

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA

FACULTAD DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

**DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE CIENCIA, TECNOLOGÍA E
INGENIERÍA DE ALIMENTOS**



**"CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS,
ETANÓLICOS Y ELABORACIÓN DE UNA BEBIDA FUNCIONAL DEL
TALLO DE CASHAHUASCA (*Serjania cf. rubicaulis* Benth)"**

Tesis

Para optar el título de:

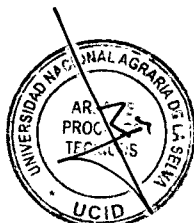
INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

VÁSQUEZ GARCÍA, EVERT ORLANDO

PROMOCIÓN 2011

Tingo María - PERÚ

2012



Q04

V34

Vásquez García, Evert Orlando

Capacidad antioxidante de los extractos acuosos, etanólicos y elaboración de una bebida funcional del tallo de cashahuasca (*Serjania cf. rubicaulis* Benth). Tingo María, 2012

79 páginas; 26 cuadros; 21 fgrs.; 95 ref.; 30 cm.

Tesis (Ingeniero en Industrias Alimentarias) Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María (Perú). Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias.

- | | | |
|----------------------------|-----------------------|-----------------------|
| 1. SERJANIA | 2. CASHAHUASCA | 3. POLIFENOLES |
| 4. BEBIDA FUNCIONAL | 5. DPPH-ABTS | 6. FITOQUÍMICO |



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
Tingo María
FACULTAD DE INGENIERIA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS
Av. Universitaria s/n. Teléfono (062) 561385 – Fax (062) 561156
Apart. Postal 156 Tingo María E.mail: fia@unas.edu.pe

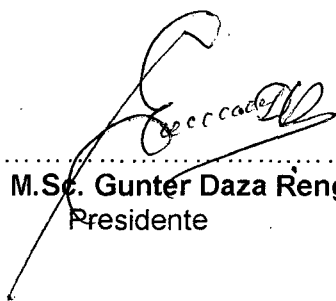
ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los Miembros del Jurado que suscriben, reunidos en acto público el 19 de julio de 2012, a horas 08:00 a.m. en la Sala de Grados de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, ubicada en la ciudad de Tingo María, provincia de Leoncio Prado, departamento de Huánuco, para calificar la tesis presentada por el Bach. **VASQUEZ GARCIA, Evert Orlando**, titulada:

“CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS ACUOSO, ETANOLICO Y ELABORACION DE UNA BEBIDA FUNCIONAL DEL TALLO DE CASHAHUASCA (*Serjania cf. rubicaulis* Benth)”

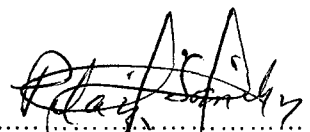
Después de haber escuchado la sustentación, las respuestas a las preguntas formuladas, lo declaran **APROBADO** con el calificativo de **BUENO**; en consecuencia el Bachiller, queda apto para recibir el título de **Ingeniero en Industrias Alimentarias** del Consejo Universitario, de conformidad con el Art. 22° de la Ley Universitaria 23733; los artículos 51° y 52° del Estatuto de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.

Tingo María, 02 de agosto de 2012


.....
Ing. M.Sc. Günter Daza Rengifo
Presidente


.....
Ing. Lauriano Zavaleta de La Cruz
Miembro


.....
Ing. Jaime Basilio Atencio
Miembro


.....
Dr. Pedro Peláez Sánchez
Asesor

DEDICATORIAS

A DIOS

Por haber permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de toda su bendición, amor y bondad.

A mi madre Nelida

Por su apoyo en todo momento, por sus consejos, por su perseverancia, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, pero más aún por su amor.

A mi padre Modesto

Por los ejemplos de valores y constancia que lo caracterizan y que me ha infundado siempre, por el valor mostrado para salir adelante y por su amor.

A mis queridísimas hermanas Annie y Mariel

Porque no sólo son hermanas, amigas; sino también por alegrarme los días con sus ocurrencias y cariños.

A mi compañera

Eloisa Silvera te dedico estas líneas porque este trabajo ha sido compartido contigo desde el principio, gracias por tu tiempo en el laboratorio y por tus constantes ánimos y perseverancia.

AGRADECIMIENTOS

- A la Universidad Nacional Agraria de la Selva y en especial a la Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias que me dieron la oportunidad de formar parte de ellas y a todos los docentes de la carrera.
- Al Dr. Pedro Pablo Peláez Sánchez, por confiar en mí, por su apoyo y enseñanza y ser un verdadero ejemplo de entrega y dedicación a la investigación.
- Al Dr. Pablo Bonilla Rivera de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, por su apoyo incondicional y desinteresada en el estudio fitoquímico preliminar.
- Al Ph.D. Manuel Sandoval Chacón, por disipar las dudas que se dieron en el momento de toda la investigación.
- Al Ing. Davy Hidalgo Chávez, por su espíritu motivador cuando a veces las cosas no salían como lo pensado.
- A mis amigos: Evil Vargas que siempre tenía una solución a las dudas surgidas. Gilmer, por compartir sus experiencias y conocimientos compartidos. Lupe, Frank, Roberto y principalmente a mi gran amigo y compañero de tesis Omar Camasca Piñan; por forma un grupo fraternal y sólido, durante todo este tiempo.

Para ellos, muchas gracias por todo.

ÍNDICE GENERAL

	Página
I INTRODUCCIÓN.....	01
II REVISIÓN DE LITERATURA.....	03
2.1 Aspectos generales de cashahuasca.....	03
2.1.1 Origen y distribución.....	03
2.1.2 Clasificación taxonómica.....	03
2.1.3 Descripción botánica.....	04
2.2 Antioxidante y radicales libres.....	04
2.2.1 Definición.....	04
2.2.2 Tipo de antioxidantes.....	05
2.2.3 Polifenoles.....	07
2.2.4 Los compuestos fenólicos en las plantas.....	10
2.2.5 Radicales libres.....	10
2.3 Cromatografía en capa fina.....	14
2.4 Alimento funcional.....	16
III MATERIALES Y MÉTODOS.....	17
3.1 Lugar de ejecución.....	17
3.2 Material biológico.....	17
3.3 Equipos, materiales y reactivos.....	18
3.3.1 Equipos de laboratorios.....	18
3.3.2 Materiales de laboratorio.....	19
3.3.3 Reactivos y solventes.....	19
3.4 Métodos de análisis.....	20

3.4.1	Análisis químico proximal	20
3.4.2	Análisis fitoquímico.....	20
3.4.3	Evaluación de la actividad antioxidante.....	21
3.4.4	Caracterización de la bebida funcional obtenida con el tallo de cashahuasca.....	21
3.5	Metodología experimental.....	22
3.5.1	Caracterización químico proximal.....	22
3.5.2	Caracterización fitoquímica del tallo de cashahuasca.....	22
3.5.3	Evaluación de la capacidad antioxidante.....	25
3.5.4	Elaboración de la bebida funcional.....	30
3.6	Diseño experimental	35
3.6.1	Determinación del tallo con mejor característica química...	35
3.6.2	Determinación del tallo con mejor capacidad antioxidante.	36
3.6.3	Elaboración de la bebida funcional.....	37
IV	RESULTADOS Y DISCUSIONES	38
4.1	Caracterización químico proximal del tallo de cashahuasca.....	38
4.2	Caracterización fitoquímica del tallo de cashahuasca.....	42
4.2.1	Ensayo de solubilidad.....	42
4.2.2	Marcha fitoquímica del tallo de cashahuasca.....	42
4.2.3	Análisis cromatográfico del tallo de cashahuasca	45
4.3	Capacidad antioxidante del tallo de cashahuasca en sus tres fases de crecimiento	46
4.3.1	Determinación del coeficiente de inhibición (IC ₅₀) radical 1,1 diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH).....	46

4.3.2	Capacidad de inhibir el catión 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6 ácido sulfónico) (ABTS ^{°+})	52
4.4	Caracterización de la bebida funcional	57
4.4.1	Evaluación sensorial de la bebida funcional.....	57
4.4.2	Análisis fisicoquímico de la bebida funcional.....	57
4.4.3	Cuantificación de polifenoles totales en la bebida funcional	59
V	CONCLUSIONES.....	63
VI	RECOMENDACIONES	64
VII	ABSTRACT	65
VIII	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	66
	ANEXOS.....	79

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Clasificación de los antioxidantes.....	07
2. Resultado del análisis químico proximal del tallo de cashahuasca.	40
3. Resultado de solubilidad en los extractos del tallo de cashahuasca.	42
4. Resultado del análisis fitoquímico del tallo de cashahuasca.	43
5. Inhibición de radicales libres de DPPH (IC50).....	48
6. Determinación del AAI del tallo de cashahuasca en sus fases de crecimiento.	50
7. Inhibición de radicales libres de ABTS ^{°+} (IC50).....	53
8. Determinación del TEAC en el tallo de cashahuasca.....	56
9. Evaluación del olor, color y sabor de la bebida funcional a diferentes concentraciones.	57
10. Evaluación fisicoquímico de la bebida funcional.....	59
11. Determinación de la curva estándar de ácido gálico.....	60
12. Cuantificación de polifenoles totales.....	62
13. Análisis de varianza del contenido de humedad.....	80
14. Análisis de varianza del contenido de proteína.....	80
15. Análisis de varianza del contenido de grasa.....	80
16. Análisis de varianza del contenido de fibra del tallo.....	81
17. Análisis de varianza del contenido de ceniza.....	81
18. Análisis de varianza del contenido de carbohidratos.....	81
19. Análisis de varianza de IC50 del radical DPPH.....	82
20. Análisis de varianza del AAI ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$ DPPH/IC ₅₀ $\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$).....	82

21.	Análisis de varianza de IC50 del radical ABTS.....	83
22.	Análisis de varianza del TEAC (μg Trólox/ μg extracto).....	83
23.	Escala Hedónica.....	84
24.	Prueba de Friedman realizada al atributo olor.....	87
25.	Prueba de Friedman realizada al atributo color.....	87
26.	Prueba de Friedman realizada al atributo sabor.....	88

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Núcleo básico de un flavonoide.....	08
2. Principales grupos de polifenoles de alimentos.....	09
3. Forma simple de un fenol.....	10
4. Flujograma de operaciones para la obtención de la muestra seca.....	22
5. Esquema general de la marcha fitoquímica preliminar.....	24
6. Flujograma de operaciones para la obtención del extracto acuoso y etanólico del tallo de cashahuasca.....	26
7. Diseño experimental para la evaluación de la actividad antioxidante en las tres fases de crecimiento del tallo de cashahuasca.....	27
8. Diseño experimental para la evaluación de la actividad antioxidante en las tres fases de crecimiento del tallo de cashahuasca.....	29
9. Flujograma general para la elaboración de la bebida funcional.....	32
10. Diseño experimental para determinar el tallo con mejor característica química.....	35
11. Diseño experimental para determinación del tallo con mejor capacidad antioxidante.....	36
12. Diseño experimental para la elaboración de la bebida funcional.....	37
13. Comportamiento del (IC50) con el radical DPPH del tallo de cashahuasca.....	48
14. Comportamiento del AAI frente a los tratamientos aplicados a las fases de crecimiento en tallos de cashahuasca.....	50

15. Comportamiento del (IC50) con el radical ABTS ^{°+} del tallo de cashahuasca.	53
16. Comportamiento TEAC con el radical ABTS en tallos de cashahuasca.	56
17. Curva estándar del ácido gálico para la cuantificación de polifenoles totales.	60
18. Desarrollo del cromatograma.	85
19. Revelado del cromatograma.....	85
20. Calentamiento del cromatograma.....	86
21. Cromatograma después del revelado.....	86

RESUMEN

La presente investigación permitió desarrollar el conocimiento científico del tallo de cashahuasca (*Serjania cf. rubicaulis* Benth), planta que crece en la Amazonía peruana. El tallo se caracterizó químicamente y fitoquímicamente, se evaluó la capacidad antioxidante de los extractos acuosos, etanólicos y se elaboró una bebida funcional. El análisis fitoquímico se determinó por los métodos descritos por LOCK DE UGAZ (1988), la capacidad antioxidante frente a los radicales DPPH y ABTS^{°+} se determinaron por métodos descritos por BRAND-WILLIAMS *et al.* (1995) y PELLIGRINI *et al.* (1999). El análisis estadístico empleó el diseño completo al azar con arreglo factorial 3*2 y la prueba de Tukey ($p < 0,05$); se utilizó el software InfoStat versión 2011/Profesional. El tallo de cashahuasca de la fase superior mostró un contenido de $77,99 \pm 0,416$ % de humedad y $9,35 \pm 0,206$ % de proteína. Se encontró cantidades abundantes y regulares de flavonoides y glicósidos en los tallos de las fases intermedia e inferior y una cantidad regular de compuestos fenólicos en todos los tallos. Los extractos acuosos y etanólicos de tallos de la fase intermedia de crecimiento, presentaron mayor capacidad antioxidante frente a los radicales DPPH y ABTS^{°+}, con valores AAI entre $0,56 \pm 0,0046$ a $0,66 \pm 0,0123$ $\mu\text{g DPPH}/\mu\text{g extracto}$ y con valores TEAC entre 0,050 a 0,137 $\mu\text{g Trólox}/\mu\text{g extracto}$, respectivamente. La bebida funcional elaborada con 150 mg/mL de extracto, fue mejor calificada en los atributos olor y color; con un contenido en polifenoles totales de $510,01 \pm 0,81$ mg EAG/100 mL de muestra.

I INTRODUCCIÓN

El presente trabajo es un aporte al conocimiento científico de las características químicas, fitoquímicas y capacidad antioxidante de extractos acuosos y etanólicos del tallo de cashahuasca (*Serjania cf. rubicaulis* Benth), planta que crece en la Amazonía peruana.

Las posibilidades de fomentar el uso y consumo de los productos naturales va a depender en gran medida del conocimiento que se disponga sobre sus principales componentes químicos, características físicas, nutricionales y funcionales. El poder de las plantas tradicionalmente utilizadas por su capacidad funcional, se ha asociado frecuentemente con su capacidad antioxidante, por ello el encontrar extractos en los que se demuestre dicha capacidad puede proporcionar productos con una actividad protectora en contra de la generación de radicales libres.

Las plantas son fundamentales en el desarrollo de nuevos productos. Su acción preventiva o curativa se debe a sustancias químicas que provocan un efecto fisiológico en el organismo. Estas sustancias se conocen como principios activos y, generalmente son productos del metabolismo secundario de la planta. Los principios activos tienen propiedades medicinales o preventivas, o funcionan incrementando el bienestar.

La importancia de la presente investigación radica en brindar un nuevo conocimiento acerca de la cashahuasca, a la que se atribuyen

tradicionalmente propiedades medicinales que aún no han sido estudiadas; por tal motivo los objetivos establecidos para la investigación fueron:

- Caracterizar químicamente el tallo de cashahuasca.
- Caracterizar fitoquímicamente el tallo de cashahuasca
- Evaluar la capacidad antioxidante de los extractos acuosos y etanólicos.
- Elaborar una bebida funcional.

II REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Aspectos generales de cashahuasca

2.1.1 Origen y distribución

Serjania cf. rubicaulis Benth. ex Radlk, pertenece al género neotropical *Serjania* Mill., que comprende 230 especies representadas principalmente en el neotrópico. Es una trepadora nativa de los Andes, Zonas Bajas, Yungas y Bosque Húmedo, vive hasta los 2000 msnm (FERRUCCI, 2004). Se encuentran distribuida en las Regiones de Amazonas, Cuzco, Huánuco, Junín, Lorero, Pasco y San Martín (MINAM, 2010).

2.1.2 Clasificación taxonómica

Reino	:	Plantae
División	:	Magnoliophyta
Clase	:	Magnoliopsida
Orden	:	Sapindales
Familia	:	SAPINDACEAE
Género	:	<i>Serjania</i>
Especie	:	<i>Serjania cf. rubicaulis</i>

Fuente: Herbario San Marcos-USM, Sistema de clasificación de CRONQUIST (1988).

2.1.3 Descripción botánica

Pertenece a la tribu Paullinieae, y se reconoce fácilmente dentro de la tribu por los frutos esquizocárpicos, 3 mericarpos samaroideos con la porción seminífera en la parte distal y alas proximales, son mericarpos indehiscentes.

Son trepadoras leñosas, ramas acanaladas en 5 surcos; con bordes rojizos donde se encuentran espinas a lo largo del tallo y las ramas. Hojas trifoliadas, imparipinnadas o bipinnadas (filíolos basales compuestos). Folíolos dentados o serrados. Las hojas a menudo son de 10 a 12 cm de largo y 4 a 5 cm de ancho, a veces más pequeño, rara vez mucho más amplio, flores pequeñas o medianas (FERRUCCI, 2004).

2.2 Antioxidante y radicales libres

2.2.1 Definición

El antioxidante al colisionar con el radical libre (RL) le cede un electrón, oxidándose a su vez y transformándose en un RL débil no tóxico (RODRIGUEZ *et al.*, 2001). Los procesos de antioxidantes incluyen: Inhibición de radicales para prevenir su propagación, hidrólisis enzimática de enlaces ésteres para remover ácidos grasos peroxidados de lípidos, quelamiento de iones metálicos de transición y reducción de peróxidos por catálisis enzimática (THOMAS, 2000). Un antioxidante es una sustancia que aun en concentraciones más bajas que el sustrato oxidable, disminuye significativamente o inhibe la oxidación del sustrato (RUIZ *et al.*, 2008; GARCIA *et al.*, 2001). El sistema de defensa antioxidante está constituido por compuestos de naturaleza enzimática como: superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa y compuestos de naturaleza no enzimática como: vitamina

E, beta-caroteno, vitamina C, glutathion reducido, albúmina, flavonoides y metales de transición como Se, Cu, Zn, entre otros (RAMOS *et al.*, 2008). Se dividen en dos categorías: antioxidantes endógenos (enzimáticos) y antioxidantes exógenos (no enzimáticos) (PINEDA, 2005). Todo antioxidante prolonga la vida útil de los alimentos protegiéndolo contra el deterioro causado por la oxidación (PSZCZOLA, 2001).

2.2.2 Tipo de antioxidantes

2.2.2.1 Antioxidantes endógenos

GONZALES-TORRES *et al.*, (2000) mencionan que los antioxidantes endógenos o antioxidantes enzimáticos actúan a nivel intracelular, son sintetizados como la superóxido dismutasa (mitocondrial, citoplasmática y extracelular). Existen tres sistemas principales de enzimas antioxidantes: superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CTL) y glutathion peroxidasa (GPX) (PINEDA, 2005).

2.2.2.2 Antioxidantes exógenos

Según POLYAKOV *et al.*, (2001), los antioxidantes exógenos o no enzimáticos, transforman los radicales en menos agresivos. Entre ellos tenemos: flavonoides, alfa tocoferoles (vitamina E), beta-caroteno, ácido ascórbico, glutathion y uruto. Las plantas producen una gran variedad de productos secundarios que contienen grupos fenoles, flavonoides, lignina y taninos condensados (POKORNY *et al.*, 2005).

Los antioxidantes exógenos son los que se ingieren con la dieta encontrándose en diversos alimentos como las frutas y verduras. Otro antioxidante es el beta caroteno, precursor de la vitamina A y se halla

presente sólo en los alimentos de origen vegetal como las frutas y verduras, amarillas y anaranjadas, como la naranja, el durazno, el melón, el pomelo, el mango, la zanahoria y la espinaca. Los carotenos son sensibles a la oxidación que se acelera por la presencia de luz y tienen un efecto favorable para el sistema inmunológico, protegen a la piel contra la radiación ultravioleta, poseen un efecto protector específico de los tejidos. Su función como antioxidante es detoxificar el oxígeno libre reactivo (PINEDA, 2005).

La vitamina E, conocido también como tocoferol es liposoluble, se encuentra en el interior de las membranas citoplasmáticas, actúa como bloqueador de las reacciones redox en cadena evitando la peroxidación lipídica; en la naturaleza existen cuatro isómeros de este compuesto: α -tocoferol, β -tocoferol, γ -tocoferol y δ -tocoferol. Se considera como factor de protección en la enfermedad cardiovascular, al evitar la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL). Entre otras acciones la vitamina E también es capaz de neutralizar el oxígeno en singlete y peróxidos, capturar radicales hidroxilo y capturar el anión superóxido (PINEDA, 2005).

Cuadro 1. Clasificación de los antioxidantes.

