uMol E.acido galico/g cascara (red globe a italia), contenido de polifenoles totales 42.71 a 19.51 mg E.Ac.Galico/ g cascara (red globe a italia); mientras en la pulpa DPPH,ABTS+,FRAP; 0.094 a 0.033 uMol DPPH/100g pulpa (borgoña negra a italia), 0.98 a 0.28 uMol ABTS trolox Equivalente/ g pulpa (uvina a italia), FRAP 0.75 a 0.27 uMol Equiv.Ac.Galico/ g pulpa (quebranta a borgoña negra) y el compuesto fenolico de la pulpa 0.22 a 0.09 mg Equiv.Ac.Galico/g pulpa (uvina a red globe).

Al incluir las uvas provenientes del valle cañete presentan alto compuestos fenolicos y son responsables de mayor contenido de antioxidante en la cascara del fruto en comparacion de la pulpa.

2.1.2 Antecedentes Internacionales

Por otra parte, Sawicki et al., (2016); en su artículo titulado “Perfil de betalaína, contenido y capacidad antioxidante de la remolacha roja según el genotipo y la parte de la raíz”. “En la determinación del perfil de betalainas, contenido de betalainas y la capacidad de antioxidante mediante cuatro ensayos en trece variedades y partes de raíz de remolacha roja, reportaron lo siguiente. La remolacha roja contenía treinta betalainas diferentes, el contenido de betalainas vario significativamente entre las variedades y en la parte de la raíz ($P < 0.05$), la cascara de la remolacha roja se observó que tiene una concentración más alta de betalainas, su potencial antirradical difería ampliamente de las variedades de remolacha roja, las variedades de la remolacha roja poseen betalainas, así como capacidad de antioxidante con una correlación de manera positiva”.

Siguiendo con, Figueroa Cares et al., (2010); en su artículo evaluaron “Contenido de pigmentos, otros compuestos y capacidad antioxidante en 12 cultivares de tuna en la ciudad de México”. En cacalote (O. cochineria) el contenido de ácido ascórbico fue superior. El mayor contenido de betacianina y betaxantina se encontró en Tapon Aguanoso

(*O. robusta* var *Robusta*); betanina y indicaxantina para cacalote (*O. cochineria*) respectivamente. En La tuna amarilla presento más clorofila y caroteno, lo que no sucedió lo mismo con la tuna blanca en cuanto al caroteno”.

“La mayor concentración de fenoles se encuentra Tapon que contiene agua (*O. robusta* var *Robusta*). La capacidad de antioxidante de todas las variedades es similar. Basado en investigaciones debido a la presencia de betalainas, se recomienda su uso para extraer pigmentos naturales”.

Asimismo Mercado Mercado et al., (2013); en su investigación. “El objetivo fue identificar las principales especies típicas más consumidas en México, determinando las características químicas, potencial antioxidante y efectos sobre la salud presentes en la especie mayormente utilizadas en la cocina Mexicana. Se realizaron los estudios respectivos de la capacidad de antioxidante con los métodos siguientes; FRAP, ABTS, ORAC y DPPH; la cual se cuantificó y no en todas las especies presentan antioxidantes, se necesita más investigación para determinar si esta especie es un alimento funcional, lo que indica que se necesita más investigación sobre benéfico de las especies tradicionales en México”.

Finalizando con García Cruz et al., (2012); en el estudio de la extracción y cuantificación de betalainas (betacianinas y betaxantinas), determinación de fenoles totales y capacidad de antioxidante en la pitaya de mayo (*Stenocereus griseus* H.); se realizó del fruto de pitaya (roja PR y naranja PN); por el método DPPH y cálculo IC_{50} .

En los resultados en cuanto al contenido de betalainas totales pitaya naranja rojo 215.0 ± 36.2 mg BET/100g muestra seca, mientras la pitaya roja 347.03 ± 21.0 mg BET/100g muestra deshidratada. Para la cuantificación de fenoles solubles totales fue 166 ± 14.4 y 52.8 ± 3.8 mg (EAG)/ 100 gramos pulpa deshidratada, para las muestras pitaya (roja y naranja) respectivamente. En el cálculo IC_{50} resultó PN 161.7 ± 4.8 μ M tuvo un mayor contenido de ácidos fenólicos a PR 59.8 ± 0.32 μ M, finalizando que el PR en la concentración del extracto logra una reducción 50% radical DPPH. En conclusión el contenido de betalainas totales de los dos colores de fruto la más abundante son betacianinas para el rojo y para el naranja las betaxantinas, por lo tanto las betalainas se encontraron un alto contenido de fenoles, considerando que estos compuestos tienen alta actividad de antioxidante en los frutos.

2.2 Bases teóricas de la investigación

2.2.1 Ayrampo (*Opuntia soehrensii* Britton & Rose)

Según Doweld citado por (Yury Huayta, 2016), nombra los siguientes sinónimos más comunes, en el fruto llamado Ayrampo: “Opuntia, Tunilla, Airampo” finalizando con una segunda terminología variando por la región geográfica. (p.3)

La planta que comúnmente se desarrolla en lo alto de los andes peruanos, familia cactácea nos especifica los siguiente, (Kiesling et al., 2011) afirma: “segmentos o artejos articulados verde claro a oscuro, de unos 6 cm largo por 3,5 cm latitud, aréola densa, cada cara tiene 10-20 espinas con 3 a 8 espinas amorfas, de hasta 3 cm de longitud, suelen ser gris. Flores amarillas, naranjas o rojas, corresponde a un diámetro de 4 cm, tienen un estilo verde. El interior y exterior de la Fruta son rojizo y los lados están agrietados, aproximadamente 2-4 cm de diámetro” (p.34).

Es frecuente que también se desarrollan en las alturas que comprende desde Bolivia hasta los extremos sur este del Perú. Por lo que, la definición de ayrampo es, según Lock Sing de Ugaz, (1997): “el ayrampo es el nombre común de cactácea, la planta cactácea es una pequeña hierba perpetua con tallos u hojas ovoides; su fruto es una pequeña baya carnosa, que es roja o rojo vino cuando madura, y es muy jugosa, ligeramente dulce, contiene muchas semillas ricas en pigmento” (p.207).

Es necesario precisar que el fruto llega a su punto de maduración para la cosecha que tenga una de las principales características es el color vinoso. Según (Zenteno, 2004) afirma los siguiente: “es una espina flora del desierto que tiene un lugar con el grupo de las plantas del desierto, se llama Ayrampu en aymara y Achupalla en el estado Quechua; que es del estado pera espinosa, en la que se encuentra en la semilla del sombreado rojo sangre, esta pequeña flora silvestre no espera que se crean las condiciones, se desarrolla en forma de pendientes salvajes, tiene una espina, se mantiene a un temple fresco”.

“La porción que se utiliza es del producto comestible, su recolección del fruto ocurre en el periodo de marzo y abril. Tiene propiedades expectorantes, hemostáticas, anti anémicas, anti infecciosas, mitigantes y antipiréticas” (p.3). “El ayrampo se encuentra en estado silvestre

en los andes centrales del Perú, con origen en las ciudades de Junín , Ayacucho y Apurímac”, (Lock Sing de Ugaz, 1997). “Es un cactus silvestre y cultivado en los valles desierticos entre la cordillera de los andes, con mayor preponderancia en Apurímac y Cuzco. También se desarrolla en la costa” (Egg, 1999)

“Esta planta comprende en algún lugar en el rango de 2000 especies locales a las áreas tropicales y suaves de América del Sur. Típicamente circulan en territorios extremadamente variados, aunque intermitentemente excepcionalmente secos, montaña y montaña, son plantas que perduran desde pequeñas hasta masivas”. (Solano, 1998).

2.2.1.1 Ubicación taxonómica del ayrampo

Según (Solano, 1998), la clasificación taxonómica y/o caracterización botánica del ayrampo:

Reino	:	Plantae
Subreino	:	Phanerogamae
División	:	Angiospermae
Clase	:	Dicotiledoneas
Orden	:	Cactaceales
Familia	:	Cactaceae
Subfamilia	:	Opuntioideae
Género	:	Opuntia
Especie	:	<i>Opuntia soehrensii</i> Britt & Rose.

2.2.1.2 Tallos

“En particular su forma establece pencas globosas o cladiolos, de tono verde formando cojines. En el interior de su estructura se observa un pulpa jugosa y fresca que tiende un sabor agrio”. Según Aragon, (1980).



Figura 1. Opuntia soehrensii. Cañón del colca, Perú.,(Group, 2012)

2.2.1.3 Flores

“Son de tono amarillo, rosa o violáceo, nacen de areolas y de modo inodoras”.



Figura 2. Flor de la Tunilla soehrensii. (Group, 2012)

2.2.1.4 Fruto

En la figura 3, “Además de las propiedades funcionales que puede aportar, esta fruta también puede ser considerada una interesante fuente de color, hecho que puede comenzar a producir este tipo de cepa que favorece el nivel de vida de los pobladores andinos y del desarrollo rural”, (Gamarra, 2003). “Es un fruto carnoso de forma ovalada” (Solano, 1998).



Figura 3. Fruto ayrampo *opuntia soehrensii*. Elaboración propia (2021).

Según (Collazos et al., 1996) el fruto ayrampo tiene las siguiente composición química como se muestra en la tabla 1, también de reportado por (Tipe, 1989) composición química del ayrampo seco para determinar el contenido del pigmento en la tabla 2.

Tabla 1*Composición química de ayrampo por 100 g de porción comestible*

COMPONENTES	CANTIDAD %
Energía (Kcal)	49.00
Agua (g)	85.90
Proteínas (g)	1.80
Grasa (g)	0.50
Carbohidratos (g)	11.60
Fibra (g)	-
Ceniza (g)	0.60
Calcio (mg)	85.00
Fosforo (mg)	0.20
Hierro (mg)	-
Retinol (mg)	-
Tiamina (mg)	0.01
Riboflavina (mg)	0.02
Niacina (mg)	24.00
Ácido ascórbico reducido (mg)	-

Fuente: (Collazos et al., 1996)

Tabla 2*Composición del ayrampo*

DETERMINACION	PORCENTAJE %
Humedad	21.2
Ceniza	10.2
Fibra Neta	6.1
Grasa Cruda	1.7
Proteínas (N*6.25)	6.8
Azucres Reductores	6.7
Colorante bruto	23.6
Pepa (sin colorante)	23.7

Fuente:(Tipe, 1989)

“El ayrampo todavía sin uso industrial. Sin embargo, estas frutas rara vez se venden en el mercado, solo se usan localmente y en algunos casos conducen hasta los mercados urbanos”(Lock Sing de Ugaz, 1997). “Los productos de las plantas cactáceas son sabrosos con varios sabores, algunos ácidos imparciales, dulces y también pulposos, que preparan chicha con un índice de madurez optimo y ponches. Las semillas se utilizan para sombrear postres, mazamoras, refrescos y diferentes golosinas”(Lock Sing de Ugaz, 1997).

“Una gran parte de los productos de la familia de la cactácea y particularmente el ayrampo son matices beta ciánicos separados utilizados como sombra de nutrición (papillas, sodas), para todos los casos este producto orgánico se incluye directamente” (Gamarrá, 2003). “Las partes del ayrampo se utiliza como colorante en papillas, gelatina y chicha” (Solano, 1998). “En la medicina familiar, esto es útil para la preparación de infusiones y resistir las siguientes enfermedades como : escorbuto (carencia de vitamina c), afta, osteoporosis e infección de la sangre” (Lock Sing de Ugaz, 1997). “El ayrampo se usa en niños para sanar afta, viruela, lavado de heridas, curan fiebre y previene hemorragias nasales” (Egg, 1999).

“Se recomienda para el tratamiento del calor interno, infección tracto urinario, reumatismo, enfermedad pulmonar, hipertensión y de ulcera gástrica” según (Zenteno, 2004). “Las semillas de ayrampo se utiliza como: Febrífuga lucha contra el sarampión “Piampia” y la viruela. También en ampollas infantiles “Kanakami” y en la covalencia del debilitado como refresco que permite recuperarse” (Calsin, A., & Yanqui, 1999).

2.2.2 Betalainas

“Existen dos grupos de pigmentos de betalainas, que son muy fácilmente solubles en solución acuosa, y están relacionados químicamente y biogenéticamente, la longitud de onda se expresa para las betacianinas a 540nm y las betaxantinas a 480nm, en cuanto al pigmento va desde rojo violeta y amarillo respectivamente. El estudio de la combinación química tuvo resultado en 1957 que fueron satisfactorios, cuando Wyler & Dreiding aislaron el rojo violeta (betanina) de la raíz beterraga, del mismo modo en 1964 Piatelli, Minale, & Prota aislaron cristales amarillos, indicaxantina, de los fruto de *opuntia ficus-indica*” (Ugaz, 1997). “Los pigmentos más importantes en el ayrampo se llaman betalainas; son solubles en el agua y los pigmentos comprenden de rojo violeta y amarillo que corresponde a las betacianinas y betaxantinas respectivamente. La betanina es la betacianinas de mayor ocurrencia” (Gamarra, 2003).

La presencia del contenido de betalaínico en plantas y presencia de antocianinas son mutuamente excluyentes. Las verduras más comunes que contienen pigmentos betalaínicos está en la remolacha (betabel)” (Fennema, 2019).

“Las betalainas son uno de los pigmentos certificados por la FDA que no requieren aditivos; vendidos en forma de polvos liofilizados de beterraga, que incluye pigmentos y reguladores azucarados, proteínas y antioxidantes” (Dergal, 2006). Las betalainas son obtenidas en concentración en condiciones acidas o deshidratación a partir de soluciones acuosas; la eliminación de impurezas de los pigmentos se logra mediante un proceso de separación por membrana y osmosis inversa. Debido a su poder, los cultivos de tejidos se han probado para producir verduras con alto contenido de betaninas”.

2.2.2.1 Estructura

“La red cromófora o conjunto de átomos del color betalaína es un sistema 1,7-diazaheptametino protonado. Las betaxantinas (amarillo) se caracterizan por tener grupos R Y R", que no prolongan la unión del cromóforo 1,7-diazaheptametino. Las betacianinas (rojo), su combinación expande un anillo aromático (Lock Sing de Ugaz, 1997). Las plantas contienen una gran variedad de colorantes en el caso betalainas y las antocianinas obtienen pigmentos tan similares. Las betalainas totales da como resultado a un conjunto de pigmentos nitrogenados que contienen betacianinas (rojas) y betaxantinas (amarillas). A diferencia de las antocianinas su color no es afectado por el pH”.

“La disposición de betalainas en plantas excluye la presencia de antocianinas. Las betalainas son compuestos hidrosolubles, y debido a su contenido de nitrógeno tiene una estructura diferente otros pigmentos que se encuentran en el reino vegetal. Hasta el momento, se conocen alrededor de sesenta betalainas, y todas tienen la misma estructura básica, que se forman por la condensación de aminas primarias o secundarias (triptófano) y un aldehído (ácido betálamico)”, (Fennema, 2010).

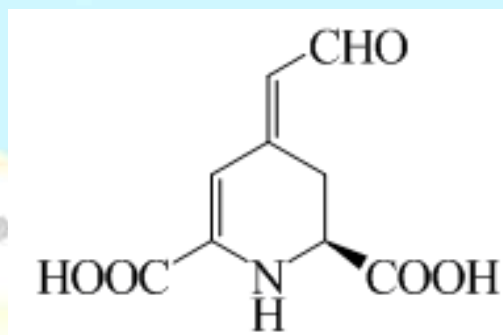


Figura 4. Ácido betálamico. (Fennema, 2010)

2.2.2.2 Estabilidad

“La estabilidad de las betalainas es limitada porque su color puede cambiar debido a cuatro factores: temperatura, actividad acuosa, pH y luz; aunque la estabilidad puede incrementarse agregando antioxidantes como el ácido ascórbico, no se puede acilar o la sustitución molecular estabiliza estos pigmentos. Las betaxantinas se oxidan más rápido que las betacianinas y su sombreado amarillo son comúnmente por betacianinas o diferentes mezclas presentes. La catálisis de ciertos metales (principalmente cobre) acelera todas las reacciones,” (Dergal, 2006).

2.2.3 Método de la absorbancia de los extractos de las muestras

Cai & Corke, (2008) “se cuantificaron el contenido de betacianin en plantas de hortaliza fresca de *Amaranthus*, se utilizó un espectrofotómetro Genesys5 para medir el contenido de pigmento a 536nm o el porcentaje amarantina y betanina. La muestra fue pesada y tarada con una precisión $\pm 0,1$ en fioles volumétricas de capacidad 100 mL, luego se enraso con la disolución amortiguadora previamente preparada a pH igual 5,6 (McIlvane). En una celda de cuarzo de 1,0 cm, la absorbancia de la solución de pigmento se registra a una longitud de onda de 536nm, el tanto por ciento de betanina en polvo de pigmento deshidratado por pulverización. Se calcula mediante valores expresados por una relación de A multiplicado por 102 y dividido entre peso(w) por el nivel absorbancia dependiendo el pigmento objetivo: 536 nm (betacianina), 779 nm (amarantina) y 1120 nm para (betanina)” Piatelli et al., (1964), citados por Cai & corke, (2008).

