

UNIVERSIDAD PERUANA UNIÓN
FACULTAD DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA

Escuela Profesional de Ingeniería de Alimentos



Una Institución Adventista

TESIS DE TITULACIÓN

**EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS COMPUESTOS
FENÓLICOS DE LA TUNA MORADA (*Opuntia ficus-indica*) DEL DISTRITO DE
SAN BARTOLOMÉ, HUAROCHIRÍ, LIMA.**

Tesis presentada para optar el título profesional de Ingeniero de Alimentos

Autora

Bach. Ibeth Anny Coavoy Sánchez

Asesora

MSc. Silvia Pilco Quesada

Lima, diciembre del 2015

AGRADECIMIENTOS

Agradezco en primer lugar a Dios que es el dador de vida y la fuente de todo conocimiento.

A mis padres, Daniel Coavoy y Lidia Sánchez, por su paciencia, amor y ayuda incondicional para realizar esta investigación.

A mis hermanas, Katy y Silvia, por su motivación y ayuda tanto emocional como académica.

A Joselito Valdez por su ánimo y colaboración durante el desarrollo de esta investigación.

A la MSc. Silvia Pilco Quesada, asesora de esta tesis, por su apoyo, sus consejos y conocimientos para el desarrollo de esta investigación.

Al Ing. Eduardo Alberto Meza Mantari, director de la Escuela Profesional de Ingeniería de Industrias Alimentarias, por brindar las facilidades en la disposición del laboratorio para desarrollar la investigación.

A los amigos que me apoyaron para poder cumplir esta investigación.

ÍNDICE

	Pág.
ABREVIATURAS	1
RESUMEN	2
ABSTRACT	3
1. Introducción.....	4
1.1. Objetivos.....	6
1.1.1 Objetivo general	6
1.1.2 Objetivos específicos.....	7
2. Revisión de la Literatura	8
2.1 La tuna	8
2.1.1 Descripción botánica	9
2.1.2 Almacenamiento de la tuna	11
2.2 Los compuestos fenólicos	12
2.2.1 Métodos de extracción de compuestos fenólicos	15
2.3 Los antioxidantes	17
2.4 Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos	18
2.5 Métodos para evaluar la actividad antioxidante.....	20
2.5.1 Método DPPH	20
2.5.2 Método ABTS	21
2.5.3 Método DMPD	22
2.6 Antecedentes de la investigación	23
3. Materiales y Métodos	25

	Pág.
3.1 Lugar de ejecución.....	25
3.2 Materia Prima	25
3.3 Materiales.....	25
3.4 Equipos	25
3.5 Reactivos.....	26
3.6 Metodología	26
3.6.1 Obtención y recepción de la materia prima.....	26
3.6.2 Preparación de la muestra	26
3.6.3 Caracterización fisicoquímica de la tuna morada	27
3.6.3.1 pH	27
3.6.3.2 Acidez.....	27
3.6.3.3 Sólidos solubles	28
3.6.3.4 Índice de madurez.....	28
3.6.4 Extracción de compuestos fenólicos	28
3.6.4.1 Diseño experimental	29
3.6.5 Cuantificación de compuestos fenólicos totales.....	30
3.6.6 Evaluación de la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos	31
4. Resultados y Discusiones	32
4.1 Caracterización fisicoquímica de la Tuna morada.....	32
4.2 Cuantificación de compuestos fenólicos totales	34
4.2.1 Curva de calibración del ácido gálico	34
4.2.2 Contenido de fenoles totales	35
4.2.2.1 Validez del modelo.....	36
4.2.2.2 Análisis de varianza.....	37

	Pág.
4.2.3 Análisis de la capacidad antioxidante	41
5. Conclusiones.....	43
6. Recomendaciones	44
Referencias	45
Anexos.....	58

ÍNDICE DE TABLAS

	Pág.
Tabla 1. Producción de tuna según región en el Perú, 2013.....	9
Tabla 2. Estructura química de los diferentes tipos de compuestos fenólicos.....	13
Tabla 3. Niveles codificados para cada factor.....	29
Tabla 4. Diseño Factorial 2 ² con tres puntos centrales.....	30
Tabla 5. Resultados de la caracterización fisicoquímica de la tuna morada.....	32
Tabla 6. Datos para la curva de calibración del método de Folin Ciocalteu.....	34
Tabla 7. Resultados del contenido de fenoles totales.....	36
Tabla 8. Análisis de varianza para la extracción de fenoles totales.....	37
Tabla 9. Capacidad antioxidante de los experimentos con mayor contenido de fenoles totales.....	41

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1. Variedades de tuna (IICA, 1989).	8
Figura 2. Planta de la tuna morada	10
Figura 3. Fruto de la tuna morada	10
Figura 4. Pulpa del fruto de la tuna morada	11
Figura 5. Antioxidante como donante de electrón al radical libre (Domínguez i Pedrós, 2011).....	19
Figura 6. Estructura química del DPPH (Mensor et al., 2001).....	20
Figura 7. Estructura química del ABTS (Re et al., 1999).	21
Figura 8. Estructura química del DMPD (Fogliano et al., 1999)	22
Figura 9. Efecto de la interacción de las variables sobre el contenido de fenoles totales	39

ÍNDICE DE ECUACIONES

	Pág.
Ecuación 1. Inhibición del radical alquilo.....	19
Ecuación 2. Inhibición del radical alcoxi.....	19
Ecuación 3. Inhibición del radical peróxi.....	19
Ecuación 4. Reacción de quelantes de metales.....	20
Ecuación 5. Reacción neutralizadora del DPPH.....	21
Ecuación 6. Reacción neutralizadora del ABTS.....	21
Ecuación 7. Reacción neutralizadora del DMPD.....	22
Ecuación 8. Porcentaje de acidez según AOAC (942.15) (2000).....	27
Ecuación 9. Índice de madurez según Sulbarán et al. (2013).....	28
Ecuación 10. Porcentaje de capacidad antioxidante según Mensor et al. (2001).....	31
Ecuación 11. Concentración de fenoles totales en mg por L de ácido gálico.....	35

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo 1. Recolección de tuna morada en el distrito de San Bartolomé	58
Anexo 2. Extrayendo el jugo de la tuna morada	58
Anexo 3. Extractos fenólicos de la tuna morada	59
Anexo 4. Soluciones para la curva de calibración de ácido gálico.....	59
Anexo 5. Solución DPPH 0,3 mM	60

ABREVIATURAS

ABTS : Ácido 2,2'azinobis (3- etilbenzotiazolin-6-sulfónico)	IICA : Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura
ác. : Ácido	IM : Índice de madurez
AH : Antioxidantes fenólicos	Kg : Kilogramo
AOAC : Association of Official Analytical Chemists	M : Molaridad
CF : Compuestos fenólicos	mg : Miligramo
°C : Grados centígrados	Min : Minutos
DMPD : 4-amino-N,N-dimetil-p- fenilendiamina	mL : Mililitro
DO : Densidad óptica	mM : Milimoles
DPPH : 2,2-difenildipicrilhidracil	N : Normalidad
G : Fuerza centrífuga relativa	nm : Nanómetro
g : Gramo	p/v : peso a volumen
H.R. : Humedad relativa	μL : Microlitro
	tn : Toneladas

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue evaluar la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos de la tuna morada (*Opuntia ficus-indica*) del distrito de San Bartolomé, Huarochirí, Lima., para lo cual fueron consideradas las siguientes variables: concentración de etanol (40% y 80%) y temperatura (30°C y 60 °C) en relación al contenido de fenoles totales (mg ácido gálico/L de muestra) y porcentaje de la capacidad antioxidante. El desarrollo de los experimentos se realizó según el diseño factorial 2² con 3 puntos centrales. Se caracterizó fisicoquímicamente a la tuna morada obteniendo un pH de 6.61, una acidez de 0.06 g. de ácido cítrico/100 mL muestra, 11.67°Brix y un índice de madurez de 182.86 ± 8.96 . La cuantificación de fenoles totales fue realizada de acuerdo al método espectrofotométrico Folin-Ciocalteau y la capacidad antioxidante según Mensor et al. (2001). El mayor contenido de compuestos fenólicos fue de 1002.47 mg ácido gálico/L de muestra y con una capacidad antioxidante del 40.18% a una concentración de etanol de 80%, y a una temperatura de 60°C.

Palabras Clave: Tuna morada, *Opuntia ficus-indica*, capacidad antioxidante, compuestos fenólicos, caracterización fisicoquímica, Huarochirí.

ABSTRACT

The aim of this research was to evaluate the antioxidant capacity of phenolic compounds of the purple cactus pear (*Opuntia ficus-indica*) from the district of San Bartolome, Huarochiri, Lima, where were considered the following variables: concentration of ethanol (40% and 80%) and temperature (30°C and 60°C) in relation to the total phenol content (mg gallic acid/L of sample) and find the antioxidant capacity. The experiments were performed according to the 2² factorial design with 3 central points. The cactus pear characterized physicochemically obtaining a pH of 6.61, an acidity of 0.06 g. citric acid/100 mL sample, 11.67°Brix and maturity index of 182.86 ± 8.96 . The quantification of total phenols was performed according to the Folin-Ciocalteu spectrophotometric method and the antioxidant capacity as Mensor et al. (2001). The highest content of phenolic compounds was 1002.48 mg gallic acid/L of sample and an antioxidant capacity of 40.18% at a concentration of ethanol of 80% and a temperature of 60 ° C.

Keywords: purple cactus pear, *Opuntia ficus-indica*, antioxidant capacity, phenolic compounds, physicochemical characterization, Huarochiri.

1. Introducción

En la actualidad las personas están preocupadas por mantenerse sanos, buscando alimentos saludables y disminuyendo el consumo de radicales libres, ya que una buena alimentación previene enfermedades como la obesidad, hipertensión arterial, males cardiovasculares, diabetes, anemia, osteoporosis y cáncer. El consumo de alimentos que contienen principios activos como los fenoles, permite tener una mejor calidad de vida en todas las edades.

Los compuestos fenólicos son uno de los principales metabolitos secundarios de las plantas, los cuales son en parte responsables del color, aroma y sabor de los alimentos que los contienen. Estos forman parte de un grupo muy heterogéneo; comprenden desde simples moléculas, como el ácido fenólico, hasta compuestos altamente polimerizados, como los taninos (Gil, 2010).

