

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA**

**FACULTAD DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

**Departamento Académico de Ciencias, Tecnología e Ingeniería  
de Alimentos**



**“Caracterización físico - químico proximal y  
evaluación de la actividad antioxidante del hongo  
comestible (*pleurotus Ostreatus*) seco y durante  
el almacenamiento”**

**TESIS**

**Para optar el título de:**

**INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

**Presentado por:**

**MARLO JEAN VÁSQUEZ CARRILLO**

**Tingo Maria - Perú**

**2009**

F60

C26

Vásquez Carrillo, Marlo J.

Caracterización físico - químico proximal y evaluación de la actividad antioxidante del hongo comestible (*Pleurotus ostreatus*) seco y durante el almacenamiento. Tingo María, 2009

50 h.; 8 cuadros; 12 fgrs.; 64 ref.; 30 cm.

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

PLEUROTUS OSTREATUS / HONGO COMESTIBLE / POLIFENOLES /  
ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE / CULTIVO / METODOLOGÍA / TINGO  
MARÍA / RUPA RUPA / LEONCIO PRADO / HUÁNUCO / PERÚ.



**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

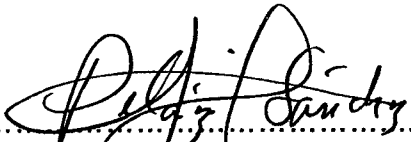
### ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los Miembros del Jurado que suscriben, reunidos en acto público el 13 de Mayo de 2009, a horas 5:00 p.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 presentado por el Bach. **VÁSQUEZ CARRILLO, Marlo Jean**, titulada:

**“CARACTERIZACIÓN FISICO QUIMICO - PROXIMAL Y EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL HONGO COMESTIBLE (*Pleurotus ostreatus*) SECO Y DURANTE EL ALMACENAMIENTO”**


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

Tingo María, 13 de Mayo de 2009

  
.....  
Ing. MSc. **Pedro P. Peláez Sánchez**  
Presidente

  
.....  
Ing. **Eduardo A. Cáceres Almenara**  
Miembro

  
.....  
Ing. **Alipio A. Ortega Rodríguez**  
Miembro

  
.....  
Dra. **Elizabeth S. Ordóñez Gómez**  
Asesora

## DEDICATORIA

A mi madre GLADYS CARRILLO  
HUERTA, por su amor y sabios  
consejos, para hacer realidad mi  
profesión.

A mi hermana JOHAMNA HAYLI  
VÁSQUEZ CARRILLO, por su apoyo  
moral y amor fraternal.

## **AGRADECIMIENTO**

A la Dra. Ordóñez Gómez Elizabeth, patrocinadora del presente trabajo de investigación.

Al técnico del laboratorio de Microbiología Ing. Richard Rodríguez Sias por su apoyo incondicional.

Al técnico del laboratorio de Carnes Ing. Aurelia Isabel León Arévalo por su apoyo incondicional en el presente trabajo.

A los alumnos Benito Baylon y Carmen Paucar, por su apoyo en los trabajos de laboratorio.

A mis compañeros y amigos, y todos aquellos que colaboraron en la evaluación del trabajo así como en la culminación de este documento.

## ÍNDICE GENERAL

	<b>Página</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>10</b>
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA.....</b>	<b>12</b>
2.1. GENERALIDADES DEL HONGO COMESTIBLE.....	12
2.1.1. Clasificación taxonómica del hongo comestible.....	12
2.1.2. Morfología del <i>pleurotus ostreatus</i> .....	12
2.1.3. Los hongos como alimento.....	12
2.1.4. Importancia de los hongos comestibles.....	13
2.1.5. Valor nutritivo de los hongos comestibles.....	14
2.1.6. Los hongos comestibles como alimentos funcionales.....	16
2.1.7. Características y propiedades funcionales de los hongos comestibles.....	16
2.1.8. Componentes de los hongos comestibles como alimentos funcionales.....	18
2.2. GENERALIDADES DE ANTIOXIDANTES.....	19
2.2.1. Antioxidantes.....	19
2.2.2. Principales antioxidantes.....	20
2.2.3. Mecanismo de acción.....	21
2.2.4. Efectos benéficos de los antioxidantes.....	21
2.2.5. Radicales libres.....	21
2.2.6. Medida de la actividad antioxidante.....	22

<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>24</b>
3.1. LUGAR Y FECHA DE EJECUCIÓN.....	24
3.2. MATERIA PRIMA.....	24
3.3. EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS.....	25
3.3.1. Equipos de laboratorio.....	25
3.3.2. Materiales de laboratorio.....	25
3.3.3. Reactivos y soluciones.....	26
3.4. MÉTODOS DE ANÁLISIS.....	26
3.4.1. Análisis físico – químico proximal.....	26
3.4.2. Determinación de polifenoles totales.....	26
3.4.3. Evaluación de la actividad antioxidante del hongo Comestible.....	26
3.4.4. Comportamiento del hongo comestible durante el almacenamiento.....	27
3.5. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.....	27
3.5.1. Caracterización de la materia prima.....	27
3.5.2. Cuantificación de polifenoles totales.....	28
3.5.3. Evaluación de la actividad antioxidante radical 2,2 Diphenyl-1picrihydrazyl (DPPH).....	28
3.5.4. Comportamiento del hongo comestible durante el Almacenamiento.....	31
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>32</b>
4.1. CARACTERIZACIÓN FÍSICO – QUÍMICO PROXIMAL DE LA MATERIA PRIMA.....	32

4.2. CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES.....	33
4.2.1. Cuantificación de la curva estándar de polifenoles totales.....	33
4.2.2. Cuantificación de polifenoles totales en el hongo Comestible ( <i>Pleurotus ostreatus</i> ).....	35
4.3. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE RADICAL 2,2 DIPHENYL – 1PICRILHYDRAZYL (DPPH)....	37
4.3.1. Cinética de reacción del radical DPPH.....	37
4.3.2. Porcentaje de inhibición del radical DPPH.....	40
4.4. COMPORTAMIENTO DEL HONGO COMESTIBLE DURANTE EL ALMACENAMIENTO.....	42
4.4.1. Evaluación de la humedad.....	42
4.4.2. Actividad antioxidante.....	44
4.4.3. Evaluación microbiológica.....	49
4.4.4. Evaluación sensorial.....	50
<b>V. CONCLUSIONES.....</b>	<b>55</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>56</b>
<b>VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>57</b>
<b>ANEXO.....</b>	<b>65</b>



## ÍNDICE DE CUADROS

	<b>Página</b>
1. Contenido nutricional en champiñones silvestres ( <i>Agaricus campestris</i> ) y <i>Pleurotus ostreatus</i> .....	15
2. Resultados de la composición físico químico proximal.....	32
3. Concentración de Catequina para la curva estándar.....	34
4. Cuantificación de polifenoles totales del hongo comestible en tres tipos de secado.....	35
5. Evaluación de la humedad del hongo comestible en almacenado.....	43
6. Análisis microbiológico del hongo comestible ( <i>Pleurotus ostreatus</i> ) durante el almacenamiento.....	49
7. Resultados de la evaluación sensorial del atributo textura del hongo comestible en almacenamiento.....	51
8. Resultados de la evaluación sensorial del atributo sabor del hongo comestible en almacenamiento.....	52

## ÍNDICE DE FIGURAS

	<b>Página</b>
1. Diagrama experimental para el análisis de la determinación de polifenoles totales y porcentaje de inhibición.....	30
2. Cálculo de la ecuación matemática de la curva estándar a partir de (+) – catequina.....	34
3. Cinética de reacción del radical DPPH del hongo comestible Secado a 65 °C.....	38
4. Cinética de reacción del radical DPPH del hongo comestible Escaldado y Secado a 65°C.....	38
5. Cinética de reacción del radical DPPH del hongo comestible Secado solar.....	39
6. Porcentaje de inhibición del radical DPPH del hongo comestible.....	40
7. Cinética de reacción del radical DPPH a los 0 días.....	44
8. Cinética de reacción del radical DPPH a los 15 días.....	45
9. Cinética de reacción del radical DPPH a los 30 días.....	45
10. Cinética de reacción del radical a los 45 días.....	46
11. Cinética de reacción del radical DPPH a los 60 días.....	46
12. Porcentaje de inhibición del radical DPPH en el Almacenamiento.....	48

## RESUMEN

El presente trabajo se ha ejecutado en el laboratorio de Análisis de Alimentos y Centro de Investigación de Productos Naturales de la Amazonía (CIPNA) de la Universidad Nacional Agraria de Selva, ubicado en la ciudad de Tingo María. El objetivo fue la caracterización físico – químico proximal, cuantificación de polifenoles totales y determinar la actividad antioxidante del *Pleurotus ostreatus*. En el hongo comestible se realizó la cuantificación de polifenoles totales con el reactivo de Folin - Ciocalteau, la actividad antioxidante mediante la capacidad de inhibir radicales 1,1 - diphenil - 2 - picryhidrazil (DPPH) y la evaluación sensorial según el Método de Friedman con los atributos de sabor y textura (escala de 5 puntos). Los resultados de la composición físico - químico proximal del hongo comestible fue humedad 90,7%, proteína 0,40%, grasa 0,02%, fibra 0,16%, ceniza 0,08%, carbohidrato 8,64% y vitamina "C" 0,947 mg/100 g. El mayor contenido de polifenoles se encontró en el hongo secado a 65°C con un valor de  $276,833 \pm 3,18 \mu\text{g/g}$  hongo. El mayor porcentaje de inhibición del radical DPPH fue  $92,73 \pm 0,29\%$  y después de 60 días de almacenamiento se determinó una humedad 10,70%, porcentaje de inhibición  $91,51 \pm 2,25\%$ , NMAV  $27 \times 10^3$  ufc/g, numeración de mohos y levaduras  $1 \times 10^3$  ufc/g, destacando el atributo textura con la característica "turgente" y el sabor como "ni agrada ni desagrada".