Cai & Corke, (2008) “la intensidad de tintura (TS) se define como la longitud máxima a 536 nm. $TS = \text{Absorbancia a } 536\text{nm} \times \text{DF}$ (factor dilución). De igual manera, señalaron que debido a los mismo λ_{max} y red similar, son los componentes principales de las betacianinas en el vegetal de *Amarantus*, por lo que el contenido de betacianina en el vegetal *Amarantus* (AC), amarantina es igual a la tintura es multiplicado por el peso molecular (726.6 g mol^{-1}), por el valor ($\epsilon = 5.66 \times 10^4$) y la L (longitud) a 1cm llegando a un resultado con las unidades miligramos por litro puede aplicarse en bebidas”

2.2.4 Polifenoles

“El contenido de los polifenoles cuantificados en los frutos incluyen varios componentes con antioxidante, tales como los ácidos fenólicos, grupo flavonoides, antocianinas y similares. El alto contenido de todos estos compuestos están relacionados directamente con la especie, tipos de cultivos, partes del fruto, suelo, índice de madurez, luz e incluso de la fertilización” (Eberhardt et al., 2005).

“Con el fin de evaluar el poder antioxidante en la dieta diaria (concentrada o extractos), y para determinar la actividad antioxidante en plasma como indicador del estado antioxidante en cuerpo, se ha propuesto una variedad de métodos basados en ellos en diferentes procedimientos. La mayoría de los métodos tienen base en la reacción de transferencia de un solo electrón o la reacción o extracción de átomos de hidrógeno (H) entre antioxidante y radicales libres” (García Cruz et al., 2012).

2.2.4.1 Método de la reacción colorimétrica de Folin-Ciocalteu

El ensayo Folin-Ciocalteu según García Martínez et al., (2015): “se utiliza para estimación del contenido de compuestos fenólicos en vegetales. Basado en el hecho de que los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu en condiciones alcalinas para producir un color azul, que se puede medir por espectrofotometría a 765 nm. Esta solución sódica reacciona con los compuestos fenólicos en la muestra. El ácido fosfomolibdotúngstico en medio ácido resulta color amarillo, cuando es reducido por el grupo fenol, formara un complejo azul fuerte, su fuerza es la que usamos para evaluar y determinar el contenido en polifenoles”.

“El mecanismo de reacción es parte de una reacción redox, por lo que también se puede considerar como un ensayo para medir de la actividad antioxidante. La degradación de los polifenoles reaccionando con la muestra da como resultado un color azul con una absorbancia máxima a 765 nm, que se cuantifica mediante espectrofotometría basada en estándares de ácido gálico. Este es un método preciso y sensible, que puede sufrir muchos cambios, principalmente se debe tener en cuenta el tanto por ciento de muestra a analizar, la alta densidad del reactivo y el periodo de reacción”.

“La forma en que se expresan los resultados surgen variaciones, pero el estándar ácido gálico recomendado. Esta técnica se suele utilizar para estudiar las propiedades antioxidantes de alimentos de origen vegetales (zumos de frutas), ya que este parámetro suele estar estrechamente relacionado con los diferentes métodos de medición de la antioxidante activos”.

2.2.5 Capacidad de antioxidante

Según Patthamakanokporn, Puwastien, Nitithamyong, & Sirichakwal, (2008) “El antioxidante en la dieta pueden combatir muchas enfermedades sobre las funciones fisiológicas normales del cuerpo humano”. Según Zavala, Rivero, García, & Grajales, (2007) “capacidad de antioxidante en alimentos convencionales nos especifica lo siguiente: los nutrientes o suplementos son las partes del sustento que puede ser utilizado por el ser vivo que hace que la vida sea concebible, que se disemina de manera desigual y desempeña diversas capacidades según su naturaleza”.

“Uno de los segmentos principales son los agentes de prevención del cáncer, sustancias que existen en nutrientes específicos que demuestran proteger al cuerpo de la actividad de los radicales libres, que causan procedimientos de maduración y algunas infecciones diferentes. Estos radicales libres presentan partículas "desequilibradas", y los átomos que poseen un electrón poseen la capacidad aparearse, por lo que son excepcionalmente receptivos. Los radicales logran que el cuerpo tenga la finalidad de atrapar un electrón de partículas muy estables, con el objetivo final de lograr su fiabilidad electroquímica y con posibles respuestas en cadenas que diezman las células del cuerpo”.

“Los agentes de prevención del cáncer posponen el proceso de maduración al combatir la degeneración y desaparición de las células que causan los radicales libres. El hecho de que el cuerpo humano no pueda matar los radicales libres que se descubren día a día, hace que el hombre recurra a los sustentos con propiedades de refuerzo celular con la capacidad de matarlos de neutralizarlos”.

“Algunos alimentos contienen múltiples fitonutrientes, muchos de los cuales tienen propiedades antioxidantes. Además de la conocida vitamina C y E y los carotenoides y tenemos otros compuestos que son potentes antioxidantes y útiles; fundamentalmente a sumarse al límite de refuerzo celular”.

“Comer frutas y verduras se asocia con una baja incidencia y mortalidad de enfermedades crónicas. Los efectos protectores sobre las enfermedades degenerativas entre ellas el cáncer, cardiovasculares y cerebrovasculares con el alto consumo de frutas y verduras, se deben su contenido de antioxidantes en proporciones altas”.

Según Wayner, Burton, Ingold, & Locke, (1985); “las vitaminas especialmente la E y C con alta capacidad de antioxidante están presentes en la mayoría en frutas y verduras, también se encuentran en diferentes contenidos de polifenoles”. Por su parte, Chiselli A, Serafini M, Maiani G, & Azzini E, (1995) “la estimación de los agentes (antioxidantes) individuales de prevención permite conocer de forma independiente el límite de refuerzo celular agregado de un dispositivo, compuesto o líquido natural, debido a los efectos sinérgicos que podrían establecerse entre los agentes de prevención del cáncer presentes en él”.

2.2.5.1 Método para determinar capacidad de antioxidante

“El método analítico utilizado para determinar el contenido de antioxidantes dependen del tipo de compuesto objetivo. Los antioxidantes pueden ser analizados por grupos funcionales, grupos antioxidantes. Como grupo funcional, se puede cuantificar como capacidad antioxidante total mediante las siguientes pruebas: ABTS (ácido 2, 2'-azino-bis -3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico), DPPH (2, 2- Difenil-1-picrilhidrazilo), DMPD (dicloridrato de N, N-dimetilfenilendiamina), FRAP (capacidad antioxidante de hierro reducido), ORAC (capacidad de absorción de radicales oxígeno), TRAP (actividad antioxidante total), programa de quimioluminiscencia y antioxidante celular (Lako et al., 2008); los métodos más usados es ABTS Y DPPH según” (Kuskoski et al., 2005).

“Como una recopilación de agentes antioxidantes, las medidas principales incorporan la garantía del contenido de fenoles agregado mediante la estrategia de Folin-Ciocalteu y el contenido de antocianina de agregado por distinción de pH y espectrofotometría.

Se puede utilizar tecnologías como: columna cromatográfica de gases, la electroforesis capilar y la cromatografía líquida de UV para determinar varios antioxidantes en extractos de fruta, verduras y otras plantas” (Lako et al., 2008).

Pisoschi & Negulescu, (2011) indico que “el creciente interés obtenido por los antioxidantes se debe a los beneficios para la salud proporcionados principalmente por antioxidantes de bajo peso molecular de origen natural (exógenos). Esto consiste en prevenir la aparición de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo, causadas por el ataque de radicales libres en biocomponentes claves como lípidos o ácidos nucleicos”. “Se utilizan diversos métodos y herramientas analíticas para el contenido de antioxidantes y la evaluación de la capacidad antioxidante total: espectrometría, métodos electro analíticos, cromatografía y otros. Estas técnicas son capaces de ofrecer un perfil completo del contenido de antioxidantes de los productos alimenticios”. En la tabla 3 se muestran las distintas técnicas o métodos para determinar la capacidad antioxidante.



Tabla 3*Métodos para determinar Capacidad Antioxidante*

Ensayo de Capacidad Antioxidante	Principio del método	Determinación del producto final
DPPH	Reacción antioxidante con radicales libres orgánicos.	Colorimetría
ABTS	Reacción antioxidante con radicales de cationes orgánicos.	Colorimetría
FRAP	Reacción antioxidante con complejo de Hierro (+3).	Colorimetría
PFRAP	Reducción de ferrocianuro de potasio. Mediante antioxidantes y la posterior reacción del ferrocianuro de potasio con hierro (+3).	Colorimetría
CUPRAC	Reducción de cobre (+2) a cobre (+1) por antioxidantes.	Colorimetría
ORAC	Reacción antioxidante con radicales peroxi, causada por AAPH	Colorimetría
HORAC	Capacidad antioxidante para eliminar los radicales OH producidos por el sistema de tipo Fenton basado en cobalto (+2)	Pérdida de fluorescencia de la fluoresceína.
TRAP	La capacidad antioxidante para capturar radicales libres derivados del luminol, producidos por descomposición De AAPH.	Enfriamiento químico luminiscente
FLUORIMETRIA	Emisión de luz por una sustancia por luz absorbida electromagnética de diferentes longitudes de onda.	Registro de espectros de excitación/emisión de fluorescencia

Fuente: (Pisoschi & Negulescu, 2011)

2.3 Definiciones conceptuales

- Antioxidante: “Los antioxidantes son una sustancia en menor concentración, en comparación con los sustratos oxidables (biomoléculas) que pueden retrasar (o prevenir su oxidación”.
- Ayrampo: “Es un fruto rustico cultivado en los andes peruanos”.
- Betalainas: “Es un metabolito secundario de las plantas que contienen nitrógeno y actúa como pigmento rojo y amarillo”.
- Capacidad antioxidante: “Debido a la capacidad de reaccionar con los radicales libre, tiene la actividad biológica que inhibe la oxidación de moléculas biológicas y favorece el efecto preventivo de determinadas enfermedades”.
- Compuestos fenólicos: “Los compuestos fenólicos o polifenoles, son las sustancias con anillos aromáticos, unidos a uno o más grupos hidroxilo, incluidos los derivados funcionales (ésteres, glucósidos, etc.)”.
- Espectrofotómetro: “La espectrometría es una técnica espectroscópica que se utiliza para evaluar la concentración o cantidad de las especies identificadas. En estos casos, el instrumento que realiza este tipo de medida es un espectrómetro o espectrógrafo”.
- Extracción: “la extracción es una operación de separación de sustancias que se pueden disolver en dos disolventes que no miscibles, tienen diferencia en solubilidad y entran en contacto a través de una interface”.

2.4 Formulación de la hipótesis

2.4.1 Hipótesis general

Es posible determinar el contenido de betalainas, polifenoles totales y la capacidad antioxidante en las partes del fruto ayrampo *Opuntia soehrensii*

2.4.2 Hipótesis específicas

H₁: Es posible determinar cuál de las partes del fruto ayrampo *opuntia soehrensii* Britton & Rose tiene mayor contenido de betalainas mediante la absorbancia de los extractos de las muestras.

H₀: No es posible determinar cuál de las partes del fruto ayrampo *opuntia soehrensii* Britton & Rose tiene mayor contenido de betalainas mediante la absorbancia de los extractos de las muestras

H₂: Es posible determinar cuál de las partes del fruto ayrampo *opuntia soehrensii* Britton & Rose tiene mayor contenido de polifenoles totales por medio del método de la reacción colorimétrica de Folin-Ciocalteu

H₀: No es posible determinar cuál de las partes del fruto ayrampo *opuntia soehrensii* Britton & Rose tiene mayor contenido de polifenoles totales por medio del método de la reacción colorimétrica de Folin-Ciocalteu

H₃: Es posible determinar cuál de las partes del fruto ayrampo *opuntia soehrensii* Britton & Rose tiene mayor capacidad antioxidante por medio de los métodos.

H₀: No es posible determinar cuál de las partes del fruto ayrampo *opuntia soehrensii* Britton & Rose tiene mayor capacidad de antioxidante por medio de los métodos.

CAPÍTULO III. METODOLOGÍA

3.1 Diseño metodológico

3.1.1 Tipo de investigación

La presente investigación corresponde al tipo correlacional, la cual “se analiza la correlación que están relacionadas directamente al mismo tema, el estudio de medición va de dos a más variables” (Hernández et al., 2014), lo anterior considerando que pretende determinar el grado de correlación al estudio entre las partes del fruto Ayrampo mediante su contenido de betalainas, polifenoles totales y capacidad de antioxidante.

3.1.2 Nivel de investigación

El nivel de la presente investigación explicativa, la misma, considerando que “el resultado es explicar por qué ocurre dicha manifestación y en qué condiciones, o por qué se relacionan dos o más variables” (Hernández et al., 2014).

3.1.3 Diseño de investigación

De acuerdo con Arias (2012), el diseño de la investigación trata sobre “la estrategia general del investigador es llegar a criterios de interrogantes planteados” (p.27). Lo anterior, tomando en cuenta que la investigación que se está llevando a cabo se enmarca dentro de los parámetros transversales, estos implican la recolección de datos en un solo corte en el tiempo.

3.1.4 Enfoque de la investigación

El enfoque planteado se define como cuantitativo, considerando que “implica comparar teorías existentes a partir de una serie de hipótesis resultantes, lo cual es necesario para obtener una muestra aleatoria o diferenciada, pero la muestra representa la población o fenómeno de estudio” (Tamayo & Tamayo, 2012).

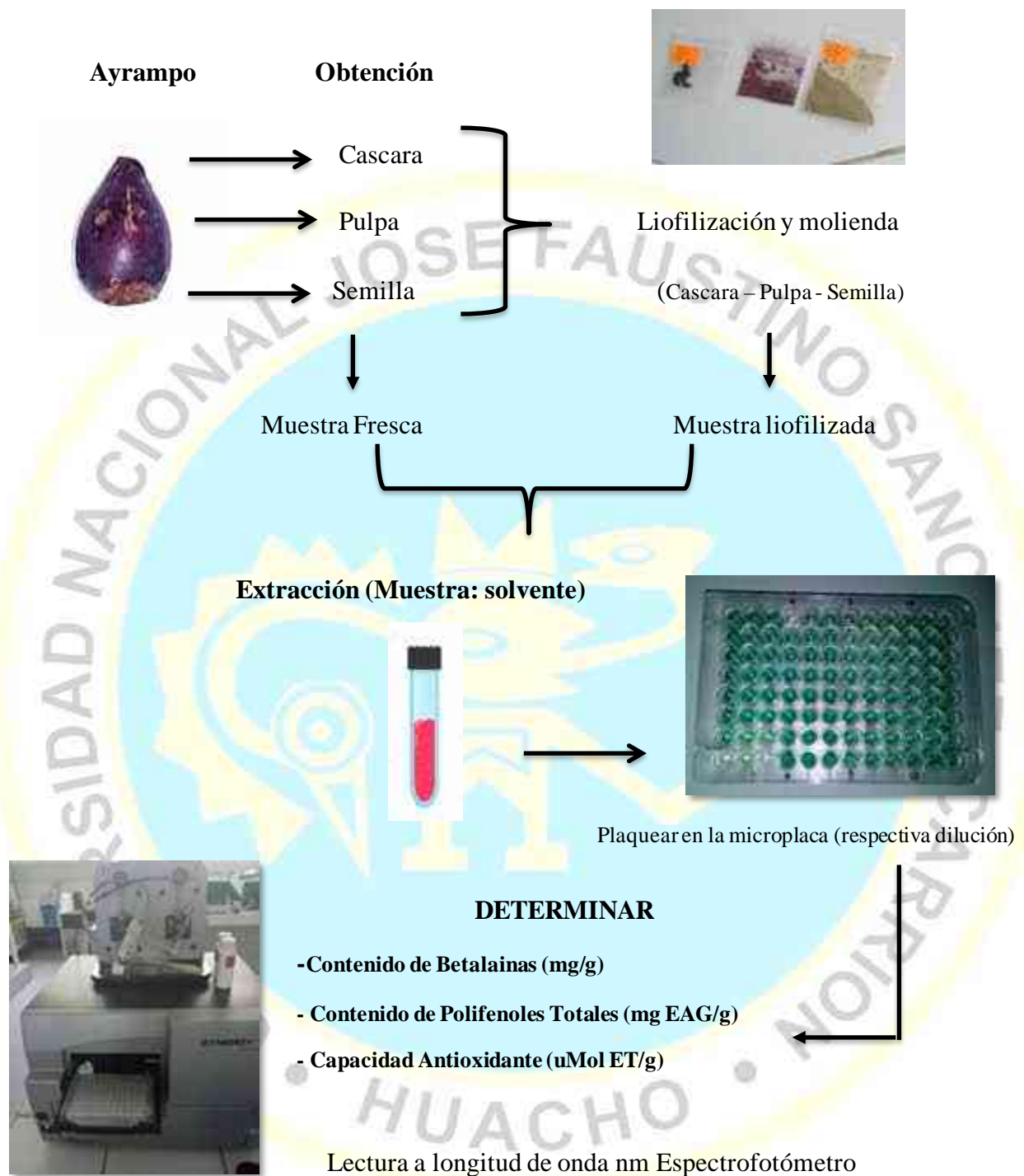


Figura 5. Esquema de proceso experimental de la presente investigación. Elaboración propia (2021).

3.2 Población y muestra

Considerando que “la población es la suma de los individuos o elementos involucrados en el estudio, es decir, todos los elementos que estudiaremos, se le llama universo” (Hurtado & Toro, 2007). La población por tanto queda definida por frutos de ayrampo *opuntia soehrensii Britton & Rose* cultivados en los andes peruanos, que fueron recolectados en el Mercado N.º 01 de Surquillo, ubicado entre la Vía Expresa con la Av. Ricardo Palma, Surquillo 15074.