Exógenos	Endógenos	Cofactores
Vitamina E	Glutación	Cobre
Vitamina C	Coenzima Q	Zinca
Betacaroteno	Ácido tióctico	Manganeso
Flavonoides	Enzimas: Superóxidodismutasa (SOD) Catalasa Glutación peroxidasa	Hierro
Licopeno		Selenio

Fuente: CRIADO, C. (2009)

2.2.3 Polifenoles

Los polifenoles son importantes para la fisiología de las plantas pues constituyen a la resistencia de microorganismos e insectos (CASARES, 2010; VON, 2011). Son un conjunto heterogéneo de moléculas que comparten la característica de poseer en su estructura varios grupos bencénicos sustituidos por funciones hidroxílicas (GUTIERREZ, 2002); provenientes del metabolismo secundario de las plantas y se encuentran naturalmente en alimentos y bebidas de origen vegetal (PADILLA *et al.*, 2008).

Los compuestos fenólicos exhiben un amplio rango de propiedades fisiológicas, tales como antialérgico, antiinflamatorio, antimicrobiano, antioxidante, antitrombótico, protección cardiovascular y efectos vasodilatador, estos compuestos han sido asociados con la salud por los beneficios que aportan en el consumo de frutas y vegetales, esto es atribuido a su actividad antioxidante (BALASUNDRAM *et al.*, 2005).

Éstos compuestos pueden dividirse en flavonoides y no flavonoides, según sean o no derivados de la estructura básica del fluoroglucinol (MARMOL *et al.*, 2009).

El método de Folin-Ciocalteu, se basa en la capacidad de los fenoles para reaccionar con agentes oxidantes; contiene molibdato y tungstato sódico, que reaccionan con cualquier tipo de fenol, formando complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico (GUTIERREZ *et al.*, 2008); es un compuesto estable y sólo pierde 5 % de su valor real después de dos semanas de refrigerado y tapado (AQUINO *et al.*, 1989).

Los polifenoles pueden ser divididos en varios subgrupos atendiendo a su estructura básica. Los flavonoides, con estructura básica C6-C3-C6, incluyen a las antocianinas, los flavonoles y flavonas (TOMAS, 2003); se conocen como diez clases de flavonoides, todos contienen quince átomos de carbono en su núcleo básico, en la cual dos anillos aromáticos A y B están unidos por una unidad de tres carbonos que pueden o no forman un tercer anillo, que en caso de existir es llamado anillo C (LOCK DE UGAZ, 1988).

Los flavonoides se clasifican en varios grupos: Chalconas, flavonas, flavonoles, flavanonas, flavanonoles, antocianidinas, catequinas, epicatequinas, auronas, isoflavonoides, pterocarpanos, rotenoides, etc. (MARTINEZ *et al.*, 2002).

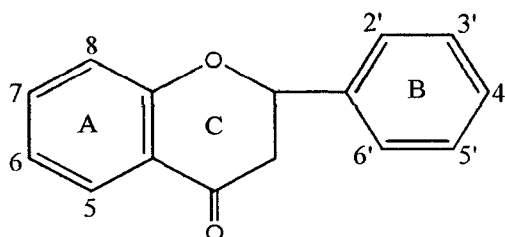


Figura 1. Núcleo básico de un flavonoide.

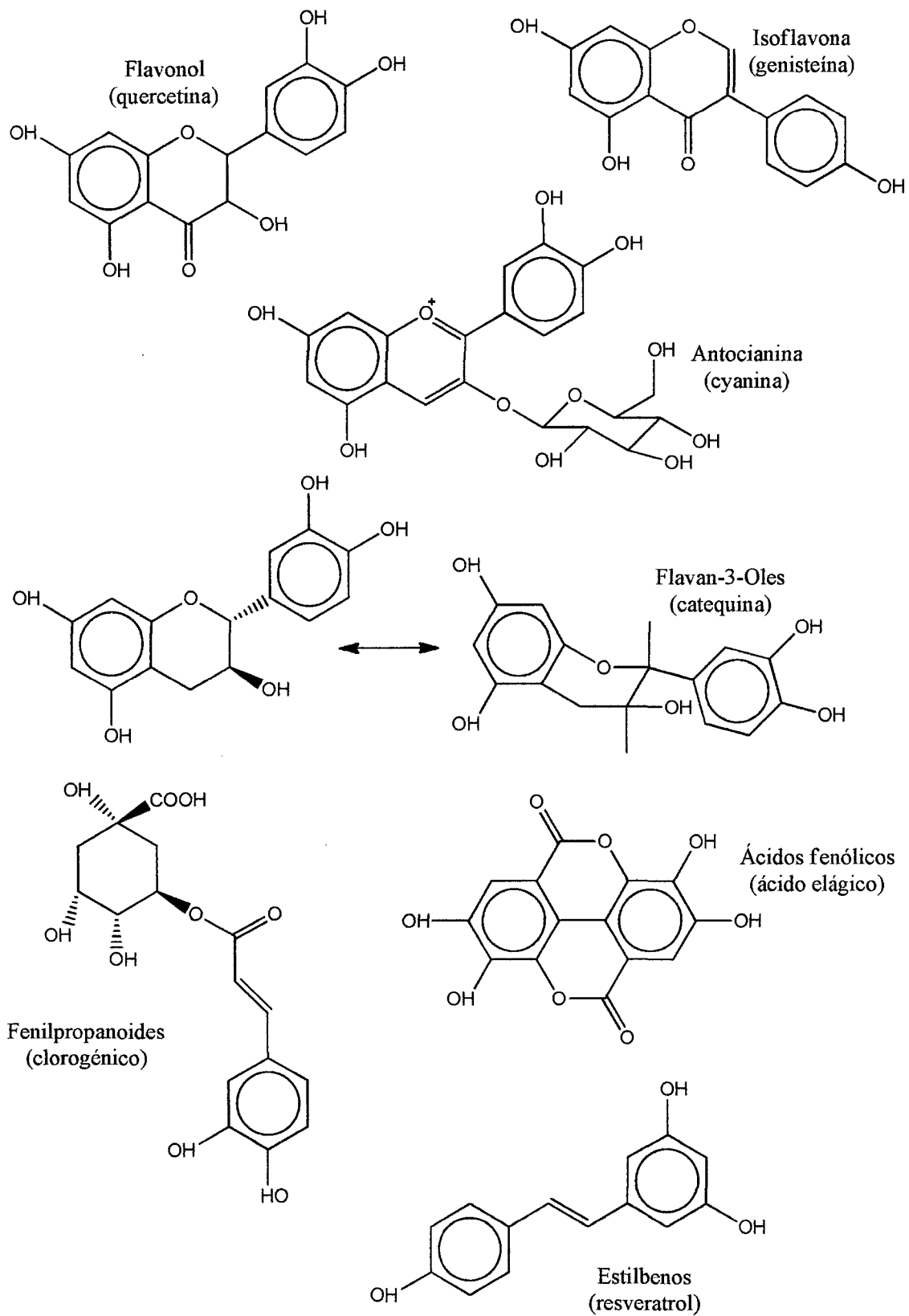


Figura 2. Principales grupos de polifenoles de alimentos.

2.2.4 Los compuestos fenólicos en las plantas

Los fenoles son compuestos químicos ampliamente distribuidos en las plantas como producto de su metabolismo secundario, algunos de los cuales son indispensables para su funcionamiento y otros son útiles en los mecanismos de defensa bajo situaciones de tensión (KIM *et al.*, 2003) y contra el ataque de organismos patógenos (BAKAN *et al.*, 2003). También se vincula el consumo de estos fitoquímicos con beneficios a la salud, debido a sus propiedades antioxidantes (GALLARDO *et al.*, 2006) y anticancerígenas (ZHAOHUI y MOGHADASIAN, 2008).

El ácido gálico, catequina, rutina, ácido elágico y quercitina son compuestos fenólicos (SAMEE y VORARAT, 2007).

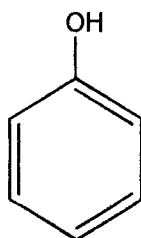


Figura 3. Forma simple de un fenol.

2.2.5 Radicales libres

Un radical libre es una especie química (molécula o átomo) capaz de existir independientemente, el cual contiene uno o más electrones desapareados (GUIJA *et al.*, 2005; GARCIA *et al.*, 2001; GONZÁLES-TORRES *et al.*, 2000), confiriéndole una configuración espacial que genera una alta inestabilidad, siendo extraordinariamente reactivo y de vida efímera (RODRÍGUEZ *et al.*, 2001).

Cualquier molécula o átomo que contiene uno o más electrones desapareados es un radical libre; por lo tanto, los radicales libres intentaran arrancar un electrón de otra molécula y en este proceso rompen otras parejas de electrones para conseguir su propio apareamiento creando así moléculas inestables generándose una reacción en cadena (ANDERSON y PHILLIPS, 2001).

La vida media biológica del radical libre es de microsegundos, pero tiene la capacidad de reaccionar con todo lo que esté a su alrededor provocando un gran daño a moléculas, membranas celulares y tejidos. Los radicales libres no son intrínsecamente deletéreos; de hecho, nuestro propio cuerpo los produce en cantidades moderadas para luchar contra bacterias y virus (FINKEL y HOLBROOK, 2000).

Los radicales libres pueden generarse también a partir de fuentes exógenas, como las radiaciones ionizantes, ultra violeta, la visible o térmica, algunos productos químicos carcinógenos (aumento de metales pesados, xenobióticos, componentes de tabaco, pesticidas), también diversos medicamentos y drogas antitumorales pueden inducir la liberación de radicales libres como el acetaminofén, andriamicina, neomicina, polimixina B, la kanamicina, la gentamicina y el cloranfenicol, así como factores orgánicos y metabólicos (dieta hipercalórico, dieta insuficiente en antioxidantes, diabetes, procesos inflamatorios, traumatismo y ejercicios extenuantes) (HALLIWLL *et al.*, 1995; RODRIGUEZ *et al.*, 2001).

Los radicales libres son átomos o grupos de átomos que tienen un electrón desapareado por lo que son muy reactivos ya que tienden a robar un

electrón de moléculas estables con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica. Una vez que el radical libre ha conseguido sustraer el electrón para aparear su electrón libre, la molécula que se lo cede se convierte a su vez en un radical libre por quedar con un electrón desapareado. Iniciándose así una verdadera reacción en cadena que destruye nuestras células (AVELLO y SUMALSKY, 2006).

2.2.5.1 Radical 1,1 difenil-2-picril-hidrazil (DPPH)

Es un radical libre estable y se utiliza como indicador para medir la capacidad de secuestro de cualquier compuesto que posea actividad antioxidante. El principio del método DPPH consiste en la sustracción de un átomo de hidrógeno proveniente de un donador (compuesto fenólico) para generar el compuesto difenilpicrilhidrazine y una especie radical. En este proceso, la reacción desarrolla un cambio de color violeta a amarillo a medida que disminuye la absorbancia detectable a 515 nm (LEBEAU *et al.*, 2000).

Este método, desarrollado por BRAND-WILLAMS *et al.* (1995), se basa en la reducción de la absorbancia medida a 515 nm del radical DPPH[•], se basa en la medida de la absorbancia del radical DPPH[•] 100 µM (3,9 mL) disuelto en metanol al 80%, a la longitud de onda de 517 nm. Se añade 0,1 mL de la muestra o patrón, la mezcla se homogeniza cuidadosamente, y se mantiene en la oscuridad durante 30 minutos.

2.2.5.2 Radical 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6 ácido sulfónico) (ABTS^{•+})

Es un agente reductor que permite medir la actividad peroxidasa en distintos materiales. Se caracteriza por su gran solubilidad en

agua, su alta estabilidad química y por tener un espectro de absorción en la zona visible. El producto de su reacción catalizada por peroxidasa es un radical estable con un alto coeficiente de extinción, el cual es generado directamente a partir de su precursor (BAÑÓN *et al.*, 2001). Este método se cuantifica contra un curva de concentraciones conocidas de Trólox y se expresa en equivalentes de Trólox; por eso también se lo conoce como método TEAC (Trólox equivalent antioxidant capacity) (PASTOR *et al.*, 2000).

Este método se basa en la reducción de la coloración verde/azul producida por la reacción del radical 2,2-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS^{•+}) con el antioxidante presente en la muestra. El radical ABTS^{•+} tiene, además, la ventaja de que su espectro presenta máximos de absorbancia a 414, 654, 754 y 815 nm en medio alcohólico, las longitudes de onda empleadas más frecuentemente son 415 y 734 nm (PRIOR *et al.*, 2005).

El método original descrito por MILLER *et al.* (1993) emplea metamioglobina y peróxido de hidrógeno (H₂O₂) para generar ferrilmioglobina, la cual reacciona con el ABTS para generar el radical ABTS^{•+}. La muestra a analizar se añade antes de la formación del ABTS^{•+} por lo que se trata de un ensayo de inhibición. Este orden de adición de los reactivos ha hecho que el método sea criticado, ya que posibles interferencias de los antioxidantes con el sistema de generación de radicales puede llevar a una estimación de los valores de actividad antioxidante por debajo de los reales (PRIOR *et al.*, 2005).

Entre los métodos utilizados para determinar la capacidad de un antioxidante para captar radicales libres, el radical ABTS^{•+} es uno de los más aplicados, al considerarse un método de elevada sensibilidad, práctico, rápido y muy estable; a pesar de esto los valores de actividad antioxidante pueden depender del tiempo escogido para efectuar la medida. La absorbancia medida por el método ABTS es determinada a los 1 y 7 minutos. Los resultados obtenidos por algunos investigadores indican que la reacción con el radical ABTS^{•+} no se completa hasta pasado 1 minuto (KUSKOSKI *et al.*, 2005).

Como patrón se emplea el compuesto denominado Trólox [6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid], un análogo sintético hidrosoluble de la vitamina E. Para el desarrollo del método se suelen emplear dos estrategias: inhibición y decoloración.

En la primera los antioxidantes se añaden previamente a la generación del radical ABTS^{•+} y lo que se determina es la inhibición de la formación del radical, que se traduce en un retraso en la aparición de la coloración verde-azulada. En la segunda estrategia, los antioxidantes se añaden una vez el ABTS^{•+} se ha formado y se determina entonces la disminución de la absorbancia debida a la reducción del radical, es decir la decoloración de éste (SANCHEZ-MORENO, 2002).

2.3 Cromatografía en capa fina

JORRÍN *et al.* (2007) manifiesta que en la cromatografía en capa fina, CCF o TLC ("thin-layer chromatography, en la terminología inglesa) se puede utilizar como soporte cualquier sustancia que pueda dividirse en partículas finas y distribuirse uniformemente en forma de láminas. Los elementos del sistema

cromatográfico son: soporte, fase estacionaria (disolvente A), y fase móvil o eluyente (disolvente B). Esto incluye sustancias inorgánicas (gel de sílice, óxido de aluminio, tierra de diatomeas, silicato de magnesio, etc) y orgánicas (celulosa, poliamida, polietileno, etc). La utilización de soportes hidrófobos facilita la separación de compuestos no polares (lípidos, por ejemplo). En la CCF, la fase estacionaria es una lámina de 0,25-0,50 mm de espesor, extendida de forma uniforme sobre la superficie de una placa de vidrio o plástico. La placa ha de dejarse secar antes de su utilización.

Para el desarrollo de la cromatografía, las muestras, en un disolvente adecuado, se aplican puntualmente con la ayuda de jeringas, micropipetas o capilares en un extremo de la placa. El volumen de la muestra a aplicar es crítico, ya que va a afectar a la resolución (separación de los compuestos de una mezcla compleja), y depende de la concentración del compuesto o compuestos de interés en la muestra. Una vez aplicada y seca la muestra, la placa se introduce en un recipiente cerrado (tanque cromatográfico) y uno de los extremos (el más próximo a la línea de aplicación) se sumerge en un disolvente apropiado (fase móvil), cuyo nivel en el fondo del tanque debe quedar por debajo de la línea de aplicación. El solvente se desplaza a través del soporte por capilaridad provocando un reparto de los solutos entre él y la fase estacionaria de acuerdo a sus solubilidades relativas (coeficiente de reparto). Una vez que el solvente haya alcanzado un punto próximo al otro extremo de la placa, ésta se saca del tanque y se seca. Las manchas correspondientes a cada compuesto, si no son visibles, se pueden revelar mediante técnicas analíticas concretas.

La CCF presenta una serie de ventajas respecto a cromatografías alternativas, como es la de papel, tales como las siguientes:

- Una mayor resolución, obteniéndose por lo general manchas más pequeñas y con una mayor velocidad de separación.
- Puede utilizarse un gran número de materiales como soportes y disolventes.
- Los compuestos pueden ser detectados con facilidad y su recuperación es muy simple.

2.4 Alimento funcional

CHASQUIBOL *et al.* (2003) define como cualquier alimento en forma natural o procesada, que además de sus componentes nutritivo contiene componentes adicionales que favorecen la salud; capacidad física y el estado mental de la persona (ESQUIVEL y VARGAS, 2007).

CORTÉS *et al.* (2005) define los alimentos funciones como cualquier alimento o ingrediente alimenticio modificado, que pueda proporcionar un beneficio a la salud superior al de los nutrientes tradicionales que contiene. El poder funcional de los alimentos sobre la salud es de origen milenario, principalmente a lo largo de la historia de la cultura oriental, donde los alimentos y la medicina son considerados igualmente importantes en la prevención y curación de enfermedades, se considera que el futuro alimentario está en el consumo de alimentos saludables. Entre éstos la fibra ocupa en lugar destacada, ya que se ha asociado con la salud intestinal, prevención del cáncer colon rectal y las enfermedades cardiovasculares y el mantenimiento del peso (ROMAN y VALENCIA, 2006).

III MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Lugar de ejecución

El presente trabajo se realizó en los Laboratorio de: Análisis de Alimentos, de Análisis Sensorial, de Ingeniería de Alimentos, y de Química de la Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias y el Centro de Investigación para el Desarrollo Biotecnológico de la Amazonía (CIDBAM), Centro de Investigación de Productos Naturales de la Amazonía (CIPNA), y el Laboratorio de Nutrición de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, ubicado en la ciudad de Tingo María, provincia de Leoncio Prado, región Huánuco; a una altitud de 660 m.s.n.m. a 09°17'08" de latitud Sur, a 75°59'52" de latitud Oeste, con clima tropical húmedo y con una humedad relativa media de 84% con una temperatura media anual de 24°C, y en el Laboratorio de Terpenos y Esteroides de Productos Naturales del Instituto de Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

3.2 Material biológico

El material fue recolectado de la zona de Papayal Grande a 7,24 Km., de la localidad de Tingo María, distrito de Rupa Rupa, provincia de Leoncio Prado, Región Huánuco, en las coordenadas UTM 18 L: 8978869 N, 388468 E y una altitud de 685 m., el periodo de evaluación se realizó entre los meses de Setiembre y Noviembre. El material biológico estudiado fueron tallos en tres

fases de crecimiento: superior (TS), intermedio (TM) e inferior (TI); éstas fueron transportadas al laboratorio para su respectivo estudio.

La identificación taxonómica fue realizada en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Dicha ubicación sistemática fue ratificada mediante constancia N° 09-USM-2012, siendo determinada por el Blgo. Severo Baldeón Malpartida.

3.3 Equipos, materiales y reactivos

3.3.1 Equipos de laboratorios

- Balanza analítica OHAUS Galaxy 160 sensibilidad 0.0001 g Germany.
- Cocina eléctrica de plataforma Barnstead/Thermolyne U.S.A.
- Refrigeradora Icabeam Door Cooling LG GR-5392QLC.
- Desionizador de agua modelo D 7035 (Barnstead) Germany.
- Espectrofotómetro Genesys 6 (Thermo Electrón Corporation) U. S. A.
- Homogenizador modelo VORTEX GENIE-2 (Scientific industrias SITM) U. S. A.
- Centrifuga modelo MIKRO R22 (Hettich Zentrifugen) Germany.
- Baño maría modelo YCW-010E (Associated With Cannic, Inc, USA).
- Digestor de proteína. Digest Automat K-438 BÜCHI labortechnik. AG.
- Equipo Soxhlet, Gerhardt. Germany.
- Bomba de vacío para rotavapor BUCHI B-520.

- Horno Mufla LABOR Műszeripari Művek temperatura regulable de 250 °C a 900 °C.
- Secador cilíndrico LABOR Műszeripari Művek temperatura regulable de 40 °C a 250 °C.
- Potenciómetro de Inolab. Co, Alemania.
- Refractómetro LABOR MIN, Hungría.
- Colorímetro Kónica Minolta R400.
- Estufa BARNSTEAD LAB-LINE. Model N°3510-1.
- Balanza SARTORIUS Model TE1502S
- Lámpara UV-CE. Model M02-0955
- Cámara de extracción de gases. Serie 91235.