Se concluye que el hongo comestible debe secarse a 65 °C y almacenarse hasta 60 días, manteniendo la actividad antioxidante y características sensoriales.

## I. INTRODUCCIÓN

Existe una gran demanda de materia prima con alto valor nutritivo que aporte suplementos nutricionales adecuados a los requerimientos de la población, Así mismo, la búsqueda de nuevas alternativas alimenticias con propiedades funcionales, entre las poco exploradas se encuentra el hongo comestible (*Pleurotus ostreatus*), cuya producción en el Alto Huallaga es favorecido debido a la humedad de sus bosques, y el poblador lo consume en su dieta alimenticia sin ofrecerle ningún valor comercial.

Los desechos alimenticios que el hombre vierte al ambiente aun contienen nutrientes, que son utilizados por animales, vegetales y microorganismos en proporción autodeterminada; sin embargo, al excederse esta proporción se origina un desequilibrio en los factores ecológicos y contaminación del ambiente. En la industria existen hongos comestibles como el caso del *Pleurotus ostreatus* que no han sido aprovechados aun, por el desconocimiento de sus propiedades funcionales, en estos hongos se concentran un alto contenido proteico que le dan un alto valor nutritivo y benéfico para la salud.

En el mercado internacional se comercializa setas deshidratadas y son muy cotizadas para el uso culinario. Nuestra región es apta para la producción de manera tecnificada utilizando restos de alimentos, pajilla de arroz y otros manteniendo el equilibrio para conservar el medio ambiente; por las razones expuestas en la presente investigación se planteó los siguientes objetivos: Realizar la caracterización físico – químico proximal y cuantificación de polifenoles totales del *Pleurotus ostreatus*. Determinar la actividad

antioxidante del *Pleurotus ostreatus* medido por su capacidad de inhibir radicales 1,1 - diphenil - 2 - picryhidrazil (DPPH).

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. GENERALIDADES DEL HONGO COMESTIBLE (*Pleurotus ostreatus*)

#### 2.1.1. Clasificación taxonómica del hongo comestible (*Pleurotus ostreatus*)

Nombre Científico : *Pleurotus ostreatus*

Sinónimo : *Agaricus ostreatus*.

Nombre vulgar : Gelone, orecchione, gárgola (BARBADO, 2003).

#### 2.1.2. Morfología del *pleurotus ostreatus*.

El sombrero de este hongo es redondeado, su superficie es lisa, abombada y convexa cuando es joven va aplanándose luego poco a poco. El borde esta algo enrollado al principio y su diámetro oscila entre 5 y 15 cm. según la edad del hongo. El color es variable, desde gris claro o gris pizarra hasta pardo, aunque va alcanzando una coloración amarillenta con el tiempo. Puede crecer en forma aislada sobre superficie horizontal o en grupo formando repisas laterales superpuestas sobre un costado de los árboles (BARBADO, 2003).

#### 2.1.3. Los hongos como alimento.

Debe recalcarse ante todo, que los hongos comestibles constituyen la gran mayoría de la especies de los hongos macroscópicos conocidos, contrario a la creencia popular de que todos los hongos o al menos la gran

mayoría, son venenosos. No existe ninguna regla para distinguir los hongos comestibles de los venenosos, el color y la consistencia son características constantes que definen las especies de los hongos.

El que se diga que el hongo sea tóxico en el estado crudo, se debe a que tiene un principio químico el cual se destruye fácilmente con la cocción (GUZMÁN, 1989).

Las especies silvestres de hongos son también hoy una parte importante de los hongos consumidos por el hombre. El consumo de los hongos aumenta, ya que las posibilidades de preparación en la cocina son extraordinariamente variadas y no existe con los hongos cultivados el peligro de confundirlos con especies venenosas.

Los hongos son un alimento con pocas calorías en términos relativos que sacia enseguida y por ello está muy indicado en el moderno género de vida; también se puede destacar el contenido proteico, además por tener minerales como el calcio, fósforo, potasio magnesio y hierro (STEINECK, 1987).

#### **2.1.4. Importancia de los hongos comestibles**

Un número considerable de hongos comestibles se aprovechan en Zaire África, debido a que el contenido proteico es relativamente alto (22,07% en promedio) por lo cual los hongos constituyen un alimento suplementario importante para las poblaciones locales (GHILLEAN, 1987).

El cultivo de hongos comestibles es de un ciclo de vida corto, requieren poco espacio y son de alto valor nutritivo. De otro modo indica que la producción de hongos tropicales podría alcanzar niveles que permitan su

explotación a mercados de Norteamérica que ahora la importan en su totalidad a países Asiáticos (MIGNUCCI, 1986).

### **2.1.5. Valor nutritivo de los hongos comestibles**

Los hongos cultivados ocupan su lugar en la alimentación, no solo por su sabor si no también por los valores nutritivos que poseen. Contienen mucho menos proteínas que la carne de pescado, pero se comparan favorablemente con la mayoría de los vegetales frescos en cuanto al contenido de proteínas y constituyen buena fuente de vitaminas y minerales (tales como hierro y cobre) (LAMBERT, 1977).

Los hongos son un alimento con pocas calorías en términos relativos, que sacia enseguida. Así mismo, se destaca el alto contenido proteico de los hongos que se ve igualado por el de las leguminosas. La proteína contenida en las setas es digestible hasta en el 70-80% y posee un alto valor nutritivo (STEINECK, 1987).

Los hongos son alimentos de alto valor nutritivo de bajo contenido de carbohidratos y de grasas, significativas cantidades de proteínas y vitaminas (BOTELHO Y RAMOS, 1985).

En lo que se refiere a la composición nutricional de los hongos, tenemos que decir que es difícil aportar datos concisos debido a que los hongos no son un sólo producto sino muchas especies con propiedades distintas todas ellas. Además, los hongos silvestres tienen composición diferente a la de los hongos cultivados. En el cuadro 1 se puede observar datos importantes que nos ayuden a conocer en qué destacan nutricionalmente los



hongos y en especial los champiñones silvestres (*Agaricus campestris*) y *Pleurotus ostreatus*.

El contenido nutricional de los hongos varía dependiendo de la especie y de si el hongo ha sido cultivado o no, así como el tipo de sustrato hará variar su composición final. Por tanto, en los siguientes datos nos referiremos al contenido normal haciendo referencia al champiñón cultivado (*A. bisporus*) y a *Pleurotus ostreatus*. El contenido nutricional en 100 gramos de hongo fresco es:

**Cuadro 1.** Contenido nutricional en champiñones silvestres (*Agaricus campestris*) y *Pleurotus ostreatus*.

	Agua	Proteína	Grasa	HC	Minerales	Fibra	Kcal.
Champiñón	90%	3%	<1%	3%	1%	1%	22
<i>P. ostreatus</i>	88%	4%	<1%	6%	1%	2%	37

**Fuente:** CAPPELLO (2003).

Ambas especies presentan un 1% de cenizas. En ambos casos se puede decir que entre el 50 y el 60% de las kilocalorías aportadas provienen de los hidratos de carbono, entorno al 30% de las proteínas y alrededor del 10% es aportado por las grasas. La mayor parte de la fibra alimentaria es insoluble. Esto nos produce una sensación de saciedad cuando consumimos hongos. En cuanto a las grasas, si bien como vemos el contenido es muy bajo, si son de muy buena calidad, ya que los contenidos en ácido linoleico y linolénico, sobre todo del primero son elevados, presentando también un bajo contenido en

ácidos grasos saturados, siendo estos principalmente palmítico y esteárico. Hay que decir, por la importancia que supone, que los hongos no contienen colesterol (CAPPELLO, 2003).

#### **2.1.6. Los hongos comestibles como alimentos funcionales**

Creemos que es posible reivindicar para numerosos hongos comestibles la cualidad de alimentos funcionales y esto sin menoscabo de las propiedades medicinales que por otro lado poseen. De manera similar a lo que se ha hecho con muchos alimentos, que poseen cualidades que podríamos considerar medicinales, pero a los que se les resalta su valor en una mejora de la nutrición humana, debido a que el concepto actual de nutrición ha evolucionado: surge el concepto de la alimentación como “nutrición óptima” cuyo objetivo es mejorar la calidad de vida y el bienestar integral del individuo. La nutrición adquiere un nuevo enfoque terapéutico y preventivo; participa en la promoción de la salud y es ya considerada como factor de protección ante una larga serie de circunstancias patológicas (PIQUERAS, 2004).