En esencia, la muestra es un sub grupo de la población, todos los elementos tienen la misma probabilidad de ser seleccionados.” Hernández et al., (2014), pag.31. Es así que, en la presente investigación se desarrolla un muestreo no probabilístico, donde el procedimiento no es mecánico, ni se basa en la probabilidad, depende del proceso de decisión que determina una persona o grupo de personas y, por supuesto, la muestra seleccionada sigue otros estándares de investigación. “una de las características de enfoque debe ser la investigación por ende quien lo realiza (muestreo no probabilístico)” Hernández et al., (2014), pág. 29.

En virtud a lo anterior, se selecciona una cantidad pre establecida en los mínimo necesario para la realización de los trabajos experimentales y sus respectivos análisis correspondientes del ayrampo *opuntia soehrensii Britton & Rose* obteniendo semilla-cascara-pulpa; estuvo conformada a partir de 2 kg de materia prima, los cuales fueron seleccionados según sus características organolépticas, en su estado de madurez comestible, variedad y procedencia de las frutas; siendo trasladado rápidamente al laboratorio de procesos de Ingeniería de Alimentos, de la Escuela Profesional de Industrias Alimentarias de la UNJFSC– Huacho.

En la tabla 4 presenta la identificación y procedencia del fruto ayrampo; de la misma manera en la tabla 5 la identificación operacionalización de las variables independientes y dependientes.

Tabla 4

Identificación de la muestra

Fruta	Nombre Científico	Procedencia
Ayrampo	<i>opuntia soehrensii Britton & Rose</i>	Huancavelica (Mercado N°01 surquillo)

Elaboración propia (2021)

3.3 Operacionalización de variables e indicadores

Tabla 5

Operacionalización de las variables

VARIABLES	DIMENSIONES	INDICADORES
V.I.: Ayrampo <i>opuntia soehrensii</i> Britton & Rose	Características	- Peso (gr)
	Fisicoquímicas	- Dimensiones - PH - Brix° - Humedad (%) - Acidez
V.D.: betalainas, capacidad de antioxidante y polifenoles totales	Partes y extracto de Ayrampo <i>opuntia soehrensii</i> Britton & Rose	- Betalainas (mg/g)
		- Polifenoles totales (EAG/ml de ayrampo)
		- ABTS+ (ETrolox/ml de ayrampo)
		- FRAP ASSAY
		- ORAC uMol de Trolox/g
		- PLC

Elaboración propia (2021)

3.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

3.4.1 Materiales y equipos

Materiales

Pipetas (1-10mL)

Micropipetas de 1uL-10uL

Micropipetas de 10uL-50uL

Micropipetas de 100uL-1200uL

Tips

Microplacas (96 pozos fondo plano)

Vaso precipitado 5, 10, 25, 50 y 100 mL

Fiolas 2, 5, 10 y 25 mL

Microtubos 2mL

Bagueta
Pisceta
Tamiz
Materiales de plástico

Equipos

Espectrofotómetro lector multimodal UV-SYNERGY HTX
Photochem (Analytik Jena, Alemania)
Liofilizador BIOBASE
Balanza digital E-ACCURA capacidad: 30Kg. x 1gr.
Balanza analítica
Balanza analítica clásica PIONNER PLUS – OHAUS PA224 220g-0,1mg
Vorter mixer MICROPLACAS BIOCOTE STUART
Homogenizador de tubos VW-300
Potenciómetro HI 8424
Centrifuga HERMLE Z216 MK
Refractómetro digital HI 96801
Molino IKA M20
Analizador de humedad PMC 50 capacidad max:50g
Vernier
Titulador de acidez HI 84532
Refrigerador
Congelador
Laptop
licuadora

Reactivos

Etanol P.A
Metanol P.A
Acetona P.A
Hidróxido de sodio
Agua desionizada

Agua destilada

Alcohol 96°

Buffer fosfato 5mM, 75mM

ABTS*

Persulfato pototasio

Trolox (ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico)

HCL 1M

Fluoresceína 0.4 mM

Radical AAPH

Ácido gálico

Folin

H₂SO₄

Acetato buffer

TPTZ (2,4,6 tris (2-pyridyl))

FeCL₃

Luminol.



3.4.2 Técnicas a emplear

Tratamiento de la muestra:

1. **Recepción de la muestra:** Se recibieron los frutos provenientes del mercado de surquillo N°01.
2. **Pesado:** Se pesaron los frutos "Ayrampo" en una balanza corroborando el peso igual a 2 kg, determinar los rendimientos.
3. **Selección y clasificación:** Retirar las frutas magulladas y las frutas que muestren signos de deterioro, se procede a la selección; clasificación según la madurez óptima. Para efectos del presente proceso no es el interés el tamaño de fruta.
4. **Lavado y desinfectado:** Eliminar cualquier materia extraña que pueda estar adherida a la fruta. Se recomienda limpiar y desinfectar. Para ello sumergir la fruta en una solución hipoclorito de sodio a una concentración de 25ppm, con un tiempo de 10 a 15 min .se procedió a enjuagar con abundante agua.
5. **Cortado y pelado:** Con la finalidad de obtener las cascara del fruto. Una vez obtenida la cascara se pesa, se envasa y se rotula en bolsas herméticas.
6. **Extracción por presión:** Se obtiene el extracto de ayrampo mediante una malla manual para separar semillas con sólidos en suspensión. Obteniendo el extracto de ayrampo se pesa, se envasa y se rotula en bolsas herméticas con sus respectivas codificaciones.
7. **Filtrado y lavado:** Durante esta operación se separa las semillas de los sólidos en suspensión, el lavado con agua destilada.
8. **Secado:** El secado de la semilla humedad a Temperatura ambiente por 10hrs.
9. **Obtención semilla:** Se envasa y se rotula en bolsas herméticas con sus respectivas codificaciones.
10. **Almacenado:** La cascara, semilla y pulpa es almacenada a temperatura de congelación -32°C.

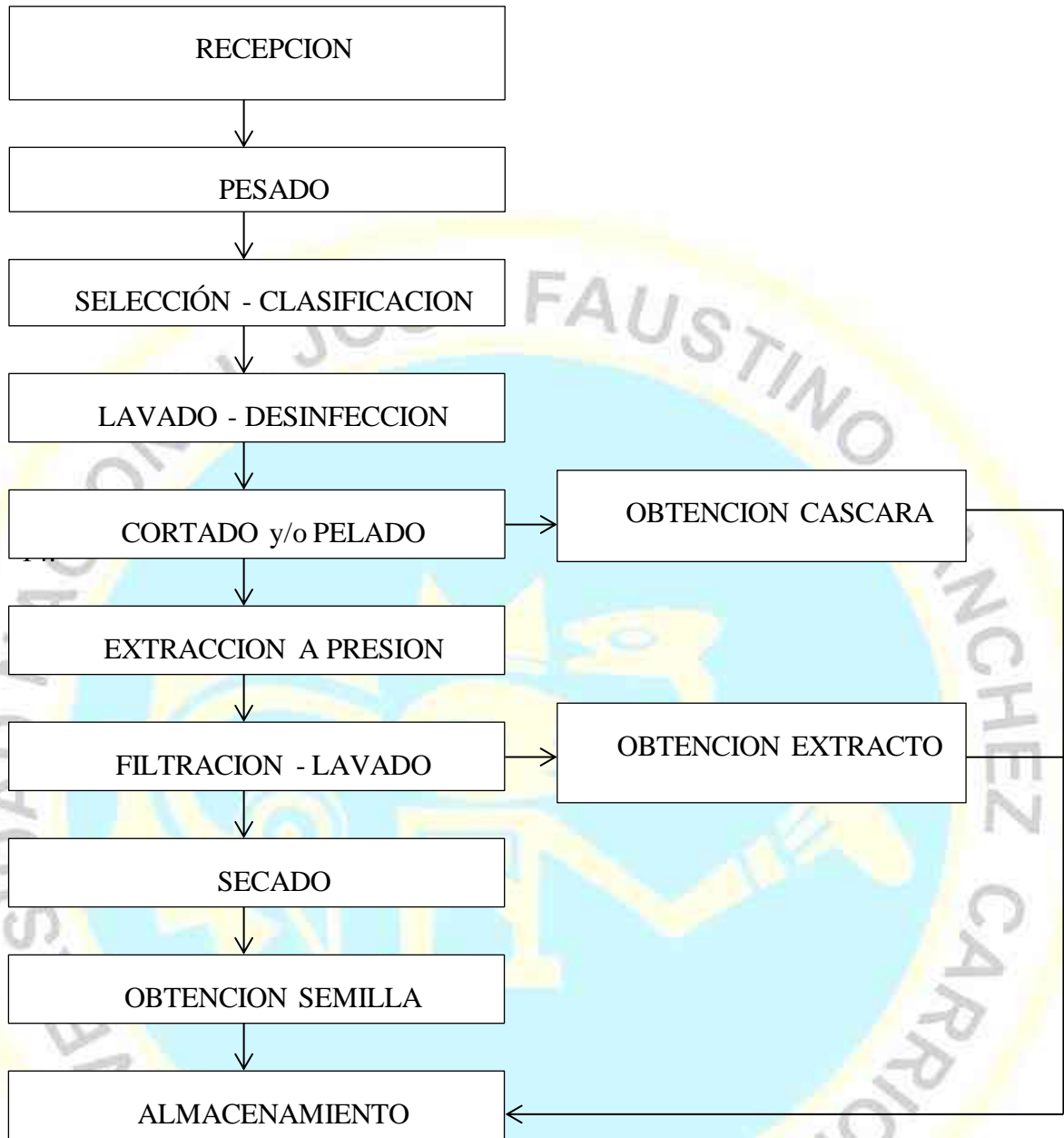


Figura 6. Diagrama de flujo para la obtención de la cascara, semilla y pulpa del Ayrampo *Opuntia soehrensii* Britton & Rose. Elaboración propia (2021).

Liofilización de la muestra

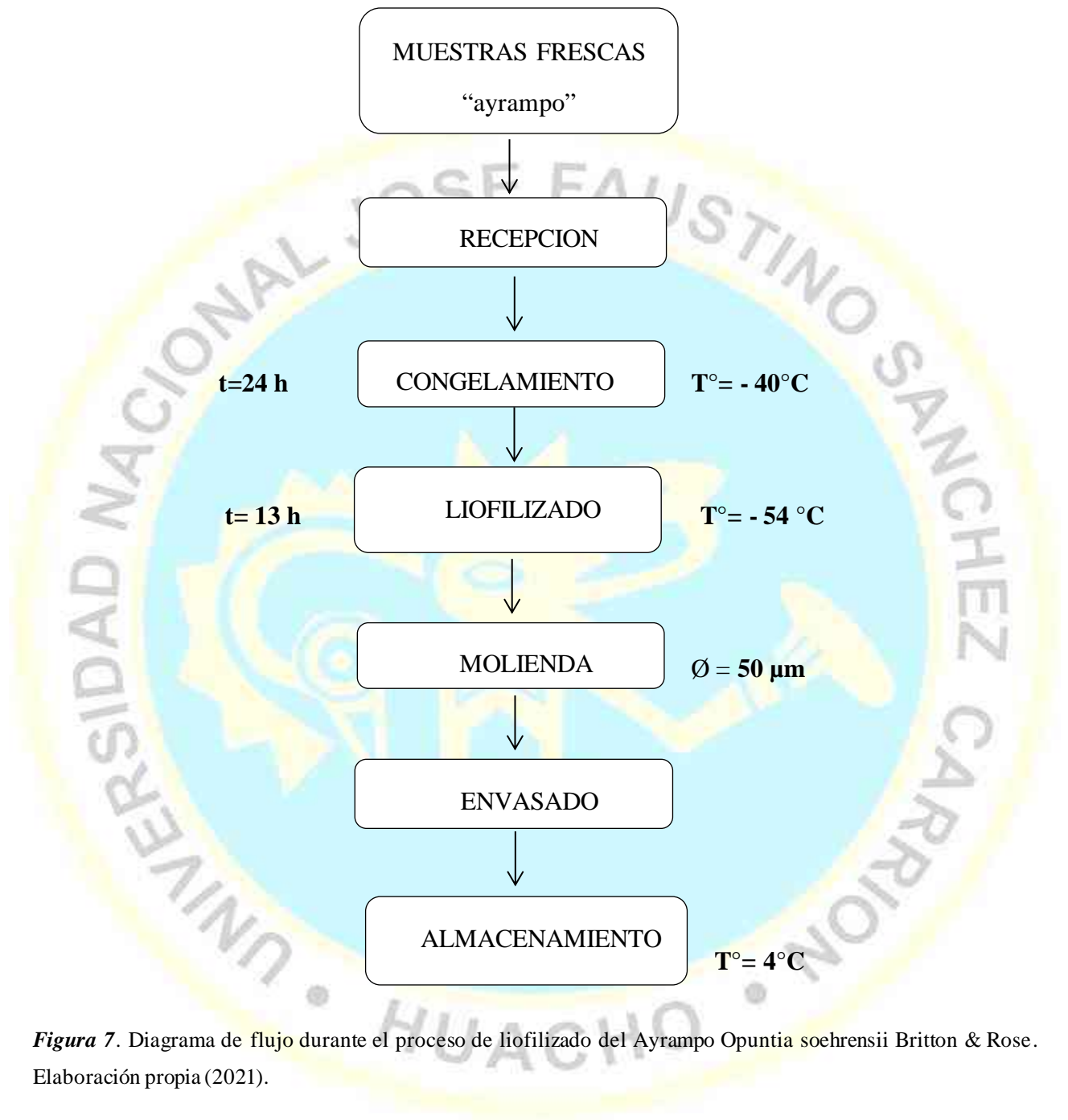


Figura 7. Diagrama de flujo durante el proceso de liofilizado del Ayrampo *Opuntia soehrensii* Britton & Rose. Elaboración propia (2021).

Extracción fenólica

1. **Muestras liofilizadas:** Para las muestras liofilizadas molidas (polvo) se pesan entre 0,0100-0,0500 gr las muestras cascara, semilla y pulpa, en microtubos de 2 ml. Luego en cada microtubo se le agrego 1ml metanol/agua (1:1) a pH 2.0 con HCL, se agito en un vortex durante 10 min a temperatura ambiente (1000 rpm), luego se llevó a la centrifuga a una velocidad máxima por 10 min a temperatura 4°C, después de haber finalizado se obtuvo muestras sedimentadas se procedieron a separar el sobrenadante (extracto metanólico) en otros microtubos con sus codificaciones respectivas y solo quedando el pellet.

En los microtubos que contienen pellet se le agrego 1ml acetona/agua (70:30), agitar en el vortex durante 10 min a temperatura ambiente, luego centrifugar a velocidad máxima por 10 min a temperatura 4°C, separar el sobrenadante en otros microtubos con sus codificaciones respectivas y solo quedando nuevamente el pellet. Teniendo los sobrenadantes uno extraído con metanol y el otro con acetona, se mezclaron de (1:1) obteniendo los extractos correspondientes cascara, semilla y pulpa para posteriores análisis, adaptado la metodología (Olga Tipe & Ugaz, 1990).

2. **Muestras frescas:** Para las muestras frescas se pesan entre 0,0100-0,100 gr las muestras cascara, semilla y pulpa, en microtubos de 2 ml. La extracción fue con etanol 1ml, metanol 1ml, agua 1ml, agua/metanol (1:1) 1ml y agua/etanol (1:1) 1ml por cada muestra. Luego se llevó al homogenizar con el vortex por 10 min a temperatura ambiente (1300rpm), centrifugar a una velocidad máxima por 10 min a una temperatura 4°C, finalizado tenemos las muestras sedimentadas las cuales en otros microtubos de 2ml codificados respectivamente se separan obteniendo los extractos (sobrenadante) cascara, semilla y pulpa para posteriores análisis.

3.4.3 Descripción de los instrumentos

Caracterización de la muestra

1. Determinación de sólidos solubles Totales (SST): La evaluación se realizó con el método (A.O.A.C., 1990). Los SST se determinaron en un refractómetro digital, previamente calibrado con agua destilada y se reportaron como grados Brix (°Brix). Las mediciones se realizaron por triplicado.
2. Determinación del pH: El pH se cuantificó por triplicado del fruto “Ayrampo” utilizando un potenciómetro digital, sumergiendo directamente el electrodo previamente calibrado en buffer de pH 4 y 7. Un contenido de 40 mL de la muestra fue colocado en un vaso precipitado de 50 mL para las respectivas mediciones de acuerdo con el método (A.O.A.C., 1995).
3. Determinación Acidez: Empleando el titulador automático digital HI84532, se añadió 5ml de jugo de fruta “Ayrampo” en un vaso precipitado la cual se mide con precisión y se enrasa hasta los 50 ml con agua destilada, finalmente se hace la lectura de la titulación respectiva expresado en porcentaje (%) de ácido cítrico; las mediciones se realizaron por triplicado. La metodología empleada recomendado por (A.O.A.C., 1990)
4. Determinación Humedad: se utilizó un instrumento de humedad para tratar la humedad como pérdida de peso después del secado. El instrumento utiliza una escala de torsión sensible para pasar la muestra y utiliza lámpara infrarrojos para el secado; según la Norma Mexicana (NMX-F-428, 1982); establece el método de prueba rápido por termo balanza. Para la determinación se utilizó 5g de muestra pesada en la misma balanza y se distribuye cuidadosamente en toda un área, de las partes de “Ayrampo” (semilla, cascará y pulpa) respectivamente, y se baja la tapa de la balanza, la muestra automáticamente comenzará a perder agua, después pasado un tiempo deberá tomarse la lectura como porcentaje total de humedad.