3.3.2 Materiales de laboratorio

Tubos de plástico con tapa de 15 y 20 mL., cubetas de poliestireno Gene Mate (1 x 1 x 4,5 cm), tubos de ensayo Pírex USA., microtubos (1,5-2,0 mL.), vasos de precipitación (1000, 500, 100, 50, 10 mL.), fioles (1000, 500, 100, 50, 10 mL.), gradillas, probetas de 10, 100 y 500 mL., termómetros, Tips de 200 y 1000 µL., micropipetas regulables de 10-100 µL y de 100-1000 µL., matraces erlenmeyer de 50 y 250 mL. Kimax USA., campana de desecación con perlas de silicagel, crisoles de porcelana, cap. 50 mL. Haldenwanger Berlín, papel filtro Watman N° 42, espátulas metálicas, placas petri.

3.3.3 Reactivos y solventes

Agua destilada desionizada (H₂O_{dd}), 1,1 diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH), 90%. Sigma Chemical, 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazoline-6 ácido sulfónico) (ABTS+), 98%. Sigma Chemical, persulfato de Potasio (K₂S₂O₈) p.a.

Sigma Chemical, Folin-Ciocalteu, Merck. Germany, carbonato de sodio (Na_2CO_3) p.a. ISO. Scharlau, ácido gálico ($\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$) al 98,1% Sigma Aldrich, Hexano (C_6H_{14}) p.a. Merck. Germany, ácido sulfúricos 95-97% p.a. Merck. Germany, hidróxido de sodio (NaOH) en lentejas p.a. ISO. Merck. Germany, ácido sulfúrico (H_2SO_4) 50%, acetona ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}$), diclorometano (CH_2Cl_2), etanol 96° ($\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$), tricloruro (FeCl_3), ácido clorhídrico (HCl), metanol (CH_3OH), Silicagel (60-200 Mesh) J.T. Baker.

3.4 Métodos de análisis

3.4.1 Análisis químico proximal

3.4.1.1 Humedad, método 23.003 AOAC (1997).

3.4.1.2 Proteína, método 991.29 AOAC (1997).

3.4.1.3 Grasa, método 935, 60 AOAC. (1997).

3.4.1.4 Fibra, método 930.20 AOAC (1997).

3.4.1.5 Cenizas, método 942.50 de calcinación directa AOAC (1997).

3.4.1.6 Carbohidratos, se determinó por diferencia de los demás componentes del análisis fisicoquímico (HART y FISHER, 1991).

3.4.1.7 pH, método 973.193 AOAC (1964).

3.4.1.8 Sólidos solubles, método 945.80 AOAC (1997), la concentración de sólidos solubles se expresó en grados Brix ($^{\circ}\text{Bx}$).

3.4.1.9 Acidez, método 939.05 AOAC (2000).

3.4.2 Análisis fitoquímico

Se determinó por los métodos de estudio de productos naturales, descrito por LOCK DE UGAZ (1988).

3.4.3 Evaluación de la actividad antioxidante

3.4.3.1 Inhibición del radical 1,1 diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH)

Método de inhibición del radical DPPH, descrito por Brand-Williams *et al.* (1995).

3.4.3.2 Capacidad de inhibir el catión 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6 ácido sulfónico) (ABTS^{o+})

Método descrito por PELLIGRINI *et al.* (1999).

3.4.4 Caracterización de la bebida funcional obtenida con el tallo de cashahuasca

3.4.4.1 Análisis sensorial

Se utilizó análisis afectivo "medida del grado de satisfacción", con dicha prueba se determinó la aceptabilidad de la bebida por parte del consumidor (UREÑA, 1999).

3.4.4.2 Caracterización fisicoquímica

- **Densidad**, método indicado por (INDECOPI, 1974).
- **Color**, método por CIELAB.
- **Acidez**, método usando titulación (AOAC, 1995).
- **Índice de refracción**, método indicado por (INDECOPI, 1974).

3.4.4.3 Cuantificación de polifenoles totales

Se realizó por el método de espectrofotometría de absorción molecular modificado por SANDOVAL *et al.* (2001).

3.5 Metodología experimental

3.5.1 Caracterización químico proximal

Se realizó el análisis fisicoquímico del tallo de la cashahuasca, teniendo en cuenta la edad de la planta seleccionada, siguiendo los métodos ya descritos en el ítem métodos de análisis (3.4.1). Los resultados fueron analizados mediante el diseño completamente al azar (DCA) y en los niveles donde exista significación estadística se aplicó la prueba de Tukey ($p < 0,05$), mediante el software InfoStat versión 2011/Profesional.

3.5.2 Caracterización fitoquímica del tallo de cashahuasca

3.5.2.1 Preparación de la muestra

- Recolección

Se colectó la planta sin raíz; los tallos obtenidos fueron llenados en bolsas de polietileno y llevados al laboratorio.

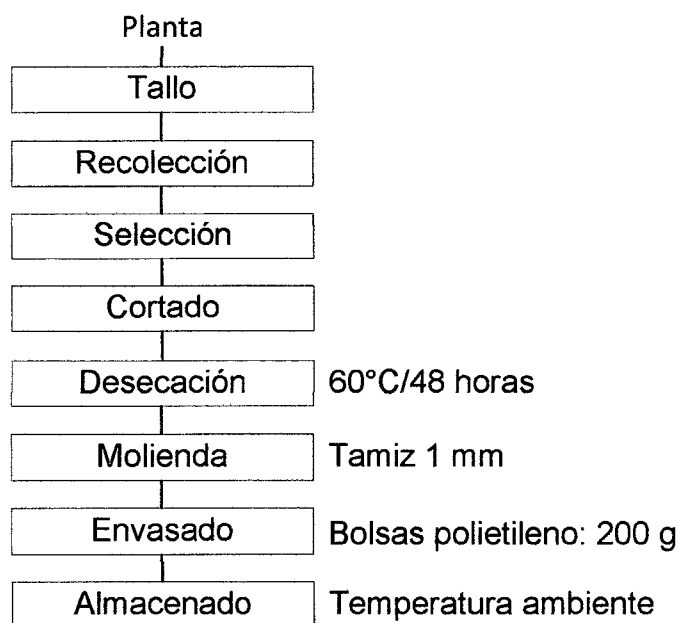


Figura 4. Flujograma de operaciones para la obtención de la muestra seca.

- **Selección**

Se realizó un seccionamiento de las fases de crecimiento del tallo: superior, intermedio e inferior.

- **Cortado**

Cada fase fue cortada 5 cm aproximadamente, esto para facilitar el secado y posterior molienda del tallo.

- **Desección**

Los tallos de cashahuasca se desecaron en estufa a 60°C con un sistema de ventilación por un tiempo de 48 horas.

- **Molienda**

Esta operación se realizó mediante un molino mecánico de tamiz de 1 mm, obteniéndose un polvo fino. Esto para facilitar el proceso de extracción.

- **Envasado**

Las muestras fueron envasadas en bolsas de polietileno con peso aproximado de 200 g para luego ser selladas.

- **Almacenado**

Todos los tratamientos fueron almacenados a temperatura ambiente, para su posterior análisis.

3.5.2.2 Preparación del extracto etanólico

Se pesó 100 g del polvo seco de cada fase del tallo; se añadió 550 mL de alcohol a 96° en frascos color ámbar; se acondicionó a temperatura ambiente, se agitó dos veces por día por un tiempo de un minuto

durante 4 días, luego se filtró cada muestra por fase; las muestras se llevaron a un secador con ventilación a 40 °C, para finalmente obtener un extracto seco.

3.5.2.3 Ensayo de solubilidad

Se realizó en solventes de polaridad creciente: n-hexano, acetona, diclorometano, metanol, etanol y agua destilada.

3.5.2.4 Marcha fitoquímica

La detección de constituyentes químicos del extracto etanólico se realizó siguiendo la marcha fitoquímica general; ya descritos en el ítem métodos de análisis (3.4.2).

3.5.2.5 Ensayos cromatográficos

En la cromatografía en capa fina, se usó como sistema de solventes: metanol: Diclorometano (1:4 v/v), se preparó la fase estacionaria con sílica gel mantenido sobre una placa de vidrio, presentándose tres manchas a la luz UV/V 254 nm y 365 nm, luego fueron reveladas con los reactivos FeCl_3 (1%), H_2SO_4 (sol, 50%) y el reactivo Wagner.

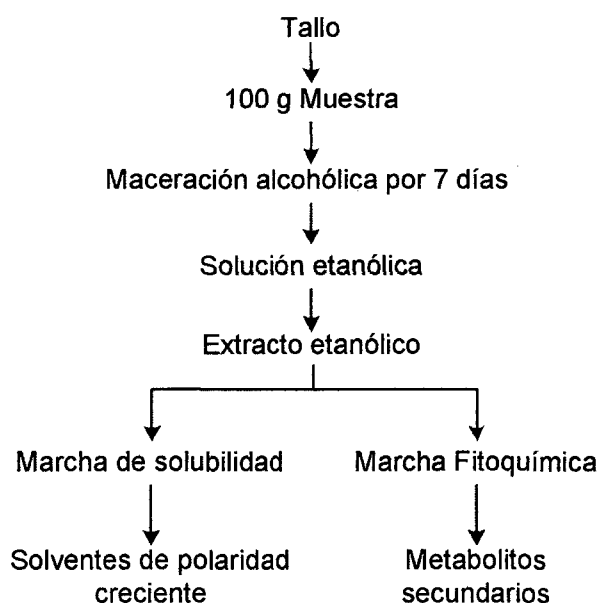


Figura 5. Esquema general de la marcha fitoquímica preliminar.

3.5.3 Evaluación de la capacidad antioxidante

La obtención de los extractos acuosos y etanólicos se realizó después de obtenida el tallo de cashahuasca en el laboratorio; fueron lavados, separados y secados en un estufa con sistema de ventilación, para luego ser molidos con la finalidad de obtener una mejor extracción.

3.5.3.1 Preparación de la muestra

Las operaciones realizadas para la obtención de la muestra se describen en la Figura 4.

3.5.3.2 Preparación de los extractos

Se preparó los extractos para la evaluación de la actividad antioxidante: radical DPPH (1,1 diphenyl-2-picryl-hydrazyl) y el catión ABTS^{o+} 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6 ácido sulfónico). Para ello se siguió las operaciones que se detallan en la Figura 6.

- Extracción

La preparación de los extractos se realizó tomando 5 g de la muestra seca y molida, agregando 50 mL de agua destilada y etanol 96 °; tanto para el extracto acuoso y etanólico, respectivamente; haciendo una concentración inicial de 100 mg/mL. Para el extracto acuoso se sometió a ebullición por 5 minutos y para el extracto etanólico el tiempo de maceración fue 48 horas; a continuación se filtraron dichos extractos para luego ser concentrados en el rotavapor y así obtener las concentraciones de trabajo.

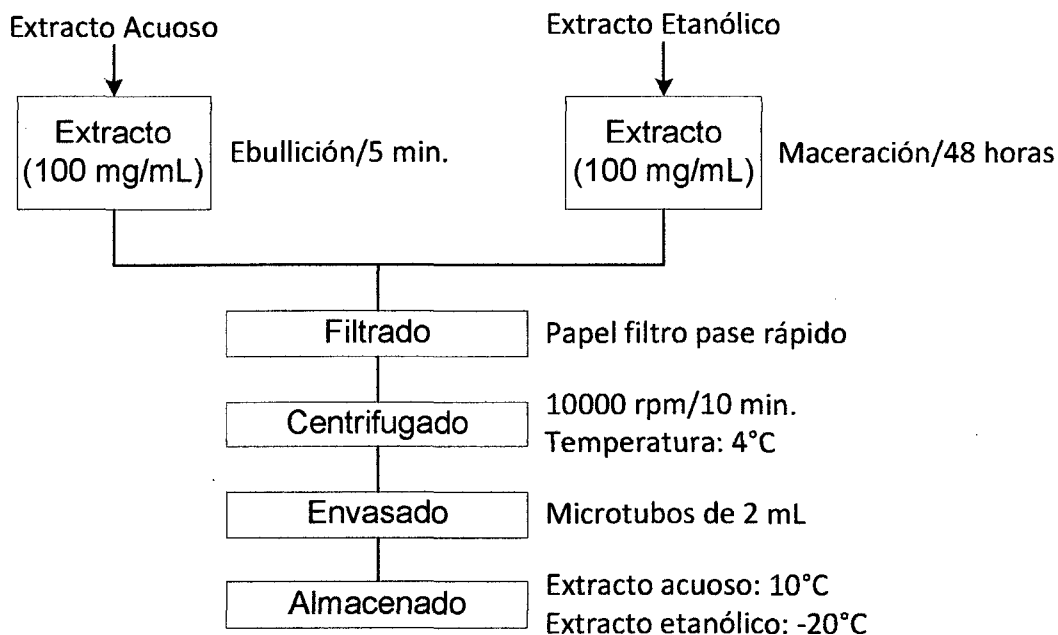


Figura 6. Flujograma de operaciones para la obtención del extracto acuoso y etanólico del tallo de cashahuasca.

- **Filtrado**

Se realizó con papel Whatman de pasada rápida con la finalidad de separar las trazas del tallo y para poder obtener un extracto limpio.

- **Centrifugado**

Con la finalidad de obtener los extractos transparentes y no tener interferencia al momento de realizar los análisis, las muestras se sometieron a centrifugación 10000 rpm/10 min a una temperatura de 4 °C.

- **Envasado**

Las muestras de los extractos obtenidos fueron envasadas en microtubos de 2 mL.

- Almacenado

Las muestras centrifugadas tanto para el extracto acuoso y etanólico fueron almacenadas a 10 °C y -20 °C respectivamente, hasta su posterior análisis.

Para la evaluación de la actividad antioxidante se realizó las siguientes pruebas:

3.5.3.3 Determinación del coeficiente de inhibición (IC_{50}) del radical 1,1 diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH)

Para la determinación del IC_{50} se presenta el procedimiento en la Figura 7. Para ello se preparó 10 mL de solución stock de DPPH a 1mM en etanol al 96 % de pureza, se agitó hasta la solubilización completa del compuesto, la solución de almacenó a 4 °C protegido de la luz, hasta su utilización.

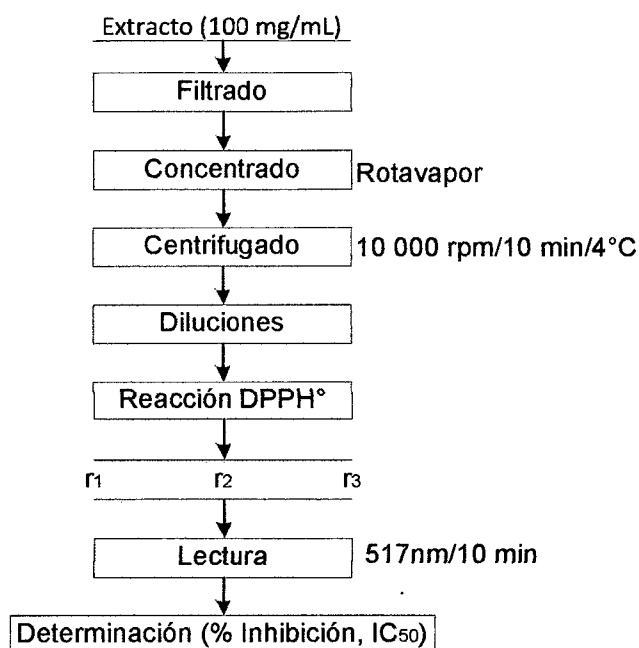


Figura 7. Diseño experimental para la evaluación de la actividad antioxidante en las tres fases de crecimiento del tallo de cashahuasca.

A partir de la solución stock se preparó 40 mL de DPPH a 100 μM con etanol al 96 % de pureza. Las concentraciones del extracto acuoso del TS fueron: 47,88; 95,76; 191,52; 383,04 $\mu\text{g/mL}$; para TM: 9,01; 45,07; 90,14; 180,28 $\mu\text{g/mL}$ y por último para TI fueron de: 57,45; 114,90; 229,80; 459,60 $\mu\text{g/mL}$ y las concentraciones del extracto etanólico del TS (40,89; 81,78; 163,56; 327,12 $\mu\text{g/mL}$); TM (8,24; 41,18; 82,36; 164,72 $\mu\text{g/mL}$) y TI (48,63; 97,26; 194,52; 389,04 $\mu\text{g/mL}$).

La reacción se realizó en una cubeta de poliestireno donde se adicionó 50 μL de la solución de trabajo y 950 μL de solución DPPH a 100 μM , la lectura se realizó en un espectrofotómetro de UV/VIS a una longitud de onda de 517 nm con un tiempo de 10 minutos en intervalos de tiempo cada 30 segundos. Para calcular el porcentaje de inhibición se utilizó la siguiente ecuación:

$$\% \text{Inhibición DPPH} = \left[\frac{\text{Abs Control} - \text{Abs Muestra}}{\text{Abs Control}} \right] \times 100$$

Dónde: Abs control: Absorbancia del control.

Abs Muestra: Absorbancia de la muestra en 10 minutos.

El diseño experimental se presenta en la Figura 10, los resultados de la capacidad de inhibir (IC_{50}) del radical DPPH fueron analizados mediante el diseño completo al azar (DCA) con arreglo factorial de 3×2 (MENDIBURU, 2007) con tres repeticiones y en los niveles donde hubo diferencia estadística se aplicó la prueba de Tukey ($p < 0,05$), mediante el software InfoStat versión 2011-Profesional (Español).

3.5.3.4 Capacidad de inhibir el catión 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6 ácido sulfónico) (ABTS^{•+})

Para la determinación del IC₅₀ del radical ABTS^{•+} el procedimiento se presenta en la Figura 8. Las concentraciones del extracto acuoso del TS fueron: 47,88; 95,76; 191,52; 383,04 µg/mL; para TM: 9,01; 27,04; 45,07; 63,10 µg/mL y por último del TI fueron: 11,49; 34,47; 57,45; 80,43 µg/mL y las concentraciones del extracto etanólico del TS fueron de: 40,89; 81,78; 163,56; 327,12 µg/mL; TM fueron de: 4,12; 8,24; 16,47; 24,71 µg/mL y del TI: 9,73; 29,18; 48,63; 68,08 µg/mL. Según la metodología desarrollada por PELLIGRINI *et al.* (1999) el radical ABTS^{•+} se formó tras la reacción de ABTS (7 mM) con persulfato potásico (140 mM) para luego incubar a temperatura ambiente y en oscuridad durante un periodo de 16 h (solución stock). Para la preparación de la solución de trabajo; se mezcló 2 mL de la solución stock con 100 mL de etanol, hasta obtener un valor de absorbancia entre 0,7 a 1,2 nm.

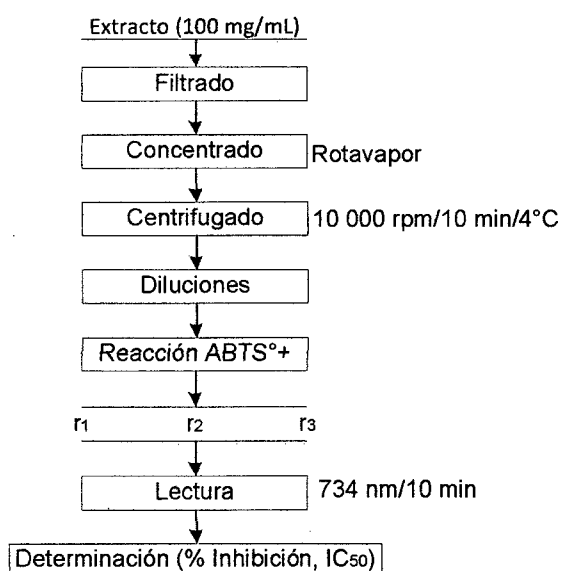


Figura 8. Diseño experimental para la evaluación de la actividad antioxidante en las tres fases de crecimiento del tallo de cashahuasca.

La reacción se realizó en una cubeta de poliestireno donde se adicionó 10 μL de la solución de trabajo y 990 μL de solución $\text{ABTS}^{\circ+}$, la lectura se realizó en un espectrofotómetro de UV/VIS a una longitud de onda de 734 nm con un tiempo de 5 minutos en intervalos de tiempo cada 30 segundos. Para calcular el porcentaje de inhibición del radical, se utilizó la siguiente fórmula:

$$\% \text{Inhibición } \text{ABTS}^{\circ+} = \left[\frac{\text{Abs Control} - \text{Abs Muestra}}{\text{Abs Control}} \right] \times 100$$

Dónde: Abs control: Absorbancia del control.

Abs Muestra: Absorbancia de la muestra en 5 minutos.