#### **2.1.7. Características y propiedades funcionales de los hongos comestibles**

Los hongos comestibles poseen características que las hacen especialmente significativas para la obtención de esa nutrición óptima, y esas propiedades son conocidas desde la antigüedad, tanto en la Grecia y Roma clásicas, donde Dioscórides, Plinio e Hipócrates, entre otros, nos hablan del “Agaricum” y la “panacea” (*Polyporus*, *Fomitopsis*, *Fomes officinalis*), como en la medicina tradicional asiática, especialmente en Siberia, China, Japón, y

Corea. El “Chaga” (*Inonotus obliquus*), el “Yun-zhi” (*Trametes versicolor*), el “Shiitake” (*Lentinus edodes*) y el “Ling Chi” o “Ling Zhi” (*Ganoderma lucidum*) son claros ejemplos en este sentido. Estas y muchos otros hongos comestibles poseen una o más de las siguientes propiedades:

- Son biorreguladoras.
- Son Inmunomoduladoras.
- Mantienen la homeostasis.
- Regulan los biorritmos.
- Previenen y curan cánceres.
- Descienden el colesterol.
- Son agentes antitrombóticos.
- Son agentes antidiabéticos.

La química moderna ha permitido descubrir en esos hongos comestibles lo que podemos considerar sus principios activos, que son los que hacen de ellas genuinos alimentos funcionales. En efecto, diversos equipos de investigadores a lo largo de dos décadas de trabajo e investigación, han desarrollado métodos para la extracción, fraccionamiento y purificación de diversas sustancias de los carpóforos y de los micelios de numerosas especies de hongos. Se trata de polisacáridos,  $\beta$ -glucanos y otras sustancias, demostrados en 651 especies y 7 taxones intraespecíficos de 182 géneros de basidiomicetos. Hacen de los hongos lo que en la literatura científica anglosajona se conoce como Biological Response Modifiers (BRM). Este concepto, como el de alimento funcional, está a medio camino del alimento simple y del medicamento (PIQUERAS, 2004).

## **2.1.8. Componentes de los hongos comestibles como alimentos funcionales**

### **2.1.8.1. Polisacáridos**

Los más importantes son 1-3 y 1-6  $\beta$ -glucanos, muchas veces se trata de mezclas de diversos polisacáridos: en el *Lentinus edodes* y en la *Grifola frondosa* se encuentra una mezcla de un  $\beta$ -glucano y un fuco-manoglucano. Así mismo, encontramos una mezcla de  $\beta$ -glucanos y xiloglucanos en hongos comestibles del género *Pleurotus*. Otros polisacáridos presentes en otros hongos comestibles son los  $\alpha(1-3)$ - $\beta$ -glucanos de *Agrocybe aegerita*, y los glucurono-xilo-mananos y quitín-xilo-mananos de otros géneros diversos.

### **2.1.8.2. Sustancias con acción de fibra dietética**

Del 10 al 50 % de peso seco de los hongos está constituido por sustancias con efecto de fibra. Estas sustancias son:  $\beta$ -glucanos de alto peso molecular, sustancias quitina-like, heteropolisacáridos, pectinas, hemicelulosas y poliurónidos. En su mayor parte son hidratos de carbono, no digeribles por las enzimas humanas y con la peculiaridad de ser parcialmente fermentables por bacterias del colon. Como acciones funcionales se les atribuyen: el incremento del bolo fecal y el estímulo de la motilidad intestinal; el aumento de la excreción de ácidos biliares, y propiedades antioxidantes e hipocolesterolemiantes: parecen disminuir los niveles de triglicéridos y del colesterol de baja densidad (LDL). Una característica fundamental de la fibra es su capacidad para ser metabolizada por las bacterias del colon, con la consiguiente producción de ácidos grasos de cadena corta: acetato, propionato

y butirato. El propionato posee una acción inhibitoria sobre la hidroximetilglutarilcoenzima- A-reductasa, paso limitante en la síntesis del colesterol endógeno. El *butirato* tiene acciones antiproliferativas, por ello y por un conjunto de acciones a nivel del tubo digestivo, la fibra contribuye a prevenir el cáncer colo-rectal.

### **2.1.8.3. Otros**

Lectinas y terpenoides diversos dan un valor nutritivo y medicinal añadido a numerosos hongos comestibles. Especialmente los triterpenos, que están siendo investigados como prometedores agentes antitumorales (PIQUERAS, 2004).

## **2.2. GENERALIDADES DE ANTIOXIDANTES**

### **2.2.1. Antioxidantes**

Un antioxidante es una sustancia que disminuye la generación de productos oxidados en un sistema de reacciones de radicales libres, la actividad antioxidante depende de factores tales como la composición lipídica, concentración, temperatura, presión de oxígeno y presencia de otros antioxidante y componentes habituales de los alimentos (POKOKNY, 2001).

El término antioxidante significa que impide la oxidación perjudicial de otras sustancias químicas, ocasionadas en las reacciones metabólicas o producidas por factores exógenos como las radiaciones ionizantes (HURTADO, 2005).

Se considera como antioxidante a toda sustancia que hallándose presente a bajas concentraciones con respecto a las de un sustrato oxidable, retarda o previene la oxidación de dicho sustrato (HALLIWELL *et al.*, 1987).

Los antioxidantes son compuestos que inhiben o retrasan la oxidación de otras moléculas mediante la inhibición de la propagación de la reacción de oxidación (MARTÍNEZ - VALVERDE *et al.*, 2000).

### **2.2.2. Principales antioxidantes**

Los antioxidantes pueden dividirse en dos grupos: antioxidantes enzimáticos y antioxidantes no enzimáticos (MARTÍNEZ - VALVERDE *et al.*, 2000).

#### **2.2.2.1. Antioxidantes enzimáticas**

Actúan a nivel intracelular existen tres tipos de enzimas: superóxido dismutasa, catalasa glutatión peroxidasa (GONZÁLES *et al.*, 2000).

#### **2.2.2.2. Antioxidantes no enzimáticos**

Transforman los radicales en menos agresivos entre ellos tenemos: polifenoles, alfa tocoferol (Vitamina E), beta caroteno, vitamina C, glutatión y uratro (POLYAKOV *et al.*, 2001; GUTIÉRREZ, 2002).

Los antioxidantes como los polifenoles son compuestos fenólicos que comparten las características de poseer en su estructuras varios grupos bencénicos sustituidos por funciones hidroxílicas y son importantes para la fisiología de las plantas, poseen diferentes estructuras químicas y actividad antioxidante (MARTÍNEZ - VALVERDE *et al.*, 2000; SCALBERT Y WILLIAMSON, 2000).

### **2.2.3. Mecanismo de acción.**

La acción de los antioxidantes se sitúa para la mayoría de ellos, a nivel de la etapa de finalización del proceso de autooxidación donde intervienen como catalizadores negativos. Los antioxidantes de finalización son más numerosos y más empleados por su mayor actividad (LOUIS, 2000).

### **2.2.4. Efectos benéficos de los antioxidantes.**

Los efectos benéficos de los antioxidantes, básicamente están dados por su capacidad de inhibir radicales libres ejerciendo acción en todos los procesos en los que se reduce o detiene el proceso de oxidación (THOMAS, 2000).

Los antioxidantes como agentes reductores junto con otros agentes reductores de la dieta como: la vitamina C, vitamina E y los carotenoides protegen los tejidos del cuerpo (SCALBERT Y WILLIAMSON, 2000). Desde el punto de vista nutricional, los antioxidantes se asocian al papel reductor contra enfermedades cardiovasculares, cáncer, aterosclerosis, retarda los procesos de envejecimiento (VASCONCELLOS, 2000; CÁRDENAS, 2001; PEINADO *et al.*, 2000).

### **2.2.5. Radicales libres**

Son moléculas que en su estructura atómica presentan un electrón o impar en el orbital externo y puede existir independientemente (CLARCKSON Y THOMPSON, 2000).

Los radicales libres capturan el electrón que les falta para ser estables e iniciar una reacción en cadena que daña muchas células y pueden ser indefinidas si los antioxidantes no intervienen (GONZÁLES *et al.*, 2000; HIRAMATSU Y KOSHIKAWA, 1997).

Los radicales libres causan muchas enfermedades como aterosclerosis, desordenes en el tracto respiratorio, enfermedades neurodegenerativas y cáncer (ANDERSON Y PHILIPS, 2001).

#### **2.2.6. Medida de la actividad antioxidante.**

La captación de radicales es el principal mecanismo de acción de los antioxidantes en los alimentos. Se han desarrollado muchos métodos en los que se mide la capacidad antioxidante a través de la captación de radicales libres (POKOKNY, 2001).