Determinación de la concentración de betalainas totales

El contenido de betalainas totales se determina con la suma de pigmentos de betaxantinas (BC) y betacianinas (BX) cuantificado según el método espectrofotométrico adaptado a un lector de microplacas. Se emplearon dos formas de calcular el contenido de betalainas totales desde los extractos, el primero a base al método descrito por Castellanos Santiago & M.Yahia (2008), la absorbancia de los extractos de las muestras colocadas en una microplaca determinado las betalainas a 538 y 483 nm en un espectrofotómetro UV-SYNERGY HTX, en la segunda forma es según la metodología propuesta por (Abderrahim et al., 2015) donde la misma microplaca se obtienen espectros de absorción de los extractos por triplicado a 400 – 700 nm cada 1nm. Se utilizo procedimientos conocido como deconvolucion de residuos para la separación y análisis de picos betaxantinas (BC) y betacianinas (BX) utilizando una línea de base lineal, un filtro FFT para suavizar y un modelo tipo de pico de Gauss usando el software PeakFit v.4.12 (Systat Software, Inc., EE.UU). Los contenidos betaxantinas (BC) y betacianinas (BX) se cuantificaron a partir de la absorbancia estimada, después de la separación del pico.

Para ambas formas de conversión se tiene la siguiente expresión:

$$\left(\frac{A}{W} \right) = \frac{A \text{ FD PM V}}{W L} \quad (1)$$

Dónde:

B= betacianinas o betaxantinas

A= 538 nm (betacianinas) y 483 (betaxantinas)

FD= factor dilución

L= Longitud de la celda en cm

W= masa de la muestra en gramos

Para determinar los valores de betacianinas se usaron del peso molecular PM=550g/mol y coeficiente de extensión molar de betanina =60000 L.cm/mol y para determinar las

betaxantinas, los valores del peso molecular $PM=390\text{g/mol}$ y coeficiente de extensión molar de dopaxantina $\epsilon=48000\text{ L.cm/mol}$. Para obtener la concentración de betalainas totales se desarrolla la siguiente expresión:

$$\left(\frac{A}{\epsilon \cdot d} \right) = BC + BX \quad (2)$$

Para este análisis las mediciones se cuantificaron por triplicado. El protocolo se detalla en el **Anexo 3**.

Determinación de polifenoles totales (FT)

Se preparó una curva de calibración del ácido gálico con las siguientes concentraciones: 26,25; 15,5; 8,75; 4,375; 2,1875; 1,094 y 0,547 mg/L diluidas en agua destilada en diferentes micro tubos de 2ml rotulados respectivamente. Las muestras extractables frescas y liofilizadas de “ayrampo” fueron diluidas de (1:5), excepto la muestra fresca semilla-etanol (1:30) con agua destilada también rotuladas respectivamente.

Se inyectaron en las primeras tres columnas la curva del ácido gálico 50 uL en la micro placa; luego en las siguientes celdas se coloca las muestras correspondientes con un volumen de 50uL por muestra (tres recipientes por muestra), seguidamente se agrega reactivo Folin-Ciocalteu 50 uL, homogenizar e incubar a temperatura ambiente por 2 min, por último, agregar 100 uL de hidróxido de sodio (0,25M) e incubar a temperatura ambiente por 5 a 10 min. Finalmente se hizo la lectura correspondiente; teniendo en cuenta que el método desarrollado fue cuantificado por triplicado (Magalhaes et al., 2010). El protocolo se detalla en el **anexo 4**.

Transcurrido el tiempo la absorbancia leyó a 760 nm en el espectrofotómetro UV-SYNERGY HTX. Los resultados fueron expresados en mg de ácido gálico por gr de muestra de ayrampo.

Determinación capacidad de antioxidante

- **Método del ABTS+:** Se preparó la curva estándar Trolox con las siguientes concentraciones: 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,625; 7,8125 uM diluidas en buffer fosfato 5nM en diferentes micros tubos de 2ml rotulados respectivamente. Una vez preparado el radical ABTS preparamos la solución de trabajo ABTS*; ABTS radical y buffer fosfato 5mM (proteger de la luz). Las muestras extractables frescas y liofilizadas de “ayrampo” fueron diluidas (1:5) con buffer fosfato también rotuladas respectivamente. Se inyectaron en las primeras celdas la curva estándar Trolox y los controles de buffer fosfato con un volumen de 10 uL, luego se agregaron las muestras diluidas respectivamente 10 uL en las celdas restantes con el fin de reaccionar con la solución de trabajo ABTS* 100 uL (3 recipientes por muestra). Se leyó a una absorbancia 734nm en el espectrofotómetro UV-SYNERGY HTX, las mediciones del análisis fue determinado por triplicado. (Re et al., 1999) .**Anexo 5.**

Los resultados fueron expresados ACTE (actividad antioxidante equivalente a trolox) uMol ET/g.

- **Método FRAP:** Se preparó el Ac. Gálico a una concentración de 5878,2 uM con agua destilada; a partir de esta solución se hacen las respectivas diluciones para la curva estándar a las concentraciones siguientes: 0, 25, 50, 75, 100 y 125 uM. Luego se preparó la solución de trabajo FRAP (10 mL buffer acetato + 1mL de solución TPTZ + 1mL de solución de FeCL3) mezclar en un frasco oscuro; la preparación va depender la cantidad de muestra a cuantificar.

Durante la aplicación en micro placa y lectura: para la curva estándar se inyecta las diluciones de diferentes concentraciones en la micro placa (tres primeras columnas) 20 uL de menor concentración a mayor concentración; para las muestras extractables frescas y liofilizadas de “ayrampo” se aplica diluciones previamente, en la micro placa se inyecta un volumen de 20 uL en cada recipiente, (20 uL por 3 repeticiones, 3 recipientes por muestra). Finalmente leer la absorbancia a 593 nm en el espectrofotómetro UV-SYNERGY HTX (Temperatura a 37° C, inyección de solución

de trabajo igual a 150 uL, Shaker igual a 3 segundos y leer a los 8 min).(Szeto et al., 2002) .

Anexo 6. Los resultados se expresaron en (uMol acido gálico / g muestra).

- **Método ORAC-FL:** Capacidad antioxidante *in vitro* según método ORAC_{FL} fue medido en los extractos según la técnica propuesta por la A.O.A.C; First Action 2012.03 (Ou et al., 2019), Se preparó las soluciones de buffer fosfato 75mM a un pH 7.4 con NaOH 1M, la fluoresceína 3 uM disuelta con buffer fosfato 75Mm, solución de radical AAPH 253mm disuelta con buffer fosfato, el experimento fue en una placa de 96 pozos de color negra (Costar, España) donde en cada pozo debe inyectarse 150 uL de solución de trabajo fluorescencia (111.2 nM); luego se añade 25uL de tampón fosfato 75Mm, estándar, control y muestras en pozos apropiados. (Dávalos et al., 2004).

En la incubación se coloca la placa ya preparada en el lector de placa y se fija la temperatura a 37°C durante 30 min. Luego pasado el tiempo se añade 25ul de AAPH (253uMol) en los pozos automáticamente por el equipo para hacer un volumen final 200 uL. La intensidad de la fluorescencia se midió empleando un lector multimodal

Finalmente, la intensidad de fluorescencia se realizó la lectura a una longitud de onda de excitación y emisión (485 y 528 nm) respectivamente empleando el lector de micro placas Uv-Synergy HTX (Biotek, Rochester, VT, USA). La curva estándar se realizó con trolox (6,25 a 300 uM). **Anexo 7.**

Los resultados fueron expresados (uMol de Trolox/g de muestra fresca y liofilizada).

- **Método PCL – Photoquimioluminiscencia:** Este presente método es usada para medir la capacidad antioxidante *in vitro*, se empleó el equipo llamado Photochem (Analytic jena, AG, Jena Alemania) con un kit integral de reactivos (R1, R2,R3 Y R4) para sustancias solubles en lípidos (ACL), en este ensayo, una sustancia fotosensibilizadora en volúmenes estandarizados actúa como una fuente de radical anión superóxido que produce los radicales por excitación óptica. Los radicales residuales que quedan después de reaccionar parcialmente con los antioxidantes presentes en la muestra hacen que la sustancia detectora luminol se ilumine. Luego de determina la luminiscencia:

Se preparó las solución-R3 (luminol) que es necesario activarla con un buffer-R2, diluir solución-R4 (trolox) en metanol-R1 y solución de calibración a partir de los reactivos (metanol, buffer, luminol y trolox). Preparación de la curva estándar a diferentes concentraciones: 0; 0,5; 0,75; 1; 2 y 3 nMol de trolox, se añaden a diferentes tubos específicos de kit de análisis, antes de la lectura se mezclan todos los reactivos. Preparación de la muestra de “ayrampo” fue diluida a partir del extracto empleando metanol (R1), a una concentración de medida (Albavera Arce, 2016).

Anexo 8. Los resultados se expresan Capacidad de Antioxidante Trolox ($\mu\text{Mol/g}$ muestra).

3.5 Técnicas para el procesamiento de la información

Los análisis estadísticos como; ANOVA y Tukey, utilizando programas de cálculo. También se empleará el Software del equipo lector de micro placa multimodal, GEN 5. Para la representación de los resultados tendremos gráficos lineales, diagramas o tablas de resultado por análisis. Para la evaluación estadística se utilizó \pm (DS) desviación estándar (ANOVA), la significancia del análisis de varianza es a 0,05%; cuando se encuentra una diferencia significativa ($p < 0,05$) se realiza la prueba de comparación de medias de tukey, todas las muestras extraídas individualmente ($n=3$) se analizaron por triplicado. Los resultados fueron procesados con el programa estadísticos Minitab 21 y Microsoft Excel 2019.

CAPITULO IV. RESULTADOS

Propiedades físicas y físico-químicas de la materia prima

A continuación, en la tabla 6 se muestran los resultados obtenidos del análisis físico químico pH, °Brix, acidez (expresado % ácido tartárico), humedad en el fruto de ayrampo, para lo cual se seleccionaron 2 kg de ayrampo bajo los siguientes criterios: madurez de consumo, textura y sin rastros de deterioro; y a la vez fue calibrado, obteniendo su respectivo rendimiento en las partes del fruto.

Tabla 6

*Resultados de las propiedades físicas y físico-químicas del fruto del ayrampo *Opuntia soehrensii* Britton & Rose como media \pm SD (n=3)*

Medida	Promedio \pm SD	Parte usada
pH	2,845 \pm 0,01	
Sólidos Solubles (°Brix)	9,492 \pm 0,614	Pulpa
Acidez (%)	1,45 \pm 0,04	
Humedad (%)	25,916 \pm 0,01	Pulpa
	86,089 \pm 0,01	Cáscara
	92,185 \pm 0,46	Semilla
Peso (g)	22,755 \pm 2,195	
Largo (cm)	3,850 \pm 0,383	Todo
Ancho (cm)	3,250 \pm 0,235	
Rendimiento (%)	35,366	Pulpa
	41,463	Cáscara
	12,195	Semilla

Elaboración propia (2021).

Los valores presentan (promedio \pm DS) datos provienen (n=3).

En la tabla 6, el fruto de ayrampo en la parte de la semilla presenta un alto contenido de humedad (92,185%), respecto de la cascara (86,089 %) y la pulpa (25,916%); pH ácido (2,835); un valor de °Brix ($9,492 \pm 0,614$); porcentaje de acidez moderadamente bajo (1,45%); presentando un peso promedio en gramos (22,755); las dimensiones en centímetros largo y ancho ($3,850 \pm 0,383$ y $3,250 \pm 0,235$); con respecto al rendimiento del fruto, se calculó un porcentaje más alto para la cascara (41,463%) seguidamente de la pulpa (35,366%) y la semilla (12,195%).

Cuantificación betalainas totales

A continuación, se muestran los resultados de la cuantificación de betalainas totales que fueron expresadas (mg de betalainas totales / g de muestra), para las muestras de extractos de ayrampo, mediante un método diferenciado.



Tabla 7

Resultados del contenido de betalainas totales (BET) de los extractos frescos en las partes del ayrampo *Opuntia soehrensii* Britton & Rose como media \pm SD (n=3).

Determinación directa			
Extracto	Cascara BET (mg/g)	Pulpa BET (mg/g)	Semilla BET (mg/g)
Agua	1,686 \pm 0,229 ^a	0,312 \pm 0,002 ^a	0,167 \pm 0,214 ^a
Agua/Metanol	1,152 \pm 0,038 ^b	0,283 \pm 0,019 ^{ab}	0,054 \pm 0,066 ^a
Agua/Etanol	1,106 \pm 0,103 ^b	0,228 \pm 0,045 ^b	0,036 \pm 0,044 ^a
Metanol	0,202 \pm 0,035 ^c	0,122 \pm 0,008 ^c	0,162 \pm 0,055 ^a
Etanol	0,027 \pm 0,005 ^c	0,017 \pm 0,011 ^d	0,010 \pm 0,007 ^a
Método deconvolucion			
Extracto	Cascara BET (mg/g)	Pulpa BET (mg/g)	Semilla BET (mg/g)
Agua	1,443 \pm 0,324 ^a	0,377 \pm 0,027 ^a	0,067 \pm 0,016 ^b
Agua/Etanol	1,434 \pm 0,116 ^a	0,338 \pm 0,016 ^a	0,104 \pm 0,020 ^b
Agua/Metanol	1,172 \pm 0,049 ^a	0,349 \pm 0,00 ^a	0,066 \pm 0,023 ^b
Metanol	0,293 \pm 0,044 ^b	0,151 \pm 0,017 ^{ab}	0,273 \pm 0,069 ^a
Etanol	0,071 \pm 0,003 ^b	0,061 \pm 0,003 ^b	0,077 \pm 0,017 ^b

Elaboración propia (2021)

Los valores presentan (promedio \pm DS) datos provienen (n=3). ^{a, b, c, d} letras distintas en una misma columna indican diferencias significativas (p<0,05). BET: Betalainas totales.

En la tabla 7 se puede observar que las muestras de cascara presentan mayor cantidad de promedio de betalainas totales, las muestras extraídas con agua (1,686 \pm 0,229 mg de betalainas totales/g muestra) por determinación directa; (1,443 \pm 0,324 mg de betalainas totales/g muestra) método deconvolucion son las que presentan un alto contenido de betalainas totales.

Las muestras extraídas con agua: metanol y agua: etanol ($1,152 \pm 0,038$ mg de betalainas totales/g muestra y $1,106 \pm 0,103$ mg de betalainas totales/g muestra) y ($1,443 \pm 0,324$ mg de betalainas totales/g muestra y $1,172 \pm 0,049$ mg de betalainas totales/g muestra) respectivamente son las que presentan menor cantidad de betalainas totales en el ayrampo *Opuntia soehrensii* Britton & Rose.

Determinar las partes del fruto ayrampo *Opuntia soehrensii* Britton & Rose que tienen mayor contenido de polifenoles totales

Tabla 8

*Resultados de Polifenoles Totales (mg de ácido gálico / g) en los extractos liofilizados y frescos en las partes de ayrampo *Opuntia soehrensii* Britton & Rose*

Liofilizado			
Extracto	Cascara	Pulpa	Semilla
	PT (mg EAG/g)	PT (mg EAG/g)	PT (mg EAG/g)
Metanol/Acetona	$11,117 \pm 0,806$	$7,532 \pm 0,402$	$3,604 \pm 0,334$
Frescos			
Extracto	Cascara	Pulpa	Semilla
	PT (mg EAG/g)	PT (mg EAG/g)	PT (mg EAG/g)
Agua	$1,536 \pm 0,101^b$	$0,011 \pm 0,000^d$	$1,213 \pm 0,079^b$
Metanol	$0,019 \pm 0,001^d$	$0,576 \pm 0,047^c$	$0,905 \pm 0,085^c$
Etanol	$0,809 \pm 0,078^c$	$0,731 \pm 0,060^b^c$	$0,051 \pm 0,002^d$
Agua/Metanol	$1,874 \pm 0,184^a$	$0,912 \pm 0,038^a$	$1,379 \pm 0,133^{ab}$
Agua/Etanol	$1,651 \pm 0,159^{ab}$	$0,788 \pm 0,077^{ab}$	$1,540 \pm 0,136^a$

Elaboración propia (2021)

Los valores presentan (promedio \pm DS) datos provienen (n=3). ^{a, b, c, d} letras distintas en una misma columna indican diferencias significativas (p<0,05). PT: Polifenoles totales.

Tabla 8 se observa que la muestra liofilizada del extracto presenta un alto contenido en la cascara; la muestra de cascara ($11,117 \pm 0,806$ mg de ácido gálico / g muestra liofilizada) la que presenta una mayor cantidad de polifenoles totales, las muestras de pulpa y semilla ($7,532 \pm 0,402$ mg de ácido gálico / g muestra liofilizada y $3,604 \pm 0,334$ mg de ácido gálico / g muestra liofilizada) son las que presentan menor cantidad de polifenoles totales en el ayrampo *Opuntia soehrensii* Britton & Rose.

Conocer las partes del fruto ayrampo *Opuntia soehrensii* Britton & Rose que contiene mayor capacidad antioxidante

Tabla 9

Resultados de captación de radicales libres ABTS (uMol Equivalente Trolox / g) en los extractos del ayrampo *Opuntia soehrensii* Britton & Rose como media \pm SD (n=3)*

Liofilizado			
Extracto	Cascara	Pulpa	Semilla
	ABTS (uMol ET/g)	ABTS (uMol ET/g)	ABTS (uMol ET/g)
Metanol/Acetona	$89,385 \pm 2,966$	$24,753 \pm 1,547$	$77,353 \pm 1,344$
Frescos			
Extracto	Cascara	Pulpa	Semilla
	ABTS (uMol ET)	ABTS (uMol ET/g)	ABTS (uMol ET/g)
Agua	$21,859 \pm 0,775^a$	$16,778 \pm 0,322^a$	$2,302 \pm 0,184^c$
Metanol	$12,434 \pm 1,027^b$	$8,377 \pm 0,629^b$	$1,557 \pm 0,095^c$
Etanol	$9,926 \pm 0,765^b$	$6,430 \pm 0,537^b$	$1,005 \pm 0,082^c$
Agua/Metanol	$24,054 \pm 1,055^a$	$16,445 \pm 1,026^a$	$11,224 \pm 0,537^b$
Agua/Etanol	$22,617 \pm 1,308^a$	$15,985 \pm 1,131^a$	$45,476 \pm 2,449^a$

Elaboración propia (2021)

Los valores presentan (promedio \pm DS) datos provienen (n=3). ^{a, b, c, d} letras distintas en una misma columna indican diferencias significativas (p<0,05).