Diversos estudios muestran que estas sustancias ejercen un efecto beneficioso en el organismo humano, produciendo una mejora en su salud o reduciendo riesgos de enfermedades como la obesidad, cáncer, problemas cardiovasculares y neurodegenerativas (Bioqui y Millán, 2005), esto se debe a la capacidad antioxidante que poseen a través de la cual inhiben o neutralizan la generación de radicales libres (Avello y Suwalksky, 2006). También por sus propiedades biológicas, tales como: actividades antiinflamatorias, antioxidantes y la capacidad de quelar diversos metales, están estrechamente relacionadas con su estructura química (Gil, 2010).

Se han realizado estudios para evaluar la actividad antioxidante en distintos frutos y vegetales tales como el camu-camu (Muñoz et al., 2007), guayaba (Marquina et al., 2008), manzanas (Henríquez, 2010), mostrando que el consumo de alimentos que tienen capacidad antioxidante juegan un papel muy importante en la prevención de enfermedades relacionadas con la generación de radicales libres.

Dentro de este grupo de alimentos con alta actividad antioxidante se destaca a la tuna debido a que posee componentes tales como fibra, hidrocoloides (mucílagos), pigmentos (betalaínas y carotenoides), minerales (calcio, potasio) y vitamina C. Estos compuestos son muy apreciados desde el punto de vista de una dieta saludable y también como ingredientes para el diseño de nuevos productos (Sáenz et al., 2004; Medina-Torres et al., 2000).

La acción de los radicales libres están asociadas a la aparición de distintas enfermedades por el estrés oxidativo es conocido y demostrado por el incremento de especies reactivas del oxígeno (EROs), o en ausencia o disminución de los mecanismos antioxidantes. La toxicidad radica en la capacidad de reaccionar con distintas biomoléculas (lípidos, proteínas, ácidos nucleicos), generando daños oxidativos permanentes en ellos (Ruiz, 2009).

Considerando lo anteriormente mencionado, se plantea desarrollar una investigación abocada a la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos de la tuna morada (*Opuntia ficus-indica*) porque es un fruto muy común en el Perú y existen pocos reportes de investigación respecto a éste, aún más sobre las propiedades antioxidantes que posee.

Considerando los beneficios de la tuna morada, la presente investigación contribuirá en el conocimiento del poder antioxidante de este fruto promoviendo su consumo como alimento funcional debido a la actividad antioxidante que presenta, gracias a los compuestos fenólicos que contiene.

De esta forma se contribuirá en el fomento de un mayor cultivo, industrialización y revaloración de la tuna morada para exportación, creando así, más oportunidades de trabajo para los agricultores. También, motivará a que otras personas desarrollen distintos productos con este fruto.

El cuidado de la salud es indispensable para el bienestar del ser humano, por lo que es importante identificar y consumir frutos naturales con altos contenidos de compuestos bioactivos para neutralizar los radicales libres que se originan en el organismo.

Los hábitos alimenticios saludables ayudarán a mantener la salud, mejorando la calidad de vida de la persona, como dice White (1967), los cereales, las frutas, los frutos oleaginosos, las legumbres y las hortalizas constituyen el alimento escogido para nosotros por Dios.

1.1. Objetivos

1.1.1 Objetivo general

Evaluar la capacidad antioxidante in vitro de los compuestos fenólicos de la tuna morada (*Opuntia ficus-indica*) del distrito de San Bartolomé, Huarochirí, Lima.

1.1.2 Objetivos específicos

- Caracterizar fisicoquímicamente la tuna morada (*Opuntia ficus-indica*).
- Determinar el rendimiento de la extracción de fenoles totales.
- Determinar la actividad antioxidante de la tuna morada (*Opuntia ficus-indica*) en el tratamiento que contenga mayor contenido de fenoles totales.

2. Revisión de la Literatura

2.1 La tuna

La tuna (*Opuntia ficus-indica*) es originaria de México. Los frutos de esta planta son bayas elipsoidales, amarillas o rojizas, hasta de 15 cm de largo, en cuya superficie se encuentran areolas con espinas muy finas que deben cortarse o removerse antes de comer la fruta. La pulpa es delgada y se deriva de la pared del ovario, constituyendo el 60% del fruto; el centro está relleno de una masa gelatinosa y verduzca donde hay numerosas semillas cubiertas por tejidos duros (Figura 1) (León, 2000).



Figura 1. Variedades de tuna (IICA, 1989).

La mayor producción de tunales en los andes del Perú, se encuentra en los valles interandinos, en las regiones de Ayacucho, Huancavelica, Apurímac, Arequipa, Ancash, Lima, Cusco, entre otras (Tabla 1). Existe cuatro especies de tuna: tuna amarilla, tuna roja, tuna morada y tuna blanca (Figura 1) (Tineo, 2004).

Tabla 1

Producción de tuna según región en el Perú, 2013.

Región	Producción (tn)
Nacional	85,819
La Libertad	1,304
Cajamarca	1,069
Ancash	2,589
Lima	10,998
Lima Metropolitana	550
Ica	225
Huánuco	271
Pasco	55
Junín	300
Huancavelica	12,161
Arequipa	7,105
Moquegua	1,928
Tacna	547
Ayacucho	15,008
Apurímac	6,912
Cusco	24,798

Nota: Adaptado del Sistema Integrado de Estadísticas Agrarias, 2013

2.1.1 Descripción botánica

Según el IICA (1989) la tuna o nopal posee un aspecto muy característico; tallos articulados, formados de segmentos achatados, ovalados (las pencas) (Figura 2):

- Cubierta de espinas finas en *Opuntia amyaclea*.
- Sin espinas en *Opuntia ficus indica*.

El conjunto se ramifica haciendo matorrales de dos a cuatro metros de altura. Las flores rojizas dan frutos. La multiplicación se hace por desqueje de las pencas, después de dejar de secar los cortes (IICA, 1989).



Figura 2. Planta de la tuna morada

Tineo (2004) menciona que la tuna es un fruto que puede crecer en terrenos donde otros cultivos se ven limitados por falta de agua, considerada como una planta rústica capaz de cultivarse en terreno de zonas marginales al observar la planta creciendo incluso sobre rocas (Figura 3).



Figura 3. Fruto de la tuna morada

Los pigmentos solo se encuentran en los frutos más no en las pencas, y tanto las betalaínas como los carotenoides y los flavonoides pueden estar presentes en la cáscara y en la pulpa (Figura 4) (Sáenz, 2006).



Figura 4. Pulpa del fruto de la tuna morada

2.1.2 Almacenamiento de la tuna

La tuna es una fruta altamente perecedera. Sin ningún tipo de acondicionamiento el tiempo de vida no supera los cinco días y son susceptibles a ataques de *Penicillium spp.* y *Alternaria spp.* Para mantener por más tiempo las cualidades que determinan la calidad de la fruta, es necesario el almacenamiento refrigerado. Se recomienda conservar la fruta a 6-9°C y 90-95% de H.R., lo que permite conservar las tunas por hasta cuatro semanas (Cantwell, 1999) y si se conserva a temperatura de 0 °C y 85-90% de H.R. se puede conservar por dos meses (Berger et al., 1978).

2.2 Los compuestos fenólicos

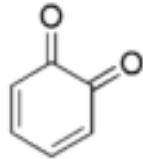
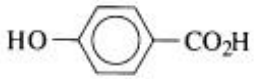
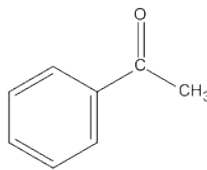
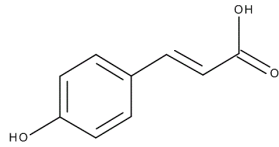
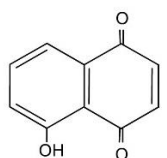
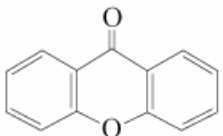
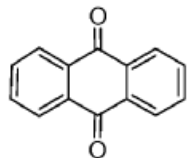
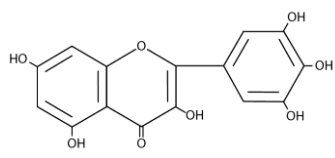
Los frutos y vegetales sintetizan una gran cantidad de moléculas orgánicas, como consecuencia de su metabolismo secundario. Los fenoles son metabolitos secundarios cuya concentración es variable a lo largo del ciclo vegetativo. Éstos participan de diversas funciones, tales como la asimilación de nutrientes, la síntesis proteica, la actividad enzimática, la fotosíntesis, la formación de componentes estructurales, la alelopatía y la defensa ante los factores adversos del ambiente (Robbins, 2003).

Los CF son un grupo de sustancias químicas encontradas en frutos y vegetales, caracterizadas por la presencia de más de un grupo fenol por molécula. En un inicio fueron conocidos como vitamina P. Sin embargo, mediante estudios se encontró que éstos no eran esenciales y fueron reclasificados (Álvarez y Cárdenas, 2010).

Estructuralmente están constituidos por un anillo aromático, bencénico, con uno o más grupos hidroxilos incluyendo derivados funcionales (Domínguez i Pedrós, 2011). Éstos se pueden dividir según su estructura química (Häkkinen, 2000). Los CF forman parte de un grupo muy heterogéneo; comprenden desde simples moléculas, como los ácidos fenólicos, hasta compuestos altamente polimerizados, como los taninos (Tabla 2) (Gil, 2010).

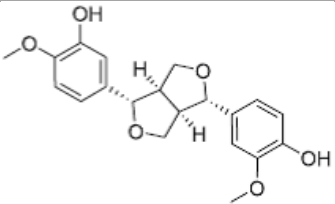
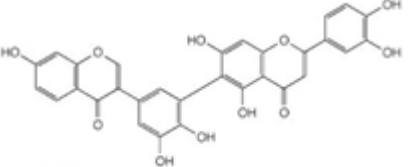
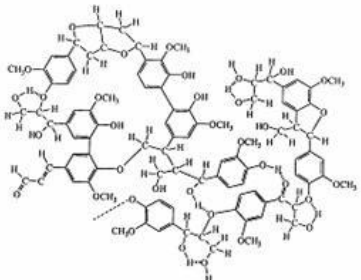
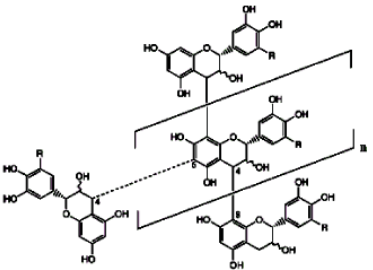
Tabla 2

Estructura química de los diferentes tipos de compuestos fenólicos

Compuestos fenólicos	Fórmula	Estructura
Fenoles simples, benzoquinonas	C6	
Ácidos hidroxibenzoicos	C6-C1	
Acetofenonas, Ácidos fenilacéticos	C6-C2	
Ácidos hidroxicinámicos, Fenilpropanoides	C6-C3	
Naftoquinonas	C6-C4	
Xantonas	C6-C1-C6	
Antraquinonas	C6-C2-C6	
Flavonoides, Isoflavonoides	C6-C3-C6	

(continúa...)