##### **2.2.6.1. Método DPPH**

Se mide la captación de este radical a través de la disminución de la absorbancia, medida a 515 nm, que se da por reducción de una antioxidante (AH) o por reacción con especies radicales ( $R^+$ ). En la mayor parte de los casos el método DPPH se ha usado para medir la captación de radicales después de 15 o 30 minutos de iniciada la reacción. El dato se expresa normalmente como valor  $EC_{50}$ , es decir, la concentración de antioxidante necesaria para captar el 50% de los radicales DPPH en un periodo de tiempo determinado (POKOKNY, 2001).



El DPPH es un reactivo muy usual para investigar la actividad de inhibición de radicales libres de los polifenoles (YILDIRIM *et al.*, 2001).

#### **2.2.6.2. Radical peroxilo**

El radical peroxilo toma un átomo de hidrogeno de otra molécula vecina la cual puede ser otro Acido graso poliinsaturado formándose un hidroperóxido y un nuevo radical lipídico, entrando la peroxidación en fase de propagación.

El grado de propagación de la reacción depende de la reacción lípido/proteína, la composición de los ácidos grasos de la concentración de oxígeno, la presencia de antioxidantes y de los metales de transición como hierro y cobre (LEBEAU *et al.*, 2000).

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. LUGAR Y FECHA DE EJECUCIÓN**

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Análisis de Alimentos y en el Centro de Investigación de Productos Naturales de la Amazonía (CIPNA) de la Universidad Nacional Agraria de Selva, ubicado en la ciudad de Tingo María, distrito de Rupa Rupa, provincia de Leoncio Prado, departamento de Huánuco. Región Andrés Avelino Cáceres, situada a 660 m.s.n.m con una humedad relativa de 84% promedio anual y temperatura promedio anual de 24 °C.

El estudio se llevó a cabo en el periodo comprendido entre los meses de Julio del 2008 a Febrero del 2009.

#### **3.2. MATERIA PRIMA**

Hongo comestible (*Pleurotus ostreatus*), fue recolectado del centro poblado de Picuruyacu, perteneciente al Centro Poblado Menor de Castillo Grande del distrito de Rupa Rupa de la provincia de Leoncio Prado departamento de Huanuco. La cosecha se realizo del palo de guaba al brotar cuando hay lluvias, después de la recolección los hongos fueron secados en tres diferentes formas: Secado en estufa a 65°C hasta obtener una humedad promedio de 9,30%, escaldado (ebullición (100°C)/1 min) y Secado a 65 °C, humedad promedio de 8,12% y secado solar que consistió en exponerlos a los rayos solares hasta obtener una humedad promedio de 8,05%, los tres

tratamientos fueron envasados en bolsas de polietileno y sellados herméticamente para su posterior evaluación.

### **3.3. EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS**

#### **3.3.1. Equipos de laboratorio**

- Balanza analítica digital Adventure pro Av 114 (110 g).
- Espectrofotómetro uv/vis. Modelo Génesis 6 Thermo Electrón.
- Estufa ODHG-9240A TOMOS.
- Baño Maria Modelo: YCW-OLOE GEMMYCO.
- Vortex Genie 2 Scientific Industries.
- Microondas Samsung.
- Refrigerador LG.
- Centrifugadora MIKRO 22R Hettich.
- Destilador de agua CIMATEC SAC.

#### **3.3.2. Materiales de laboratorio**

- Fiolas de 25, 50, 100, 500 y 1000 ml.
- Pipetas de 2, 5 y 10 ml.
- Micropipetas regulables de 10 – 200  $\mu$ l y de 100 –1000  $\mu$ l.
- Probetas de 10, 100 y 500 ml.
- Vasos de precipitado de 50, 100, 250, 500 y 1000 ml.
- Cubetas de poliestireno (1 cm. x 1 cm. x 4,5 cm.)
- Tips.

### 3.3.3. Reactivos y soluciones

- Etanol al 95%, marca puro química.
- 1,1 diphenyl-2-picryl hidrazil (DPPH)
- (+) - catequina 98%, marca Sigma.
- Metanol al 96%, marca Riedel de haen.

## 3.4. MÉTODOS DE ANÁLISIS

### 3.4.1. Análisis físico – químico proximal

- Humedad, método recomendado por la AOAC 925,09 (1990).
- Proteína, método recomendado por la AOAC 920,87 (1995)
- Grasa, método recomendado por la AOAC 920,39 (1995).
- Fibra, método recomendado por la AOAC 985,29 (1995)
- Cenizas, método recomendado por HART Y FISHER (1977)
- Carbohidratos, se obtuvo por diferencia (proteína, grasa, ceniza, y fibra) HART Y FISHER (1977)
- Vitamina "C", método recomendado por la AOAC 930,85 (1995)

### 3.4.2. Determinación de Polifenoles totales.

Para determinar los polifenoles totales se utilizo el método de espectrofotometría desarrollado por FOLIN - CIOCALTEAU *et al.*, 1927, modificado por SANDOVAL *et al.*, (2001).

### 3.4.3. Evaluación de la actividad antioxidante del hongo comestible

Capacidad de inhibir radical DPPH método descrito por YAMAGUCHI *et al.*, (1998).

### **3.4.4. Comportamiento del hongo comestible durante el almacenamiento**

#### **3.4.4.1. Evaluación de la humedad y actividad antioxidante**

- Humedad, método recomendado por la AOAC 925,09 (1990).
- Capacidad de inhibir radical DPPH método descrito por YAMAGUCHI *et al.*, (1998).

#### **3.4.4.2. Evaluación microbiológica**

- Numeración de mesófilos aerobios viables, FAO (1981).
- Numeración de mohos y levaduras, FAO (1981).

#### **3.4.4.3. Evaluación sensorial**

Método 7.1.5 de Friedman los atributos considerados fueron sabor y textura (UREÑA *et al.*, 1999).

### **3.5. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL**

#### **3.5.1. Caracterización físico – químico proximal de la materia prima**

Para la caracterización físico - químico proximal se tomo la materia prima y se evaluó humedad, proteína, cenizas, grasa, fibra, carbohidratos y vitamina C, cada análisis se ejecuto tres repeticiones.

### **3.5.2. Cuantificación de polifenoles totales**

Para la cuantificación de polifenoles totales se trabajó siguiendo el diagrama experimental mostrado en la Figura 1. Teniendo como variable dependiente los polifenoles totales y las variables independientes tipos de secado. Para determinar los polifenoles totales se procedió a preparar 20  $\mu\text{L}$  del extracto acuoso del hongo comestible, se hicieron reaccionar con 1.58 ml de agua destilada, 100  $\mu\text{L}$  de Folin Ciocalteu y 300  $\mu\text{L}$  de carbonato de sodio, para completar la reacción se dejó reposar 2 horas en oscuridad a temperatura ambiente. Luego se monitoreó la absorbancia a 740 nm. Los resultados se expresaron en mg. equivalente de catequina en gramo de muestra mediante una curva estándar que se realizó en el ploteo de la absorbancia a diferentes concentraciones de catequina (30, 100, 300, 1000, 3000, 10000  $\mu\text{g}/\text{mL}$ ).