La actividad antioxidante del radical fue expresada en IC_{50} , para ello se expresó en función de concentración versus porcentaje de inhibición; con lo cuál se obtuvo una curva de ajuste del tipo lineal, sobre la cual se determinó el valor de IC_{50} .

Los resultados de la capacidad de inhibir (IC_{50}) del radical DPPH fueron analizados mediante el diseño completo al azar (DCA) con arreglo factorial de 3×2 (DE MENDIBURU, 2007), para los niveles donde hubo diferencia estadística se aplicó la prueba de Tukey ($p < 0,05$).

3.5.4 Elaboración de la bebida funcional

En la Figura 9, se muestran el proceso para elaborar la bebida funcional. Los tallos con mejor actividad antioxidante fueron cosechados y llevados al laboratorio.

- Selección

Se realizó con la finalidad de eliminar aquellos tallos que presentaban defectos.

- **Limpieza**

Se realizó con la finalidad de eliminar partículas extrañas del material biológico.

- **Pesado**

Se realizó con una balanza analítica de precisión, en donde se pesó 350 g de tallo en tres proporciones.

- **Cortado**

Con la finalidad de ayudar a la extracción se cortaron aproximadamente 15 cm de tallo.

- **Extracción**

Para la bebida funcional se evaluó en 3 diluciones diferentes, adicionando agua destilada en 1750, 2330 y 3500 mL a cada proporción de tallo pesado.

Este proceso se realizó con agua a ebullición, los tallos fueron adicionados para luego dejar en reposo por un tiempo de 15 minutos.

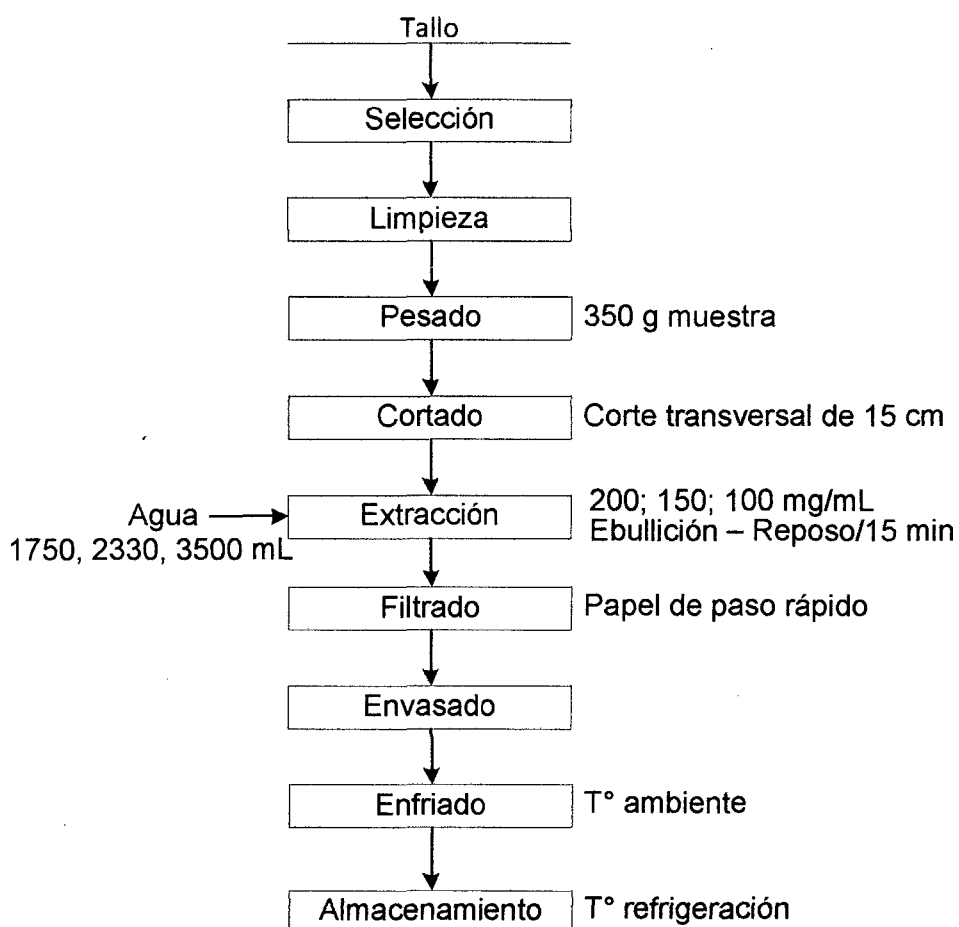


Figura 9. Flujograma general para la elaboración de la bebida funcional.

- Filtrado

Se realizó utilizando papel filtro de pase rápido, marca Whatman, con la finalidad de separar partículas del tallo y obtener una muestra limpia.

- Envasado

Se realizó el envasado del producto en botellas de vidrio de color ámbar.

- **Enfriado**

Se realizará el enfriado del producto a temperatura ambiente.

- **Almacenamiento**

Se realizará en refrigeración, con la finalidad de darle más vida útil al producto.

3.5.4.1 Análisis sensorial de la bebida funcional

Se realizó mediante el análisis afectivo “medida de grado de satisfacción” (UREÑA, 1999). Se utilizó la escala hedónica presentada en el (Cuadro 23 del Anexo 2). Los resultados fueron analizados mediante el análisis estadístico no paramétrico y los niveles donde existió significación estadística, se aplicó la prueba de Friedman ($p < 0,05$).

3.5.4.2 Caracterización fisicoquímica de la bebida funcional

Se realizó en la bebida funcional que obtuvo mayor grado de satisfacción. La caracterización fisicoquímica realizada fue: densidad, color, acidez, e índice de refracción; siguiendo los métodos ya descritos en el ítem métodos de análisis (3.4.4.2).

3.5.4.3 Cuantificación de polifenoles totales en la bebida funcional

Preparación de la curva estándar

Se preparó una solución estándar de ácido gálico de concentración de 2 mg/mL, a partir de la solución estándar se prepararon soluciones de concentraciones diluidas de 1,0; 0,5; 0,25; 0,125; 0,0625 mg/mL, cada dilución se preparó por triplicado. En cada tubo de ensayo se adicionó 1580 μ L agua

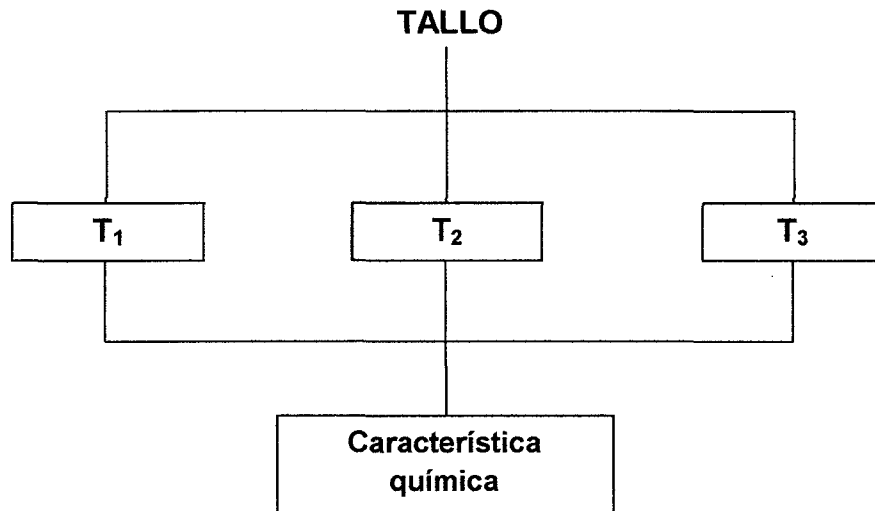
destilada, 20 μL de las soluciones estándar diluida, 100 μL de solución de fenol Folin-Ciocalteu y finalmente 300 μL de Carbonato de sodio (Na_2CO_3) al 20 %. Se incubó por 2 horas a temperatura ambiente y luego se realizó la lectura en el espectrofotómetro UV/VIS, a una longitud de onda de 700 nm. Con los resultados obtenidos se graficó absorbancia versus concentración y se procedió a determinar la ecuación y el coeficiente de correlación.

Cuantificación de polifenoles totales

Para la cuantificación de polifenoles totales se utilizó la bebida funcional a una concentración de (150 mg muestra/mL). En un tubo de ensayo se colocó 1580 μL de agua destilada, 20 μL de muestra, 100 μL de solución de fenol Folin-Ciocalteu y finalmente 300 μL de Carbonato de sodio (Na_2CO_3) al 20 %; para competir la reacción se dejó reposar 2 horas a temperatura ambiente. Luego se realizó la lectura en el espectrofotómetro UV/VIS a una longitud de onda de 700 nm. Las absorbancias obtenidas fueron remplazadas en la ecuación de la curva estándar y expresadas en equivalente de ácido gálico (g EAG/100 mL de muestra).

3.6 Diseño experimental

3.6.1 Caracterización química de las fases de crecimiento de cashahuasca

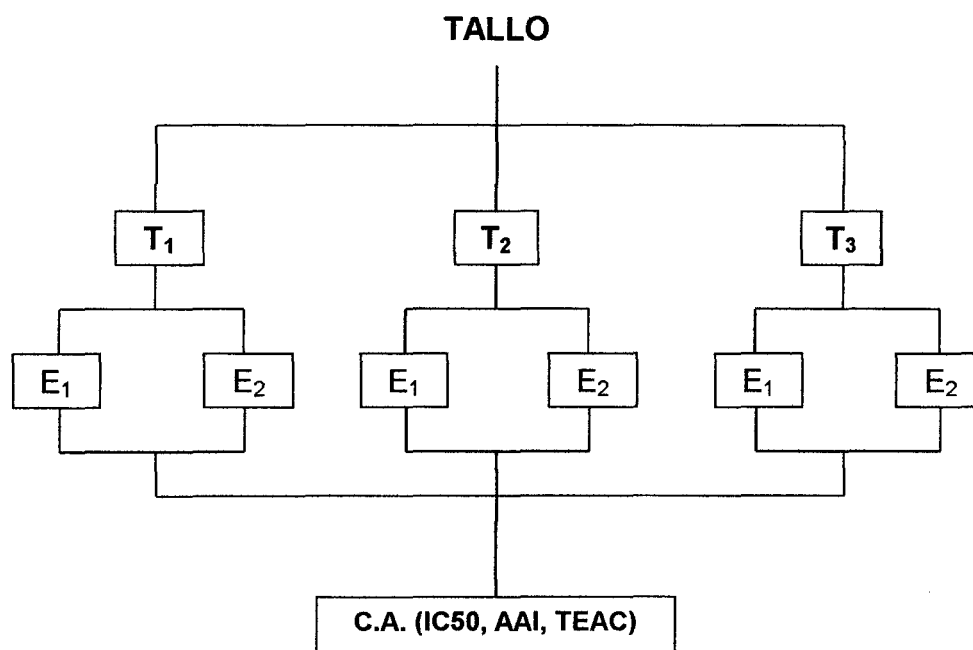


Dónde:

- T₁, T₂ y T₃: Diferentes fases de crecimiento del tallo.
- Característica química: humedad, proteína, grasa, fibra, cenizas y carbohidratos.

Figura 10. Diseño experimental para determinar el tallo con mejor característica química.

3.6.2 Determinación del tallo con mejor capacidad antioxidante



Dónde:

- T₁, T₂ y T₃: Diferentes fases de crecimiento del tallo.
- E₁, E₂: Extracto acuoso y etanólico.
- C.A.: Capacidad antioxidante (IC₅₀, AAI, TEAC)

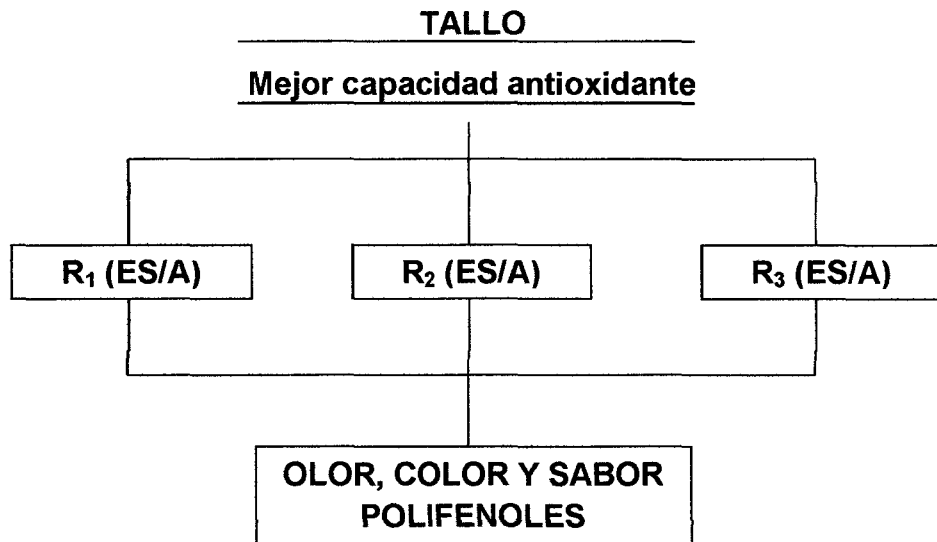
IC₅₀: Capacidad de Inhibir el 50% de radicales libres.

AAI: Índice de actividad antioxidante.

TEAC: Capacidad Antioxidante Equivalente a Trólox.

Figura 11. Diseño experimental para determinación del tallo con mejor capacidad antioxidante.

3.6.3 Elaboración de la bebida funcional



Dónde:

- ES: Extracto seleccionado.
- A: Agua.
- R₁: 200 mg/mL
- R₂: 150 mg/mL
- R₃: 100 mg/mL
- La capacidad antioxidante se determinará en la dilución seleccionada, mediante la evaluación de polifenoles totales.

Figura 12. Diseño experimental para la elaboración de la bebida funcional.

IV RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1 Caracterización químico proximal del tallo de cashahuasca

En el Cuadro 2 se muestra en análisis del tallo de cashahuasca. No se tienen reportes previos del análisis químico proximal de *S. rubicaulis*; sin embargo análisis químicos realizados a *Viscum album* en diferentes estados de desarrollo de la planta completa (DERYA-UMUCALILAR *et al.*, 2007) mostraron contenido de proteína cruda (5,30 a 6,90 %); fibra (2,90 a 3,10 %); extracto etéreo (6,90 a 7,40 %) y cenizas (7,90 a 12,80 %). En todos los casos los contenidos de nutrimentos son más altos en las diferentes secciones de *S. rubicaulis*, excepto en el contenido de grasa y ceniza donde la concentración fue baja.

Los resultados de humedad se reportan en el Cuadro 2 y según el análisis de varianza (Cuadro 13 del Anexo 1), entre las fases de crecimiento del tallo de la cashahuasca se encontró que existe diferencia significativa ($p < 0,05$). Según los resultados, la fase superior contiene un mayor porcentaje de humedad con $77,99 \pm 0,42$ % mientras que en la fase intermedia e inferior tienen valores similares $65,89 \pm 2,10$ % y $67,33 \pm 2,09$ %; respectivamente, entre estas dos fases de crecimiento no existe diferencia estadística significativa.

En el Cuadro 2 se muestra el porcentaje de proteína en las diferentes fases de crecimiento del tallo de *Serjania rubicaulis*, analizando estadísticamente se encontró que existe diferencia significativa (Cuadro 14 del

Anexo 1), el menor contenido estuvo en la fase intermedia $7,55 \pm 0,03$ %. URNES (1969) encontró en muérdagos de Arizona, *Phoradendron* sp., y *Arceuthobium* sp., contenidos de proteína cruda de 15 a 25 %. Para la fase superior e inferior no se encontró diferencia estadística significativa, para el primero fue $9,35 \pm 0,21$ % y para el segundo $9,11 \pm 0,12$ %.

En el mismo cuadro, se observa que existe diferencia significativa en el contenido de grasa (Cuadro 15 del Anexo 1), entre las fases del tallo de cashahuasca siendo para la fase superior $1,65 \pm 0,10$ %, intermedia $6,83 \pm 0,51$ % y para la inferior $3,56 \pm 0,09$ %. Según los resultados reportados por SERRANO *et al.* (2011) en su investigación actividad antioxidante y efecto citotóxico de *Cladocolea loniceroides* muestra el contenido de cenizas (6,59%); proteína cruda (13,61 %); extracto etéreo (3,26 %); fibra cruda (14,80 %) y extracto libre de nitrógeno (61,73 %).

En cuanto al porcentaje de fibra y según el análisis de varianza (Cuadro 16 del Anexo 1), entre las fases de crecimiento del tallo existe diferencia significativa ($p < 0,05$). El resultado muestra que el menor contenido se encontró en la fase superior con $41,15 \pm 1,14$ %, mientras que en las fases intermedias e inferiores no se encontró diferencia significativa; siendo $46,59 \pm 0,31$ % y $46,71 \pm 0,35$ %; respectivamente.

Cuadro 2. Resultado del análisis químico proximal del tallo de cashahuasca.

Análisis Químico proximal	Fases de crecimiento					
	Superior		Intermedio		Inferior	
	BH ¹	BS ²	BH ¹	BS ²	BH ¹	BS ²
Humedad	77,99 ± 0,416 ^a	-	65,89 ± 2,102 ^b	-	67,33 ± 2,090 ^b	-
Proteína (%) (N x 6,25)	2,06 ± 0,045	9,35 ± 0,206 ^a	2,57 ± 0,009	7,55 ± 0,025 ^b	2,98 ± 0,038	9,11 ± 0,115 ^a
Grasa (%)	0,36 ± 0,021	1,65 ± 0,095 ^c	2,33 ± 0,174	6,83 ± 0,510 ^a	1,16 ± 0,028	3,56 ± 0,086 ^b
Fibra (%)	9,06 ± 0,250	41,15 ± 1,137 ^b	15,89 ± 0,104	46,59 ± 0,305 ^a	15,26 ± 0,114	46,71 ± 0,349 ^a
Ceniza (%)	1,27 ± 0,129	5,78 ± 0,586 ^a	1,55 ± 0,124	4,54 ± 0,363 ^a	1,51 ± 0,126	4,63 ± 0,387 ^a
Carbohidratos (%) ³	9,26 ± 0,424	42,05 ± 1,455 ^a	11,76 ± 1,960	34,05 ± 3,532 ^a	11,76 ± 2,335	35,33 ± 5,209 ^a

Los valores representan (promedio ± SEM) datos provienen del experimento (n=3) valores de una misma columna con superíndices distintos, indica diferencia estadística (p<0,05).

¹BH: % Base húmeda, ²BS% Base seca, ³ Por diferencia

De la misma manera en el Cuadro 2 se muestra el porcentaje de ceniza, realizado en análisis de varianza (Cuadro 17 del Anexo 1), no se encontró diferencia estadística significativa, determinado que el porcentaje de ceniza para las fases de crecimiento es relativamente semejantes, alcanzando un promedio general de 4,98 %.

En el Cuadro 2 se muestra el porcentaje de carbohidratos, realizado en análisis de varianza (Cuadro 18 del Anexo 1), no se encontró diferencia estadística significativa, determinado que el porcentaje de carbohidratos para las fases de crecimiento es relativamente semejantes, alcanzando un promedio general de 37,14 %. ZAPATA (2007) señala que las propiedades de consistencia están directamente relacionadas con la composición de las paredes celulares y tejidos que los rodean, por lo tanto los cambios en carbohidratos durante la maduración son en gran parte responsables de la reducción de la rigidez.

Egan *et al.* (1993) citado por ZAPATA (2007) las cenizas obtenidas no tienen necesariamente la misma composición que la materia mineral presente en el alimento original, ya que puede haber habido pérdidas por volatilización o alguna interacción entre los constituyentes.

Finalmente de acuerdo a los valores obtenidos de los constituyentes se realizó el cálculo de contenido energético obteniéndose los siguientes resultados para cada fase del tallo de cashahuasca: superior: 227,95 Kcal/g; intermedio: 246,69 Kcal/g; e inferior: 231,87 Kcal/g. COSTA *et al.* (2003) reporta el valor energético del tallo de acelga fresca en 8,07 Kcal/g.

4.2 Caracterización fitoquímica del tallo de cashahuasca

4.2.1 Ensayo de solubilidad

Cuadro 3. Resultado de solubilidad en los extractos etanólicos del tallo de cashahuasca.