Tabla 2 Estructura química de los diferentes tipos de compuestos fenólicos (continuación.)

Lignan, neolignan	(C6-C3) ₂	
Biflavonoides	(C6-C3-C6) ₂	
Ligninos	(C6-C3) _n	
Taninos condensados	(C6-C3-C6) _n	

Nota: Adaptado de Domínguez i Pedrós, 2011.

Sin embargo, el contenido de compuestos fenólicos es también de gran interés científico por su potencial uso farmacológico como antialérgicos, antiinflamatorios y antioxidantes (Moreno, 2011). Los estudios más recientes reportan continuamente nuevas propiedades beneficiosas de los compuestos fenólicos para el ser humano, cuando son incorporados en la dieta (Seo y Morr., 1984, Määttä-Riihinen et al., 2004, Ayaz et al., 2005, De La Torre-Carbot et al., 2005, De Beer et al., 2006, Slimestad et al., 2009).

2.2.1 Métodos de extracción de compuestos fenólicos

Existen varias metodologías sobre la extracción de compuestos fenólicos, algunas utilizan uno o varios tipos de solvente, junto con presión o sin ella y otras se trabajan a distintas temperaturas, tales como:

- **Método descrito por Litwack (1967):** A 2 mL de jugo de fruta se adiciona 0.4 mL de solución extractora compuesta por metanol, cloroformo y agua (2:1:1) y se lleva a centrifugación durante 15 min a 190 G.

El uso de la mezcla éstos compuestos se debe a que los CF tienen distinta polaridad, el cloroformo tiene un comportamiento polar y apolar a diferencia de los otros solventes utilizados, su uso se debe al tipo de compuesto que se desea extraer (Escobar, 2010).

- **Método descrito por Paladino (2008):** Se realiza la extracción de compuestos fenólicos empleando agua destilada como solvente por 20 minutos a 90°C.

El tratamiento de extracción con agua a ebullición es mucho más drástico para muchos fenoles lábiles, pero la temperatura inactiva las enzimas, y por lo tanto genera extractos altamente activos como antioxidantes, también se usó este tipo de solvente debido a que no es inflamable ni tóxico.

- **Método descrito por Muñoz et al. (2007):** Las muestras son sometidas a una reducción de tamaño; la extracción se realiza en etanol al 60%. Se utilizó el etanol, porque es más barato y menos contaminante que el metanol, siendo que no hay diferencias significativas en la cuantificación de fenoles totales.

Los disolventes más usados son etanol, agua y metanol. Éstos tienen buena polaridad y por lo tanto se utilizan favorablemente para extraer compuestos polares, tales como compuestos fenólicos y flavonoides (Alam, Jahan-Bistri y Rafiquzzaman, 2013).

La disolución de los compuestos fenólicos se ve favorecida por el etanol. Los compuestos fenólicos se unen por medio de una reacción donde interviene el acetaldehído, dando lugar a productos enlazados por puente de etilo, incluyendo taninos (Tanino-etil-tanino), complejos de taninos-antocianos (Tanino-etil-antociano) y antocianos entre sí (Antociano-etil-antociano). El acetaldehído procede de la oxidación del etanol (Romero, 2008, Sánchez y Carballo, 2011).

En un estudio sobre la extracción de fenoles totales para las hojas de *Ginkgo biloba*, Domínguez i Pedrós (2011) encontró que la concentración de etanol es significativa en la extracción de fenoles totales a comparación del metanol y la acetona.

El etanol por ser orgánico y no tóxico tiene la más alta frecuencia de uso para el propósito de extracción. El agua necesita un paso diferente de liofilización para quitarlo a partir del extracto después de la extracción. La toxicidad de metanol limita su uso en la extracción. Los disolventes no polares como el éter y los disolventes bajos en polaridad como el cloroformo, éster, acetona, etc. se han utilizado en casos específicos y su disponibilidad también limita su uso en el experimento y por lo tanto su frecuencia de uso es muy baja (Alam, Jahan-Bistri y Rafiquzzaman, 2013).

Por otro lado, Irianda (2010) indica que la temperatura influye en la extracción de CF, y tiene efecto negativo en la estabilidad de éstos, porque pueden desnaturalizarse o destruirse a altas temperaturas ($>85^{\circ}\text{C}$) (Escobar, 2010; López, 2010).

2.3 Los antioxidantes

El término antioxidante hace referencia a cualquier sustancia que, estando presente a una concentración baja, comparada con la de un sustrato oxidable, es capaz de retrasar o prevenir la oxidación de dicho sustrato (Domínguez i Pedrós, 2011).

Cheftel et al. (1988) menciona que los antioxidantes son sustancias capaces de:

- Interrumpir la cadena de radicales cediendo un radical hidrógeno a un radical libre.

- Actúan impidiendo o disminuyendo la formación de radicales libres.
- Establecen unas condiciones físicas, principalmente de contenido de oxígeno, humedad relativa y temperatura, convenientemente elegidas.

Dentro de este tipo de compuestos antioxidantes se encuentran los compuestos fenólicos que son compuestos asociados al color, a las características sensoriales (sabor, astringencia, dureza), características nutritivas de los alimentos de origen vegetal. La característica antioxidante de los fenoles se debe a la reactividad del grupo fenol (Paladino, 2008).

2.4 Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos

La actividad antioxidante viene determinada por su estructura química, por lo que existen grandes diferencias en la efectividad como antioxidantes entre los distintos grupos de compuestos (Domínguez i Pedrós, 2011).

Los compuestos fenólicos son los que proporcionan bases de hidrógeno para inactivar el radical libre que inicia la reacción en cadena de autooxidación (Cubero et al., 2002).

Los antioxidantes fenólicos (AH) se emplean para proporcionar bases de hidrógeno y de esta manera, inactivar el radical libre que inicia la reacción en cadena de autooxidación. Actúan típicamente como inhibidores de radicales peróxido (RO₂-), alcoxi (RO-) y alquilo (R-) debido a su acción reductora (ecuaciones 1, 2 y 3) (Cubero et al., 2002).



Los compuestos fenólicos pueden actuar como antioxidantes mediante dos mecanismos principales (Domínguez i Pedrós, 2011):

- **Como antiradicalarios**

Los compuestos fenólicos pueden actuar como donantes de átomos de hidrógeno o electrones en reacciones que rompen el ciclo de generación de nuevos radicales libres, anticipando las reacciones de terminación (Figura 5) (Domínguez i Pedrós, 2011).

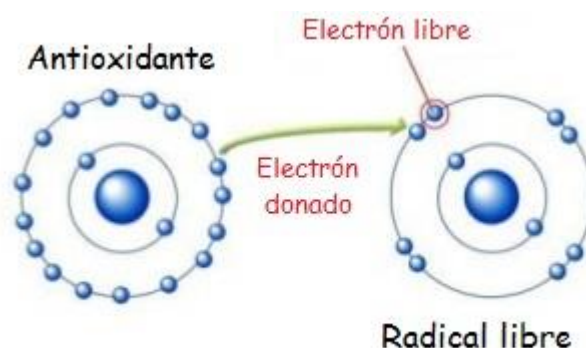
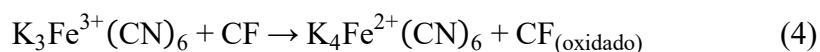


Figura 5. Antioxidante como donante de electrón al radical libre (Domínguez i Pedrós, 2011).

- **Como quelantes de metales**

Los compuestos fenólicos son secuestradores efectivos de iones metálicos e inhiben la generación de radicales libres por la reacción de Fenton (Ecuación 4) (Decker et al., 2005; Adjimani y Asare, 2015).



2.5 Métodos para evaluar la actividad antioxidante

Existen diversos métodos para evaluar la actividad antioxidante en fuentes vegetales, como plantas medicinales y alimentos, los más usados son el método DPPH, ABTS y DMPD.

2.5.1 Método DPPH

El método DPPH es el método de neutralización del radical libre 2,2-difenildipicrilhidracil (Figura 6). El radical libre y estable DPPH, es una sustancia que mide la capacidad de secuestro de cualquier compuesto con actividad antioxidante (Mensor et al., 2001).

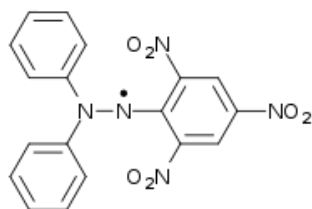
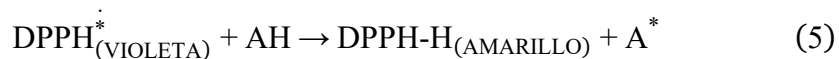


Figura 6. Estructura química del DPPH (Mensor et al., 2001)

La solución del reactivo de DPPH es de color violeta y con una absorción de 515 nm. La reacción consiste en la sustracción de un átomo de hidrógeno proveniente de un donador (antioxidante) por el radical libre DPPH, desarrollando un cambio del color violeta a amarillo, el grado de este decoloramiento indica la habilidad del antioxidante de secuestrar al radical libre; el que se lee en el espectrofotómetro después de veinte a treinta minutos de reacción (Fukumoto y Mazza, 2000, Nenadis y Tsimidov, 2002, Cunha, 2011, Brand-Williams et al.,

1995). La reacción entre la sustancia a evaluar (AH) y el DPPH* se observa en la ecuación 5:



2.5.2 Método ABTS

La capacidad antioxidante de una sustancia se puede medir como la habilidad de capturar el radical sintético ABTS* (ácido 2,2'azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)) (Figura 7), compuesto cromóforo y soluble en agua y con un máximo de absorción de 340 nm. Este radical es de color verde-azulado que al reaccionar se vuelve incoloro (Re et al., 1999, De Oliveira, 2011).