### **3.5.3. Evaluación de la actividad antioxidante radical 2,2 diphenyl-1picrilhydrazyl (DPPH)**

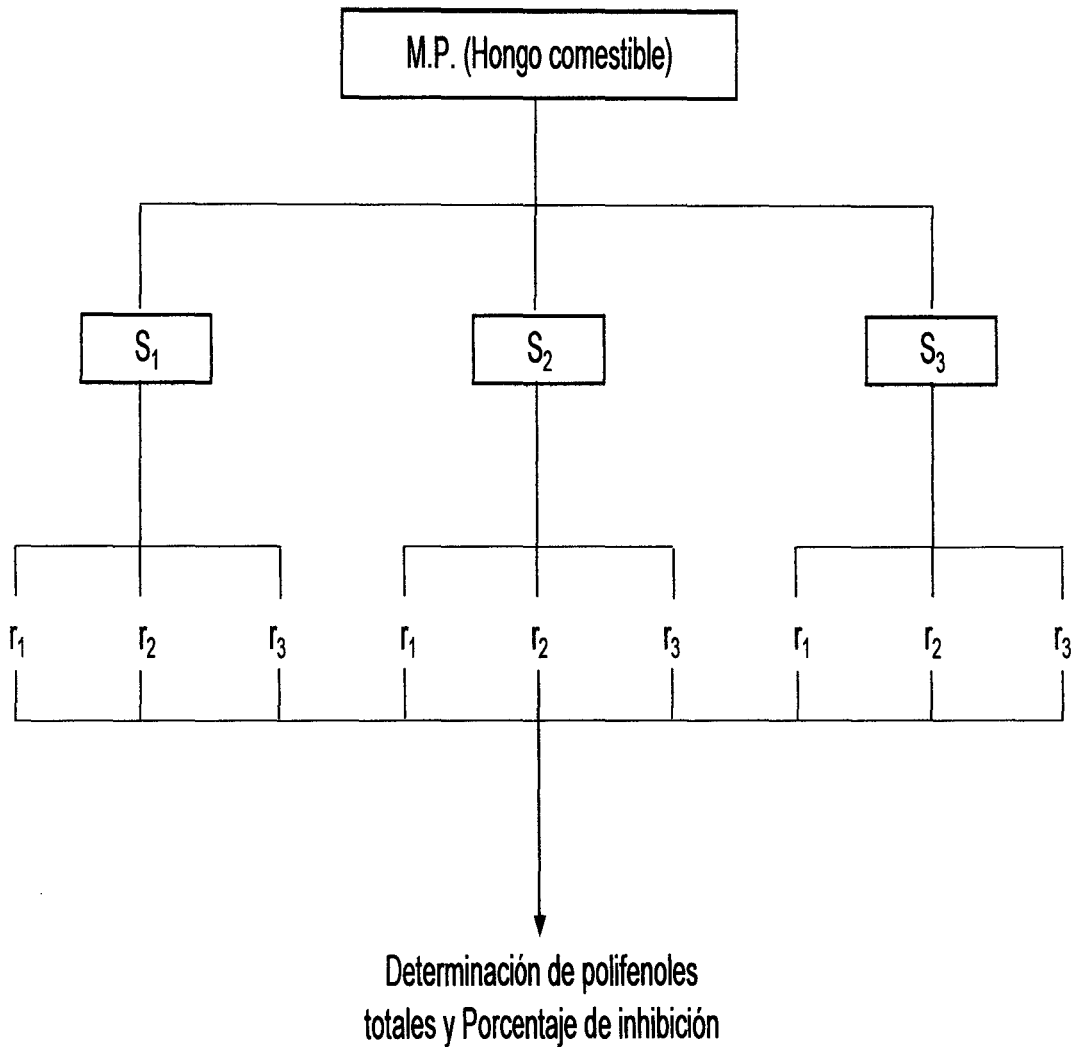
Para la evaluación de la capacidad antioxidante se trabajó siguiendo el diagrama experimental mostrado en la Figura 1, el diseño estadístico utilizado fue el mismo para la determinación de polifenoles totales, donde la variable dependiente fue porcentaje de inhibición y las variables independientes tipos de secado, las evaluaciones de la actividad antioxidante fueron las siguientes:

#### **3.5.3.1. Capacidad de inhibir el radical DPPH**

El método consistió en el secuestro del radical DPPH in vitro, haciendo reaccionar 500  $\mu\text{L}$  de solución de DPPH en etanol a 100  $\mu\text{M}$  con un

volumen de 500  $\mu\text{L}$  del extracto acuoso del hongo comestible a concentraciones de 300, 1000, 3000,  $\mu\text{L}/\text{ml}$ . registrando la absorbancia cada 30 seg. En un tiempo total de 10 min. de reacción a 517 nm. La actividad antioxidante fue expresada en porcentaje de inhibición, por medio de la siguiente formula:

$$\% \text{ de Inhibición} = \left[ 1 - \frac{\text{Abs. de la muestra}}{\text{Abs. del control}} \right] \times 100$$



Leyenda:

S<sub>1</sub>= Secado a 65 °C

S<sub>2</sub>= Escaldado y secado a 65°C.

S<sub>3</sub>= Secado solar

r<sub>1</sub>, r<sub>2</sub>, r<sub>3</sub> = Repeticiones

**Figura 1.** Diagrama experimental para el análisis de la determinación de polifenoles totales y porcentaje de inhibición.



### **3.5.4. Comportamiento del hongo comestible durante el almacenamiento**

#### **3.5.4.1. Evaluación de la humedad y actividad antioxidante**

Las muestras del hongo comestible secados adecuadamente fueron envasados en bolsa de polietileno y empacados al vacío presión de 100 mb. tiempo de sellado de 1,6s, almacenados a temperatura ambiente, cada 15 días por 60 días se realizaron las evaluaciones de humedad y porcentaje de inhibición del radical DPPH.

#### **3.5.4.2. Evaluación microbiológica**

Se realizó los análisis de numeración de mesófilos aerobios viables y la numeración de mohos y levaduras, los análisis se realizaron a 0, 30 y 60 días de almacenamiento.

#### **3.5.4.3. Evaluación sensorial**

Para la evaluación sensorial se tomó el hongo comestible fresco y seco hidratado (el hongo seco fue hidratado con agua por espacio de 2 horas), y se evaluó mediante la prueba sensorial de comparaciones múltiples de Friedman mediante los atributos de textura y sabor, usando la cartilla de evaluación (A-V) con 18 panelistas, los cálculos fueron reportados  $P < 0,01$ . Las evaluaciones sensoriales se realizaron cada 15 días.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. CARACTERIZACIÓN FÍSICO – QUÍMICO PROXIMAL DE LA MATERIA PRIMA

La caracterización físico - químico proximal del hongo comestible se realizó en base húmeda y seca, los resultados se muestran a continuación:

**Cuadro 2.** Resultados de la composición físico - químico proximal \*

Componentes	B.H %	B.S %
Humedad	90,70	-----
Proteína (N x 6,25)	0,40	4,29
Grasa	0,02	0,19
Fibra	0,16	1,74
Ceniza	0,08	0,85
Carbohidratos	8,64	92,93
Vitamina "C" (mg/100g)	-----	0,947

\* Los valores representan promedios de tres repeticiones para cada análisis.

En el cuadro 2 se presenta el resultado del contenido de humedad del hongo comestible este valor fue 90,7 % (B.H.), con respecto a lo indicado CAPELLO (2003), reportó 88 % y MENDIETA (1995), indica 89,70 %, ambos reportes fue del *Pleurotus ostreatus*.

Con respecto al contenido de proteínas en la investigación se cuantificó 4,29 %, según el reporte de CAPELLO (2003), indica 4 %, así mismo

ÁLVAREZ (2007), cuando caracteriza y evalúa la actividad antioxidante en hongos comerciales indica un valor de 1,82 a 4,42 %.

El contenido de grasa fue 0,19 %, ÁLVAREZ (2007), indica  $0,62 \pm 0,04$  en *Boletus* y de  $0,29 \pm 0,04$  en Champiñones (*Agaricus bisporus*).

En la cuantificación de fibra se tiene 1,74 %, CAPELLO (2003), reportó de 2 %. En cuanto a cenizas fue 0,85 %, ÁLVAREZ (2007), reportó  $0,96 \% \pm 0,03$  en champiñones comerciales (*Agaricus bisporus*) y de  $0,50 \pm 0,02$  en *Macrolepiota*.

En la cuantificación de carbohidratos se tiene 8,64 %, ÁLVAREZ (2007), reporta para hongos comerciales un rango de 4,96 a 15,52 %.

Con respecto al contenido de Vitamina "C" se tiene 0,947 mg/100gr., según MARTÍNEZ *et al.*, (2000), reporta 2,1 mg/100gr. de Vitamina "C" en Shiitake (*Lentinus edodes*) fresco y CORTES *et al.*, (2007) reporta 0,8 mg/100gr de Vitamina "C" en *Pleurotus ostreatus*.

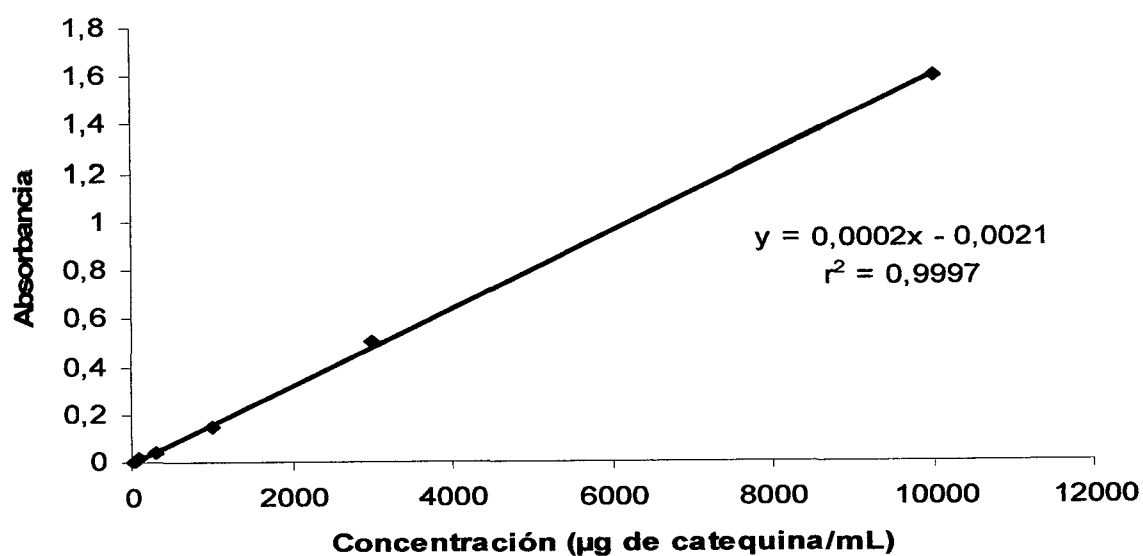
## **4.2. CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES**

### **4.2.1. Cuantificación de la curva estándar de polifenoles totales**

Para realizar la cuantificación de polifenoles totales en el hongo Comestible (*Pleurotus ostreatus*) se procedió a la construcción de la curva estándar utilizando como patrón a (+) – catequina. Los resultados se presentan a continuación:

**Cuadro 3.** Concentración de Catequina para la curva estándar

Catequina ( $\mu\text{g/mL}$ )	Absorbancia
10000	1,6054
3000	0,5021
1000	0,1516
300	0,0408
100	0,0125
30	0,0020

**Figura 2.** Cálculo de la ecuación matemática de la curva estándar a partir de (+) – catequina.

Para la cuantificación de polifenoles se elaboro la curva estándar, las concentraciones fueron de 30 a 10000  $\mu\text{g de catequina/mL}$  (Cuadro 3 y figura 2) el estándar utilizado para la catequina como se sabe pertenece al

grupo de flavonoides simples y esta compuesto por catequina, epicatequina y quercetina (M. K. M, 2008).