Solvente	Fases de crecimiento		
	Superior	Intermedio	Inferior
n-Hexano	+	-	-
Acetona	+	+	+
Diclorometano	+	+	+
Metanol	++	++	++
Etanol	++	++	++
Agua destilada	+	-	-

(-) Ausente; (+) Poca cantidad; (++) Regular cantidad; (+++) Abundante cantidad

En el Cuadro 3 se muestra los resultados de solubilidad obtenido de los extractos etanólicos del tallo de la cashahuasca en sus fases de crecimiento superior, intermedio e inferior; realizado con solventes de polaridad creciente, siendo el metanol y etanol solventes polares, de donde se deduce que los componentes químicos mayoritarios son de estructura y naturaleza polar, coincidiendo con BONILLA *et al.* (2007), quién reportó compuestos químicos polares en extractos acuosos de hojas de *Vallea stipularis* L.f. "Chuillur".

4.2.2 Marcha fitoquímica del tallo de cashahuasca

Los resultados del análisis fitoquímico del tallo de cashahuasca se muestran en el Cuadro 4, para ello, se partió de extractos etanólicos puesto que este solvente tiene la capacidad de extraer compuestos de una amplia

gama de polaridades, además de ser menos costoso y tóxico que otros solventes orgánicos.

Los resultados del análisis fitoquímico del tallo de cashahuasca en sus fases de crecimiento se presentan en el siguiente cuadro.

Cuadro 4. Resultado del análisis fitoquímico del tallo de cashahuasca.

Tipo de reacción	Fases de crecimiento			Compuestos
	Superior	Intermedio	Inferior	
Ninhidrina	-	-	-	Aminoácidos
Gelatina	+	+	+	Taninos
Tricloruro Férrico (FeCl ₃)	++	++	++	Compuestos Fenólicos
Dragendorff	-	-	-	Alcaloides
Mayer	-	-	-	Alcaloides
NaOH 5% - Burtranger	+	+	+	Quinonas
Molish (α -naftol-H ₂ SO ₄ concentrado)	+	++	++	Glicósidos
Shinoda (Mg-HCl concentrado)	+	+++	+++	Flavonoides

(-) Ausente; (+) Poca cantidad; (++) Regular cantidad; (+++) Abundante cantidad

La valoración de los metabolitos secundarios es de considerable importancia, ya que esta operación comprende la identificación del material y la determinación de su calidad, pureza y, si está alterada, la naturaleza del adulterante. Numerosos factores que afectan a la calidad como la estirpe del vegetal, época de recolección y métodos de desecación y conservación deben tenerse en cuenta (ENRÍQUEZ *et al.*, 2008).

En el Cuadro 4, se muestra la ausencia de compuestos de aminoácidos libres en las fases de crecimiento del tallo. Según VEGA *et al.*

(2009), reporta poca cantidad de aminoácidos libres en su investigación Tamizaje fitoquímico preliminar de los extractos alcohólicos, etéreo y acuoso de las hojas, tallos y flores de la *Ixora coccinea* L. Los aminoácidos libres constituyen el grupo de los aminoácidos no proteicos, cuya función no se conoce muy bien, así como la de la mayoría de los metabolitos secundarios (ENRÍQUEZ *et al.*, 2008).

Los taninos y los compuestos fenólicos se encuentran presentes en poca y regular cantidad, respectivamente en las fases de crecimiento del tallo. Por otro lado LÓPEZ *et al.* (2003), indican la ausencia de fenoles y taninos en tallo de la especie *Pedillanthus tithymaloides* (L.) Poit; éstos compuesto exhiben propiedades antisépticas. De igual manera CARVAJAL *et al.* (2009), indica la ausencia de taninos, en tallos de cupatá (*Strychnos schultesiana* Krukoff).

En cuanto a la detección de alcaloides, ninguno de las fases de cashahuasca presentó dicho compuesto. RODRIGUEZ *et al.* (2010) reporta en sus ensayos Dragendorff-Mayer, la presencia de alcaloides en poca cantidad del tallo en *Colubrina arborescens* M. La reacción de Dragendorff produce sales de los alcaloides precipitados coloreados; el bismuto presenta una geometría octaédrica y una carga formal de -2, en su esfera de coordinación (anión voluminoso) para interactuar electrostáticamente con dos moléculas de alcaloides protonadas (ENRÍQUEZ *et al.*, 2008).

Para la detección de quinonas se reporta la poca cantidad presentes en fases de crecimiento del tallo. De igual manera RODRIGUEZ *et al.* (2010) en extracto alcohólico reporta poca cantidad de quinonas en tallos de

Colubrina arborescens M. VEGA *et al.* (2009) y SÁNCHEZ *et al.* (2010), determinaron quinonas en abundante cantidad en extracto alcohólico en tallos de *Ixora coccinea* L., y *Helychrysom bracteatum*; respectivamente.

En la detección de glicósidos se determinó poca cantidad y regular cantidad en la fase superior, intermedia e inferior; respectivamente, al presentarse una coloración verde violácea. Sin embargo CARVAJAL *et al.* (2009) reporta la ausencia de este compuesto en tallos de *Strychnos schultesiana* Krukoff. Según LÓPEZ *et al.* (2003) identifica poca cantidad de carbohidratos reductores en tallos de *Pedillanthus tithymaloides* (L). Poit.

Referente a la determinación de flavonoides se obtuvo en abundantes cantidades respecto a la fase intermedia e inferior, comparado en poca cantidad con la fase superior. SÁNCHEZ *et al.* (2010) reporta en extracto alcohólico, la presencia de poca cantidad de flavonoides; éstos compuestos son responsables de la acción antiinflamatoria LÓPEZ *et al.* (2003).

4.2.3 Análisis cromatográfico del tallo de cashahuasca

Con respecto al análisis cromatográfico efectuado (Figura 18 del Anexo 3) al extracto etanólico y en las diferentes fases de crecimiento del tallo de cashahuasca, se obtuvo mejores resultados con el sistema de solventes $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{CH}_3\text{OH}$ (4:1), la detección de flavonoides se debe al color de la fluorescencia que desarrollan a la luz UV, que se intensifican o cambian de color luego de exposición a vapores de amoníaco (NH_3). Asimismo se realizó la cromatografía en escala preparativa, usando el mismo sistema de solventes ya mencionado; se observaron 5 manchas, éstos se revelaron con solución FeCl_3 1 %, solución H_2SO_4 50 % y reactivo de Wagner (Figura 19 del Anexo 3); el

color amarillo observado, indicaría la presencia de flavonas y/o flavonoles, tal como manifiesta BONILLA *et al.* (2007). Sin embargo la presencia de alcaloides con el reactivo de Wagner fue negativa. Cabe mencionar que luego de ser revelados las cromatoplasmas se llevaron a calentamiento, esto con el fin de activar los dobles enlaces de los grupos cromóforos (Figura 20 del Anexo 3)

Para el relevado de las cromatoplasmas se realizó un análisis a la luz visible antes y después de exponer a vapores de NH₃; análisis a la luz UV (366 nm) antes y después de poner el cromatograma (Figura 21 del Anexo 3).

4.3 Capacidad antioxidante del tallo de cashahuasca en sus tres fases de crecimiento

4.3.1 Determinación del coeficiente de inhibición (IC₅₀) radical 1,1 diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH)

El ensayo antioxidante DPPH está basado en la habilidad del DPPH, un radical libre para convertirse en incoloro en presencia de extractos de planta. El radical DPPH posee un electrón impar en que es el responsable de la absorbancia a 517 nm y también del color purpura visible. Cuando DPPH acepta un electrón donado por un compuesto de ensayo antioxidante, el DPPH es decolorado esto puede ser medido cuantitativamente a partir de la disminución de la absorbancia (KUMAR *et al.*, 2011).

En el Cuadro 5 y Figura 13 se presentan los resultados del DPPH en las fases del tallos de cashahuasca, según el análisis estadístico estos presentaron diferencia estadística significativa (Cuadro 19 del Anexo 2), comparando los promedios tenemos que la mayor capacidad antioxidante lo presentaron los tratamientos TINEA IC₅₀ 69,18 ± 0,56 µg/mL y el tratamiento

TINEE IC_{50} $59,18 \pm 1,10 \mu\text{g/mL}$ y la menor capacidad lo presentó el tratamiento TIEA IC_{50} $176,24 \pm 0,60 \mu\text{g/mL}$.

Los valores obtenidos en la curva del IC_{50} demuestran un poder antioxidante notable para los extractos de prueba, entre los que destacan los obtenidos del precipitado proveniente del extracto etanólico. El extracto acuoso mostro actividad antioxidante moderada, de acuerdo con el valor obtenido de IC_{50} . En trabajos similares en tallos para otras especies de *Serjania* (*S. lethalis*), se ha documentado una actividad de $404,16 \mu\text{g/mL}$, comparado con la raíz de la misma planta con una actividad de $285,76 \mu\text{g/mL}$ (RODRIGUES *et al.*, 2006).

La actividad antioxidante depende de los metabolitos secundarios que produce la planta (EL KAR *et al.*, 2007). El uso del radical libre DPPH es un método común para evaluar el potencial antioxidante (KUMAR *et al.*, 2011). La capacidad antioxidante está dado por los polifenoles totales, monómero flavonol (epicatequina y catequina) y proactocianinas, estos compuestos son considerados como candidatos potenciales para combatir los radicales libres (AIKPOKPODION y DONGO, 2010).

Del mismo modo podemos indicar que la capacidad antioxidante de los tallos de cashahuasca en la fase superior fluctúa IC_{50} 162 a $174 \mu\text{g/mL}$; en el intermedio IC_{50} 59 a $69 \mu\text{g/mL}$; y en el inferior IC_{50} 148 a $176 \mu\text{g/mL}$.

GONZALES *et al.* (2007) respecto a la actividad antioxidante de los extractos acuoso y metanólico en tallos de orégano encontró IC_{50} $31,88 \pm 3,94$ y $16,40 \pm 1,31 \text{ mg/L}$, respectivamente.

Cuadro 5. Inhibición de radicales libres de DPPH (IC₅₀).

Fases de crecimiento	Extractos	Tratamiento	IC ₅₀ (µg/mL)
Superior	Acuoso	TSEA	174,36 ± 1,21 ^e
	Etanólico	TSEE	162,06 ± 1,18 ^d
Intermedio	Acuoso	TINEA	69,18 ± 0,56 ^b
	Etanólico	TINEE	59,18 ± 1,10 ^a
Inferior	Acuoso	TIEA	176,24 ± 0,60 ^e
	Etanólico	TIEE	148,84 ± 1,26 ^c

Los valores representan (promedio ± SEM) datos provienen del experimento (n=3) valores de una misma columna con superíndices distintos, indica diferencia estadística (p<0,05).

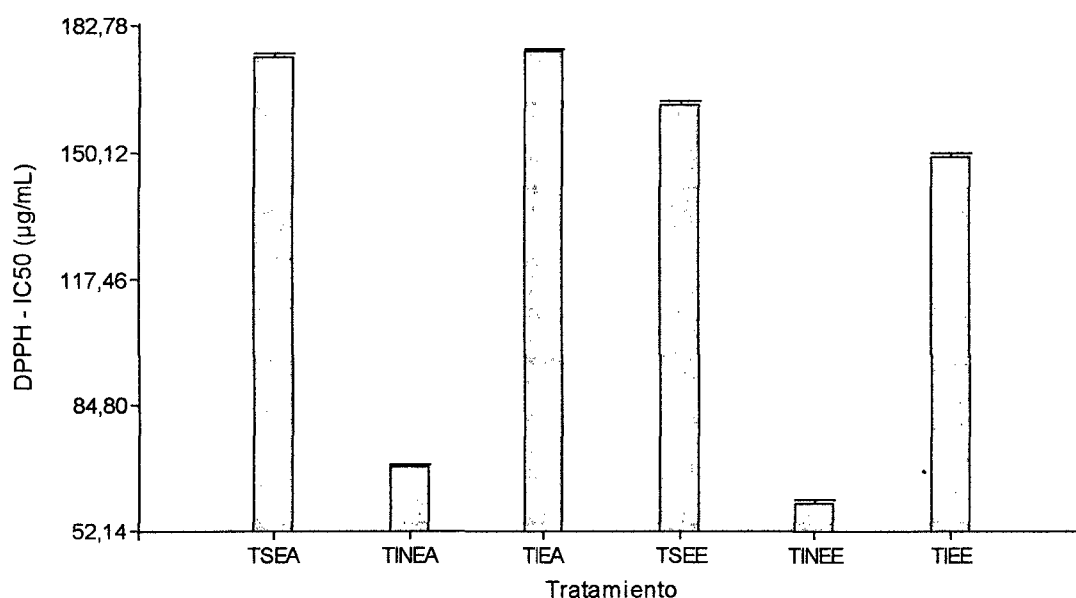


Figura 13. Comportamiento del (IC₅₀) con el radical DPPH del tallo de cashahuasca.

KUMAR *et al.* (2011) reportaron valores de extractos en fracciones de cloroformo y de acetato de etilo en EC₅₀ por 121,98 µg/mL y EC₅₀ por 105 µg/mL, con 79,96 % y 86,04 %; respectivamente. Estudios realizados en los tallos de *Cassia auriculata* L., reportado por GAIKWAD *et al.* (2011) muestran

un IC_{50} de $526 \pm 0,01$ esto puede deberse a la ausencia de compuestos fenólicos, que son responsables de la actividad antioxidante de la planta.

Estos radicales son especies químicas que tienen sólo un electrón no emparejado en un orbital externo. En ese estado, el radical es extremadamente reactivo e inestable y participa en reacciones con químicos inorgánicos o sustancias orgánicas, proteínas, lípidos y carbohidratos, particularmente con moléculas importantes en las membranas y los ácidos nucleicos; la evaluación oxidativa consiste en la detección de nuevas sustancias que pueden inhibir al radical perjudicial o hacer potentes efectos de aquellos producidos naturalmente *in vivo* (BROGGINI *et al.*, 2010).

En el Cuadro 6 y Figura 14 se muestran los resultados del índice de actividad antioxidante (AAI), según el análisis estadístico estos reportaron diferencia estadística significativa (Cuadro 20 del Anexo 2), comparando los promedios tenemos que la mayor AAI presentaron los tratamientos TINEE $0,66 \pm 0,0123$ y el tratamiento TINEA con $0,56 \pm 0,0046$.

Cuadro 6. Determinación del AAI del tallo de cashahuasca en sus fases de crecimiento.

Fases de crecimiento	Extractos	Tratamiento	AAI ($\mu\text{g.mL}^{-1}$ DPPH/ IC_{50} $\mu\text{g.mL}^{-1}$)
Superior	Acuoso	TSEA	$0,22 \pm 0,0016^{\text{d}}$
	Etanólico	TSEE	$0,24 \pm 0,0017^{\text{cd}}$
Intermedio	Acuoso	TINEA	$0,56 \pm 0,0046^{\text{b}}$
	Etanólico	TINEE	$0,66 \pm 0,0123^{\text{a}}$
Inferior	Acuoso	TIEA	$0,22 \pm 0,0008^{\text{d}}$
	Etanólico	TIEE	$0,26 \pm 0,0022^{\text{c}}$

Los valores representan (promedio \pm SEM) datos provienen del experimento (n=3) valores de una misma columna con superíndices distintos, indica diferencia estadística ($p < 0,05$).

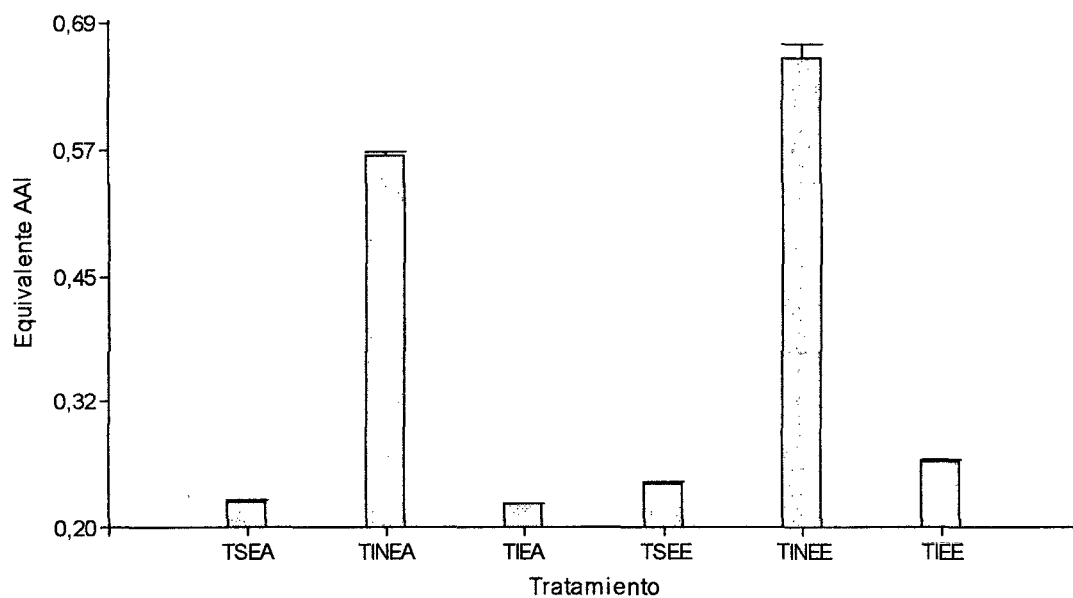


Figura 14. Comportamiento del AAI frente a los tratamientos aplicados a las fases de crecimiento en tallos de cashahuasca.

Según SCHERER y GODOY (2009), comenta que el índice de actividad antioxidante (AAI) se puede expresar como la relación entre la concentración final del DPPH y el valor del IC_{50} , el AAI fue calculado considerando la masa del DPPH y la masa del compuesto en reacción de ensayo, resultando una constante para cada compuesto, independientemente de la concentración del DPPH y de la muestra usada.

Asimismo podemos indicar que las fases superior e inferior presentan una actividad antioxidante pobre, con una AAI que fluctúa entre 0,22 a 0,26; mientras que la fase intermedia presenta un actividad antioxidante moderada que fluctúa entre 0,56 a 0,66. Esto de acuerdo con la escala presentada por SCHERER y GODOY (2009) donde indica que un AAI menor de 0,5 presenta una actividad antioxidante pobre; un AAI comprendida entre 0,5 a 1,0 tiene una actividad antioxidante moderada; un AAI entre 1,0 a 2,0 presenta una actividad fuerte; y un AAI mayor de 2,0 tiene una actividad antioxidante muy fuerte.

LUIS *et al.* (2009) respecto a la actividad antioxidante mediante el AAI reportó en extractos etanólico en *Cytisus scoparius*, *Erica spp.*, valores $0,86 \pm 0,03$; $1,40 \pm 0,07$ que indican una actividad antioxidante moderada y fuerte, respectivamente; comparados con los valores de la cashahuasca que presenta una actividad antioxidante moderada; en la fase intermedia.

4.3.2 Capacidad de inhibir el catión 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6 ácido sulfónico) (ABTS^{o+})

Para determinar la capacidad antioxidante del tallo de cashahuasca en sus tres fases; se evaluó frente al radical ABTS^{o+}, los resultados del coeficiente de inhibición al 50 % (IC₅₀) se muestran en el Cuadro 7 y Figura 15, según el análisis estadístico se reportaron diferencia estadística significativa (Cuadro 21 del Anexo 2), haciendo una comparación de las medias nos indica que la mejor capacidad antioxidante presentaron los tratamientos TINEE IC₅₀ 11,31 ± 0,17 µg/mL con el tratamiento TINEA IC₅₀ 30,08 ± 0,05 µg/mL, con menor capacidad antioxidante presentaron los tratamientos TSEA IC₅₀ 127,13 ± 2,11 µg/mL, con el tratamiento TSEE IC₅₀ 142,21 ± 2,07 µg/mL.

La cuantificación de la decoloración del radical ABTS^{o+} se genera debido a la interacción con especies donantes de hidrógeno o de electrones. Es una técnica que no permite discriminar extractos que contienen buenos compuestos antioxidantes como la gran mayoría reportados en los tallos de cashahuasca. Asimismo MESA *et al.* (2009), reportaron muestras de extracto metanólicos, en tallos de *Calophyllum* valores de inhibición del radical ABTS 7153 ± 167,1 TEAC µmol Trólox/g de extracto. Los valores altos de TEAC se deben a la labilidad del reactivo ABTS^{o+}, una estructura completamente plana que reacciona fácilmente con reductores mediante un mecanismo SET y HAT.

El ABTS^{o+} es un cromóforo azul producido por la reacción entre en ABTS^{o+} y el persulfato de potasio. La adición del extracto de la planta a este radical catiónico preformado se reduce a ABTS^{o+} de una manera dependiente de la concentración (HAZRA *et al.*, 2008).

Cuadro 7. Inhibición de radicales libres de ABTS^{o+} (IC₅₀).