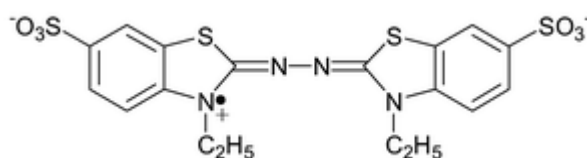


Figura 7. Estructura química del ABTS (Re et al., 1999).

La reacción entre la sustancia a evaluar (AH) y el ABTS* se muestra en la ecuación 6:



2.5.3 Método DMPD

Según Fogliano, Verde, Randazzo y Ritieni (1999) es un método con un mecanismo de transferencia de electrones parecido al del método ABTS pero que emplea la 4-amino-N,N-dimetil-p-fenilendiamina (DMPD) (Figura 8). Este reactivo asegura la sensibilidad y reproducibilidad en la cuantificación de la actividad antioxidante de compuestos hidrofílicos y liposolubles.

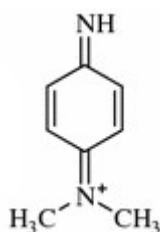
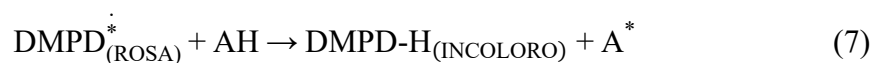


Figura 8. Estructura química del DMPD (Fogliano et al., 1999)

El radical rosa DMPD*, se decolora a la forma DMPD conforme se verifica la actividad antioxidante por la transferencia de un átomo de hidrógeno del antioxidante al radical (Fogliano et al., 1999). La solución alcanza valores estables de absorbancia a 505 nm después de 18 a 21 horas, manteniéndolo en oscuridad y refrigeración (4-5°C). Los resultados se expresan en equivalentes de Trolox. La reacción entre la sustancia a evaluar (AH) y el DMPD* se observa en la ecuación 7:



2.6 Antecedentes de la investigación

Khatabi, Hanine, Elothmani y Hasib (2011) estimaron las cantidades de polifenoles totales y betalaínas de diferentes frutos y jugo de tuna de origen marroquí. Para la extracción de los polifenoles suspendieron el jugo en etanol (75%) con metabisulfito sodio (0,5%). La mezcla se mantuvo en agitación durante 30 min a 4°C, después se filtró al vacío. Concluyendo que la tuna roja El Akri (*Opuntia ficus indica*) contiene mayor cantidad de polifenoles (17.81 mg catequina/kg) a comparación de la tuna amarilla (15.03 mg catequina/kg).

Figueroa-Cares et al. (2010) realizaron una investigación cuyo objetivo fue evaluar el contenido de algunos compuestos químicos, como pigmentos, y la capacidad antioxidante de 12 cultivares de tuna (*Opuntia* spp.) de la región centro-norte de México. Para determinar los fenoles totales utilizaron el método descrito en Litwack (1967), y para la capacidad antioxidante utilizaron el método de dihidrocloruro de N, N-dimetil-p-fenil-N-diamina (DMPD), los resultados muestran que el cultivar de Tuna Tapón Aguanoso (*Opuntia robusta* var Robusta) de color púrpura obtuvo una concentración de fenoles totales de 420,66 mg/L, siendo ésta la especie que tuvo el mayor contenido de fenoles totales, y con una capacidad antioxidante de 6,12 μmol eq Trolox/g.

Alves, Santana, Macedo, Sousa y Correia (2015) investigaron las características físico-químicas, bioactivas y funcionales de la *Opuntia ficus-indica* de color naranja de la sabana brasileña, utilizando distintos disolventes (agua, etanol/agua 70:100 (E70), etanol/agua 80:100 (E80), y sólo etanol (E100)), concluyendo que los extractos en agua de la *Opuntia* tienen mayor contenido de

fenoles totales (123.4 ± 0.1 mg/L) en comparación con extractos etanólicos (102.5 ± 0.1 mg/L), pero en el extractos etanólico (E70) se mostró la mayor actividad de captación de DPPH ($50.35 \pm 1.05\%$).

Sumaya-Martínez et al. (2011) evaluaron las actividades antioxidantes, el contenido de compuestos fenólicos totales, ácido ascórbico, betacianina, betaxantina y la estabilidad de los pigmentos betacianina en presencia de Cu (II) dependiente de los radicales hidroxilo ($\text{OH}\bullet$), en 18 cultivares de tuna púrpura, rojo, amarillo y blanco de seis estados mexicanos, se utilizó el jugo de fruta centrifugado a 4°C y filtrado, diluyendo en agua para obtener distintas concentraciones, concluyendo que las cultivares de tuna color rojo y púrpura tienen mayor contenido de compuestos fenólicos 670 ± 33 mg ác. gálico/L, y entre éstas la tuna roja Lirio (*O. ficus-indica* (L.) Mill) presentó mayor actividad antioxidante $12000 \mu\text{mol eq Trolox/L}$.

Repo y Encina (2008) determinaron el contenido de fibra cruda, el contenido de compuestos bioactivos y capacidad antioxidante de las siguientes frutas nativas: tuna, aguaymanto, tomate de árbol y papaya de monte. Usó tres variedades de tuna (verde, roja y naranja) de Ayacucho, el metanol fue el disolvente, donde la tuna roja (*Opuntia ficus indica*) tuvo el mayor contenido de compuestos fenólicos (520 mg ácido gálico/L de muestra) y mayor capacidad antioxidante (482 g equivalente trolox/g de tejido).

Sin embargo, no se han encontrado reportes en cuanto a la tuna morada cultivada en Perú.

3. Materiales y Métodos

3.1 Lugar de ejecución

El trabajo de investigación se ha desarrollado en las instalaciones de la Universidad Peruana Unión, en el Laboratorio de Ingeniería de Procesos.

3.2 Materia Prima

Se utilizó la Tuna morada (*Opuntia ficus-indica*) del distrito de San Bartolomé, Huarochirí, Lima.

3.3 Materiales

- Bureta (Volumen: 25 mL)
- Cuchillos metálicos medianos
- Fiolas (Volúmenes: 25 mL, 50 mL, 1 L)
- Fiolas ámbar (Volumen: 25 mL)
- Frascos ámbar (Volumen: 10 mL)
- Pipetas (Volúmenes: 1 mL, 5 mL, 10 mL)
- Vaso de precipitados (Volumen: 50 mL)

3.4 Equipos

- Centrífuga refrigerada (Xiang Yi, H2050R).
- Espectrofotómetro (Thermo Spectronic, Genesys 10 UV).
- Potenciómetro portátil (HANNA).
- Refractómetro portátil (VSAIT).
- Refrigeradora (Coldex, CN-36).

- Termoagitador magnético (Termolyne "Nuova", SPI 8420-26).
- Termómetro digital (-50°C a +200°C)

3.5 Reactivos

- Ácido gálico (PM: 170.12 g/mol)
- Carbonato de sodio al 20% (p/v)
- Etanol 96%
- Folin Ciocalteu 2M
- NaOH 0.1N
- Solución DPPH

3.6 Metodología

3.6.1 Obtención y recepción de la materia prima

Los frutos de la tuna morada se recolectaron en el distrito de San Bartolomé de la provincia de Huarochirí, Lima, la cual se encuentra a 1600 msnm; los cuales fueron almacenados en refrigeración a 5°C por un día (Cantwell, 1999). La cosecha de los frutos fue en el mes de septiembre.

3.6.2 Preparación de la muestra

Los frutos de la tuna fueron sometidos a operaciones previas de selección, desinfección, descascarado, y colado de la pulpa.

3.6.3 Caracterización fisicoquímica de la tuna morada

3.6.3.1 pH

La medición del pH de la tuna morada se realizó utilizando el método de la AOAC (981.12) (2000). La muestra (jugo de tuna morada) se mezcló con agua destilada (1:10), y se midió el pH con un potenciómetro.

3.6.3.2 Acidez

La medición del porcentaje de acidez (g. de ác. cítrico) de la tuna morada se realizó utilizando el método de la AOAC (942.15) (2000). La muestra (jugo de tuna morada) se mezcló con agua destilada (1:10), se llenó una bureta con al menos 25 mL de la solución estandarizada de NaOH 0.1 N. Manteniendo la muestra en agitación, se tituló hasta llegar a un pH de 8.1 (puede utilizar un rango de 8.1 ± 0.2 , lo cual se considera aceptable, según los cambios de temperatura que pueden ocurrir en el proceso). Se anotó el gasto total de la titulación y se reemplazó en la ecuación 8:

$$\% \text{ acidez } \left(\frac{\text{g } \acute{\text{a}}\text{c. cítrico}}{100 \text{ mL}} \right) = \frac{V * C * f * 100}{N * v} \quad (8)$$

Donde:

V: Volumen de gasto de la solución de NaOH estandarizada

C: Concentración de la solución de NaOH estandarizada

f: factor de conversión de equivalencia ácido cítrico anhidro (0.006404).

N: Concentración ideal de la solución de NaOH (0.1N)

v: volumen de la muestra (mL)

3.6.3.3 Sólidos solubles

La medición de los sólidos solubles de la tuna morada se realizó utilizando el método de la AOAC (932.14) (2000). 1 ml de jugo de tuna se colocó en la placa de un refractómetro portátil; se observó por el ocular y el resultado se expresó como °Brix.

3.6.3.4 Índice de madurez

La medición del índice de madurez de la tuna morada se realizó utilizando el método de Sulbarán et al. (2013). El índice de madurez se obtuvo de la ecuación 9:

$$\text{Índice de madurez (IM)} = \frac{\text{°Brix}}{\text{acidez}} \quad (9)$$

3.6.4 Extracción de compuestos fenólicos

La extracción de los compuestos fenólicos se realizó utilizando la metodología de Muñoz et al. (2007). La muestra de 1 ml de jugo de tuna previamente filtrada se colocó en un vaso de precipitación de 50 mL. La extracción que se realizó fue del tipo líquido-líquido (L-L), para lo cual se agregó 10 ml etanol a diferentes concentraciones dependiendo del experimento (ya que este permite la disolución de los CF) por un periodo de 30 min y se sometió a agitación constante, agenciado por un termoagitador. En seguida la muestra fue centrifugada a 4053 G-force por 15 min, a

temperatura ambiente. Se trabajó con el sobrenadante, siendo éste almacenado en un frasco ámbar de 10 mL, y almacenado a 5°C para su posterior cuantificación.