Los resultados de la absorbancia de las diversas concentraciones permitieron encontrar una ecuación matemática de primer orden o línea recta, llamada también ecuación simple  $Y=0,0002X - 0,0021$ , ya que el mayor exponente de X es 1, además esta ecuación nos representa que para cada valor de X habrá un aumento del valor de Y (MARTÍNEZ, 1999). Así mismo el valor del  $r^2$  fue 0,9997 el cual nos indica una relación lineal muy fuerte entre las dos variables (BERENSON, 1983).

#### 4.2.2. Cuantificación de polifenoles totales en el hongo comestible (*Pleurotus ostreatus*)

Los resultados de la determinación de polifenoles totales del extracto acuoso del hongo comestible (*Pleurotus ostreatus*) de diferentes tipos de secado se presentan en el cuadro siguiente:

**Cuadro 4.** Cuantificación de polifenoles totales del hongo comestible en tres tipos de secado \*

Tipos de secado	Polifenoles totales equiv. Catequina ( $\mu\text{g/g}$ hongo comestible)
Secado a 65 °C	276,833 $\pm$ 3,18 <sup>a</sup>
Escaldado y Secado a 65 °C	171,333 $\pm$ 0,83 <sup>c</sup>
Secado solar	203,167 $\pm$ 1,45 <sup>b</sup>

\* Los valores representan (promedio  $\pm$  SEM) los datos provienen del experimento (n=9) valores de una misma columna con superíndices diferentes son significativos ( $p < 0,05$ ).

Según los resultados presentados en el cuadro 4 y anexo I referidos a la cuantificación de polifenoles totales del extracto acuoso del hongo comestible (*Pleurotus ostreatus*) de acuerdo a los tipos de secado analizados estadísticamente se encontró diferencia altamente significativa y comparando las medias mediante la prueba tukey ( $p < 0,05$ ), se determinó que el mayor contenido de polifenoles corresponde al secado a 65 °C con un valor de  $276,833 \pm 3,18 \mu\text{g/g}$  de hongo comestible y el tratamiento con menor contenido de polifenoles totales correspondió al escaldado por 1 min/100 °C a ebullición y secado a 65 °C ( $171,333 \pm 0,83 \mu\text{g/g}$  de hongo comestible), según DEVECE *et al.*, (1999), indica que en tratamientos de microondas y agua en ebullición inactiva la polifenoloxidasas, así mismo se da la pérdida del contenido en antioxidantes reducción del peso de las setas y el encogimiento.

Por otro lado KOTWALIWALE *et al.*, (2007), reportó que a medida que se aumenta la temperatura de secado a 65 °C afecta en la textura y blancura. Así mismo el blanqueado y secado deteriora más las propiedades físicas que el secado con aire caliente.

El mayor contenido de polifenoles fue  $276,833 \pm 3,18 \mu\text{g/g}$  de hongo comestible; Para ZAVALA-NIGOA (2005), en extracto acuoso de orégano (*Lippia graveolens kunth*) el contenido de flavonoides totales fue de  $163,75 \pm 1,40 \text{ mg equivalentes de (+) - catequina/g}$  extracto liofilizado; KARAKAYA Y NEHIR (2006), en su trabajo referido sobre fenoles totales y actividad antioxidante en infusiones in vitro y la biodisponibilidad de los polifenoles del té negro encontró en la flor de tilo  $32,22 \text{ mg/L (+) - catequina}$

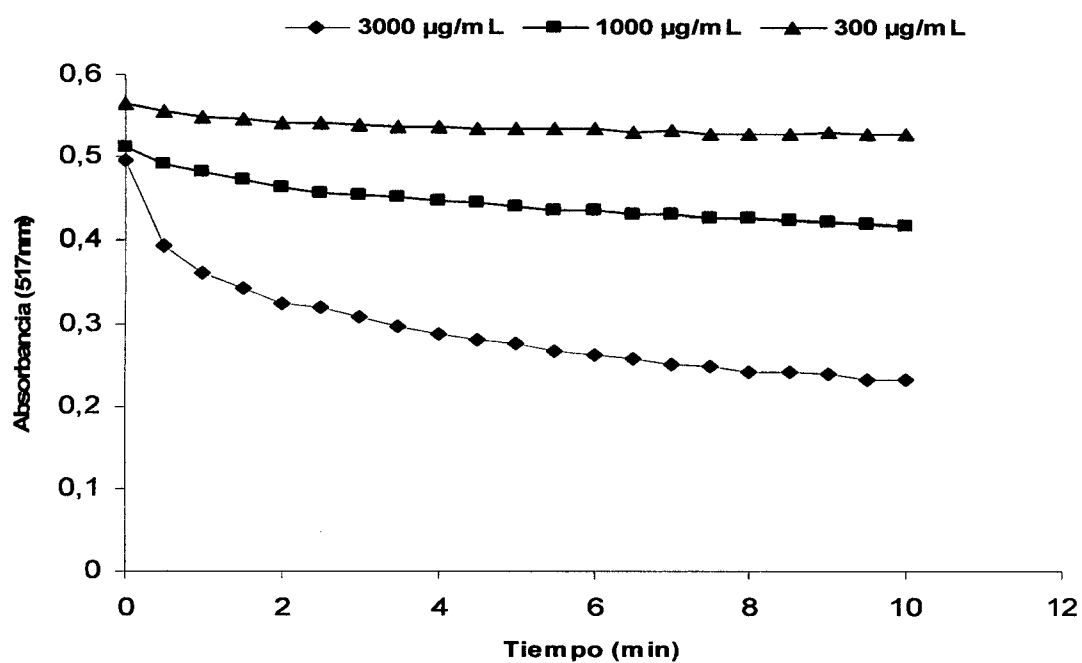
equivalente, ortiga fresca 87,90 mg/L (+) – catequina equivalente y en hojas de ortiga seca 29,09 mg/L (+) – catequina equivalente.

Comparando estos reportes con la investigación realizada se puede afirmar que el hongo comestible (*Pleurotus ostreatus*) tiene un bajo contenido de polifenoles, sin embargo muchos de los mates no pueden ser consumidos en cantidades grandes, mientras que el hongo comestible si se puede ingerirse en gran cantidad sin mayor problema.

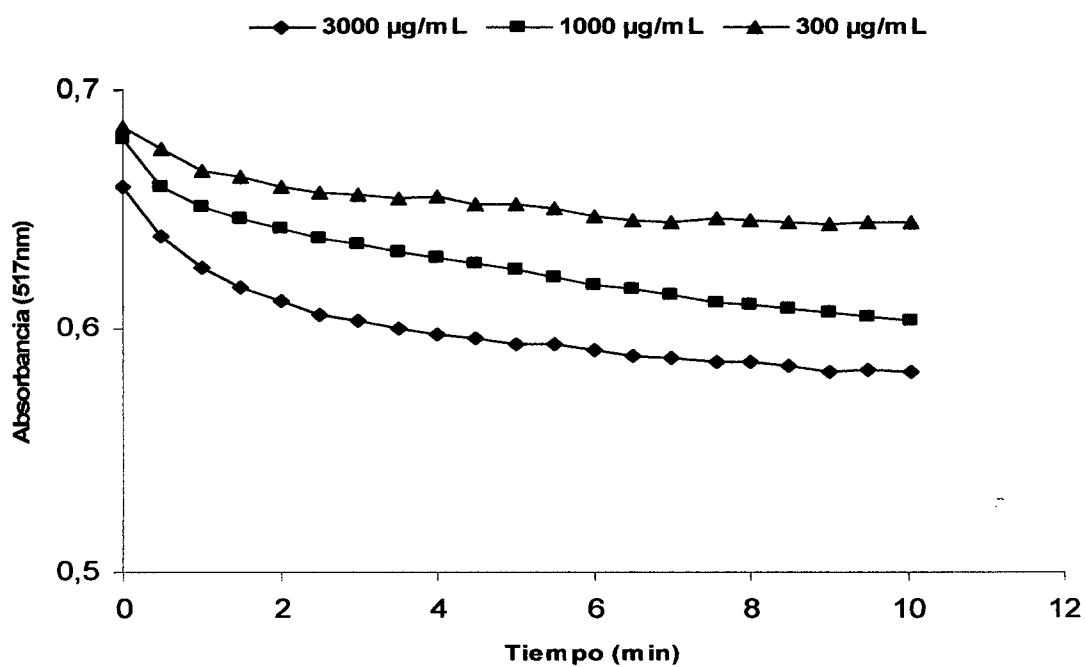
### **4.3. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE RADICAL 2,2 DIPHENYL-1PICRILHYDRAZYL (DPPH)**