Tabla 9 se observa que las muestras liofilizadas extraídas con metanol: acetona presentan un alto contenido de capacidad de antioxidante; las muestras de semilla y pulpa ($77,353 \pm 1,344$ uMol Equivalente Trolox / g y $24,753 \pm 1,547$ uMol Equivalente Trolox / g) son las que presentan menor capacidad de antioxidante ABTS, siendo la muestra de cascara ($89,385 \pm 2,966$ uMol Equivalente Trolox / g) la que presenta mayor capacidad de antioxidante ABTS en el ayrampo *Opuntia soehrensii* Britton & Rose.

Tabla 10

Resultados de captación férrica FRAP (uMol ácido gálico / g) en los extractos del ayrampo *Opuntia soehrensii* Britton & Rose como media \pm SD (n=3)

Liofilizado			
Extracto	Cascara	Pulpa	Semilla
	FRAP(uMolAG/g)	FRAP(uMolAG/g)	FRAP (uMolAG/g)
Metanol/Acetona	$24,531 \pm 0,480$	$10,438 \pm 0,154$	$7,117 \pm 0,500$
Frescos			
Extracto	Cascara	Pulpa	Semilla
	FRAP (uMolAG/g)	FRAP(uMolAG/g)	FRAP (uMolAG/g)
Agua	$3,975 \pm 0,121^b$	$1,497 \pm 0,152^c$	$2,079 \pm 0,180^c$
Metanol	$2,415 \pm 0,124^c$	$1,263 \pm 0,116^c$	$2,265 \pm 0,080^c$
Etanol	$1,988 \pm 0,123^c$	$1,211 \pm 0,015^c$	$5,448 \pm 0,237^a$
Agua/Metanol	$5,730 \pm 0,188^a$	$2,509 \pm 0,108^a$	$3,332 \pm 0,131^b$
Agua/Etanol	$4,443 \pm 0,450^b$	$1,852 \pm 0,173^b$	$3,676 \pm 0,219^b$

Elaboración propia (2021)

Los valores presentan (promedio \pm DS) datos provienen (n=3). ^{a, b, c, d} letras distintas en una misma columna indican diferencias significativas (p<0,05).

En la tabla 10, las muestras liofilizadas extraídas con acetona: metanol presentan un alto contenido de capacidad de antioxidante con el método FRAP; la muestra de cascara ($24,531 \pm 0,480$ uMol ácido gálico / L) la que presenta mayor cantidad de capacidad de antioxidante, seguidamente de la pulpa ($10,438 \pm 0,154$ uMol ácido gálico / L) y la semilla ($7,117 \pm 0,500$ uMol ácido gálico/L) presenta una menor cantidad de capacidad de antioxidante en el ayrampo *Opuntia soehrensii* Britton & Rose.

Tabla 11

*Resultados de disminución de la fluorescencia orac_{FL} (uMol Equivalente Trolox / g) en los extractos del ayrampo *Opuntia soehrensii* Britton & Rose como media \pm SD (n=3)*

Liofilizado			
Extracto	Cascara	Pulpa	Semilla
	ORAC(uMolET/g)	ORAC(uMol ET/g)	ORAC(uMol ET/g)
Metanol/Acetona	$674,571 \pm 664,552$	$486,520 \pm 466,908$	$299,898 \pm 364,179$
Frescos			
Extracto	Cascara	Pulpa	Semilla
	ORAC (uMolET/g)	ORAC(uMolET/g)	ORAC(uMolET/g)
Agua/Metanol	$259,751 \pm 255,358^a$	$77,654 \pm 52,464^a$	$114,221 \pm 97,114^a$
Agua/Etano	$179,390 \pm 110,659^a$	$79,811 \pm 53,672^a$	$296,908 \pm 201,363^a$

Elaboración propia (2021)

Los valores presentan (promedio \pm DS) datos provienen (n=3). ^{a, b, c, d} letras distintas en una misma columna indican diferencias significativas ($p < 0,05$).

En la tabla 11, las muestras liofilizadas extraídas con acetona: metanol presentan un alto contenido de capacidad de antioxidante con el método ORAC_{FL}; la muestra pulpa y semilla ($486,520$ uMol ET/g y $299,898$ uMol ET/g) presentan menor cantidad de capacidad de antioxidante, siendo la muestra de la cascara ($674,571$ uMol ET/g) que presenta mayor capacidad de antioxidante en el ayrampo *Opuntia soehrensii* Britton & Rose.

Tabla 12

Resultados de *PLC* photoquimioluminiscencia (uMol Equivalente Trolox /g) en los extractos del ayrampo *Opuntia soehrensii* Britton & Rose como media \pm SD (n=3)

Liofilizado			
Extracto	Cascara	Pulpa	Semilla
	P (uMol ET/g)	P (uMol ET/g)	P (uMol ET/g)
Metanol/Acetona	15,137 \pm 1,360	7,449 \pm 0,347	111,921 \pm 12,068
Frescos			
Extracto	Cascara	Pulpa	Semilla
	P (uMol ET/g)	P (uMol ET/g)	P (uMol ET/g)
Agua/Metanol	11,054 \pm 0,742 ^a	4,707 \pm 0,177 ^b	24,503 \pm 2,184 ^b
Agua/Etanol	8,867 \pm 0,689 ^b	5,621 \pm 0,127 ^a	34,320 \pm 2,786 ^a

Elaboración propia (2021)

Los valores presentan (promedio \pm DS) datos provienen (n=3). ^{a, b, c, d} letras distintas en una misma columna indican diferencias significativas (p<0,05).

En la tabla 12, las muestras liofilizadas extraídas con acetona: metanol presentan un alto contenido de capacidad de antioxidante con el método *PLC*; la muestra de semilla (111,921 uMol ET /g) la que presenta mayor contenido de capacidad de antioxidante, siendo las muestras de cascara y pulpa (15,137 uMol ET /g y 7,449 uMol ET /g) que presentan menor contenido de capacidad de antioxidante en el ayrampo *Opuntia soehrensii* Britton & Rose.

CAPÍTULO V: DISCUSIÓN

5.1 Discusión de resultados

Para dar lugar al cumplimiento de los objetivos establecidos en la presente investigación fue necesario conocer las características físicas y físico-químicas de ayrampo *Opuntia soehrensii* Britton & Rose tabla 06, de lo cual se obtuvo que en la parte de la semilla presenta un alto contenido de humedad (92,185%), pH ácido (2,835); un valor de °Brix (9,492); porcentaje de acidez moderadamente bajo (1,45%); presentando un peso promedio en gramos (22,755); las dimensiones en centímetros largo y ancho (3,850 y 3,250) y finalizando con un rendimiento más alto por parte de cascara (41,463%).

En su investigación realizada por (Sawicki et al., 2016) para la determinación del perfil de betalainas la parte que destaco por la mayor parte con (17,24 mg/g) de betalainas estuvo presente en la cascara de la raíz remolacha roja, así mismo (García Cruz et al., 2012) para la determinación de betalainas totales manifiesta que el contenido de BET/100gr muestra seca para la pitaya de mayo roja se obtuvo el valor más alto registrando $347,3 \pm 21,0$ mg betalainas totales. Destacando valores mayores en comparación que la investigación, cuanto a las partes del fruto ayrampo *Opuntia soehrensii* Britton & Rose con mayor contenido de betalainas en la tabla 07, las muestras de cascara presentan mayor cantidad de promedio de betalainas totales ($1,686 \pm 0,229$ mg BET/g) y ($1,443 \pm 0,324$ mg BET/g) mediante los dos métodos directa y desconvolucion respectivamente todos extraídos con agua base a muestra fresca. Esto teniendo en cuenta que, “el pigmento extraído de este fruto es más tolerable organolépticamente en comparación con la remolacha, ya que poseen un escaso sabor y esta característica le atribuye un alto potencial en propiedades de coloración y anti oxidativa en vez que como alimento” (Carpio, Y., & Portugal, 2014).

En su investigación (Jorge & Troncoso, 2016). Manifiesta en la determinación de polifenoles totales la mayor concentración está presente en el fruto fresco ayrampo con (107,3 y 68,7 mg equivalente de ácido gálico/100 g ff) en comparación con la tuna. También (García Cruz et al., 2012) reporta en su investigación en su estudio en cuanto al contenido de polifenoles totales de la pitaya de mayo (*Stenocereus griesus* H.), el contenido más alto de polifenoles totales resulto $166,5 \pm 14,4$ mg Equiv. Ac. Gálico/100g pulpa seca para pitaya roja; mientras

el contenido más bajo con $52,8 \pm 3,8$ mg Equiv. Ac. Gálico / 100g pulpa seca para pitaya naranja.

Los resultados expuestos en la tabla 08, las partes del fruto ayrampo *Opuntia soehrensii Britton & Rose* que tienen mayor contenido de polifenoles totales, en la muestra liofilizada del extracto de cascara (11,117 mg de ácido gálico / g muestra liofilizada) la que presenta una mayor cantidad de polifenoles totales. Encontrándose que la cantidad de polifenoles totales presentes en la cascara del fruto ayrampo *Opuntia soehrensii Britton & Rose* presentan alto contenido a diferencia de lo reportado por (Jorge & Troncoso, 2016) y (García Cruz et al., 2012).

Pero superior reportados por (Vicente Ochoa, 2019) en la cuantificación de polifenoles totales en frutos de *Vitis vinifera L.* "vid", del valle de cañete, el contenido más alto de polifenoles totales resulto 42,72 mg Equiv. Ac. Gálico/g cascara (red glove); mientras el contenido más bajo con 19,51 mg Equiv. Ac. Gálico / g de cascara (Italia). Estas diferencias caben destacar que están, "directamente relacionados con las características sensoriales del alimento". (Yahia, E., & Mondragón, 2011).

Finalmente, en las tablas 9, 10, 11 y 12 se muestran los resultados de las evaluaciones de la capacidad de antioxidante por los métodos ABTS*, FRAP, ORAC_{FL} y PLC de las partes (semilla, pulpa y cascara) del fruto ayrampo *Opuntia soehrensii Britton & Rose* para establecer el alto contenido de la capacidad de antioxidante:

En su investigación (Jorge & Troncoso, 2016) reporta para la determinación de capacidad de antioxidante de *Opuntia apurimacensis* (ayrampo) y de *Opuntia ficus-indica* (tuna) por el método captación férrica (FRAP) adaptado por (Szollosi R, 2002), el resultado obtenido fue (1,1 – 0,7 mmol Fe/ 100gr fruto fresco) este valor supero a lo reportado en fruto fresco tuna *Opuntia ficus-indica*, guardando relación directa con los componentes bioactivos (vitamina C y polifenoles totales).

Seguidamente las partes del fruto ayrampo *Opuntia soehrensii Britton & Rose* que contiene mayor capacidad antioxidante, son muestras liofilizadas extraídas con acetona/metanol por medio de los métodos considerados : captación de radicales libres ABTS*, método captación férrica FRAP y método disminución fluorescencia ORAC_{FL}, la muestra de la cascara

presenta mayor capacidad de antioxidante en el ayrampo *Opuntia soehrensii Britton & Rose*, valores obtenidos presentes en la cascara por: ABTS* ($89,325 \pm ,2966$ uMol ET/g) FRAP ($24,531 \pm 0,480$ uMol acido gálico /g) y ORAC ($674,571$ uMol ET/g) valores superiores en comparación con lo reportado por (Jorge & Troncoso, 2016).

Encontrándose que la cantidad de antioxidante presente en la cascara analizadas por nuestra investigación está por encima del rango por el método FRAP; por debajo por el método ABTS* reportados por (Vicente Ochoa, 2019) en su estudio “determinación de capacidad de antioxidante y fenoles totales en frutos de vitis vinifera L. del valle de cañete, alcanzan una actividad antioxidante: FRAP (5,04 a 1,64 umol EAG/g cascara) red globe a uva Italia y ABTS (383,71 umol TE/g cascara) borgoña blanca a uva Italia; manifiesta que las uvas provenientes del valle de cañete acumulan mayores compuestos bioactivos que son responsables de un alta capacidad antirradical presente en la cascara de la fruta, indicando que las frutas analizadas son fuente natural de compuestos antioxidantes.

Asimismo, las muestras liofilizadas extraídas con acetona/metanol con el método PLC la muestra de semilla ($111,921$ uMol ET /g) la que presenta mayor contenido de capacidad de antioxidante.

En su investigación (Contreras Orellana, 2019) “determinación de capacidad antioxidante y fenoles totales en semillas de vitis vinifera L. Vid del valle de cañete”, presentan valores más altos con respecto a la investigación. La variedad Quebranta mostro mayor promedio de capacidad de antioxidante y la variedad Borgoña negra arrojó el menor promedio de capacidad de antioxidante. Siendo los valores altos en el ensayo ABTS+ dio 1292.94 a 660.4 uMol Equiv. Trolox/g de semillas, en la prueba de FRAP se obtuvo 451.19 a 225.01 uMol Equiv. Ácido gálico/g de semilla.

Explica este comportamiento porque “la capacidad antioxidante de los alimentos por causa de la actividad biológica de los antioxidantes de diversos compuestos (polifenoles, carotenos, antocianinas, betalainas, ácido ascórbico y etc.), que producirán un efecto sinérgico frente a los antioxidantes del fruto” (Repo & Encina, 2008).

CAPITULO VI. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

6.1 Conclusiones

Las partes del fruto ayrampo *Opuntia soehrensii Britton & Rose* con mayor contenido de betalainas (1,686 mg/g) es la correspondiente a la cascara.

Las partes del fruto ayrampo *Opuntia soehrensii Britton & Rose* que tienen mayor contenido de polifenoles totales (11,117mg/g) responde a la formada por la cascara

Las partes del fruto ayrampo *Opuntia soehrensii Britton & Rose* que contiene mayor capacidad antioxidante (674,571uMol/g), es igual que con las propiedades anteriores, la cascara.

Lo anterior corresponde con lo evidenciado en la bibliografía, que ofrece una relación significativa entre la existencia de betalainas con la presencia de polifenoles y capacidad antioxidante.

6.2 Recomendaciones

Se necesita más investigación sobre la calidad de la materia, parámetros fisicoquímicos y sensoriales de la cascara del ayrampo *Opuntia soehrensii Britton & Rose*.

Es necesario establecer las condiciones requeridas para su comercialización, o uso en alimentos y bebidas del ayrampo *Opuntia soehrensii Britton & Rose*.

Determinar las betalainas presente, mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en el ayrampo *Opuntia soehrensii Britton & Rose*.

Comparar la estabilidad en el proceso cocción y horneado frente el contenido de fenoles en el ayrampo *Opuntia soehrensii Britton & Rose*.

Determinar la estabilidad del compuesto antioxidante para el uso en la industria alimentaria como aditivo del fruto ayrampo *Opuntia soehrensii Britton & Rose*.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

7.1 TESIS

7.1.1 Tesis en fisico

Calsin, A., y Yanqui, P. (1999). *Efectividad del Ayrampo y Limón en el Tratamiento de la Hipertensión Arterial en el Personal Administrativo de la UNA* (Tesis pregrado). Universidad Nacional del Altiplano, Puno, Perú.

Gamarra, S. (2003). *Extracción de Betaninas de las Semillas de Ayrampo, Evaluación de la Capacidad Antioxidante y Compuestos Fenólicos de los Extractos* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Agraria La Molina. Lima, Perú.

Tipe, O. (1989). *Estudio Técnico para la Optención de los Colorantes a Partir de los Frutos del Opuntia Soehrensii Ayrampo* (Tesis de Pregrado). Universidad Nacional San Cristóbal de Huamanga, Ayacucho, Perú.

Vicente Ochoa, M. del P. (2019). *Determinacion de capacidad antioxidante y fenoles totales en frutos de Vitis Vinifera L. "vid", del valle de cañete* (Tesis de pregrado). Universidad Nacional Jose Faustino Sanchez Carrion, Huacho, Perú.

7.1.2 Tesis online

Albavera Arce, S. (2016). *Diseño y caracterización de un mazapán con salvado de arroz como alternativa de refrigerio funcional* (Tesis de maestria). Recuperado de <https://tesis.ipn.mx/handle/123456789/20714>.