3.6.4.1 Diseño experimental

La extracción de los compuestos fenólicos se realizó según el diseño factorial 2^2 con 3 puntos centrales (Tabla 3). Para la definición de las variables se consideraron previas investigaciones sobre el tema (Muñoz et al., 2007; Romero, 2008; Domínguez i Pedrós, 2011; Escobar, 2010 y López, 2010.) los cuales determinaron importante estudiar las variables independientes: porcentaje de etanol y temperatura, y como variable dependiente: concentración de ácido gálico. Los análisis estadísticos se realizaron con ayuda del Software Statistica 7.0, aplicando ANOVA para determinar la significancia de las variables evaluadas.

Tabla 3

Niveles codificados para cada factor

Factor	Niveles		
	-1	0	1
Etanol (%)	40	60	80
Temperatura (°C)	30	45	60

Los niveles codificados para cada factor se muestran en la Tabla 4:

Tabla 4

Diseño Factorial 2^2 con tres puntos centrales

	Etanol (%)	Temperatura (°C)	Fenoles Totales (mg Ác. Gálico/L de muestra)	Capacidad Antioxidante (%)
1	-1	-1		
2	1	-1		
3	-1	1		Solo se obtendrá del que tenga mayor contenido de fenoles totales
4	1	1		
5	0	0		
6	0	0		
7	0	0		

3.6.5 Cuantificación de compuestos fenólicos totales

Para la cuantificación de compuestos fenólicos totales se siguió el método espectrofotométrico Folin-Ciocalteu descrito por Paladino (2008). 250 μ L de muestra (extracto fenólico) fueron colocados en una fiola ámbar de 25 mL, seguido de 1250 μ L de reactivo de Folin-Ciocalteu, 5000 μ L de la solución de carbonato de sodio (20% p/v) y fue enrasado a 25 mL con agua destilada. Luego se dejó en reposo por 30 min para estabilizar la reacción. Cumplido el tiempo, se visualizó la absorbancia a 765 nm con una cubeta de 1 cm de paso óptico, en un espectrofotómetro, frente a un blanco preparado con agua destilada.

Curva de Calibración

Esta curva fue realizada utilizando concentraciones crecientes de ácido gálico: 0, 250, 500, 750 y 1000 mg/L. Se utilizó 250 μ L de la concentración de ácido gálico, operando de igual modo que la muestra de extracto fenólico de tuna morada. Los datos obtenidos fueron sometidos a un análisis de regresión lineal, obteniéndose la ecuación que vincula la

concentración con la lectura de densidad óptica (DO) a 765 nm. La ecuación que se obtuvo fue del tipo: $y = a + (b * DO \text{ 765 nm})$.

3.6.6 Evaluación de la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos

Se utilizó el método de neutralización del radical libre difenildipicrilhidracil (DPPH) descrita por Mensor et al. (2001). Solo se determinó del tratamiento que obtuvo mayor contenido de fenoles totales.

En un tubo de ensayo se colocó 1,25 mL de muestra y 0,5 mL de la solución de DPPH 0,3 mM (0,0003 M) en etanol al 95 %. Se dejó en reposo a temperatura ambiente durante treinta minutos. Se midió la absorbancia a 517 nm. Se preparará un blanco de la muestra en solución etanólica. Estas determinaciones se realizaron por triplicado. El tubo control consistió en una solución de DPPH en etanol, el que fue leído a 517 nm. La evaluación de la actividad antioxidante se expresó como porcentaje y se determinó de acuerdo a la ecuación 10:

$$AA\% = 100 - \left\{ \frac{(A_m - A_b) * 100}{A_{\text{control}}} \right\} \quad (10)$$

Donde:

AA% = Porcentaje de actividad antioxidante

A_m = Absorbancia de la muestra

A_b = Absorbancia del blanco

A_{control} = Absorbancia del reactivo DPPH

4. Resultados y Discusiones

4.1 Caracterización fisicoquímica de la Tuna morada

Las determinaciones de las características fisicoquímicas de la tuna morada se hicieron por triplicado, cuyos resultados se detallan en la Tabla 5.

Tabla 5

Resultados de la caracterización fisicoquímica de la tuna morada. Resultados son media \pm DE. (n=3).

	Índice de madurez	pH	Acidez (g. de ác. cítrico/100 mL muestra)	Sólidos solubles (° Brix)
Resultados	182.86 \pm 8.96	6.61 \pm 0.22	0.06 \pm 0.01	11.67 \pm 0.47

El índice de madurez (IM) de la tuna en estudio fue de 182.86 ± 8.96 , al respecto Cantwell (1999) menciona que durante la época de cosecha el IM de la tuna es de 200, en otros trabajos utilizaron frutos de tuna con IM entre 160 - 384 (Alves et al., 2015, Cerezal y Duarte, 2005, Aquino et al., 2012). Lo cual la tuna en estudio está dentro de los límites evaluados, y cercano a la madurez del fruto, esto se debe a que los frutos fueron cosechados antes del tiempo de cosecha que es en el mes de octubre.

El pH de la tuna en estudio fue de 6.61 ± 0.22 , otros reportes muestran que el pH de la tuna varía entre 5.68 – 6.31 (Albano et al., 2015, Alves et al., 2015, Aquino et al., 2012, Cerezal y Duarte, 2005), con lo cual se observa que el pH se encuentra un poco alto a comparación de los otros.

La tuna en estudio tuvo una acidez de 0.06 ± 0.01 g. de ác. cítrico/100 mL muestra, otros estudios indican que la acidez de la tuna varía entre 0.03 – 0.07 g. de ác. cítrico/100 mL muestra (Alves et al., 2015, Aquino et al., 2012, Cerezal y Duarte, 2005, Cantwell, 1999), siendo que la acidez de la tuna morada en estudio está dentro del rango.

Torres, Montes, Pérez y Andrade (2013), mencionan que el pH se ve influenciado por el índice de madurez, un incremento de este, ocasiona un aumento en el pH (para la mayoría de los frutos) y una disminución de la acidez, este hecho sucede por la presencia de un sistema de autorregulación del pH, resultado del efecto amortiguador del ácido cítrico (Menéndez et al., 2006); por otro lado para algunos frutos el incremento del estado de madurez disminuye el pH y aumenta la acidez, esto está relacionado con la degradación de almidón en azúcares reductores o su conversión en ácido pirúvico (Azcón-Bieto y Talón, 2009; Barrera, Arrazola y Cayón, 2010; Chang-Yuen y Sáenz, 2005).

Los sólidos solubles de la tuna en estudio fue de $11.67 \pm 0.47^{\circ}$ Brix, otros reportes indican los $^{\circ}$ Brix de la tuna varían entre 11.2 – 14.8 (Albano et al., 2015, Alves et al., 2015, Aquino et al., 2012, Cerezal y Duarte, 2005, Cantwell, 1999), observando que la tuna morada en estudio está dentro del rango.

A medida que incrementa el índice de madurez se presenta un aumento en los sólidos solubles. Este comportamiento en los sólidos solubles, se explica por la hidrólisis de diversos polisacáridos estructurales tales como almidón, pectinas de la pared celular, hasta sus componentes monoméricos básicos, por lo cual se

acumulan azúcares, principalmente glucosa, fructosa y sacarosa (Arrieta et al., 2006) que son los constituyentes principales de los sólidos solubles (Sañudo et al., 2008).

Las características fisicoquímicas de la tuna morada en estudio, son muy parecidos al de los otros cultivares, las diferencias que presenta, principalmente el IM, se debe a la variedad del fruto (porque son de distintas zonas), el clima y el tiempo de cosecha.

4.2 Cuantificación de compuestos fenólicos totales

4.2.1 Curva de calibración del ácido gálico

Los datos de la Tabla 6 fueron sometidos a un análisis estadístico de regresión lineal simple, con el objeto de obtener una curva de calibración del método y la ecuación que vincula las dos variables: DO y Ác. gálico.

Tabla 6

Datos para la curva de calibración del método de Folin Ciocalteu. Patrón: Ácido gálico

DO a 765 nm	Ác. gálico (mg/L)
0	0
0.339 ± 0.002	250
0.649 ± 0.001	500
0.893 ± 0.002	750
1.116 ± 0.001	1000

Como resultado del análisis se obtuvo una curva de ajuste; con $p=0.0003$, R^2 ajustado = 0.989, un R^2 igual a 1 significa un ajuste lineal perfecto (Martínez, 2005), lo que indica que los datos obtenidos son apropiados, esto significa que el 98,9% de la variabilidad de la variable

concentración puede ser explicada por la variable densidad óptica a 765 nm., logrando tener, a través de ella una ecuación que se ajusta al modelo lineal.

La ecuación 11 permite obtener el resultado de fenoles totales de los diferentes ensayos desarrollados para la tuna morada reemplazando la DO a través de la lectura en el espectrofotómetro.

$$Y = -33.438 + (889.953 * DO_{765nm}) \quad (11)$$

Y=Concentración de fenoles totales en mg por litro de ácido gálico

4.2.2 Contenido de fenoles totales

La Tabla 7 muestra los resultados del contenido de fenoles totales por ensayo, la cual varía entre 522.783 ± 1.001 y 1002.467 ± 0.897 mg ác. gálico/L de muestra, en el que se observa que con el tratamiento 4 (80% etanol, 60°C) se obtuvo la mayor cantidad de fenoles totales y con el tratamiento 3 (40% etanol, 60°C) la cantidad de fenoles totales fue menor, siendo que a menor porcentaje de etanol hay menor cantidad de compuestos fenólicos.

Tabla 7

Resultados del contenido de fenoles totales en los ensayos del Diseño Factorial 2² con 3 puntos centrales

Ensayo	Etanol (%)	Temperatura (°C)	Fenoles totales (mg ác. gálico/L de muestra)
1	40	30	527.232 ± 1.101
2	80	30	850.285 ± 0.915
3	40	60	522.783 ± 1.001
4	80	60	1002.467 ± 0.897
5	60	45	755.950 ± 0.901
6	60	45	753.280 ± 0.899
7	60	45	757.730 ± 0.911

Según Figueroa-Cares et al. (2010) el cultivar de Tuna Tapón Aguanoso (*Opuntia robusta* var *Robusta*) de color púrpura obtuvo una concentración de fenoles totales de 420.66 mg/L (metanol, cloroformo, agua), Alves, Santana, Macedo, Sousa y Correia (2015) mencionan que el contenido de fenoles totales para *Opuntia ficus-indica* de color naranja del Brasil fue de 102.5 ± 0.1 mg/L (etanol), Sumaya-Martínez et al. (2011) reportó que la tuna roja Lirio (*O. ficus-indica* (L.) Mill) presentó un contenido de fenoles totales de 670 ± 33 mg ác. gálico/L (agua), Repo y Encina (2008) determinaron que la tuna roja (*Opuntia ficus-indica*) tiene un contenido de fenoles totales de 520 mg ácido gálico/L (metanol), comparando con los resultados obtenidos, la tuna morada estudiada tiene mayor concentración de compuestos fenólicos en la mayoría de los tratamientos realizados, aun así los tratamientos que obtuvieron menor cantidad de fenoles totales están en dentro del rango de los estudios realizados.