Fases de crecimiento	Extractos	Tratamiento	IC ₅₀ (µg/mL)
Superior	Acuoso	TSEA	127,13 ± 2,11 ^d
	Etanólico	TSEE	142,21 ± 2,07 ^e
Intermedio	Acuoso	TINEA	30,08 ± 0,05 ^b
	Etanólico	TINEE	11,31 ± 0,17 ^a
Inferior	Acuoso	TIEA	37,69 ± 0,14 ^c
	Etanólico	TIEE	31,25 ± 0,14 ^b

Los valores representan (promedio ± SEM) datos provienen del experimento (n=3) valores de una misma columna con superíndices distintos, indica diferencia estadística (p<0,05).

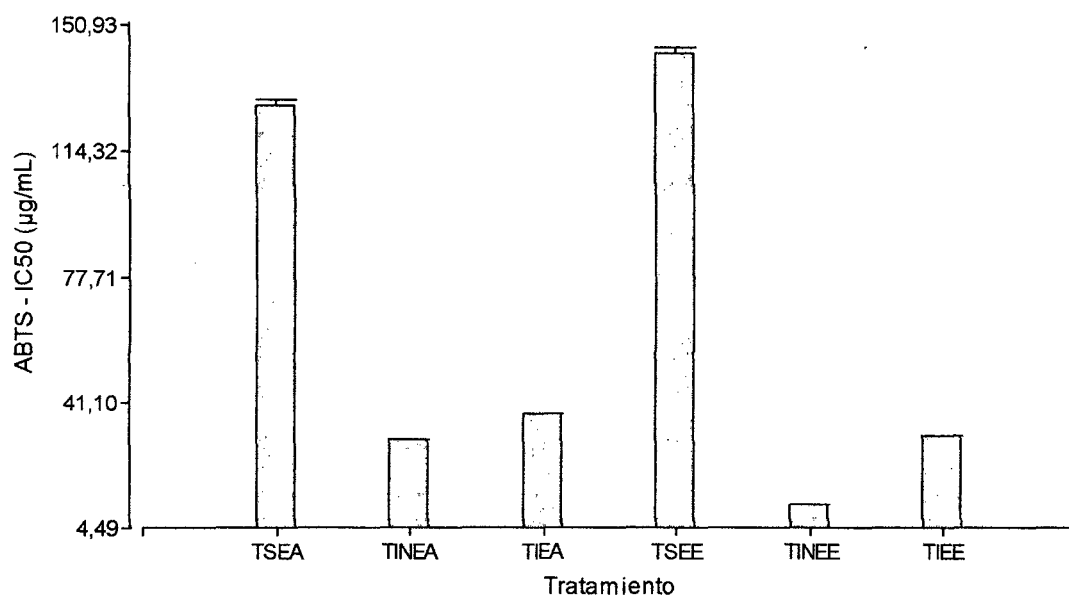


Figura 15. Comportamiento del (IC₅₀) con el radical ABTS^{o+} del tallo de cashahuasca.

El ensayo de ABTS^{•+} es una herramienta excelente para conocer la actividad antioxidante de la donación de hidrógeno y la ruptura de la cadena de antioxidantes, además tiene característica máxima de absorbancia de 734 nm, que disminuye con la recolección de radicales de protones, además el ensayo ha sido extensamente usado en muchos estudios recientes para detectar la propiedad antioxidante de extractos de plantas (KUMAR *et al.*, 2011). Asimismo se reportaron valores en extracto clorofórmico de IC₅₀ 75,48 µg/mL y en acetato de etilo IC₅₀ 62,12 µg/mL.

Comparando los resultados del ensayo de ABTS en tallo de cashahuasca con valores reportados en tallos de *Viscum album*, estos mostraron valores altos de TEAC 577,94 ± 0,01 mM Equivalente Trólox/g materia fresca (VICAS *et al.*, 2011). Esto debido a que los extractos acuosos y etanólicos de la cashahuasca presentan mayor compuestos bioactivos, en comparación con los extractos de *Viscum album*.

Los valores expresados en Capacidad antioxidante de equivalente a Trólox (TEAC) se reportaron en el Cuadro 8 y Figura 16, según el análisis de varianza (Cuadro 22 del Anexo 2), entre las fases de crecimiento del tallo de cashahuasca se encontró que existe diferencia estadística significativa (p<0,05). Según los resultados, el tratamiento TINEE presentó mayor actividad antioxidante con un valor de 0,137 ± 0,002612 µg Trólox/µg extracto, los tratamientos TSEA y TSEE presentaron menor actividad antioxidante con valores de 0,006 ± 0,000078 µg Trólox/µg extracto y 0,009 ± 0,000146 µg Trólox/µg extracto, respectivamente.

Asimismo los tratamientos TINEA y TIEE no presentaron diferencia estadística significativa tendiendo valores de $0,050 \pm 0,000095$ μg Trólox/ μg extracto y $0,053 \pm 0,000283$ μg Trólox/ μg extracto, respectivamente.

En estudios en tallos de *Cymbopogon citratus*, mostraron actividad antioxidante más bajo con valores de TEAC de $0,324 \pm 0,014$ mM Trólox equivalente/mg extracto, comparados con valores TEAC de $4,91 \pm 0,050$ mM Trólox equivalente/mg extracto en muestra de hojas de *Psidium guajava* (TACHAKITTIRUNGROD *et al.*, 2007).

ZHEN-RUNG *et al.* (2011) en sus estudios en tallos de *Kalanchoe gracilis* reportaron en extractos metanólicos y acuosos, valores TEAC de $126,06 \pm 0,93$ mM/mg Extracto y $19,47 \pm 0,16$ mM/mg Extracto; respectivamente, presentando una buena capacidad antioxidante y antiinflamatoria, frente a células cancerígenas RAW 264,7.

Los fenólicos de la planta constituyen uno de los principales grupos de compuestos que actúan como antioxidantes primarios o terminadores de radicales libres tal como comenta NEIMKHUM *et al.* (2010), la capacidad antioxidante en dos medios de extracción (etanol y acetato de etilo) muestran valores diferentes de la capacidad antioxidante equivalente a trólox (TEAC) y el poder antioxidante para reducir al ión férrico (FRAP). El valor del TEAC fue de $1,436 \pm 0,078$ mM/mg en extracto etanólico y con acetato de etilo fue de $2,251 \pm 0,037$ mM/mg. Asimismo reportó valores de IC_{50} en tallos de *T. divaricata* siendo $0,743 \pm 0,082$ mg/mL y $0,288 \pm 0,008$ mg/mL, realizados en extracto etanólico y acetato de etilo; respectivamente.

Cuadro 8. Determinación del TEAC en el tallo de cashahuasca.

Fases de crecimiento	Extractos	Tratamiento	TEAC ($\mu\text{g Trólox}/\mu\text{g extracto}$)
Superior	Acuoso	TSEA	$0,006 \pm 0,000078^d$
	Etanólico	TSEE	$0,009 \pm 0,000146^d$
Intermedio	Acuoso	TINEA	$0,050 \pm 0,000095^b$
	Etanólico	TINEE	$0,137 \pm 0,002612^a$
Inferior	Acuoso	TIEA	$0,043 \pm 0,000158^c$
	Etanólico	TIEE	$0,053 \pm 0,000283^b$

Los valores representan (promedio \pm SEM) datos provienen del experimento (n=3) valores de una misma columna con superíndices distintos, indica diferencia estadística ($p < 0,05$).

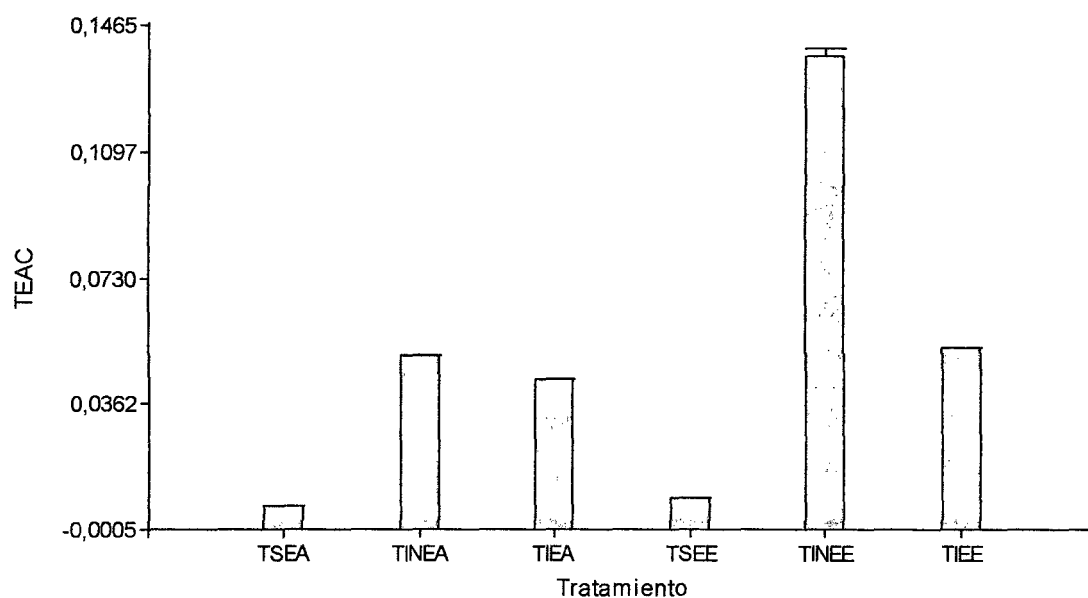


Figura 16. Comportamiento TEAC con el radical ABTS en tallos de cashahuasca.

4.4 Caracterización de la bebida funcional

4.4.1 Evaluación sensorial de la bebida funcional

El Cuadro 9, muestra los resultados de análisis sensorial, presentando los valores promedios de puntuación de la bebida funcional, estos resultados se trataron estadísticamente (Prueba de Friedman, $p < 0,05$) para observar el nivel de significación. Se determinó el tratamiento de mayor aceptabilidad en los atributos olor y color, lo obtuvo la bebida funcional elaborada con la dilución 150 mg/mL (Cuadro 24 y 25 del Anexo 4), con una calificación estadística equivalente para todas las concentraciones, para el atributo sabor (Cuadro 26 del Anexo 4).

Cuadro 9. Evaluación del olor, color y sabor de la bebida funcional a diferentes concentraciones.

Tratamiento	Concentración (mg/mL)	Olor	Color	Sabor
R ₁	200	4,90±0,20 ^a	4,93±0,20 ^a	4,50±0,23 ^a
R ₂	150	5,43±0,21 ^c	5,67±0,23 ^c	4,80±0,30 ^a
R ₃	100	4,83±0,21 ^{ab}	5,00±0,17 ^{ab}	4,93±0,24 ^a

Los valores representan (promedio ± SEM) datos provienen del experimento (n=30) valores de una misma columna con superíndices distintos, indica diferencia estadística ($p < 0,05$).

4.4.2 Análisis fisicoquímico de la bebida funcional

En el Cuadro 10 se muestra los resultados del análisis fisicoquímico realizado en la bebida funcional.

Para determinar el color en forma instrumental se realizó con un colorímetro Kónica Minolta R400, obteniendo los factores a, b y L del sistema

Hunter. El parámetro *a* representa tonalidades que van del verde (valores negativos) al rojo (positivo); el parámetro *b* representa tonos azules para los valores negativos y amarillos para los positivos (MAGARIÑOS, 2003). Una vez calibrado el instrumento, la muestra filtrada y atemperada a 23°C se vierte en una placa con fondo blanco y se procede a la lectura de los valores *a*, *b* y *L*.

Con relación al color, esta muestra se caracterizó por presentar alta luminosidad indicativa de $51,87 \pm 1,95$, influenciada por una tonalidad con predominio del color amarillo, dado por el valor promedio del croma *b* $9,10 \pm 0,47$; con un matiz ligeramente rojo atribuido al croma *a* $0,74 \pm 0,07$, comparado con los valores reportados por GARCIA y PACHECO (2010) donde reporta una luminosidad de $85,90 \pm 0,07$; valor *a* de $-0,78 \pm 0,02$ y una croma *b* de $15,92 \pm 0,04$.

Los sólidos solubles se expresan como °Brix, se determinaron con un refractómetro a 25°C, se colocó una gota de la debida funcional (*S. rubicaulis*) el refractómetro previa calibración del equipo con agua destilada, posteriormente se leyeron los °Brix por triplicado. CCATAMAYO y VALDERRAMA (2004) en su investigación reporta en su bebida funcional una densidad de 1,015 g/mL, pH 3,0 y sólidos solubles 15 °Brix.

Para la medición del pH se usó un potenciómetro digital (Inolab, Alemania), previa calibración del potenciómetro, se enjuagó el electrodo con agua destilada y se secó cuidadosamente, el potenciómetro de calibre con buffer pH 7, buffer pH 10 y buffer pH 4, posteriormente el electrodo se introdujo en la muestra y se leyó el pH, las determinaciones se hicieron por triplicado.

La acidez titulable se determinó por triplicado por el método del AOAC (2000) 939.05. La acidez se realizó con la muestra diluida 1:3,5 de la bebida funcional y agua destilada. La determinación se hizo por titulación con una solución valorada de hidróxido de sodio 0,1N, se transfirieron 10 mL de la muestra a un matraz erlenmeyer y se adicionó 4 gotas de solución de fenolftaleína. Posteriormente se tituló la muestra hasta que se mantuvo el vire al color rosa por 1 minuto. La acidez titulable es expresada como porcentaje de ácido ascórbico.

Cuadro 10. Evaluación fisicoquímico de la bebida funcional.

Determinaciones		Resultado
Densidad (g/mL)		1,00 ± 0,00
	L*	51,87 ± 1,95
Color	a*	0,74 ± 0,07
	b*	9,10 ± 0,47
Acidez titulable (%)		0,04 ± 0,00
Sólidos solubles (°Brix)		1,0 ± 0,00
pH		7,37 ± 0,03

Los valores representan (promedio ± SEM) datos provienen del experimento (n=3).

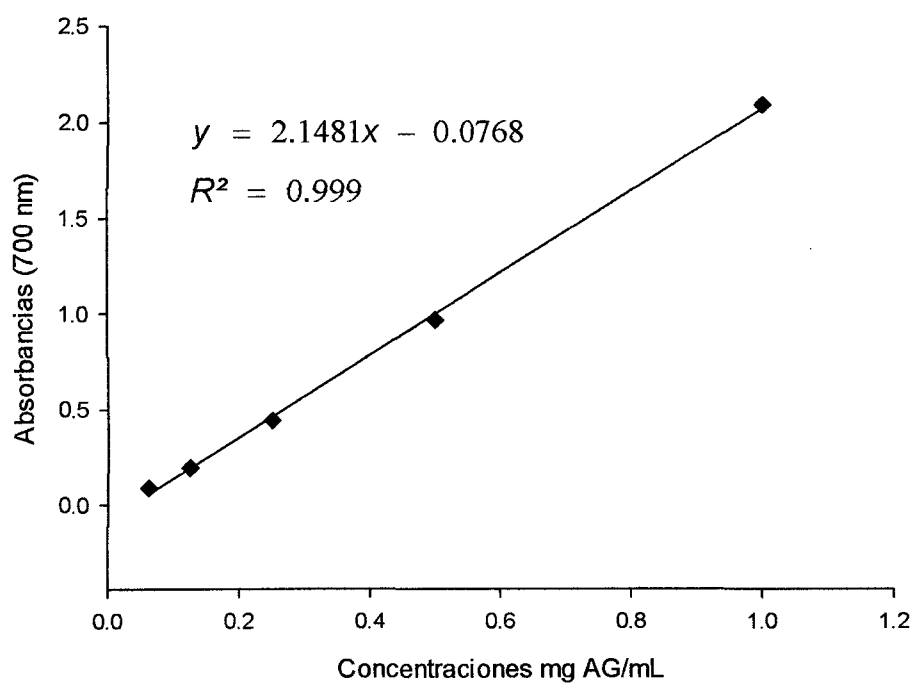
4.4.3 Cuantificación de polifenoles totales en la bebida funcional

4.4.3.1 Determinación de la curva estándar

Para realizar la cuantificación de polifenoles totales se elaboró una curva estándar en base a ácido gálico cuyas concentraciones estuvieron comprendidas entre 1,00 a 0,0625 mg/mL. Los resultados se presentan en el Cuadro 11, con los valores encontrados se procedió a realizar la curva estándar la cual se presenta en la Figura 17.

Cuadro 11. Determinación de la curva estándar de ácido gálico.

Concentraciones (mg AG/mL)	Absorbancias (700 nm)			Promedio
	r ₁	r ₂	r ₃	
1,0000	2,010	2,114	2,147	2,090
0,5000	0,954	0,941	1,003	0,966
0,2500	0,432	0,441	0,445	0,439
0,1250	0,193	0,191	0,199	0,194
0,0625	0,084	0,091	0,092	0,089

**Figura 17.** Curva estándar del ácido gálico para la cuantificación de polifenoles totales.

Según los resultados mostrados en la Figura 17, es una ecuación de primera orden teniendo como variables “y”-absorbancia y “x”-concentración, al respecto MARTINEZ (2005) menciona que una ecuación lineal expresa la relación entre al variable endógena Y, y las variables exógenas X, se trata de encontrar la línea media que resuma o sintetice la dependencia entre la variable Y, y las X, esto permitirá la bondad del ajuste realizado. El valor de $R^2=0,999$ expresa que existe una relación positiva muy fuerte o casi perfecta, esto concuerda con lo mencionado por (HERNANDEZ *et al.*, 2001 y MARTINEZ, 2005), que menciona que valores igual a 1 significa un ajuste lineal perfecto.

4.4.3.2 Cuantificación de polifenoles totales

Como sabemos los polifenoles son importantes para la fisiología de las plantas pues contribuyen a la resistencia de microorganismos e insectos y ayudan a preservar su integridad por su continua exposición a estresantes ambientales.

La cuantificación de polifenoles totales realizado en la bebida funcional se presenta en el Cuadro 12, los resultados fueron expresados en miligramos en equivalente de ácido gálico (mg EAG).

El contenido de polifenoles totales realizado en la bebida funcional a partir del tallo de cashahuasca con mejor característica organolépticas se encontró $510,01 \pm 0,81$ mg EAG/100 mL muestra.

GOMES *et al.* (2007), cuantificaron el contenido de polifenoles usando el método de Folin-Ciocalteu, en muestras de infusiones de

Serjania erecta Radlk 256,26 μg de flavonoides/mL muestra. Del mismo modo SOFIDIYA *et al.* (2008) reportó $37,678 \pm 1,66$ mg/g muestra seca.

Cuadro 12. Cuantificación de polifenoles totales.

Repeticiones			Resultado (mg EAG/100 mL muestra)
R ₁	R ₂	R ₃	
511,40	508,61	510,00	510,01 \pm 0,81

Los valores representan (promedio \pm SEM) datos provienen del experimento (n=3).

CABRERA *et al.* (2009) en sus estudios de contenido de fenoles solubles e insolubles de grano de maíz reportaron 137 $\mu\text{g/g}$ muestra seca, 1092,7 muestra seca; respectivamente. De acuerdo a éstos resultados, la bebida funcional presenta mayor contenido de polifenoles que las ya mencionadas, siendo superado sólo por las muestras de maíz.

Asimismo GOMES y VICENTE (2009) en su investigación fenoles totales y la actividad antioxidante de diferentes bebidas comerciales reportaron valores entre 78,13 a 881,51 mg EAG/L de muestra.

V CONCLUSIONES

1. El tallo de cashahuasca de la fase superior mostró un contenido $77,99 \pm 0,416$ % de humedad y $9,35 \pm 0,206$ % de proteína; el tallo de la fase intermedia presentó los contenidos más altos en grasa y fibra con $6,83 \pm 0,510$ % y $46,59 \pm 0,305$ % respectivamente.
2. Se determinó la presencia de flavonoides y glicósidos en los tallos de cashahuasca de las fases intermedia e inferior y una cantidad regular de compuestos fenólicos en todas las fases de crecimiento.
3. Los extractos acuosos y etanólicos de tallos de cashahuasca de la fase intermedia de crecimiento presentaron mayor capacidad antioxidante frente al radical DPPH, con valores IC_{50} entre $69,24 \pm 0,56$ á $59,18 \pm 1,10$ $\mu\text{g/mL}$ y valores AAI entre $0,56 \pm 0,0046$ a $0,66 \pm 0,0123$ $\mu\text{g DPPH}/\mu\text{g extracto}$, respectivamente.
4. La capacidad antioxidante frente al catión $ABTS^{\circ+}$ de los extractos acuosos y etanólicos de tallos de cashahuasca de la fase intermedia de crecimiento fue mayor, con valores IC_{50} $30,08 \pm 0,05$ á $11,31 \pm 0,17$ $\mu\text{g/mL}$ y valores TEAC entre $0,050$ á $0,137$ $\mu\text{g Trólox}/\mu\text{g extracto}$, respectivamente.
5. La bebida funcional elaborada con la concentración de 150 mg muestra/mL, fue calificada sensorialmente con mejor aceptación en los atributos olor y color; caracterizándose por un contenido en polifenoles totales de $510,01 \pm 0,81$ mg EAG/100 mL muestra.