Aguilar, M. A. (2019). *Fenoles y capacidad de antioxidante de guatava (Psidium guajava), arándano (Vaccinium myrtillus) y fracciones comestibles y no comestibles pitahaya (Selenicereus megalanthus) y aguaymanto (Physalis peruviana)* (Tesis de pregrado). Recuperado de <http://repositorio.untrm.edu.pe/bitstream/handle/UNTRM/1874/Chauca%20Aguilar%20Miguel%20Angel.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Carpio, Y. y Portugal, J. (2014). *Determinación de parámetros tecnológicos para la obtención de un colorante natural de ayrampo (Opuntia sohrerensii) y su aplicación en la obtención de un alimento a base de harina de yuca* (Tesis de pregrado). Recuperado de <http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/3931/IQcaray1052.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Contreras Orellana, D. E. (2019). *Determinación de Capacidad Antioxidante y Fenoles Totales en Semillas de Vitis Vinifera L. "Vid", del Valle De Cañete* (Tesis de pregrado). Recuperado de <http://repositorio.unjfsc.edu.pe/bitstream/handle/UNJFSC/3064/DEYSI%20CONTRERAS%20ORELLANA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

Yury Huayta, F. (2016). *Determinación de los parámetros de coloración y su estabilidad colorante Ayrampo Tunilla soehrensii Britt & Rose en la elaboración del yogurt* (Tesis de pregrado). Recuperado de http://repositorio.unap.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/3268/Huayta_Flores_Yury.pdf?sequence=1&isAllowed=y

7.2 ARTÍCULOS

7.2.1 Artículos con doi

Butera, D., Tesoriere, L., Di Gaudio, F., Bongiorno, A., Allegra, M., Pintaudi, A. M., Kohen, R., y A Livrea, M. (2002). «*Antioxidant activities of Sicilian prickly pear (Opuntia ficus indica) fruit extracts and reducing properties of its betalains: betanin and indicaxanthin*». *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(23): 6895-6901. <https://doi.org/10.1021/jf025696p>

Castellanos Santiago, E. y M.Yahia, E. (2008). Identification and quantification of betalains from the fruits of 10 Mexican prickly pear Cultivars by high performance liquid chromatography and electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of Agricultura And Food Chemistry*, 56(14), 5758-5764. doi: <https://doi.org/10.1021/jf800362t>

- Dávalos, A., Gómez Cordovés, C., y Bartolomé, B. (2004). Extending Applicability of the Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC–Fluorescein) Assay. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(1), 48-54. doi: <https://doi.org/10.1021/jf0305231>
- Eberhardt, M. V., Kobira, K., Keck, A.-S., Juvik, J. A., y Jeffery, E. H. (2005). Correlation Analyses of Phytochemical Composition, Chemical, and Cellular Measures of Antioxidant Activity of Broccoli (*Brassica oleracea* L. Var. *italica*). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(19), 7421-7431. doi: <https://doi.org/10.1021/jf051495k>
- Ghiselli, A., Serafini, M., Maiani, G., Azzini, E., y Ferro-Luzzi, A. (1995). A fluorescence-based method for measuring total plasma antioxidant capability. *Free Rad Biol Med*. *Free radical biology and medicine*, 18(1), 29-36. doi: [https://doi.org/10.1016/0891-5849\(94\)00102-P](https://doi.org/10.1016/0891-5849(94)00102-P)
- Ou, B., Chang, T., Huang, D., y Prior, R. L. (2019). Determination of Total Antioxidant Capacity by Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) Using Fluorescein as the Fluorescence Probe: First Action 2012.23. *Journal of AOAC International*, 96(6), 1372-1376. doi: <https://doi.org/10.5740/jaoacint.13-175>
- Piatelli, M., Minale, L., y Prota, G. (1964). Isolation, Structure and Absolute Configuration of Indicaxanthin. *Tetrahedron*, 20(10), 2325-2329. doi: [https://doi.org/10.1016/S0040-4020\(01\)97621-5](https://doi.org/10.1016/S0040-4020(01)97621-5)
- Pisoschi, A. M. y Negulescu, G. P. (2011). Methods for Total Antioxidant Activity Determination: A Review. *Biochemistry & Analytical Biochemistry*, 01:106. doi: <https://doi.org/10.4172/2161-1009.1000106>
- Sawicki, T., B czek, N., y Wiczowski, W. (2016). Betalain profile, content and antioxidant capacity of red beetroot dependent on the genotype and root part. *Journal of Functional Foods*, 27, 249-261. doi: <https://doi.org/10.1016/J.JFF.2016.09.004>
- Szeto, Y. T., Tomlinson, B., y Benzie, I. F. F. (2002). Total antioxidant and ascorbic acid content of fresh fruits and vegetables: implications for dietary planning and food

preservation. *British Journal of Nutrition*, 87(01), 55. doi: <https://doi.org/10.1079/BJN2001483>

Wylter, H., y Dreiding, A. (1957). Kristallisiertes Betanin. *Helvetica*, 40(1), 191-196. doi: <https://doi.org/10.1002/hlca.19570400122>

Yahia, E., & Mondragón, C. (2011). Nutritional components and anti-oxidant capacity of ten cultivars and lines of cactus pear fruit (*Opuntia* spp.). *Food Research International*, 44(7), 2311-2318. doi: 10.1016/j.foodres.2011.02.042

Cai, Y. y Corke, H. (2008). Amaranthus Betacyanin Pigments Applied in Model Food Systems. *Revista Food Science*, 64(5), 869-873. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1999.tb15930.x>

Jorge, P., Troncoso, L., y Troncoso, L. (2016). Capacidad antioxidante del fruto de la *Opuntia apurimacensis* (ayrampo) y de la *Opuntia ficus-indica* (tuna). *Anales de la Facultad de Medicina*, 77(2), 105. doi: <https://doi.org/10.15381/anales.v77i2.11812>

Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., Troncoso, A. M., Mancini-Filho, J., y Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciencia en Tecnología de Alimentos*, 25(4), 726-732. doi: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612005000400016>

Magalhaes, L. ., Santos, F., Segundo, M. ., Reis, S., Y Lima, J. . (2010). Rapid microplate high-throughput methodology for assessment of Folin-Ciocalteu reducing capacity. *Talanta*, 83 (2), 441-447. doi: 10.1016/j.talanta.2010.09.042

7.2.2 Artículos sin doi

De Ancos, B., Sánchez Moreno, C., Pascual-Teresa, S., y Cano, M.(2005). Proceso mínimo y valor nutricional.Nuevas tecnologías de conservación de productos vegetales frescos cortados. *Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C., Sonora, México*, 119-152.

Olga Tipe, H., y Olga Lock De Ugaz. 1990. Estudio de la estabilidad del extracto de Ayrampo (*Opuntia soehrensii* Brett) y de la betanina. *Boletín de la Sociedad Química*

del Peru, 26-45.

Kiesling, R., Saravia, M., Oakley, L., Muruaga, N., Metzling, D., y Novara, L. (2011). Aportes botánicos de Salta. *Flora Valle del Lerman*, 10, 1-142.

7.2.3 Artículos Online

Abderrahim, F., Huanatico, E., Segura, R., Arribas, S., M.Carmen, G., y Condeso Hoyos, L. (2015). Physical features, phenolic compounds, betalains and total antioxidant capacity of coloured quinoa seeds (*Chenopodium quinoa* Willd.) from Peruvian Altiplano. *Food Chemistry*, 183, 83-90. Recuperado de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0308814615003921?via%3Dihub>

Figueroa Cares, I., T.Martinez Damiam, M., Rodriguez Perez, E., T.Colinas Leon, M., Valle Guadarrama, S., Ramirez Ramirez, S., y Gallegos Vazquez, C. (2010). Contenido de pigmentos, otros compuestos y capacidad antioxidante en 12 cultivares de Tuna (*Opuntia* spp.) de Mexico. *Agrociencia*, 44(7), 763-771. Recuperrado de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952010000700003

Patthamakanokporn, O., Puwastien, P., Nitithamyong, A., y Sirichakwal, P. P. (2008). Changes of antioxidant activity and total phenolic compounds during storage of selected fruits. *Journal of food composition and analysis*, 21, 241-248. Recuperado de <http://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201300876801>

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., y Rice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology & medicine*, 26(9-10), 1231-1237. Recuperrado de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10381194>

Szollosi R, V. I. (2002). Total antioxidant power in some species of Labiatae Adaptation of FRAP method. *Acta Biol Szeged*, 46(3-4),125-7. Recuperado de <http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download?doi=10.1.1.455.5064&rep=rep1&type=pdf>

Wayner, D. D., Burton, G. W., Ingold, K. U., y Locke, S. (1985). Quantitative measurement of the total, peroxy radical-trapping antioxidant capability of human blood plasma by controlled peroxidation. The important contribution made by plasma proteins. *FEBS letters*, 187(1), 33-37. Recuperado de <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4018255>

García Cruz, L., Salinas Moreno, Y., Valle Guadarrama, S. (2012). Betalaínas, compuestos fenólicos y actividad antioxidante en la pitaya de mayo (*Stenocereus griseus* H.) . *Revista Ftotecnia Mexicana*, 35(5), 01-05. Recuperado de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802012000500003

Group, T. S. (2012). Opuntioideae of Peru an overview (part2) . *Revista TSG and Oaul Hoxey*, 18(1), 3-15. Recuperado de <http://tephro.com/index.php/the-journal/article-index-by-title.html?id=25>

Lako, Trenerry, J. V. and, y V.C. and Rochfort, S. (2008). Routine analytical techniques suitable for use in Pacific regional laboratories for determining naturally occurring antioxidants in food. *International Food Research Journal*, 15(2), 313-323. Recuperado de <http://repository.usp.ac.fj/193/>

Mercado Mercado, G., De la Rosa Carrillo, L., Wall Medrano, A., López Díaz, J. A., Y Alvarez Parrilla, E. (2013). Compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante de especias típicas consumidas en México. *Nutrición Hospitalaria*, 28(1), 36-46. Recuperado de <http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/6298.pdf>

Zavala, Á. G., Rivero, L. L., García, I. G., y Grajales, O. (2007). Capacidad antioxidante total en alimentos convencionales y regionales de Chiapas, México. *Rev Cubana Salud Pública* 33 (1). Recuperado de <http://www.redalyc.org/pdf/214/21433108.pdf>

7.3 LIBROS

7.3.1 Libros con autor

A.O.A.C. (1990). Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists. Washington DC .

A.O.A.C. (1995). *Official Methods of Analysis* (15.^a ed.). Association of Official Analytical Chemists. Washington DC.

Aragon, G. (1980). *Cactus de los alrededores de la Ciudad de Arequipa*. Arequipa, Perú: Programa Academico de Biología.

Arias, F. (2012). *La Metodología Científica*. Caracas, Venezuela: Episteme.

Agustín, U. N. (2012). *Propiedades del Ayrampu*. Arequipa, Perú: Editorial UNSA.

Egg, A. B. (1999). *Diccionario enciclopédico de plantas útiles del Perú*. Lima, Perú: Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo.

Hernández, R., Fernández, C. y Baptista, P. (2014). *Metodología de la investigación*. Santa fe, Mexico: Editorial mc Graw Hill.

Solano, M. (1998). *Botánica Sistemática*. Puno, Perú: Universidad Nacional del Altiplano.

Zenteno, A. (2004). *Farmacopea Andina e Identificación de Plantas Instituto de Medicina Natural*. Lima, Peru: Editorial Sagitario Impresores.

Lock Sing de Ugaz, O. (1997). *Colorantes naturales*. Lima, Perú: Fondo Editorial.

7.3.2 Libros con editor

Dergal, S. B. (Ed.). (2006). *Química de los alimentos*. Naucalpan de Juarez, Mexico: Pearson Educacion.

Fennema, O. R. (Ed.). (2019). *Química de los Alimentos*. Zaragoza, España: Acribia.

Hurtado, J., y Toro, A. (Ed.). (2007). *Paradigmas y Métodos de Investigación en tiempos de cambio*. Venezuela, Carabobo: Episteme consultores asociados.

Tamayo, A., y Tamayo, M. (Ed.). (2012). *El proceso de la investigación científica*. Balderas, México: Limusa.

7.3.3 Libros Online

Fennema, O. R. (2010). *Introducción a la química de los alimentos*. Zaragoza, España: Editorial Acribia. Recuperado de <https://sceqa.files.wordpress.com/2014/05/quc3admica-de-los-alimentos-fennema.pdf>

Collazos, Ch., C., Alvistur J., E., & Vasquez G., (1996). *Tablas Peruanas de composición de los Alimentos*. Lima, Perú: Aquario. Recuperado de https://bvs.ins.gob.pe/insprint/CENAN/tablas_composicion_alimentos.pdf

7.4 REVISTA

7.4.1 Revista impresa

García Martínez, E. M., Fernández Segovia, I., y Fuentes López, A. (2015). Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu. *Departamento de tecnología de alimentos*, 1-9.



ANEXOS

ANEXO 1

PROCESO DE LIOFILIZADO DE LAS MUESTRAS DE AYRAMPO *Opuntia soehrensii* Britton & Rose

Pulpa

Semilla

Cascara



Las muestras fueron congeladas
T= -40°C x t= 24 h.



Proceso
Liofilizado



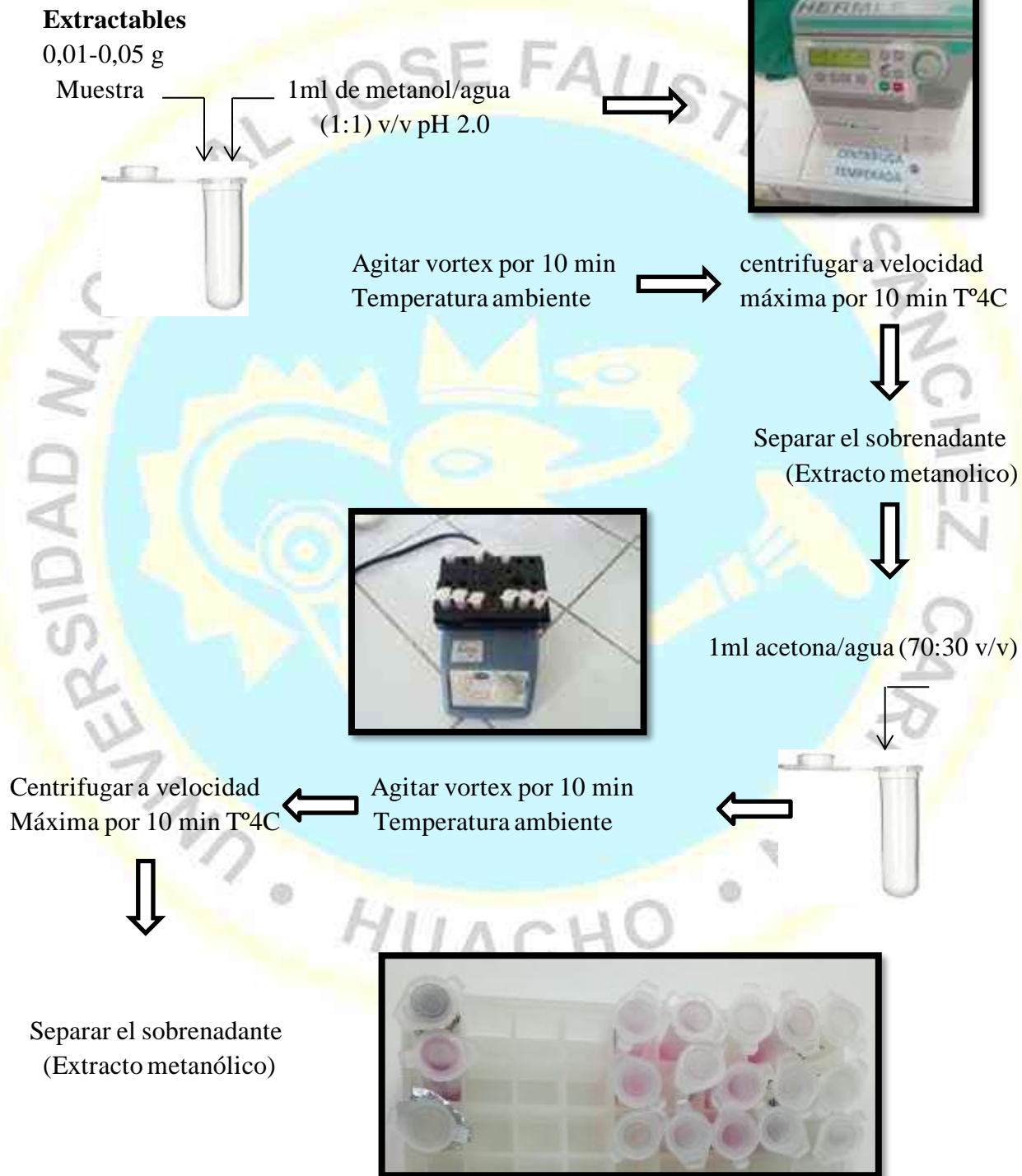
T= -54°C
t= 13 h.



Muestras liofilizadas molidas (tamiz Ø=50µm)



ANEXO 2
EXTRACCION FENOLICO





UNIVERSIDAD NACIONAL JOSE FAUSTINO SANCHEZ CARRION - HUACHO
PROYECTO DE INVESTIGACION MODALIDAD FOCAM
FORMULACION DE BEBIDAS FUNCIONALES CON CAPACIDAD DE ANTIOXIDANTE A
BASE DE FRUTAS Y VERDURAS

ANEXO 3

PROTOCOLO PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE BETALAINAS TOTALES

Extracto fenólico
Muestra fresca



Se sembraron en la microplaca 100ul de muestra en las dos primeras columnas iniciando agua destilada.



Se tomó la lectura de betalainas a 438 y 483 nm en un espectrofotómetro.