4.2.2.1 Validez del modelo

Los resultados obtenidos fueron analizados según los supuestos de normalidad de los datos e independencia de los residuos. Los datos de la

variable dependiente (fenoles totales) se distribuyen normalmente, y los residuos están dispersos aleatoriamente en torno a la media (0), por lo tanto no hay ninguna tendencia, es decir son independientes.

4.2.2.2 Análisis de varianza

El análisis de varianza (ANOVA) (Tabla 8) se realizó a un nivel de significancia ($p < 0.05$). La variable más significativa fue la concentración de etanol ($p = 0.0004$), influyendo positivamente en el contenido de fenoles totales, es decir, a mayor concentración de etanol hay mayor contenido de fenoles totales.

Tabla 8

Análisis de varianza para la extracción de fenoles totales

Fuente de Variación	gl	<i>p</i>
(1)Etanol (%)	1	0.000396*
(2)Temperatura (°C)	1	0.047462*
1*2	1	0.041038*
Error	3	
Total SS	6	

R²: 0.99111

R² Ajustado: 0.98222

*Significancia a $p < 0.05$

Los fenoles son un gran grupo de metabolitos secundarios con varios grados de polimerización, y por lo tanto, se extraen de acuerdo a la solubilidad que estos tienen en determinada concentración del disolvente (Pérez-Jiménez y Saura-Calixto, 2006).

Distintos estudios demuestran que hay mayor contenido de fenoles totales a mayor concentración de etanol (Martínez-Correa et al., 2011, Fuiza et al., 2009, Galhiane et al., 2006). El etanol favorece a la

disolución de los compuestos fenólicos, debido a que es un compuesto polar. Éstos se unen por medio de una reacción donde interviene el acetaldehído que es producido por la oxidación del etanol, dando lugar a productos enlazados por puente de etilo (Romero, 2008, Sánchez y Carballo, 2011).

Los fenoles simples no necesitan la presencia de etanol para su disolución, en cambio la disolución de los compuestos fenólicos más complejos se ve favorecida en el momento de la aparición del etanol (Romero, 2008). Además, que a mayor concentración de etanol en la extracción hay variedad de compuestos fenólicos, no sólo los compuestos polares, sino también otros compuestos de polaridad baja, incluso algunos compuestos apolares (Sun et al., 2015).

El etanol tiene menor punto de ebullición que el agua y debido a la constante dieléctrica inferior de este disolvente, productos de alto peso molecular se disuelven fácilmente, reaccionando con los grupo etilo o etoxi del etanol (Singh et al., 2015).

La temperatura de extracción influyó en menor grado ($p=0.0475$), a comparación del etanol, pero también lo hace positivamente, es decir, al aumentar la temperatura, el contenido de fenoles totales es mayor.

Irianda (2010) reporta que la temperatura influye en la extracción de CF, lo mismo que otros autores como Escobar (2010) y López (2010).

El tratamiento de extracción con mayor temperatura es mucho más drástico para muchos fenoles lábiles, pero la temperatura inactiva las enzimas, y por lo tanto genera extractos altamente activos como antioxidantes (Paladino, 2008).

La interacción de las variables también es significativa ($p=0.041$), influenciando positivamente al contenido de fenoles totales como se muestra en la Figura 9, a mayor temperatura y mayor concentración de etanol, se obtuvo mayor cantidad de fenoles totales.

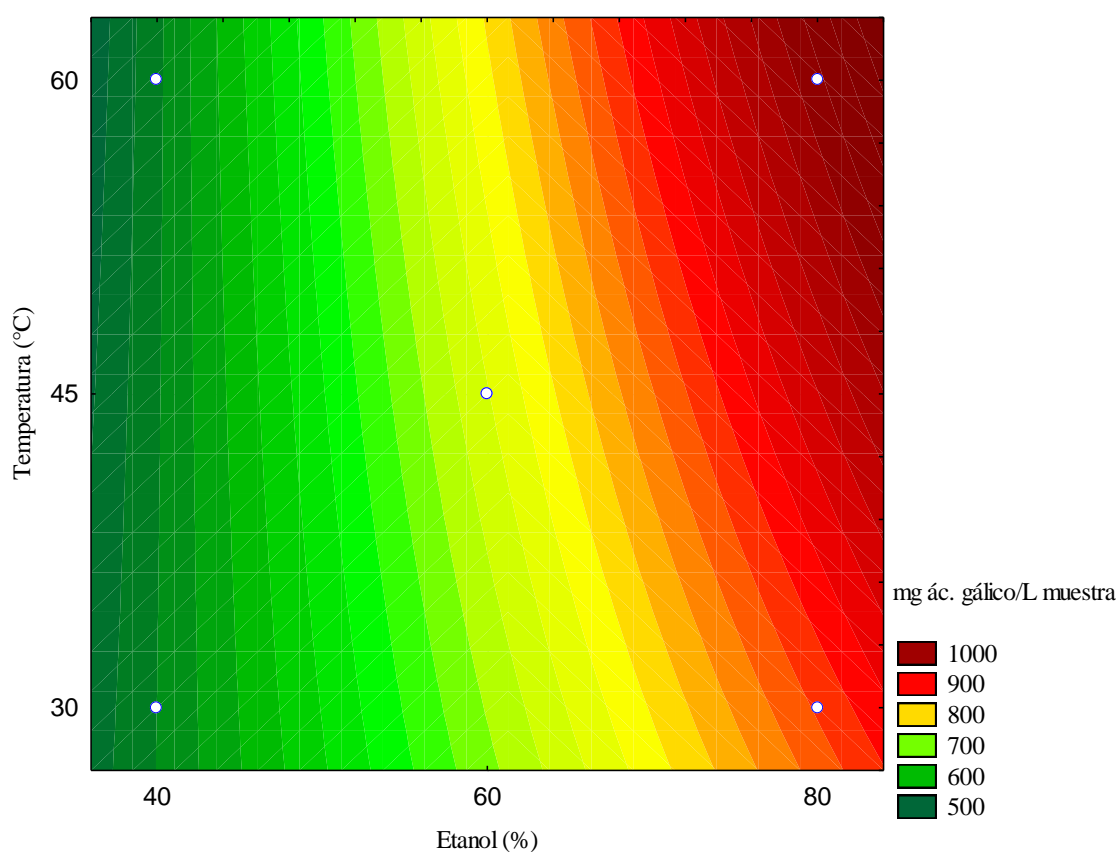


Figura 9. Efecto de la interacción de las variables sobre el contenido de fenoles totales

Estos resultados confirman los datos de la literatura estudiada, donde la concentración de etanol y la temperatura influyen en la extracción de compuestos fenólicos (Romero, 2008; Domínguez i Pedrós, 2011; Irianda, 2010).

Rice-Evans et al. (1995) mencionan que el aumento de temperatura favorece la extracción, porque incrementa la solubilidad del soluto y también el coeficiente de difusión del disolvente, porque hay mayor movimiento de partículas que chocan entre sí.

Cuando se tiene una temperatura y concentración de disolvente altas en la extracción, se promueve la mayor extracción de compuestos con actividad antioxidante. Los compuestos fenólicos se liberan en mayor cantidad aplicando temperaturas mayores, lo que indica que presentan cierta susceptibilidad al calor, además de presentar distintos tipos de estados conjugados, por lo que un sencillo tratamiento en calor puede ser utilizado para incrementar la extracción de compuestos con actividad antioxidante (Escobar, 2010, Irianda, 2010).

La temperatura y disolvente tienen un efecto sinérgico en el rendimiento de compuestos fenólicos debido al aumento de fragmentaciones con el aumento de la temperatura. Cuando la temperatura empleada es suficientemente mayor que las energías de activación para la disociación del enlace, se produce la despolimerización (Singh et al., 2015)

4.2.3 Análisis de la capacidad antioxidante

Se analizó la capacidad antioxidante de los ensayos con mayor contenido de fenoles totales, determinados por la decoloración del radical libre DPPH.

Tabla 9

Capacidad antioxidante de los experimentos con mayor contenido de fenoles totales

Ensayo	Etanol (%)	Temperatura (°C)	Fenoles Totales (mg Ác. Gálico/L de muestra)	Capacidad Antioxidante (%)
2	80	30	850.29	36.11
4	80	60	1002.47	40.18

Como se observa en la Tabla 9, la tuna morada tiene una capacidad antioxidante entre 36-40%, y hay relación entre estos resultados, a mayor contenido de fenoles totales, mayor capacidad antioxidante (Domínguez i Pedrós, 2011; Cubero et al., 2002).

Según Castillo (2004), el porcentaje mínimo para considerar que un fruto realmente tiene capacidad antioxidante es de 25%, utilizando el mismo método en experimentación, con lo cual, los compuestos fenólicos que posee la tuna morada en estudio están por encima de este dato, por lo tanto la tuna morada es un fruto que tiene esta atribución.

Alves, Santana, Macedo, Sousa y Correia (2015) reportaron que los compuestos fenólicos extraídos de la *Opuntia ficus-indica* de color naranja de la sabana brasileña a 80% de etanol, tuvo $44.36 \pm 1.52\%$, observando que la

actividad antioxidante de la tuna en estudio tiene una actividad antioxidante cercana.

El estado de madurez en el fruto influye en forma directamente proporcional con su contenido de compuestos fenólicos, lo que a su vez repercute en que la capacidad antioxidante sea mayor mientras va madurando (Repo y Encina, 2008).

Según varios autores, se verifica la relación que existe entre la actividad antioxidante y el contenido de fenoles totales. Los extractos que presentaron menor concentración fenólica, también registraron baja actividad antioxidante, mientras que los tratamientos que generaron extractos más concentrados en fenoles totales, presentaron mayor actividad antioxidante (Yen et al., 1993; Yen et al., 2000; Benzie y Szeto, 1999; Yildirim et al., 2000; Yildirim et al., 2001; Alma et al., 2003; Matos-Chamorro, Paredes-Guzmán y González-Rengifo, 2010, Kuskoski et al., 2005).