#### **4.3.1. Cinética de reacción del radical DPPH**

Para evaluar el comportamiento cinético del radical DPPH frente al extracto acuoso del hongo comestible, se preparó tres tratamientos el T<sub>1</sub> correspondió al hongo secado a 65 °C, T<sub>2</sub> al escalado por 1 min/100°C a ebullición y secado a 65°C y T<sub>3</sub> secado solar. La cinética de reacción se presenta a continuación:

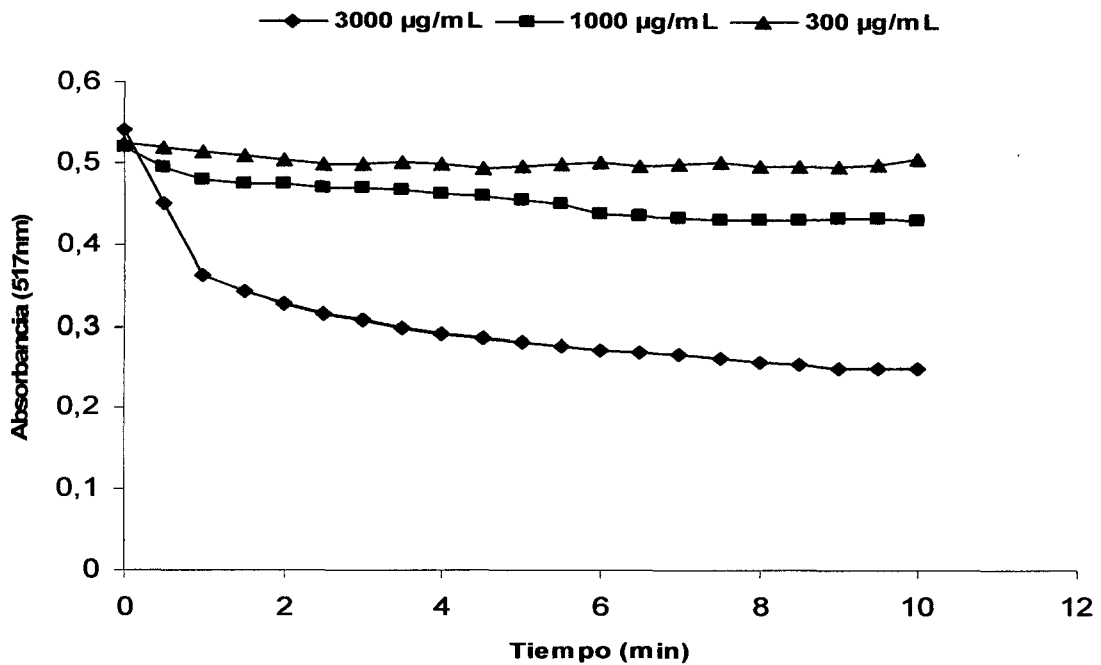


**Figura 3.** Cinética de reacción del radical DPPH del hongo comestible secado a 65 °C.



**Figura 4.** Cinética de reacción del radical DPPH del hongo comestible escaldado y secado a 65 °C.





**Figura 5.** Cinética de reacción del radical DPPH del hongo comestible secado solar.

La cinética de reacción del radical DPPH frente al extracto acuoso del hongo comestible (*Pleurotus ostreatus*) en los diferentes tratamientos se presenta en las figuras 3, 4 y 5.

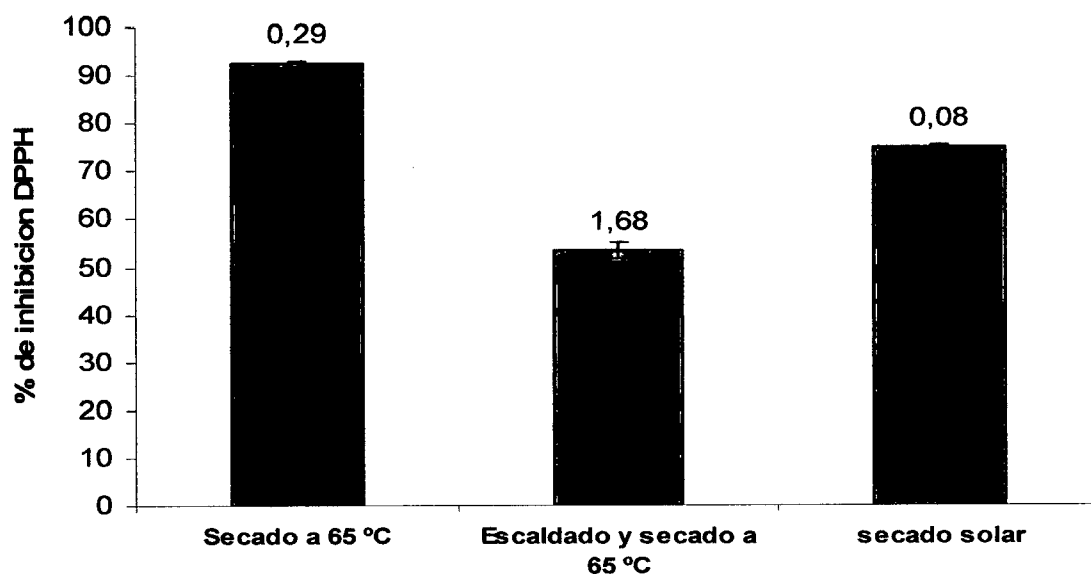
Con respecto a la Figura 3 que correspondió al tratamiento secado a 65 °C se puede observar que a la concentración de 300 µg/mL la reacción no fue eficiente (decrecimiento exponencial) pero a una concentración de 3000 µg/mL se aprecia el mejor comportamiento; comparando a la cinética de reacción del tratamiento (T<sub>3</sub>) con el secado solar (Figura 5) es muy similar, pero en el tratamiento (T<sub>2</sub>) escaldado por 1 min/100 °C a ebullición y secado a 65 °C no tuvo este comportamiento cinético. Este hecho da pie al planteamiento que las reacciones del radical libre DPPH con compuestos y extractos con capacidad antioxidante no son termalmente estables así mismo obedece a la

complejidad de las matrices analizadas y a las múltiples reacciones que en estas acontecen con el sustrato (MOSQUERA *et al.*, 2005).

Por otro lado CHOI *et al.*, (2005), reportó en hongo comestible Shiitake (*Lentinus edodes*) que la actividad antioxidante evaluados mediante ABTS y DPPH se incremento 2 y 2,2 veces cuando la muestra es escaldado a 121 °C/ 30 min. Comparado a la muestra cruda, en el presente trabajo no sucedió este fenómeno esto puede deberse al tiempo corto y la especie.

#### 4.3.2. Porcentaje de inhibición del radical DPPH

Los resultados del porcentaje de inhibición del hongo comestible (*Pleurotus ostreatus*) se muestra a continuación:



**Figura 6.** Porcentaje de inhibición del radical DPPH del hongo comestible.

Según los resultados presentados en la Figura 6 y anexo II, para los tres tratamientos (T<sub>1</sub>) secado a 65 °C, (T<sub>2</sub>) escaldado por 1 min/100 °C a ebullición y secado a 65 °C y (T<sub>3</sub>) secado solar; realizando el análisis

estadístico se encontró que existe diferencia estadística significativa, en la comparación de los promedios respectivos entre el T<sub>1</sub> y T<sub>3</sub> no se encontró diferencia estadística significativa ( $p < 0,05$ ), el T<sub>1</sub> tuvo un promedio de  $92,73 \pm 0,29$  % y el T<sub>3</sub> fue  $75,25 \pm 0,08$  %, esto puede deberse a lo reportado por MENDIETA Y MEDINA (1995), que indican que al realizar el secado solar, el producto absorbe la radiación solar incidente, aumenta su temperatura en una proporción mayor que las muestras colocadas en un secado indirecto (estufa) por lo cual la evaporación del agua en las mismas es mas acentuada. Así mismo, los hongos secados con radiación solar directo, tienen mayor velocidad de secado. Provoca mayor oscurecimiento debido posiblemente al pardeamiento no enzimático favorecido por la acción de los rayos ultravioletas presentes en la radiación solar, el problema que presenta el secado solar es la contaminación de insectos y polvo.