FORMULA:

$$\left(\frac{\quad}{\quad} \right) = \frac{A \quad FD \quad PM \quad V}{W \quad L}$$

Los resultados serán expresados mg/g
Betacianinas (BC) y betaxantinas (BX)

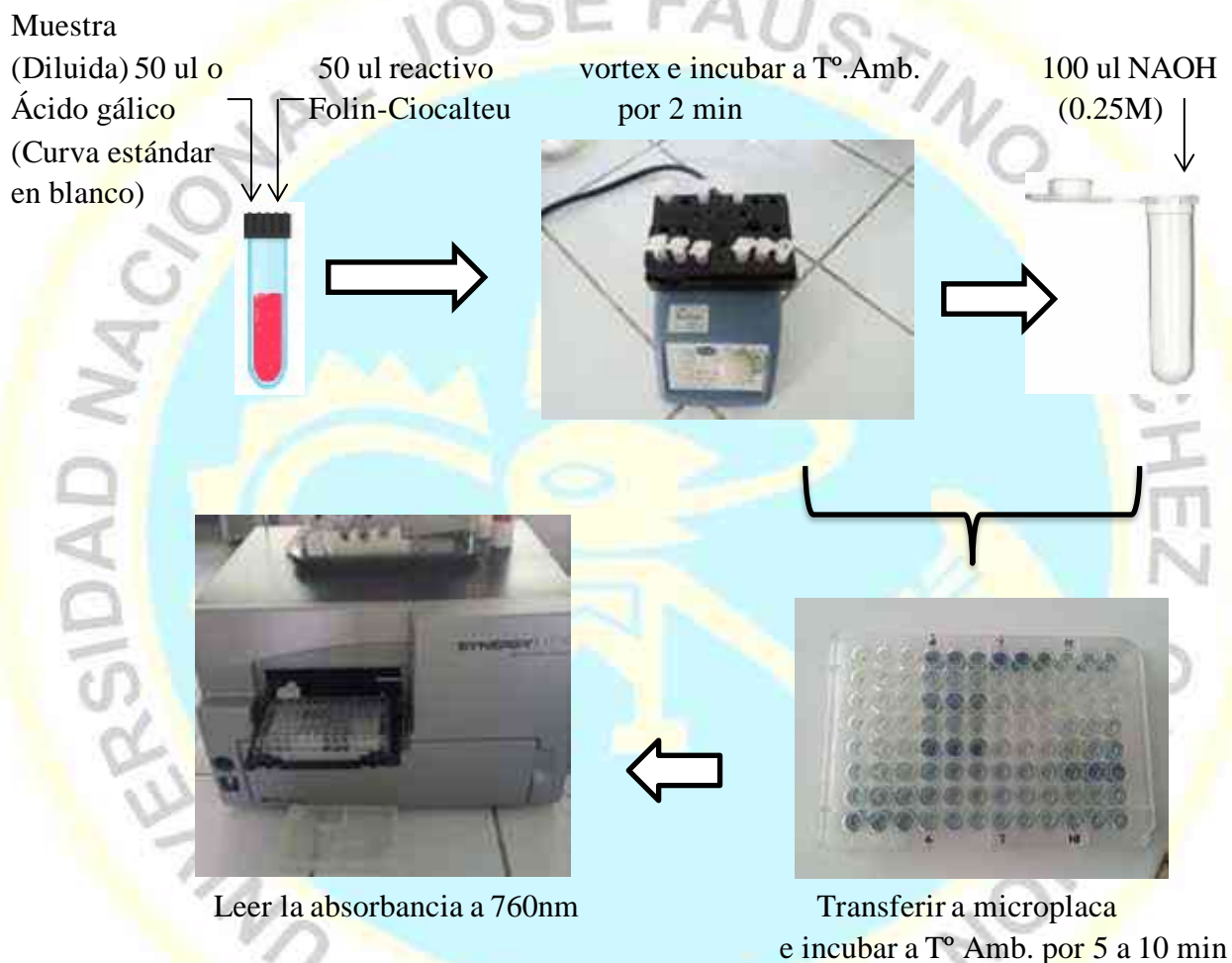
$$\left(\frac{\quad}{\quad} \right) = BC + B$$



UNIVERSIDAD NACIONAL JOSE FAUSTINO SANCHEZ CARRION –HUACHO
PROYECTO DE INVESTIGACION MODALIDAD FOCAM
**FORMULACION DE BEBIDAS FUNCIONALES CON CAPACIDAD
DE ANTIOXIDANTE A BASE DE FRUTAS Y VERDURAS**

ANEXO 4

POLIFENOLES TOTALES



Preparación de reactivos

Hidróxido de sodio (NaOH), 0,25M: 0.25 g en 25 mL de agua destilada

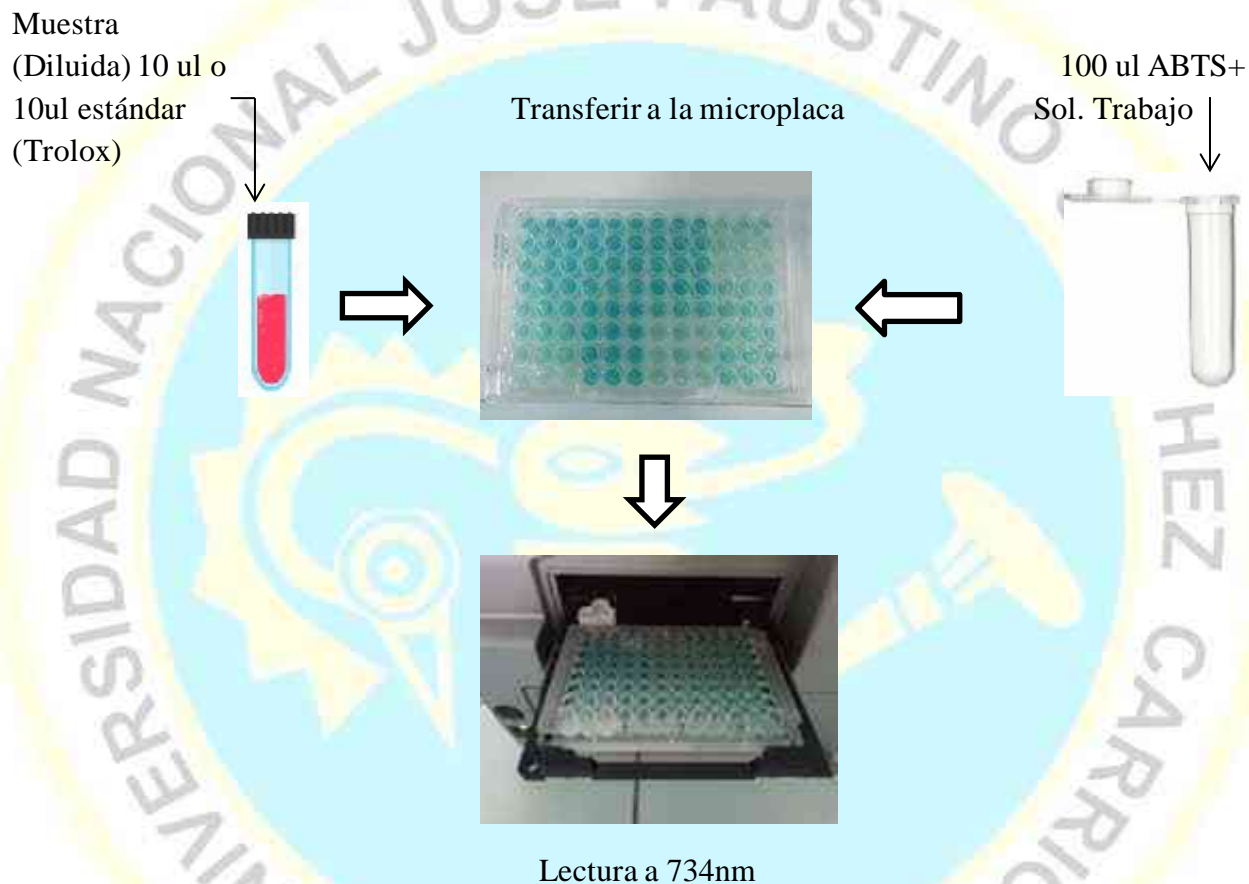
Ácido gálico stock (35mg/L): 0.00175 g en 50 mL de agua destilada

Folin (Dilución): 1mL Folin + 4 mL de agua destilada



UNIVERSIDAD NACIONAL JOSE FAUSTINO SANCHEZ CARRION – HUACHO
PROYECTO DE INVESTIGACION MODALIDAD FOCAM
**FORMULACION DE BEBIDAS FUNCIONALES CON CAPACIDAD
DE ANTIOXIDANTE A BASE DE FRUTAS Y VERDURAS**

**ANEXO 5
CAPACIDAD ANTIOXIDANTE METODO ABTS+**



Preparación de reactivos

Buffer fosfato 5mM = 5mL BF 1M y aforar en una fiola de 1000 mL con agua UP o 1mL BF 75uM mezclar con 14 mL de agua ultra pura

Preparación ABTS+ (stock) = para 5 mL pesar 0.0192g de persulfato de potasio y agregar agua UP en una fiola de 5 mL, mantener en la oscuridad por 16 horas.

Preparación solución de trabajo ABTS* = para una placa preparar 12mL a 15mL, tomar 540uL de ABTS stock y mezclar con 12 mL de BF 5 mM, proteger de la luz.

Preparar el trolox pesar 0.0005g y disolver con BF 5mM en una fiola de 2mL (1000um trolox).



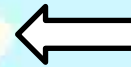
UNIVERSIDAD NACIONAL JOSE FAUSTINO SANCHEZ CARRION – HUACHO
PROYECTO DE INVESTIGACION MODALIDAD FOCAM
**FORMULACION DE BEBIDAS FUNCIONALES CON CAPACIDAD
DE ANTIOXIDANTE A BASE DE FRUTAS Y VERDURAS**

ANEXO 6
CAPACIDAD ANTIOXIDANTE METODO FRAP

Muestra
(Diluida) 20 ul

10 ml buffer acetato
1ml sol. TPTZ
1ml sol. FeCl₃

Transferir a la microplaca
20ul de muestra y luego 150 ul FRAP



Mezclar frasco
oscuro (FRAP)



Leer la absorbancia 593nm

Preparación de reactivos

Preparar Acetato buffer = Ácido acético glacial (1.6176 mL) con acetato sódico anhidro (0.1627 g) más agua UP Ph 3.6 ajustar a un volumen de 100mL.

Preparar TPTZ= pesar 0.00312 g ajustar a un volumen de 1 mL con HCL 40 mM

Preparar FeCL₃ pesar 0.0054 g ajustar aun volumen de 1mL con agua UP

Ácido gálico a una concentración 5878.2 uM



UNIVERSIDAD NACIONAL JOSÉ FAUSTINO SANCHEZ CARRION – HUACHO
PROYECTO DE INVESTIGACION MODALIDAD FOCAM
**FORMULACION DE BEBIDAS FUNCIONALES CON CAPACIDAD
DE ANTIOXIDANTE A BASE DE FRUTAS Y VERDURAS**

ANEXO 7

CAPACIDAD ANTIOXIDANTE METODO ORAC-FL

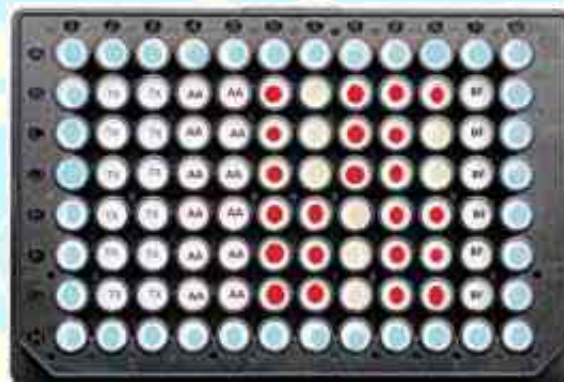
2. Fluoresceína 150 ul (B2-G11) Buffer fosfato 75nm (Ph 7.4)
25ul (B11-G11)

1. Agua destilada
150ul (Borde)

Estándares 25ul
Trolox
(B2-G5)



Muestra 25ul
(B6-G10)



Lectura excitación y emisión
(485 y 528) nm



Preparación de reactivos

Preparación de buffer fosfato 75 mM, corregir pH 7.4 con NaOH 1M, almacenar refrigeración.

Preparación de solución fluoresceína 0.4 mM, pesar 0.075256 g y disolver en 500 mL BF, para la solución de trabajo preparar 3uM.

Preparar radical AAPH al 235mM, se pesa 637.32 mg y disolver en 10 ml de BF, mantener refrigerado protegido de la luz.

Preparación de solución (trolox) en el Kit ACL agregar 500 uL MeOH.

Preparación de Ácido Ascórbico, con el Kit ACW agregar 490 uL más 10 H₂SO₄.



UNIVERSIDAD NACIONAL JOSE FAUSTINO SANCHEZ CARRION – HUACHO
PROYECTO DE INVESTIGACION MODALIDAD FOCAM
**FORMULACION DE BEBIDAS FUNCIONALES CON CAPACIDAD
DE ANTIOXIDANTE A BASE DE FRUTAS Y VERDURAS**

ANEXO 8

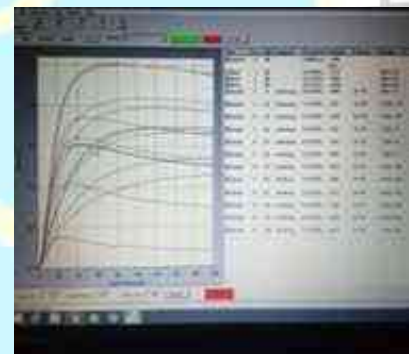
CAPACIDAD ANTIOXIDANTE METODO PHOTOQUIMIOLUMINISCENCIA PCL

Curva de calibración: todos los volúmenes uL

TUBO	R1	R2	S-R3	SC/Muestra*	CC uMol
BLK	2300	200	25	0	0
STD1	2295	200	25	5	0.5
STD2	2292.5	200	25	7.5	0.75
*STD3	2290	200	25	10	1
*STD4	2280	200	25	20	2
*STD5	2270	200	25	30	3

Se hace la lectura primero con el estándar
luego con las muestras respectivas.

1. Curva de Calibración
2. Muestra (Diluida)



Preparación de reactivos

S-R3= en R3 agregar 750 ul de R2 y agitar

S-R4= en R4 agregar 500ul de R1 y agitar

S-C(calibración) = 10ul S-R4 más 990 ul R1(1nMol TX)

R1=metanol

R2= Buffer

R3= Luminol

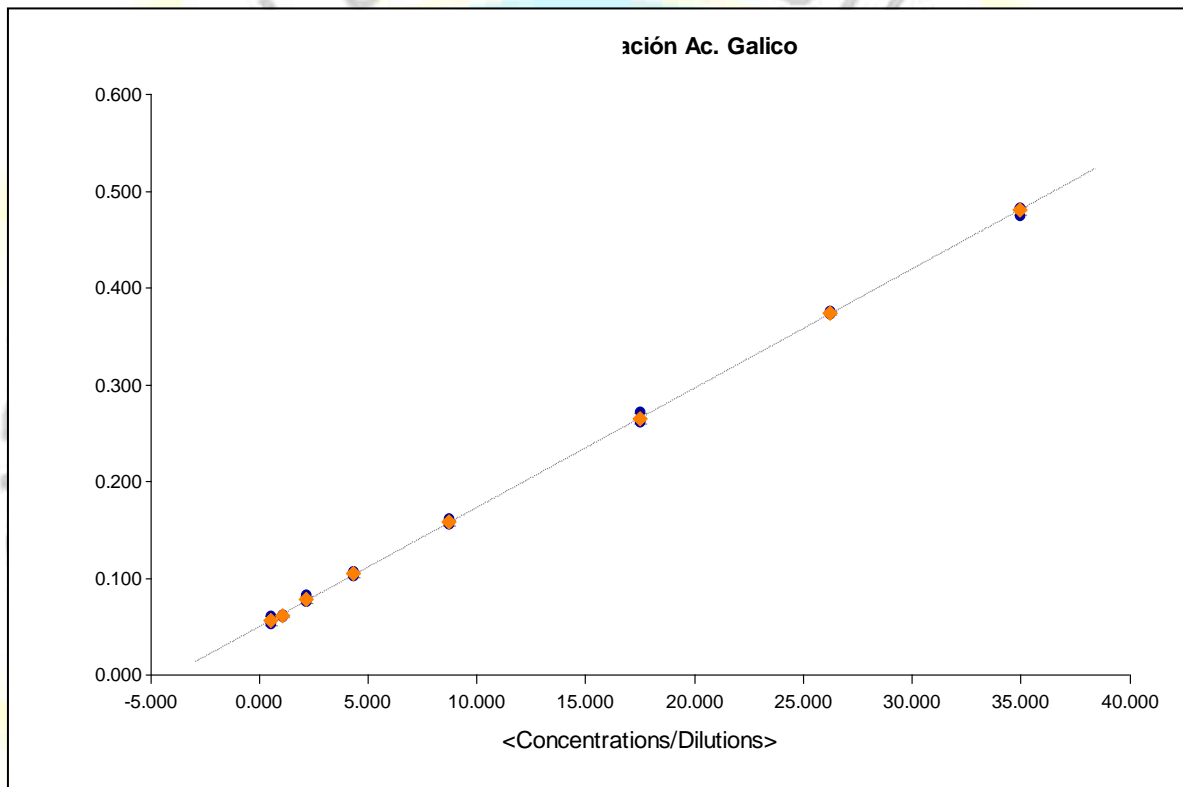
R4= Trolox



ANEXO 9

CURVA ESTANDARES

- a) Curva Estándar del contenido de polifenoles totales en el ayrampo *Opuntia soehrensii* Britton & Rose