VI RECOMENDACIONES

1. Evaluar la capacidad antioxidante, polifenoles totales y la marcha fitoquímica en las diferentes fases de crecimiento de la cashahuasca.
2. Cuantificar la presencia de flavonoides en todas las fases de crecimiento del tallo de cashahuasca.
3. Desarrollar parámetros para la elaboración de una bebida funcional utilizando los tallos de cashahuasca.
4. Realizar un análisis toxicológico a la bebida funcional.
5. Evaluar el estudio farmacológico en las fases de crecimiento del tallo de cashahuasca.

VII ABSTRACT

This research allowed to develop scientific knowledge of stem cashahuasca (*Serjania cf. Rubicaulis* Benth), a plant that grows in the Peruvian Amazon. The stem was characterized chemically and phytochemically, we evaluated the antioxidant capacity of aqueous and ethanolic extracts, developed a functional drink. Phytochemical analysis was determined by the methods described by LOCK OF UGAZ (1988), the antioxidant capacity against DPPH radicals and ABTS^{°+} were determined by methods described by BRAND-WILLIAMS *et al.* (1995) and PELLIGRINI *et al.* (1999). Statistical analysis used the completely randomized design with 3* 2 factorial arrangement and the Tukey test ($p < 0.05$); we used the software InfoStat 2011/Professional version. The stem of the upper phase cashahuasca showed a content of $77,99 \pm 0,416\%$ moisture and $9,35 \pm 0,206\%$ protein. We found regular and abundant amounts of flavonoids and glycosides in the stems of the middle and lower stages and a regular amount of phenolic compounds in all stems. Aqueous and ethanolic extracts of stems of the intermediate phase of growth, had higher antioxidant capacity against DPPH radicals and ABTS^{°+}, with values AAI between $0,56 \pm 0,0046$ to $0,66 \pm 0,0123$ $\mu\text{g DPPH}/\mu\text{g extract}$ and TEAC values between $0,050$ to $0,137$ $\mu\text{g Trólox}/\mu\text{g extract}$, respectively. The functional drink made with 150 mg/mL of extract, was better qualified in odor and color attributes, with a total polyphenol content of $510,01 \pm 0,81$ mg EAG/100 mL sample.

VIII REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AIKPOKPODION, P., DONGO, L. 2010. Effects of fermentation intensity on polyphenols and antioxidant capacity of cocoa beans. *Int. J. Sustain. Cropprod* 5(4): 66-70.
- ANDERSON, D., PHILLIPS, B. 2001. Comparative in vitro and in vivo effects of antioxidants. *Food. Chem Toxicol* 37: p 1015-1025.
- AOAC. 1995. Official Methods of analysis of the Association of Official Agriculture Chemistry. Washington, D. C. Ch 37. p 16.
- AOAC. 1997. Official Methods of analysis of AOAC (Association of Official Analytical Chemists) International; Agricultural Chemicals, Foods, Contaminants and Drugs. V1 y V2 Arlington: A.O.A.C. Inc. 2658 p.
- AQUINO, R., DE SIMONE, F., PIZZA, C., CONTI, C., STEIN, M. 1989. Plants metabolites, structure and in vitro antiviral activity of quinovic acid glycosydes from *Uncaria tomentosa* and *Guetarda playpoda*. *Journal of natural products*. Vol. 52-679:685.
- AVELLO, M. y SUWALSKY, M. 2006. Radicales Libres; Antioxidantes Naturales y Mecanismos de Protección. Proyectos de investigación FONDECYT 1060990 y DIUC 204.074.037-1.0. Facultad de Farmacia y Ciencias Químicas, Universidad de Concepción, Concepción, Chile. *Atenea* 494. p 161-172.

- BAKAN, B., BILY, A., MELCION, D., CAHAGNIER, B., REGNAULT, C., PHILOGENE, B., MOLARD, D. 2003. Possible role of plant phenolics in the production of trichothecenes by *Fusarium graminearum* strains on different fractions of maize kernels. *J. Agric. Food Chem.* 51: 2826-2831.
- BALASUNDRAM, N., SUNDRAM, K., SAMMAN, S. 2005. Phenolic compounds in plants and agro-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Analytical, Nutritional and Clinical Methods. Food Chemistry.* 99: 191-203 p.
- BAÑÓN, M., CANO, A., ACOSTA, M., GARCÍA, F. 2001. Método de valoración de potencial antioxidante en alimentos, Madrid. 2 151 401.
- BONILLA, P., ARROYO, J., CHÁVEZ, J. 2007. Estudio fitoquímico y efecto antiulceroso del extracto acuoso de hojas *Vallea stipularis* L.f. "chuillur" en ratas. *Rev. Acad. Perú Salud.* 14(2): 102-107.
- BROGGINI, L., FERNANDES, R., NOGUEIRA, T., SUZANO, F., CAETANO, A., BUCK, H., COUTO, L., FRANCA, S. 2010. Behavioral and enzymatic bioassays with *Serjania erecta* Radlk. Sapindaceae, correlated with cognitive dysfunctions. *Rev. Brasileira de Farmacognosia.* 20(4): 519-528.
- CABRERA, M., SALINDAS, Y., VELAZQUEZ, G., ESPINOZA, E. 2009. Contenido de fenoles solubles e insolubles en las estructuras del grano de maíz y su relación con propiedades físicas. *Agrociencia.* 43: 827-839.

- CARVAJAL, L., HATA, Y., SIERRA, N., RUEDA, D. 2009. Análisis fitoquímico preliminar de hojas, tallos y semillas de cupatá (*Strychnos schultesiana* Krukoff). Rev. Colombia Forestal. Vol. 12: 161-170.
- CASARES, A. 2010. Análisis de polifenoles en los vinos mediante técnicas de separación. Tesis Ing. Técnica Industrial especialidad Química. Universidad Politécnica de Cataluña. 69 p.
- CCATAMAYO, G., VALDERRAMA, V. 2004. Aprovechamiento agroindustrial del Ayrampu (*Berberis sp.*) en el procesamiento de una bebida funcional para la seguridad alimentaria. 15 p.
- CHASQUIBOL, N., LENGUA, L., DELMÁS, I., RIVERA, D., BAZAN, D., AGUIRRE, R., BRAVO, M. 2003. Alimentos funcionales o fitoquímicos clasificación e importancia. Rev. Per. Quim. Lima. Vol. 5, N° 3: p. 9-20.
- CORTÉS, M., CHIRALT, A., PUENTES, L. 2005. Alimentos funcionales; una historia con mucho presente y futuro. Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia. Vol. 12 (1). p. 5-14.
- CRIADO, C., MOYA, M. 2009. Vitaminas y antioxidantes. Barcelona, España, Edit. Saned. p. 6-18.
- DE MENDIBURU D. 2007. Modelo estadístico. Modelos de efectos fijos, aleatorios y mixtos. Diseño Completamente al Azar, características, ventajas y desventajas. Arreglo factorial en D.C.A., Arreglo Factorial en D.B.C.A. Aleatorización [En línea]: La Molina, (<http://tarwi.lamolina.edu.pe>).

- DEYRA-UMUCALILAR, H., GÜLSEN, N., COSKUN, B., HAYIRLI, A., DURAL, H. 2007. Nutrient composition of mistletoe (*Viscum album*) and its nutritive value for ruminant animals. *Agroforest System* 71: 77-87.
- EL KAR, CH., FERCHICHI, A., ATTIA, F., BOUAJILA, J. 2011. Pomegranate (*Punica granatum*) juices: chemical composition, Micronutrient cations and antioxidant capacity. *J Food Sciences*. Vol. 76 N°(6): C795-800.
- ENRÍQUEZ, A., PRIETO, E., DE LOS RÍOS, E., RUIZ, S. 2008. Estudio farmacognóstico y fitoquímico del rizoma de *Zingiber officinale* Roscoe "Jengibre" de la ciudad de Canchamayo-Región Junín-Perú. *Rev. Med. Vallejana*. Vol. 5. Núm. 1.
- ESQUIVEL, A., VARGAS, P. 2007. Uso de aceites esenciales extraídos por medio de fluidos supercríticos para la elaboración de alimentos funcionales. Vol. 20.4. p. 41-50.
- FERRUCCI, M. 2004. Guías ilustradas de clases. Sapindaceae. Universidad Nacional del Salta. Buenos Aires, Argentina. Vol. 7. (4). 45 p.
- FINKEL, T., HOLBROOK, J. 2000. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing, en *Nature*. 408, p. 239 – 247.
- GAIKWAD, S., KAMBLE, G., DEVARE, S., DESHPANDE, N., SALVEKAR, J. 2011. In vitro evaluation of free radical scavenging potential of *Cassia auriculata* L. *J. Chem. Pharm. Res.* 3(4):766-772.
- GALLARDO, C., JIMÉNEZ, L., GARCÍA, M. 2006. Hidroxicinnamic acid composition and in vitro antioxidant activity of selected grain fractions. *Food Chem.* 99: 455-463.

- GARCIA, A., PACHECO, E. 2010. Evaluación de una bebida láctea instantánea a base de harina de arracacha (*Arracacia xanthorrhiza*) con la adición de ácido fólico. Rev. Chil. Nutr. Vol. 37. N°4.
- GARCIA, L., GARCÍA, L., ROJO, D., SÁNCHEZ, E. 2001. Plantas con propiedades antioxidantes. Rev. Cubana Invest. Biomed. 20(3): 231-5.
- GARCIA, N., GARCIA, G., ROJO, D., SANCHEZ, G. 2001. Plantas con Propiedades Antioxidantes. Instituto Superior de Ciencia Básicas y Preclínicas "Victoria Ceirón". Revista Cubana de Investigación Biomédica. 20(3): 231-235.
- GOMES, R., SOUZA, O., LIMA, C., KIKA, N. 2007. Atividade antioxidante e teores de flavonoides e fenólicos totais das infusões de *Serjania erecta* Radlk. Soc. Bras. Quim. 27. 1 p.
- GONZALES-TORRES, M., BETACOURT-RULE, M., ORTIZ-MUÑIZ, R. 2000. Daño Oxidativo y Antioxidantes. Bioquímica. Universidad Autónoma Metropolitana – Unidad Iztapalapa. México. 25(1): 3-9.
- GONZÁLEZ, M., SOTO, M., KITE, G., MARTÍNEZ, M. 2007. Actividad antioxidante de flavonoides del tallo de orégano mexicano (*Lippia graveolens* HBK var. *berlandieri* Schauer). Rev. Fitotec. Mex. Vol. 30(1): 43-49.
- GUIJA, H., TRONCOSO, L., GUIJA, E. 2005. Propiedades prooxidantes del Camu Camu (*Myrciaria dubia*). Revista científica de América Latina y el Caribe, España y Portugal. 66 (6): 261-268.
- GUTIERREZ, A. 2002. Vino, polifenoles y protección a la salud. Rev. Cubana Aliment Nutri. 16(2):134-41

- GUTIERREZ, D., ORTIZ, C., MENDOZA, A. (2008). Medición de fenoles y actividad antioxidante en malezas usadas para alimentación animal. Santiago de Querétano, México. M220-1108-1.
- HALLIWELL, B., MARCIA, M., CHIRICO, S., AUROMA-OKEZIE, L. 1995. Free Radicals and Antioxidants in Food and in Vivo; GAT they Do and How they Work. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 35(1/2): 7-20
- HART, L. y FISHER, J. 1991. *Análisis Moderno de los Alimentos*. Edit. Acribia. Zaragoza, España. 625 p.
- HART, L., FISHER, H. 1991. *Análisis moderno de alimentos*. Edit. Acribia. Zaragoza, España. 236 p.
- HAZRA, B., BISWAS, S., MANDAL, N. 2008. Antioxidant and free radical scavenging activity of *Spondias pinnata*. *BioMed Central*. 8:63.
- HERNANDEZ, R., FERNANDEZ, C., BAPTISTA, L. 2001. *Metodología de la investigación*. Edit. McGraw-Hill interamericana de editores, S.A. México, 503 p.
- INDECOPI. 1974. Normas N° 319.089, 319.085, 319.081, 319.075, Lima Perú.
- JORRÍN, J., ABRIL, M., BÁRCENA, J. 2007. Separación de aminoácidos por cromatografía en capa fina y detección mediante reacción con ninhidrina. Universidad de Córdoba, España. p. 11.
- KIM, D., CHUN, O., KIM, Y., MOON, H., LEE, C. 2003. Quantification of polyphenolics and their antioxidant capacity in fresh plums. *J. Agric. Food Chem.* 51 (22): 6509-6515.

- KUMAR, M., KUMAR, S., KAUR, S. 2011. Investigations on DNA protective and antioxidant potential of chloroform and ethyl acetate fractions of *Koelreuteria paniculata* Laxm. Vol. 5(3): 421-427.
- KUSKOSKI, M., ASUERO, A., TRONCOSO, A., MANCINI-FILHO, J., FETT, R. 2005. Aplicación de Diversos Métodos Químicos para Determinar Actividad Antioxidante en Pulpa de Frutos. Ciencia y Tecnología de Alimentos. Campinas, 25 (4): p. 726-732.
- LASPRILLA, J., CUCA, L. 2007. Estudio fotoquímico del extracto etanólico de la corteza de *Esenbeckia runyonii* (Rutaceae). Scientia Technica, Colombia. XIII (33): 0122-1701.
- LEBEAU, J., FURMAN, C., BERNIER, J., DURIEZ, P., TEISSIER, E., COTELLE, N. 2000. Antioxidant Properties of Di-tert-Butylhydroxylated Flavonoids. Free Radicals Biology & Medicine. 29(9): 900-912.
- LOCK DE UGAZ, O. 1988. Investigación fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales. Primera edición. Lima, Perú. Edit. Pontificia Universidad Católica del Perú. 212 p.
- LÓPEZ, T., PADRÓ, L. 2003. Estudio fitoquímico preliminar de las hojas y tallos de la especie *Pedillanthus tithymaloides* (L). Poit. Fac. Ciencias Naturales, Universidad de Oriente. Vol. XV. N° 3.
- LUIS, A., DOMINGUES, F., GIL, C., DUARTE, A. 2009. Antioxidant activity of extracts of Portuguese shrubs: *Pterospartum tridentatum*, *Cytisus scoparius* and *Erica* spp. Journal of Medicinal Plants Research. Vol.3 (11): 886-893.

- MAGARINOS, C., BAUZÁ, M. 2003. Determinación del color de aceites de oliva vírgenes. Rev. FCA UNCuyo. N°2: 71-78.
- MARMOL, J., CARDOZO, J., CARRASQUERO, S., PÁEZ, G., CHANDLER, C., ARAUJO, K., RINCÓN, M. 2009. Evaluación de polifenoles totales en vino blanco tratado con quitina. Rev. Fac. Agron. (LUZ). 26: 423-442.
- MARTÍNEZ, E. 2005. Errores frecuentes en la interpretación del coeficiente de determinación lineal. Anu. Jur. Eco.: 315-332.
- MARTINEZ, F., GONZALEZ, G., CULEBRAS, J., TUÑÓN, M. 2002. Los flavonoides; propiedades y acciones antioxidantes. Universidad de León. España. 6: 271-278 p.
- MESA, A., GAVIRIA, C., CARNOA, F., SÁEZ, J., BLAIR, S., ROJANO, B. 2009. Actividad antioxidante y contenido de fenoles totales de algunas especies del género *Calophyllum*. Rev. Infomed. Vol. (15): 2-10.
- MINAM. 2011. Ministerio del ambiente del Perú. Flora del Perú. [En Línea]: ([http://www.minam.gob.pe/pdf/familias/D Magnoliophyta C Magnoliopsida O Sapindales F SAPINDACEAE.pdf](http://www.minam.gob.pe/pdf/familias/D_Magnoliophyta_C_Magnoliopsida_O_Sapindales_F_SAPINDACEAE.pdf), PDF, 8 Oct. 2011).
- NEIMKHUM, W., NIWATANANUN, W., YOTSAWIMONWAT, S., OKONOGLI, S. 2010. Biological activities of active extracts from stem of *Tabernaemontana divaricata*. Journal of Metals. Vol. (20). N°3: 201-206.
- ORTIZ, H., SÁNCHEZ, W., MÉNDEZ, J., MURILLO, E. 2009. Potencial antioxidante de hojas y cortezas de *Bauhinia kalbreyeri harms*: Contribución de sus flavonoides en esta actividad. Rev. Acad. Colomb. Cienc. Tolima. 33(127): 183-191.

- PADILLA, F., RINCÓN, A., BOU-RACHED, L. 2008. Contenido de polifenoles y actividad antioxidante de varias semillas y nueces. Vol. 58 N° 3.
- PASTOR, R., MANFREDI, Z. 2000. Nuevo procedimiento de cuantificación del poder antioxidante total del vino y etiquetado sistemático del envase con el valor hallado en cada partida analizada, Argentina. 10 (8): 124-129
- PELLIGRINI, N., RE, R., YANG, M., RICE-EVANS, C. 1999. Screening of Dietary Carotenoids and Carotenoid-Rich Fruit Extracts of Antioxidant Activities Applying 2,2-Azinobis (3-Ethylenebenzothiazoline-6-sulfonic acid) Radical Cation Decolorization Assay. *Methods in Enzymology*. 299: p. 379-391.
- PINEDA, A. 2005. Determinación de las propiedades antioxidantes de variedades de injerto (*Pouteria viridis*) que se cultivan en tres regiones de Guatemala. Tesis, Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala. 79 p.
- POKORNY, J.; YANISHLIEVA, N.; GORDON, M. 2005. Antioxidantes de los alimentos. Aplicaciones prácticas. Zaragoza, España, Editorial ACRIBIA, S.A. 364 p.
- POLYAKOV, N., LESHINA, T., KONOVALOVA, T., KISPERT, L. 2001. Carotenoids as scavengers of free radicals in fenton reaction. Antioxidants or pro-oxidants. *J. Free. Rad. Biol. Med.* 31(3): 398-404.
- PRIOR, R., WU, X., SCHAICH, K. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. Vol. 53 (10), p. 4290-4302.

- PSZCZOLA, D. 2001. Antioxidants from preserving food quality to quality of life. *Food Tech.* 56 (6). 51 p.
- RAMOS, E., CASTAÑEDA, B., IBÁÑEZ, A. 2008. Evaluación de la capacidad antioxidante de plantas medicinales peruanas nativas e introducidas. Centro de Investigación de Medicina Tradicional, Instituto de Investigación, Facultad de Medicina Humana, Universidad San Martín de Porres. *Revista Académica Perú Salud.* Vol. 8 N°1: 56-72
- RODRIGUES, A., DE PAULA, J., DEGALLIER, N., MOLEZ, J., ESPÍNDOLA, J. 2006. Larvicidal activity of some cerrado plant extracts against *Aedes egypti*. *American Mosquito Control Association.* 22(2): 314-317.
- RODRIGUEZ, P., D'AMICO, N., DE PASQUALE, R., COSTA, G. 2001. Effects of *Vaccinium myrtillus* Anthocyanins on Triiodothyronine Transport in the Rat. *Pharmacol. Res.* 22 (Suppl. 3): 59-60.
- RODRIGUEZ, Y., PEREIRA, S., VEGA, D., ALMEIDA, M., BENÍTES, D. 2010. Tamizaje fitoquímico de los extractos alcohólicos, etéreo y acuoso de las hojas y tallo de *Colubrina arborescens M.* *Rev. Quím. Viva.* Núm. 1. ISSN 1666-7948.
- ROMÁN, M., VALENCIA, F. 2006. Evaluación de galletas con fibra de cereales como alimento funcional. Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia. Vol. 13 (2). p. 36-43.
- ROSALES-CASTRO, M., GONZALES-LAREDO, F., ROCHA-GUZMÁN, N., GALLEGOS-INFANTE, J., PERALTA-CRUZ, J., KARCHESY, J. 2009. Evaluación química y capacidad antioxidante de extractos polifenólicos

- de cortezas de *Pinus cooperi*, *P. engelmannii*, *P. leiophylla* y *P. teocote*. Redalyc, México. 15(3):87-105.
- RUIZ, N., SÁNCHEZ, F., HERNÁNDEZ, V., FIGUEROA, J., LOARCA, G. (2008). Determinación de compuestos fenólicos y su actividad antioxidante en granos de maíz. Rev. Fitotecnia Mexicana. Vol. 31 (Núm. Especial 3): 29-34.
- SAMEE, W.; VORARAT, S. 2007. Simultaneous determination of gallic acid, catechin, rutin, ellagic acid and quercetin in flower extracts of *Michelia alba*, *Caesalpinia pulcherrima* and *Nelumbo nucifera* by HPLC. Srinakharinwirot University. Thailand. Health Science Journal. 2:131-137 p.
- SÁNCHEZ, Y., RONDÓN, L., HERMOSILIA, R., ALMEIDA, M. 2010. Tamizaje fitoquímico de los extractos alcohólicos, etéreo y acuoso de las hojas, tallos y flores de la *Helychrysum bracteatum*. Quím. Viva. Vol. 9. Núm. 1. p. 40-45.
- SÁNCHEZ-MORENO, C. 2002. Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. Food Science and Technology International. Vol. 8 (3), 2002, p. 121-137.
- SANDOVAL, M., OKUHAMA, N., ANGELES, F., MELCHOR, V., CONDEZO, L., MILLER, M. 2001. Antioxidant activity of the cruciferous vegetable maca (*Lepidium meyenii*). Food chemistry. 1-23 p.
- SANDOVAL, M.; OKUHAMA, N.; ANGELES, F.; MELCHOR, V.; CONDEZO, L.; LAO, J. y MILLER, M. 2001. Antioxidant Activity of the Cruciferous Vegetable Maca (*Lepidium meyenii*). Food Chemistry. p. 1-23.