Los estudios demuestran que la interacción de un antioxidante potencial con el DPPH depende de su conformación estructural. El número de moléculas de DPPH que se reduce está correlacionado con el número de grupos hidroxilo disponibles en el compuesto fenólico (Brand-Williams et al., 1995, Ratty et al., 1988).

5. Conclusiones

La caracterización fisicoquímica de la tuna morada del distrito de San Bartolomé es similar al de sus pares cultivados en otros lugares, con pH de 6.61, acidez de 0.06 g. de ácido cítrico/100 mL muestra, 11.67°Brix y un índice de madurez de 182.86 ± 8.96 .

El etanol fue la variable más significativa, influyendo positivamente en la extracción de compuestos fenólicos, porque a mayor concentración de etanol (80%) hubo mayor contenido de éstos. La temperatura también fue significativa para la extracción, obteniendo mayor contenido de fenoles totales al aumentar la temperatura (60°C).

La interacción de las variables independientes (concentración de etanol y temperatura) fue importante para la extracción, porque a una concentración de etanol elevada, con influencia de la temperatura permite que se extraiga mayor cantidad de fenoles totales. El experimento 4 (60°C y 80% etanol) obtuvo 1002.47 mg ácido gálico/L de muestra, seguido del experimento 2 (40°C y 80% etanol) con 850.29 mg ácido gálico/L de muestra.

La capacidad antioxidante de los tratamientos con mayor contenido de fenoles totales (experimento 4 y experimento 2) fue del 40.18% y 36.11%, respectivamente, siendo estos resultados importantes para la revalorización de la tuna morada en estudio, porque supera el 25% mínimo de actividad antioxidante.

6. Recomendaciones

- Evaluar la influencia de temperaturas más altas de extracción, para ver hasta qué punto se mantienen estables los CF y evitar que se desnaturalicen.
- Analizar los compuestos fenólicos y evaluar la capacidad antioxidante presentes en otras variedades cultivadas en el Perú, como son la tuna amarilla, roja y blanca.
- Estudiar no solo la pulpa, sino también otras partes del fruto como la cáscara, porque ahí también se visualiza una coloración intensa, de esta forma se aprovechará los residuos sólidos de este fruto y se minimizará la contaminación ambiental.
- Comparar los compuestos fenólicos y la actividad antioxidante en distintos tiempos de cosecha.
- Analizar que sucede con la capacidad antioxidante en diferentes tiempos de almacenamiento.
- Evaluar la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos en un producto elaborado con la tuna morada.

Referencias

- Adjimani, J. & Asare, P. (2015). Antioxidant and free radical scavenging activity of iron chelators. *Toxicology Reports*, 2, 721–728. doi: 10.1016/j.toxrep.2015.04.005
- Alam, N., Jahan-Bistri, N. & Rafiquzzaman, Z. (2013). Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. *Saudi Pharm J*, 21(2), 143-52. doi: 10.1016/j.jsps.2012.05.002
- Albano, C., Negro, C., Tommasi, N., Gerardi, C., Mita, G., Miceli, A., De Bellis, L. & Blando, F. (2015). Betalains, Phenols and Antioxidant Capacity in Cactus Pear [*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.] Fruits from Apulia (South Italy) Genotypes. *Antioxidants*, 4, 269-280. doi: 10.3390/antiox4020269
- Alma, M., Mavi, A., Yildirim, A., Digrak, M. & Hirata, T. 2003. Screening chemical composition and in vitro antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils from *Origanum syriacum* L. growing in Turkey. *Biol. Pharm. Bull*, 26(12), 1725-1729.
- Álvarez, D. & Cárdenas, J. (2010). *Aplicación del método químico DPPH para determinar la capacidad antioxidante presente en una mermelada de tuna*. (Tesis de Ingeniero Químico). Asesor: Dr. Luis Felipe Zalamea Molina. Ecuador: Facultad de Ingeniería Química, Universidad de Guayaquil. 154 p.

Alves, R., Santana, M., Macedo, E., Sousa, E. & Correia, R. (2015). Physicochemical, bioactive and functional evaluation of the exotic fruits *Opuntia ficus-indica* and *Pilosocereus pachycladus* Ritter from the Brazilian caatinga. *J Food Sci Technol*. doi: 10.1007/s13197-015-1821-4

AOAC. (2000). *Official Methods of Analysis*. 17th ed. Washington DC: Association of Official Analytical Chemists.

Aquino, E., Chavarría, Y., Chávez, J., Guzmán, R., Silva, E. & Verdalet, I. (2012). Caracterización fisicoquímica de siete variedades de tuna (*Opuntia* spp.) color rojo-violeta y estabilidad del pigmento de las dos variedades con mayor concentración. *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*, 55, 3-10.

Arrieta, A., Baquero, U. & Barrera, J. (2006). Caracterización fisicoquímica del proceso de maduración del plátano “Papocho” (*Musa* ABB Simmonds). *Agronomía Colombiana*, 24(1), 48-53.

Avello, M. & Suwalsky, M. (2006). *Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección*. Universidad de Concepción. 162 - 172 p. ISSN: 0718-0462.

Ayaz, F., Hayirlioglu-Ayaz, S., Gruz, J., Novak, O. & Strnad, M. (2005). Separation, characterization, and quantitation of phenolic acids in a little-known blueberry

(*Vaccinium arctostaphylos* L.) fruit by HPLC-MS. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 53, 8116 – 8122.

Azcón-Bieto, J. & Talón, M. (2008). *Fundamentos de fisiología vegetal*. USA: Interamericana-McGraw-Hill.

Barrera, J., Arrazola, G. & Cayón, D. (2010). Caracterización fisicoquímica y fisiológica del proceso de maduración de plátano Hartón (musa AAB Simmonds) en dos sistemas de producción. *Acta Agronómica*, 59(1), 20-29.

Benzie, I. & Szeto, T. (1999). Total antioxidant capacity of teas by the ferric reducing/antioxidant power assay. *J. Agric. Food Chem*, 47, 633-636.

Berger, H., Ortuzar X., Auda C., Lizana, A. & Reszczynski, A. (1978). Conservación de tunas (*Opuntia ficus-indica* (L.) Mill.) en almacenaje refrigerado. *Inv. Agric*, 1(4), 21-24.

Bioqui, J. & Millán, F. (2005). *Los péptidos bioactivos en alimentación: nuevos agentes promotores de salud*. Centro Tecnológico Nacional y de la Conserva y Alimentación. ISSN: 1577-5917.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. & Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Sci. Technol*, 28, 25–30.

- Cantwell, M. (1999). Manejo postcosecha de tunas y nopalitas. In: G. Barbera, P. Inglese y E. Pimienta, eds. *Agroecología, cultivo y usos del nopal. Estudio FAO Producción y Protección Vegetal, 132*, 126-143.
- Castillo, P. (2004). Estudio químico y de actividad antioxidante en *Lepechinia meyenii* (Walp.). [Tesis de maestría]. Pontificia Universidad Católica del Perú.
- Cerezal, P. & Duarte, G. (2005). Algunas características de tunas (*Opuntia ficus-índica* (L.) Miller) cosechadas en el altiplano andino de la 2da Región de Chile. *J. PACD*, 1, 34-60.
- Chang-Yuen, K. & Sáenz, M. (2005). Efecto del 1-metil-ciclopropeno (1-mcp) en la maduración de banano. *Agronomía Costarricense*, 29(3), 211-220.
- Cheftel, J., Cheftel, H. & Besancon, P. (1988). *Introducción a la Bioquímica y tecnología de los alimentos*. España: Editorial Acribia. 333 p.
- Cubero, N., Monferrer, A. & Villalta, J. (2002). *Aditivos alimentarios*. España: Mundi-Prensa. ISBN: 848476088X.
- Cunha, D. (2011). *Estudo comparativo da atividade antioxidante de plantas medicinais da caatinga utilizadas como antiinflamatórias*. [Tesis de maestría]. Universidade Federal de Pernambuco.

- De Beer, D., Joubert, E., Marais, J. & Manley, M. (2006). Unravelling the total antioxidant capacity of pinotage wines: contribution of phenolic compounds. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 54, 2897 – 2905.
- De La Torre-Carbot, K., Jáuregui, O., Gimeno, E., Castellote, A., Lamuela-Raventós, R. & López-Sabater, M. (2005). Characterization and quantification of phenolic compounds in olive oils by solid-phase extraction, HPLC-DAD, and HPLC-MS/MS. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 53, 4331 – 4340.
- De Oliveira, S. (2011). *Determinação da capacidade antirradicalar de produtos naturais utilizando-se a quimiluminescência do luminol e ensaios fotométricos com radicais estáveis*. [Tesis de maestría]. Universidade de São Paulo.
- Decker, E., Warner, K., Richards, M. & Shahidi, F. (2005). Measuring antioxidant effectiveness in food. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (10), 4303-4310.
- Domínguez i Pedrós, A. (2011). *Estudio de la capacidad antioxidante de hojas de Ginkgo biloba*. Universitat Politècnica de Catalunya. 107 p.
- Escobar, M. (2010). *Extracción de compuestos fenólicos de las cáscaras de cítricos producidos en México*. [Tesis de maestría]. Instituto Politécnico Nacional, México.

- Figuroa-Cares, I., Martínez-Damián, M., Rodríguez-Pérez, E., Colinas-León, M., Valle-Guadarrama, S., Ramírez-Ramírez, S. & Gallegos-Vásquez, C. (2010). Contenido de pigmentos, otros compuestos y capacidad antioxidante en 12 cultivares de Tuna (*Opuntia* spp.) de México. *Agrociencia*, 44, 763-771.
- Fogliano, V., Verde, V., Randazzo, G. & Ritieni, A. (1999). Method for measuring antioxidant activity and its application to monitoring the antioxidant capacity of wines. *J Agric Food Chem*, 47, 1035–1040. doi:10.1021/jf980496s
- Fukumoto, L. & Mazza, G. (2000). Assessing antioxidant and prooxidant activities of phenolic compounds. *J. Agric. Food Chem*, 48, 3597-3604.
- Gil, A. (2a Ed.). (2010). *Tratado de Nutrición: Composición y Calidad Nutritiva de los Alimentos*. España: Editorial Médica Panamericana. 786 p. **ISBN:** 9788498353471
- Häkkinen, S. (2000). *Flavonols and phenolic acids in berries and berry products*. (Doctoral dissertation). Finlandia: Medical Sciences, Kuopio University. 221 p.
- Henríquez, C., Almonacid, S., Chiffelle, I., Valenzuela, T., Araya, M., Cabezas, L., Simpson, R. & Speisky, H. (2010). Determination of antioxidant capacity, total phenolic content and mineral composition of different fruit tissue of five apple cultivars grown in Chile. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 70(4), 523-536.

- Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura y Ministerio de Asuntos Extranjeros de Francia. (1989). *Compendio de Agronomía Tropical*. Costa Rica. 693 p. **ISBN:** 9290391529
- Irianda, P. (2010). *Capacidad Antimicrobiana y Antioxidante de Extractos de Orégano Obtenidos Mediante Fluidos Supercríticos*. España: Universidad Politécnica de Valencia. 21 p.
- Khatabi, O., Hanine, H., Elothmani, D. & Hasib, A. (2011). Extraction and determination of polyphenols and betalain pigments in the Moroccan Prickly pear fruits (*Opuntia ficus indica*). *Arabian Journal of Chemistry*. doi:10.1016/j.arabjc.2011.04.001
- Kuskoski, E., Asuero, A. & Troncoso, A. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas*, 25(4): 726-732.
- León, J. (3ª Ed.). (2000). *Botánica de los cultivos tropicales*. Costa Rica: Agroamerica. 522 p. **ISBN:** 9290393955
- Litwack, G. (1967). *Bioquímica Experimental*. España: Ediciones Omega S.A. 378 p.
- López, E. (2010). *Caracterización bioquímica del níspero (*Eriobotrya japonica*): Cinética de la polifenoloxidasas e identificación de compuestos fenólicos*. [Tesis de maestría]. Instituto Politécnico Nacional, México.

- Määttä-Riihinen, K., Kamal-Eldin, A., Mattila, P., González-Paramás, A. & Törrönen, R. (2004). Distribution and contents of phenolic compounds in eighteen Scandinavian berry species. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 52, 4477 – 4486.
- Marquina, V., Araujo, L., Ruíz, J. & Rodríguez-Malaver, A. (2008). Composición química y capacidad antioxidante en fruta, pulpa y mermelada de guayaba (*Psidium guajava* L.). *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 58(1), 98-102.
- Martínez, E. (2005). Errores frecuentes en la interpretación del coeficiente de determinación lineal. *Anuario Jurídico y Económico Escurialense*, 36, 315-332.
- Matos-Chamorro, A., Paredes-Guzmán, J. & González-Rengifo, L. (2010). Determinación de la Capacidad Antioxidante de los Compuestos Fenólicos del Sancayo (*Corryocactus brevistylus*). *Rev. Investig. Cienc. Ttecnol. Aliment.*, 1(1), 66-71.
- Medina-Torres, L., Brito-De La Fuente, E., Torrestiana-Sanchezb, B. & Katthainc, R. (2000). Rheological properties of the mucilage gum (*Opuntia ficus indica*). *Food Hydrocolloids*, 14, 417–424.
- Menéndez, O., Evangelista, S., Arenas, M., Bermúdez, K., Martínez, A. & Jiménez, A. (2006). Cambios en la actividad de α -amilasa, pectinmetilesterasa y poligalacturonasa durante la maduración del maracuyá amarillo (*Passiflora edulis* var. *Flavicarpadegener*). *Interciencia*, 31(10), 728-733

- Mensor, L., Menezes, F., Leitao, G., Reis, A., Dos Santos, T., Coube, C. & Leitao, S. (2001). Screening of Brazilian plants extracts for antioxidant activity by the use of DPPH Free radical method. *Phytotherapy Res*, 15, 127-130.
- Moreno, M. (2011). *Cuantificación de metabolitos defensivos en la planta hormiguera *Tococa quadrialata* (Melastomatacea) en presencia y ausencia de sus hormigas protectoras.* (Tesis de Licenciado en Química). Asesor: Dr. Eric Cosio Caravasi. Perú: Facultad de Ciencias e Ingeniería, Pontificia Universidad Católica del Perú. 102 p. Defendido en 2011-04.
- Muñoz, A., Ramos-Escudero, F., Alvarado-Ortiz, C. & Castañeda, B. (2007). Evaluación de la capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en recursos vegetales promisorios. *Rev. Soc. Quim. Perú*, 73(3), 142-149.
- Nenadis, N. & Tsimidov, M. (2002). Observations on the estimation of scavenging activity of phenolic compound using rapid 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. (DPPH) Tests. *JAACS*, 79(12), 1191 - 1195.
- Paladino, S. (2008). *Actividad Antioxidante de los Compuestos Fenólicos contenidos en las semillas de la Vid (*Vitis vinífera* L.).* (Tesis de Maestría). Universidad Nacional de Cuyo, Mendoza.

- Ratty, A., Sunamoto, J. & Das, N. (1988). Interaction of flavonoids with 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl free radical, liposomal membranes and soybean lipoxygenase-1. *Biochem pharmacol*, 37, 989-995.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. & Eice-Evans, C. (1999). Antioxidant activity applying an improved abts radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology & Medicine*, 26(9), 1231-1237
- Repo, R. & Encina, C. (2008). Determinación de la capacidad antioxidante y Compuestos bioactivos de frutas nativas peruanas. *Rev Soc Quím Perú*, 74(2), 108-124.
- Robbins, R. (2003). Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology. *J. Agric. Food Chem*, 51, 2866-2887.
- Romero, I. (2008). *Extracción de Compuestos Fenólicos de la Uva al Vino. Papel de las Enzimas de Maceración*. [Tesis doctoral]. Universidad de Murcia, España.
- Ruiz, S. (2009). *Efecto del consumo de vino tinto de Castilla y León sobre el estrés oxidativo en ratas Wistar*. [Tesis de Maestría]. Universidad de Burgos, España.
- Sáenz, C. (2006). *Utilización Agroindustrial del Nopal*. Roma: FAO. 186 p. **ISBN:** 9789253055180
- Sáenz, C., Sapúlveda, E. & Matsuhiro, B. (2004). *Opuntia* spp. Mucilage's: a functional component with perspectives. *J. Arid Environ*, 57(3), 275-290.

- Sánchez, F. & Carballo, L. (2011). Estudio cinético para la oxidación selectiva de etanol a acetaldehído. *Ingeniería e Investigación*, 1, 58-66.
- Sañudo, A., Siller, J., Osuma, T., Muy, R., López, G. & Labavitch, J. (2008). Control de la maduración en frutos de papaya (*Carica papaya L.*) con 1-metilciclopropeno y ácido 2-cloroetil fosfónico, *Revista Fitotecnia Mexicana*, 31(2), 141-147
- Seo, A. & Morr, C. (1984). Improved high-performance liquid chromatographic analysis of phenolic acids and isoflavonoids from soybean protein products. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 32, 530 – 533.
- Singh, R., Srivastava, V., Chaudhary, K., Gupta, P., Prakash, A., Balagurumurthy, B. & Bhaskar, T. (2015). Conversion of rice straw to monomeric phenols under supercritical methanol and ethanol. *Bioresource Technology*, 188, 280–286. doi: 10.1016/j.biortech.2015.01.001
- Sistema Integrado de Estadísticas Agrarias. (2013). Anuario Producción Hortofrutícola. Ministerio de Agricultura y Riego. Recuperado de: <http://siea.minag.gob.pe/siea/?q=publicaciones/anuarios-estadisticos>
- Slimestad, R., Vangdal, E. & Brede, C. (2009). Analysis of Phenolic Compounds in Six Norwegian Plum Cultivars (*Prunus domestica L.*). *J. Agric. Food Chem.*, 57(23), 11370–11375. doi:10.1021/jf902054x

- Sulbarán, B., González, B. & Fernández, V. (2013). Caracterización química y actividad antioxidante del pseudofruto de cauñil (*Anacardium occidentale* L.). *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*, 30, 454-469.
- Sumaya-Martínez, M., Cruz-Jaime, S., Madrigal-Santillán, E., García-Paredes, J., Cariño-Cortés, R., Cruz-Cansino N., Valadez-Vega, C., Martínez-Cardenas, L. & Alanís-García, E. (2011). Betalain, Acid Ascorbic, Phenolic Contents and Antioxidant Properties of Purple, Red, Yellow and White Cactus Pears. *Int. J. Mol. Sci*, 12, 6452-6468. doi:10.3390/ijms12106452
- Sun, C., Wu, Z., Wang, Z. & Zhang, H. (2015). Effect of Ethanol/Water Solvents on Phenolic Profiles and Antioxidant Properties of Beijing Propolis Extracts. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1:1-9. doi: 10.1155/2015/595393
- Tineo, J. (2004). *Evaluación y Caracterización del Banco Nacional de Germoplasma de Tuna*. Perú: INIA. 5 p.
- Torres, R., Montes, E., Pérez, O. & Andrade, R. (2013). Relación del Color y del Estado de Madurez con las Propiedades Fisicoquímicas de Frutas Tropicales. *Información Tecnológica*, 24(3), 51-56.
- White, E. G. (1967). *El Ministerio de Curación*. Trad. por Publicaciones Interamericanas. California: Pacific Press Publishing Association. 443 p.

Yen, G., Duh, P. & Tsai, C. (1993). Relationship between antioxidant activity and maturity in peanuts hulls. *J. Agric. Food Chem*, 41, 67-70.

Yen, G., Duh, P. & Da, Y. (2000). Antioxidant activity of an-thraquinones and anthrone. *Food Chemistry*, 70, 437-441.

Yildirim, A., Mavi, A., Oktay, M., Kara, A., Algur, O., & Bilaloglu, V. (2000). Comparison of antioxidant and antimicrobial activities of Tilia (Tilia argentea Desf. Ex DC), Sage (Salvia triloba L.), and Black tea (Camellia sinensis) extracts. *J. Agric. Food Chem*, 48, 5030-5034.

Yildirim, A., Mavi, A. & Kara A. (2001). Determination of antioxidant and antimicrobial activities of *Rumex crispus* L. extracts. *J. Agric. Food Chem*, 49, 4083-4089.

Anexos

Anexo 1. Recolección de tuna morada en el distrito de San Bartolomé



Anexo 2. Extrayendo el jugo de la tuna morada



Anexo 3. Extractos fenólicos de la tuna morada



Anexo 4. Soluciones para la curva de calibración de ácido gálico



Anexo 5. Solución DPPH 0,3 mM