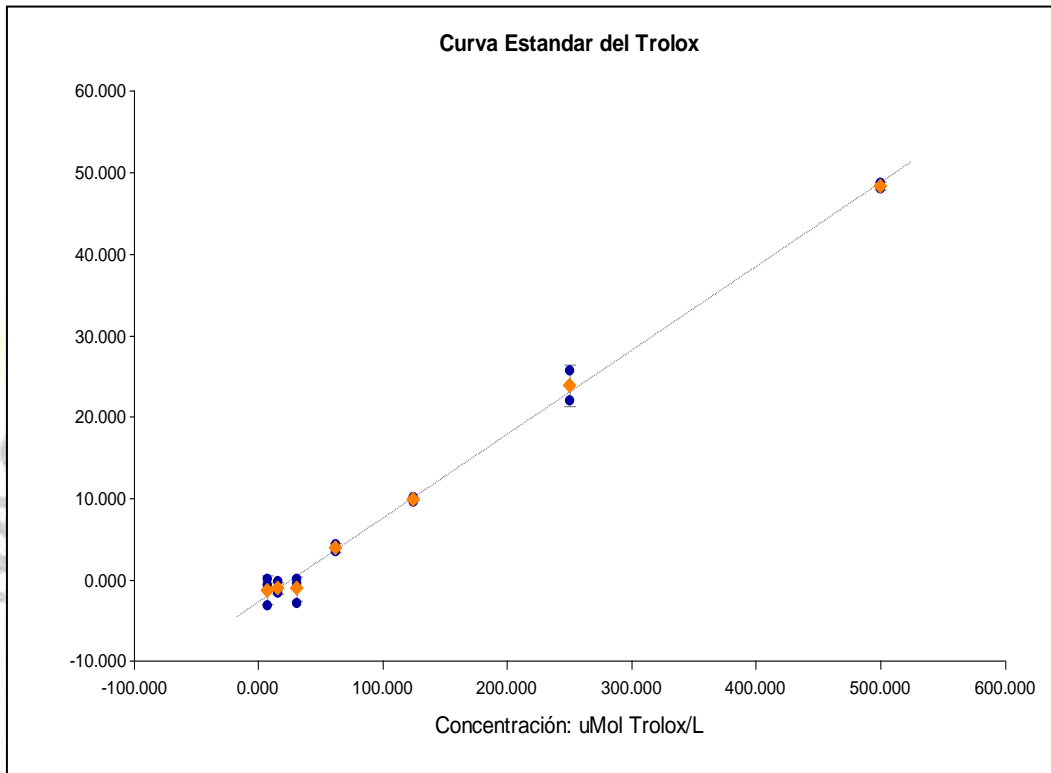
Ecuación: $Y = 0,0123 X + 0,0498$ $R^2 = 1$

Dónde:

Y: mg equivalente ácido gálico /L (mg EAG/L)

X: Absorbancia 760 nm

b) Curva Estándar de la capacidad de antioxidante por el método ABTS*



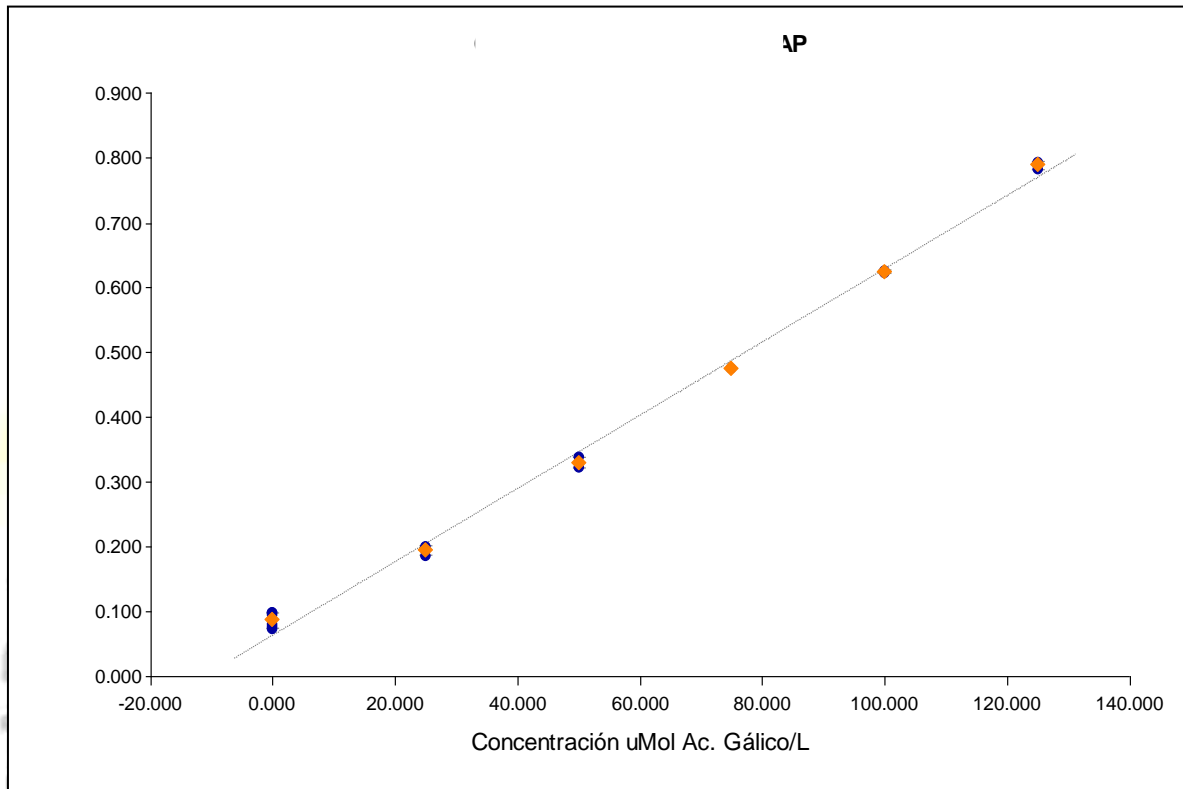
Ecuación: $Y = 0,103 X - 2,78$ $R^2 = 0,998$

Dónde:

Y: uMol Equivalente Trolox/L (uMol ET/L)

X: Absorbancia 734nm

c) Curva Estándar de la capacidad de antioxidante por el método FRAP



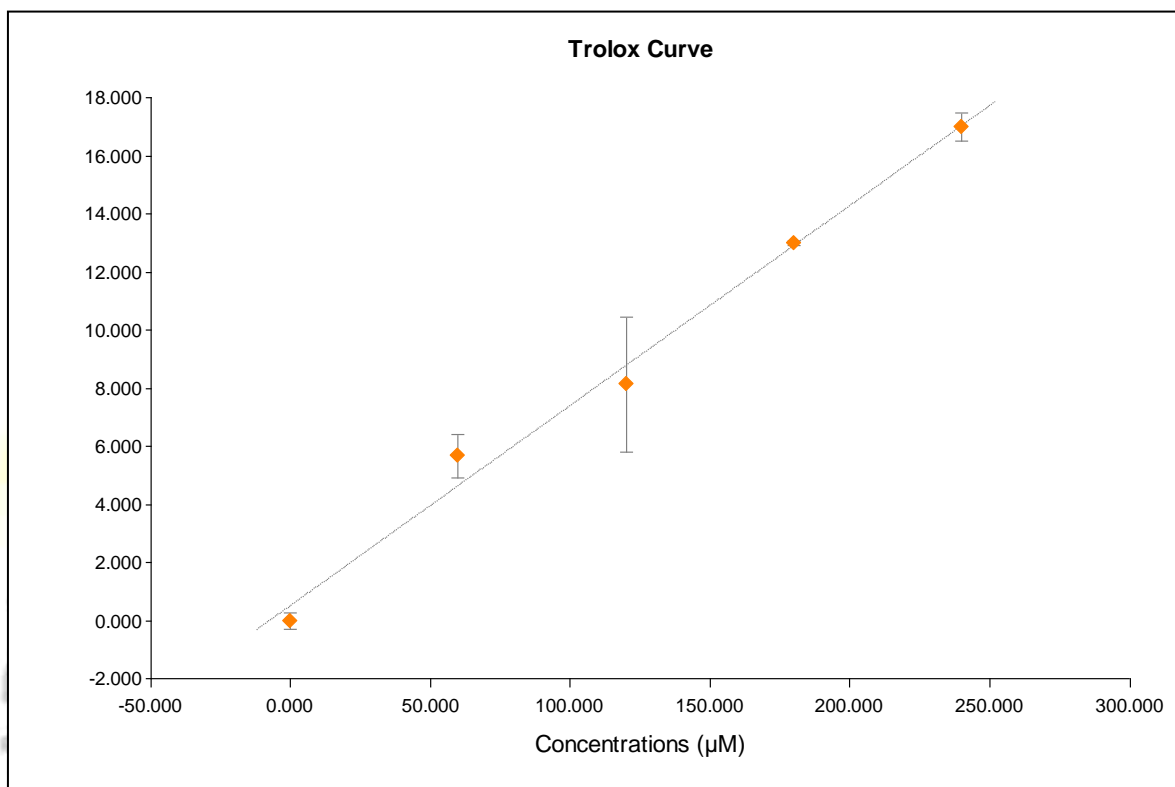
Ecuación: $Y = 0,00565 X + 0,0638$ $R^2 = 0,996$

Dónde:

Y: uMol equivalente ácido gálico/L (uMol AG/L)

X: Absorbancia 593nm

d) Curva Estándar de la capacidad de antioxidante por el método ORAC



Ecuación: $y = 0,0689x + 0,504$ $r^2 = 0,99$

Dónde:

Y: uMol Equivalente Trolox/L (uMol ET/L)

X: Excitación 485nm y Emisión 528nm

ANEXO 10

ANALISIS DE VARIANZA

a) Contenido de betalainas totales

DETERMINACION DIRECTA					
CASCARA					
Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	4	3.9698	0.99245	77.99	0
Error	6	0.07635	0.01273		
Total	10	4.04616			
PULPA					
Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	4	0.126252	0.031563	66.03	0
Error	6	0.002868	0.000478		
Total	10	0.12912			
SEMILLA					
Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	4	0.04321	0.0108	0.98	0.495
Error	5	0.05531	0.01106		
Total	9	0.09852			
METODO DESCONVOLUCION					
CASCARA					
Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	4	3.4158	0.85395	34.71	0.001
Error	5	0.123	0.0246		
Total	9	3.5388			
PULPA					
Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	4	0.13352	0.033381	12.24	0.009
Error	5	0.01363	0.002726		
Total	9	0.14716			
SEMILLA					
Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	4	0.062324	0.015581	12.6	0.008
Error	5	0.006182	0.001236		
Total	9	0.068505			

b) Polifenoles totales

CASCARA					
Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	4	6.947	1.73674	114.88	0
Error	10	0.1512	0.01512		
Total	14	7.0981			
PULPA					
Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	4	1.49163	0.372907	82.37	0
Error	10	0.04527	0.004527		
Total	14	1.5369			
SEMILLA					
Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	4	4.16482	1.04121	104.34	0
Error	10	0.09979	0.00998		
Total	14	4.26461			

c) Capacidad antioxidante

ABTS					
CASCARA					
Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	4	614.5	153.626	136.38	0
Error	15	16.9	1.126		
Total	19	631.4			
PULPA					
Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	4	326.099	81.5247	107.6	0
Error	13	9.85	0.7577		
Total	17	335.948			
SEMILLA					
Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	4	4334.24	1083.56	855.13	0
Error	10	12.67	1.27		
Total	14	4346.91			

FRAP**CASCARA**

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	4	27.9864	6.99661	123.77	0
Error	10	0.5653	0.05653		
Total	14	28.5517			

PULPA

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	4	3.4306	0.85765	54.61	0
Error	10	0.157	0.0157		
Total	14	3.5877			

SEMILLA

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	4	21.902	5.47551	170.81	0
Error	10	0.3206	0.03206		
Total	14	22.2226			

ORAC**CASCARA**

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	1	9687	9687	0.25	0.643
Error	4	154907	38727		
Total	5	164593			

PULPA

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	1	7	6.98	0	0.963
Error	4	11266.4	2816.61		
Total	5	11273.4			

SEMILLA

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	1	50062	50062	2	0.23
Error	4	99956	24989		
Total	5	150018			

FHOTOCHEM

CASCARA					
Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	1	8.198	8.1981	15.78	0.011
Error	5	2.598	0.5196		
Total	6	10.796			

PULPA					
Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	1	1.25127	1.25127	52.52	0.002
Error	4	0.0953	0.02382		
Total	5	1.34657			

SEMILLA					
Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	1	281.08	281.078	47.11	0
Error	10	59.67	5.967		
Total	11	340.75			



ANEXO 11

PRUEBA DE TUKEY

a) Contenido de betalainas totales

DETERMINACION DIRECTA				
CASCARA				
Factor	N	Media	Agrupación	
C. Agua	3	1.686	A	
C. Agua/Metanol	3	1.1521	B	
C. Agua/Etanol	3	1.1061	B	
C. Metanol	3	0.2025	C	
C. Etanol	3	0.02732	C	
PULPA				
Factor	N	Media	Agrupación	
P. Agua	3	0.31223	A	
P. Agua/Metanol	3	0.2829	A	B
P. Agua/Etanol	3	0.2284	B	
P. Metanol	3	0.12189	C	
P. Etanol	3	0.01748	D	
SEMILLA				
Factor	N	Media	Agrupación	
S. Agua	3	0.167	A	
S. Metanol	3	0.1619	A	
S. Agua/Metanol	3	0.0536	A	
S. Agua/Etanol	3	0.0356	A	
S. Etanol	3	0.01049	A	

METODO DESCONVOLUCION

CASCARA				
Factor	N	Media	Agrupación	
C. Agua	3	1.443	A	
C. Agua/Etanol	3	1.4337	A	
C. Agua/Metanol	3	1.1721	A	
C. Metanol	3	0.2933	B	
C. Etanol	3	0.0707	B	
PULPA				
Factor	N	Media	Agrupación	
P. Agua	3	0.3773	A	
P. Agua/Metanol	3	0.34882	A	
P. Agua/Etanol	3	0.3379	A	
P. Metanol	3	0.2421	A B	
P. Etanol	3	0.06094	B	
SEMILLA				
Factor	N	Media	Agrupación	
S. Metanol	3	0.273	A	
S. Agua/Etanol	3	0.1035	B	
S. Etanol	3	0.0775	B	
S. Agua	3	0.0674	B	
S. Agua/Metanol	3	0.0658	B	

b) Polifenoles totales

CASCARA			
Factor	N	Media	Agrupación
C.Agua/Metanol	3	1.874	A
C.Agua/Etanol	3	1.6505	A B
C.Agua	3	1.5362	B
C. Etanol	3	0.8088	C
C. Metanol	3	0.019175	D
PULPA			
Factor	N	Media	Agrupación
P. Agua/Metanol	3	0.9119	A
P. Agua/Etanol	3	0.7879	A B
P. Etanol	3	0.7311	B C
P. Metanol	3	0.5763	C
P. Agua	3	0.010967	D
SEMILLA			
Factor	N	Media	Agrupación
S. Agua/Etanol	3	1.54	A
S. Agua/Metanol	3	1.3791	A B
S. Agua	3	1.2129	B
S. Metanol	3	0.9048	C
S. Etanol	3	0.05124	D

c) Capacidad antioxidante

ABTS			
CASCARA			
Factor	N	Media	Agrupación
C.Agua/Metanol	6	24.054	A
C.Agua/Etanol	5	22.617	A
C.Agua	3	21.859	A
C. Metanol	3	12.434	B
C. Etanol	3	9.926	B
PULPA			
Factor	N	Media	Agrupación
P. Agua	3	16.778	A
P. Agua/Metanol	4	16.445	A
P. Agua/Etanol	5	15.985	A
P. Metanol	3	8.377	B
P. Etanol	3	6.43	B
SEMILLA			
Factor	N	Media	Agrupación
S. Agua/Etanol	3	45.48	A
S. Agua/Metanol	3	11.224	B
S. Agua	3	2.302	C
S. Metanol	3	1.5565	C
S. Etanol	3	1.0046	C

FRAP

CASCARA				
Factor	N	Media	Agrupación	
C. Agua/Metanol	3	5.73	A	
C. Agua/Etanol	3	4.443	B	
C. Agua	3	3.9751	B	
C. Metanol	3	2.4153	C	
C. Etanol	3	1.9883	C	
PULPA				
Factor	N	Media	Agrupación	
P. Agua/Metanol	3	2.5092	A	
P. Agua/Etanol	3	1.852	B	
P. Agua	3	1.4971	C	
P. Metanol	3	1.2632	C	
P. Etanol	3	1.21095	C	
SEMILLA				
Factor	N	Media	Agrupación	
S. Etanol	3	5.448	A	
S. Agua/Etanol	3	3.676	B	
S. Agua/Metanol	3	3.3319	B	
S. Metanol	3	2.2645	C	
S. Agua	3	2.079	C	

ORAC

CASCARA			
Factor	N	Media	Agrupación
C. Agua/Metanol	3	260	A
C. Agua/Etanol	3	179.4	A
PULPA			
Factor	N	Media	Agrupación
P. Agua/Etanol	3	79.8	A
P. Agua/Metanol	3	77.7	A
SEMILLA			
Factor	N	Media	Agrupación
S. Agua/Etanol	3	297	A
S. Agua/Metanol	3	114.2	A

FHOTOCHEM

CASCARA			
Factor	N	Media	Agrupación
C. Agua/Metanol	4	11.054	A
C. Agua/Etanol	3	8.867	B
PULPA			
Factor	N	Media	Agrupación
P. Agua/Etanol	3	5.6207	A
P. Agua/Metanol	3	4.707	B
SEMILLA			
Factor	N	Media	Agrupación
S. Agua/Etanol	5	34.32	A
S. Agua/Metanol	7	24.503	B

ANEXO 12

Evidencia fotográfica