- SCHERER, R., GODOY, H. 2009. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. *Food Chem.* 112: 654-658.
- SERRA, E., TRIBO, M. 1991. Antioxidantes. *Nutrición Clínica. Escuela de Nutrición. Universidad de Granada Actualidad Dermatológica.* 21-26.
- SERRANO, M., GUERRERO, I., DE LA PAZ PÉREZ, C., SORIANO, J. 2011. Actividad antioxidante y efecto citotóxico de *Cladocolea loniceroides* (van Tieghem) Kuijt (Loranthaceae). *Vol(10). N° 2:* 161-170.
- SIES, H. 1997. Antioxidants in disease mechanisms and therapy. Vol. 38. USA. Acadamia Press Inc. 293.
- SOFIDIYA, M., JIMOH, F., ALIERO, A., AFOLAYAN, A., ODUKOYA, O., FAMILONI, O. 2008. Antioxidant and antibacterial properties of *Lecaniodiscus cupanioides*. *Res. J. Microbiol.* 3(2): 91-98.
- TACHAKITTIRUNGROD, S., OKONOJI, S., CHOWWANAPHOONPOHN, S. 2007. Study on antioxidant activity of certain plants in Thailand: Mechanism of antioxidant action of guava leaf extract. *Food Chemistry:* 382-388.
- THOMAS, M. 2000. The Role of Free Radicals and Antioxidants. *Nutrition.* 16(7/8): 716-718.
- TOMAS, F. 2003. Los polifenoles de los alimentos y la salud. *Rev. Alim. Nutri. Salud.* Vol. 10, N° 2. p. 41-53.
- UREÑA P. D., ARRIGO H., GIRON M. 1999. Evaluación sensorial de los alimentos, *Aplicación didáctica*, 1 Ed., Lima, Perú, Edit. Agraria. p. 95-99.

- URNES, T. 1969. Nutritional analyses and in vitro digestibility of mistletoes browsed by deer in Arizona. *The Journal of Wildlife Management* 33: 499-505.
- VEGA, D., PERERIRA, S., ALMEIDA M., GALINA, C. 2009. Tamizaje fitoquímico preliminar de los extractos alcohólicos, etéreo y acuoso de las hojas, tallo y flores de la *Ixora coccinea* L. *Rev. Quím. Viva*. Núm. 3. ISSN 1666-7949.
- VICAS, S., RUGINA, D., LEOPOLD, L., PINTEA, A., SOCACIU, C. 2011. HPLC fingerprint of bioactive compounds and antioxidant activities of *Viscum album* from different host trees. *Not Bot Hort Agrobot Cluj*. 39(1): 48-57.
- VON STASZEWSKI, M. 2011. Impacto de la interacción entre polifenoles de té verde y proteínas del lactosuero sobre las propiedades biológicas y funcionales de las mezclas. Tesis. Universidad de Buenos Aires. 250 p
- WEISBURGER, J. H. 1999. Mechanisms of action of antioxidants as exemplified in vegetables tomatoes and tea. *Food Chem. Toxicol.* 37: 943-948.
- ZHAOHUI, Z., MOGHADASIAN, M. 2008. Chemistry, natural sources, dietary intake and pharmacokinetic properties of ferulic acid: a review. *Food Chem.* 109 (4): 691-702.
- ZHEN-RUNG, L., YU-LING, H., SHUN-CHIEH, H., TAI-HUNG, H., SHANG-CHIH, L., JEN-CHIEH, T., CHING-YING, W. 2011. Antioxidant, anti-inflammatory and antiproliferative activities of *Kalanchoe gracilis* (L.) DC Stem. *Asian Science and Medicine*. Vol. 39. N° 6: 1275-1290.

ANEXOS

Anexo 1. Análisis fisicoquímico del tallo de cashahuasca.**Cuadro 13.** Análisis de varianza del contenido de humedad.

F.V	S.C	G.L	C.M	F	p-VALOR
Tratamiento	262,09103	2	131,0455	14,64275	0.0049
Error experimental	53,6971	6	8,94952	-----	-----
Total	315,78812	8	-----	-----	-----
$R^2 = 0,82996$		CV = 4,2491		MEDIA = 70,4042	

Cuadro 14. Análisis de varianza del contenido de proteína.

F.V	S.C	G.L	C.M	F	p-VALOR
Tratamiento	5,75144	2	2,87572	51,19681	0,0002
Error experimental	0,33702	6	0,05617	-----	-----
Total	6,08846	8	-----	-----	-----
$R^2 = 0,94465$		CV = 2,7341		MEDIA = 8,6685	

Cuadro 15. Análisis de varianza del contenido de grasa.

F.V	S.C	G.L	C.M	F	p-VALOR
Tratamiento	41,23619	2	20,61809	74,49735	0,0001
Error experimental	1,66058	6	0,27676	-----	-----
Total	42,89676	8	-----	-----	-----
$R^2 = 0,96129$		CV = 13,1108		MEDIA = 4,0126	

Cuadro 16. Análisis de varianza del contenido de fibra del tallo.

F.V	S.C	G.L	C.M	F	p-VALOR
Tratamiento	60,48576	2	30,24288	20,0522	0,0022
Error experimental	9,04924	6	1,50821	-----	-----
Total	69,53501	8	-----	-----	-----
$R^2 = 0,86986$		CV = 2,7405		MEDIA = 44,8134	

Cuadro 17. Análisis de varianza del contenido de ceniza.

F.V	S.C	G.L	C.M	F	p-VALOR
Tratamiento	2,84181	2	1,42091	2,2745	0,184
Error experimental	3,74827	6	0,62471	-----	-----
Total	6,59008	8	-----	-----	-----
$R^2 = 0,43123$		CV = 15,8588		MEDIA = 4,9839	

Cuadro 18. Análisis de varianza del contenido de carbohidratos.

F.V	S.C	G.L	C.M	F	p-VALOR
Tratamiento	110,90191	2	55,45096	1,32914	0,3328
Error experimental	250,31718	6	41,71953	-----	-----
Total	361,21909	8	-----	-----	-----
$R^2 = 0,30702$		CV = 17,3884		MEDIA = 37,1458	

Anexo 2. Determinación de la capacidad antioxidante.

Cuadro 19. Análisis de varianza de IC₅₀ del radical DPPH.

F.V	S.C	G.L	C.M	F	p-VALOR
Modelo	42564,8101	5	8512,962	2680,4048	<0,0001
Tratamiento	41061,8327	2	20530,9164	6464,397	<0,0001
Extracto	1235,0642	1	1235,0642	388,8743	<0,0001
Tratamiento*Extracto	267,9132	2	133,9566	42,1778	<0,0001
Error experimental	38,112	12	3,176		
Total	42602,9221	17			
<hr/>					
R ² = 0.9991	CV = 1,3538		MEDIA = 131,6420		

Cuadro 20. Análisis de varianza del AAI ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ DPPH/IC₅₀ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$).

F.V	S.C	G.L	C.M	F	p-VALOR
Modelo	0,5787	5	0,1157	1256,7483	<0,0001
Tallo	0,562	2	0,281	3051,475	<0,0001
Extracto	0,0118	1	0,0118	127,7665	<0,0001
Tallo*Extracto	0,0049	2	0,0024	26,5125	<0,0001
Error	0,0011	12	0,0001		
Total	0,5798	17			
<hr/>					
R ² = 0,9981	CV = 2,6520		MEDIA = 0,3618		

Cuadro 21. Análisis de varianza de IC₅₀ del radical ABTS

F.V	S.C	G.L	C.M	F	p-VALOR
Modelo	47367,157	5	9473,4314	2157,832	<0,0001
Tratamiento	46435,384	2	23217,692	5288,4618	<0,0001
Extracto	51,2184	1	51,2184	11,6664	0,0051
Tratamiento*Extracto	880,5546	2	440,2773	100,2852	<0,0001
Error experimental	52,6831	12	4,3903		
Total	47419,84	17			
R ² = 0,9989		CV = 3,3112		MEDIA = 63,2787	

Cuadro 22. Análisis de varianza del TEAC (µg Trólox/µg extracto).

F.V	S.C	G.L	C.M	F	p-VALOR
Modelo	0,0338	5	0,0068	1940,8794	<0,0001
Tratamiento	0,0223	2	0,0112	3204,1132	<0,0001
Extracto	0,0049	1	0,0049	1400,0808	<0,0001
Tratamiento*Extracto	0,0066	2	0,0033	948,0449	<0,0001
Error experimental	4,20E-05	12	3,50E-06		
Total	0,0338	17			
R ² = 0,9988		CV = 3,7551		MEDIA = 0,0497	

Cuadro 23. Escala Hedónica.

Producto: Bebida funcional del Tallo de cashahuasca

Nombre:.....

Fecha:.....

Pruebe las muestras en el orden que se le presente, e indique su nivel de agrado de acuerdo a la escala, marcando con una X la calificación en la escala que mejor describe su sentir con el código de la muestra.

CARACTERISTICA	COLOR			Observación
	234	578	987	
Me gusta mucho				
Me gusta moderadamente				
Me gusta poco				
No me gusta ni me disgusta				
Me disgusta poco				
Me disgusta moderadamente				
Me disgusta mucho				

CARACTERISTICA	OLOR			Observación
	234	578	987	
Me gusta mucho				
Me gusta moderadamente				
Me gusta poco				
No me gusta ni me disgusta				
Me disgusta poco				
Me disgusta moderadamente				
Me disgusta mucho				

CARACTERISTICA	SABOR			Observación
	234	578	987	
Me gusta mucho				
Me gusta moderadamente				
Me gusta poco				
No me gusta ni me disgusta				
Me disgusta poco				
Me disgusta moderadamente				
Me disgusta mucho				

Gracias

Anexo 3. Análisis cromatográfico

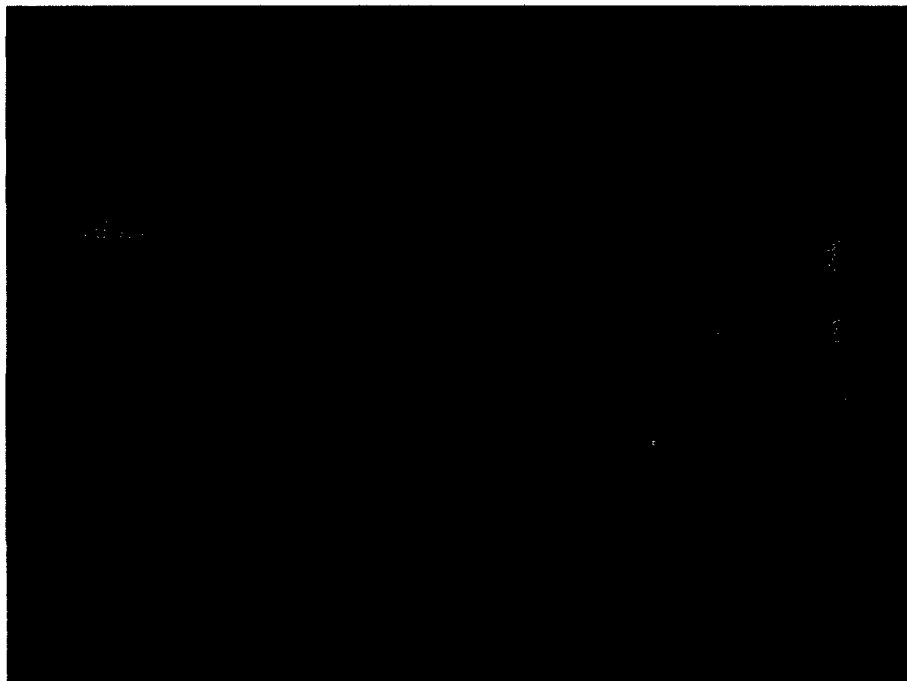


Figura 18. Desarrollo del cromatograma.

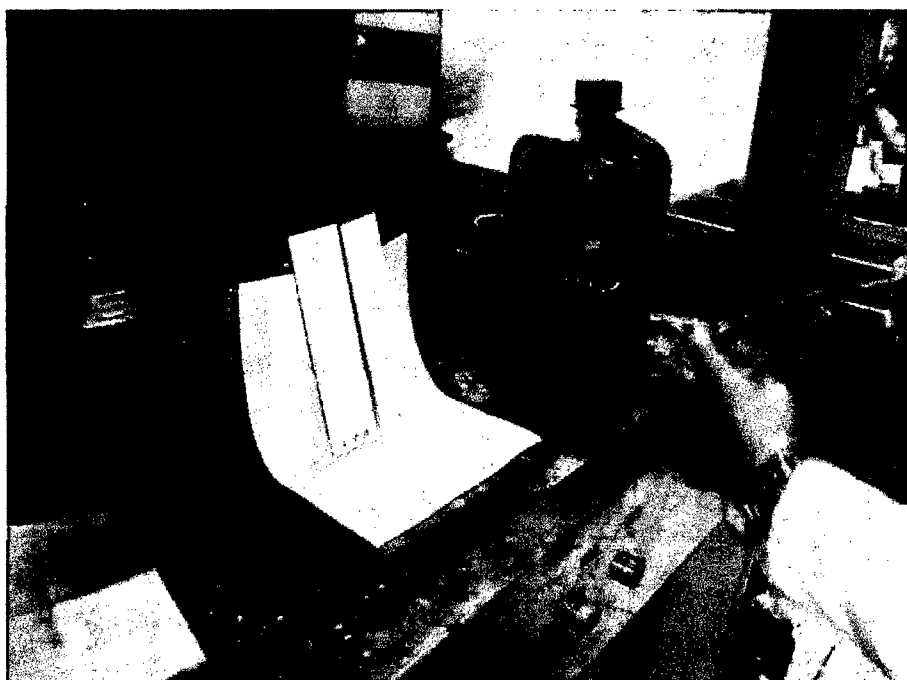


Figura 19. Revelado del cromatograma.

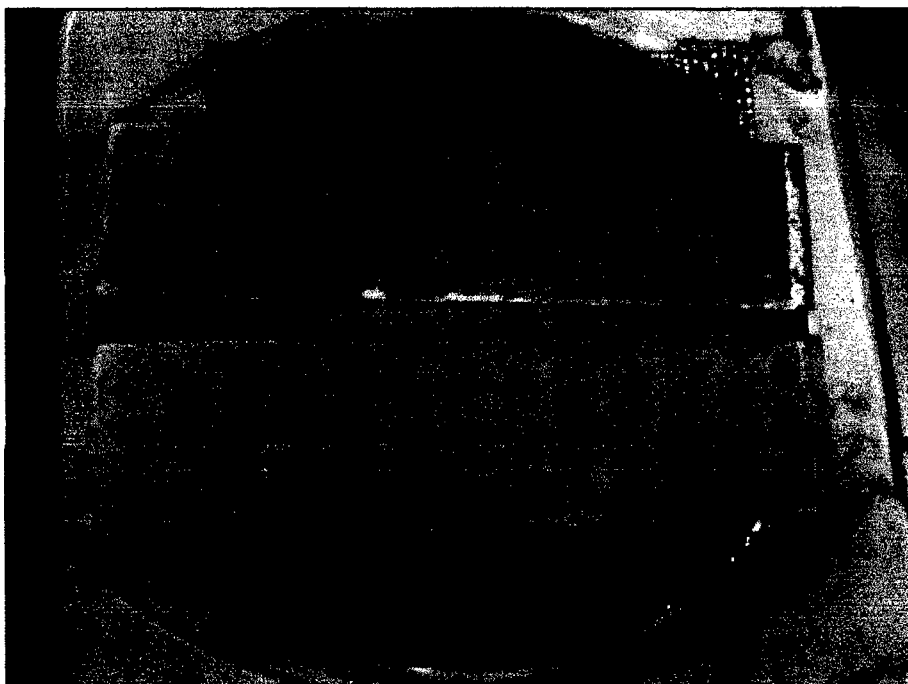


Figura 20. Calentamiento del cromatograma.

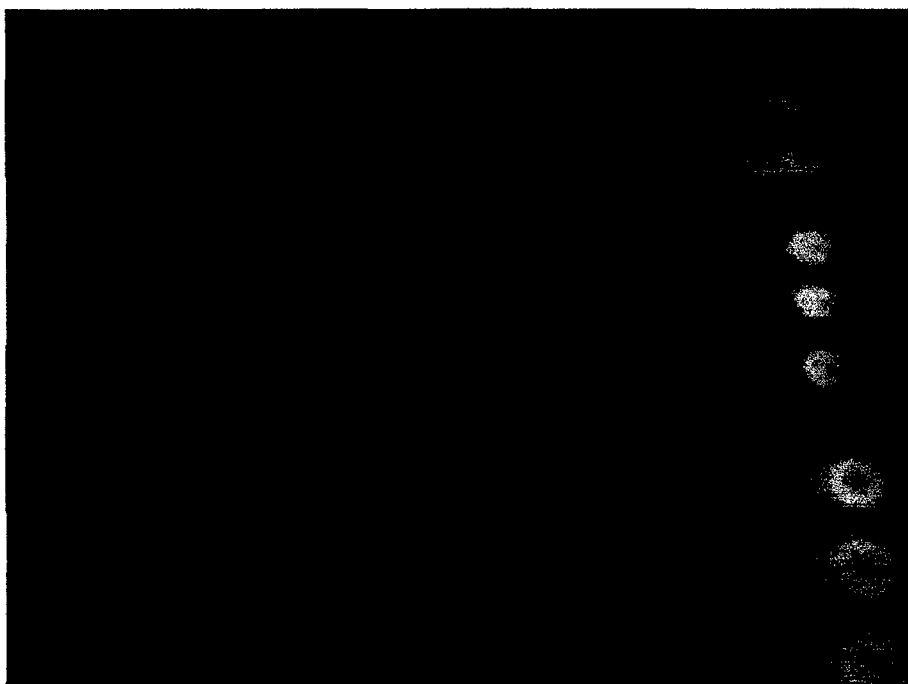


Figura 21. Cromatograma después del revelado.

Anexo 4. Análisis estadístico de la bebida funcional.

Cuadro 24. Prueba de Friedman realizada al atributo olor

T_1	T_2	T_3	T^2	p
1,7667	2,4000	1,8333	5,8160	0,0050

Tratamiento	Suma(Ranks)	Media(Ranks)	n		
T_1	53,0000	1,7667	30	A	
T_3	55,0000	1,8333	30	A	B
T_2	72,0000	2,4000	30		C

Cuadro 25. Prueba de Friedman realizada al atributo color

T_1	T_2	T_3	T^2	p
1,7667	2,3667	1,8667	4,2009	0,0198

Tratamiento	Suma(Ranks)	Media(Ranks)	n		
T_1	53,0000	1,7667	30	A	
T_3	56,0000	1,8667	30	A	B
T_2	71,0000	2,3667	30		C

Cuadro 26. Prueba de Friedman realizada al atributo sabor

T_1	T_2	T_3	T^2	p
1,7667	2.0667	2.1667	1,8435	0,1674

Tratamiento	Suma(Ranks)	Media(Ranks)	n	
T_1	53,0000	1,7667	30	A
T_2	62,0000	2.0667	30	A
T_3	65,0000	2.1667	30	A