Por otro lado, el tratamiento (T<sub>2</sub>) que corresponde al escaldado por 1 min/100 °C a ebullición y secado a 65 °C tuvo menor inhibición del radical DPPH esto puede deberse según lo citado por LESPINARD *et al.*, (2007), donde recomienda que para el proceso de producción de conservas de hongos el escaldado constituye una importante operación unitaria que tiene como objetivo reducir el pardeamiento enzimático, por inactivación térmica de la enzima polifenoloxidasas (PFO) y reducen la contracción de tamaño evitando que ocurra durante la esterilización pero la temperatura debe ser menor de 90 °C, en lo expuesto se trabajo a 100 °C/ 1min.

Con respecto al porcentaje de inhibición del radical DPPH por acción del hongo comestible la mayor inhibición fue de  $92,73 \pm 0,29$ %

comparado a lo reportado por VILLANUEVA (2003), la inhibición de la cáscara en extracto acuoso de camu camu (*Myrciaria dubia*) pinton fue de  $92,89\% \pm 0,44\%$ ; BECERRIL (2003),  $79,5\%$  en extracto acuoso de hierba luisa (*Cymbopogon citratos Staph*); ESTRELLA (2002), reportó un porcentaje de inhibición de  $86,9\%$  en el extracto acuoso de cedron (*Aloysia tripillia*) y el porcentaje de inhibición para el Yacon (*Smallanthus sonchifolius*) fue en extracto de cloroformo, acetato de etilo y acetona inhibieron  $13,85\%$ ,  $17\%$  y  $20,5\%$  respectivamente YAN *et al.*, (1999).

Analizado estas comparaciones podemos indicar que el hongo comestible (*Pleurotus ostreatus*) tiene una buena inhibición frente al radical DPPH, según CASADO *et al.*, (2007), indica que el tipo de solvente utilizado en la extracción va ser un componente importante en la determinación del porcentaje de inhibición.

En conclusión podemos decir que el hongo comestible (*Pleurotus ostreatus*) posee actividad antioxidante frente al radical DPPH, los mejores tratamientos fueron secado con estufa a  $65\text{ }^{\circ}\text{C}$  y secado solar.

#### **4.4. COMPORTAMIENTO DEL HONGO COMESTIBLE DURANTE EL ALMACENAMIENTO**

##### **4.4.1. Evaluación de la humedad**

En el cuadro 5 presentamos el porcentaje de humedad a los 0, 15, 30, 45 y 60 días de almacenamiento, se presentan a continuación:

**Cuadro 5.** Evaluación de la humedad del hongo comestible en almacenado\*

Días	Humedad (%)
0	7,17 ± 0,09 <sup>c</sup>
15	8,46 ± 0,01 <sup>bc</sup>
30	10,70 ± 0,12 <sup>a</sup>
45	10,25 ± 0,30 <sup>ab</sup>
60	10,70 ± 0,70 <sup>a</sup>

\* Los promedios representan (promedios ± SEM), los datos provienen de los experimentos cada uno con tres repeticiones y con diferentes sub índices de cada columna ( $p < 0,05$ ).

En el cuadro 5 y anexo III, se puede apreciar estos resultados los cuales fueron analizados estadísticamente y en donde se encontró diferencia altamente significativa entre los días de almacenamiento, comparando los promedios mediante la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ) entre el día inicial (7,17%) y los 30 días (10,70%) se aprecia que el porcentaje de humedad se incrementó, al respecto BADUI (1994), aduce que todo envase tiene una permeabilidad y los productos almacenados en una atmosfera de humedad relativa mayor que la de equilibrio, habrá una migración del agua hacia el interior y la actividad acuosa se incrementara.

Así mismo la capacidad de adsorción se debe a la presencia de fosfatos, amidos, aminos, hidroxilos, propios de la pared celular del reino fungi, que hacen que el hongo sea higroscópico (RAMOS *et al.*, 2004).

Por otro lado a partir de los 30 días (10,70%) hasta los 60 días (10,70%) no existió incremento en el porcentaje de humedad esto se debería posiblemente a la heterogeneidad de la superficie adsorbente (RAMOS *et al.*,

2004), así mismo este equilibrio depende de la humedad relativa y del grado de presión de vapor que ejerce la humedad contenida en un sólido húmedo (GORODNICHEV Y BORISOV, 1978).

En general el porcentaje de humedad durante el almacenamiento por 60 días el máximo valor fue 10,70%, según el CODEX (1981), refiere para el caso de hongos desecados debe tener como máximo un contenido de agua de 12 %.

#### 4.4.2. Actividad antioxidante

##### 4.4.2.1. Cinética de reacción del radical DPPH

Para evaluar el comportamiento cinético del radical DPPH frente al extracto acuoso del hongo comestible (*Pleurotus ostreatus*) fue secado a 65 °C, el tiempo de almacenamiento fue dos meses y a cada 15 días se realizó las evaluaciones. Las cinéticas de reacción se presentan a continuación:

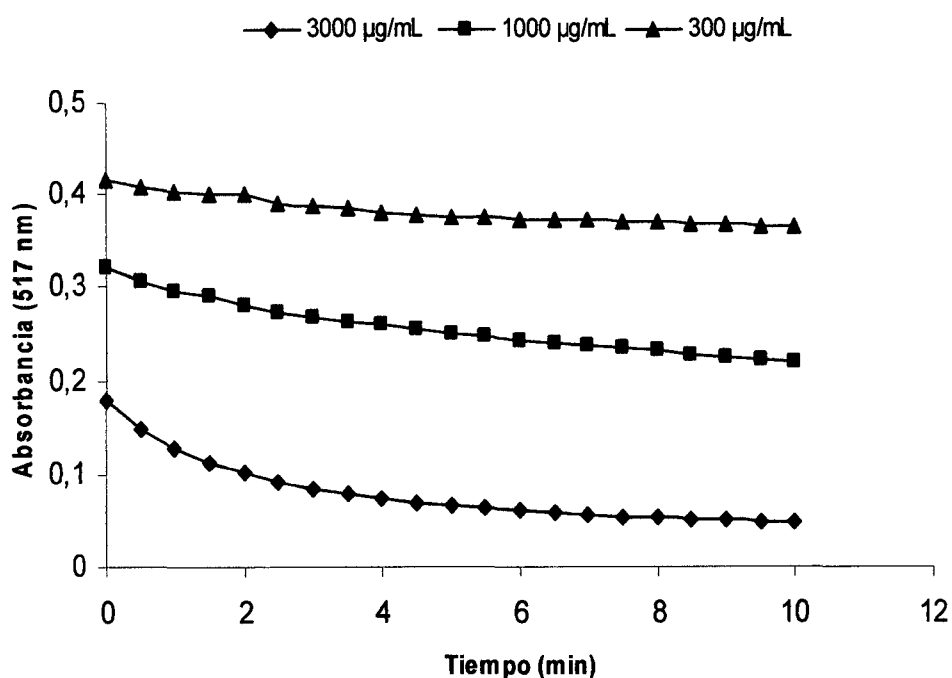
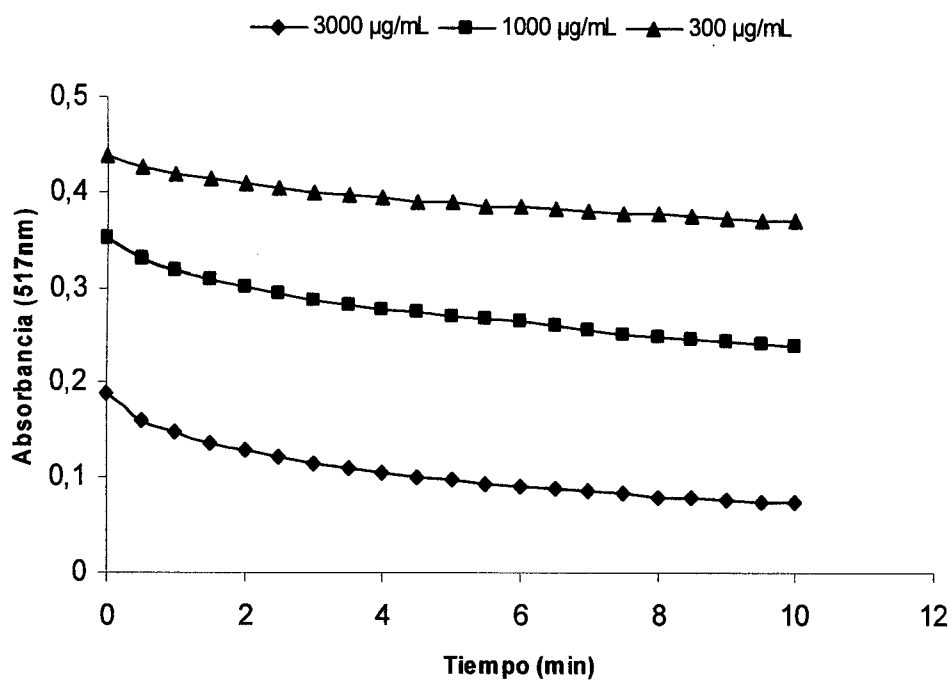
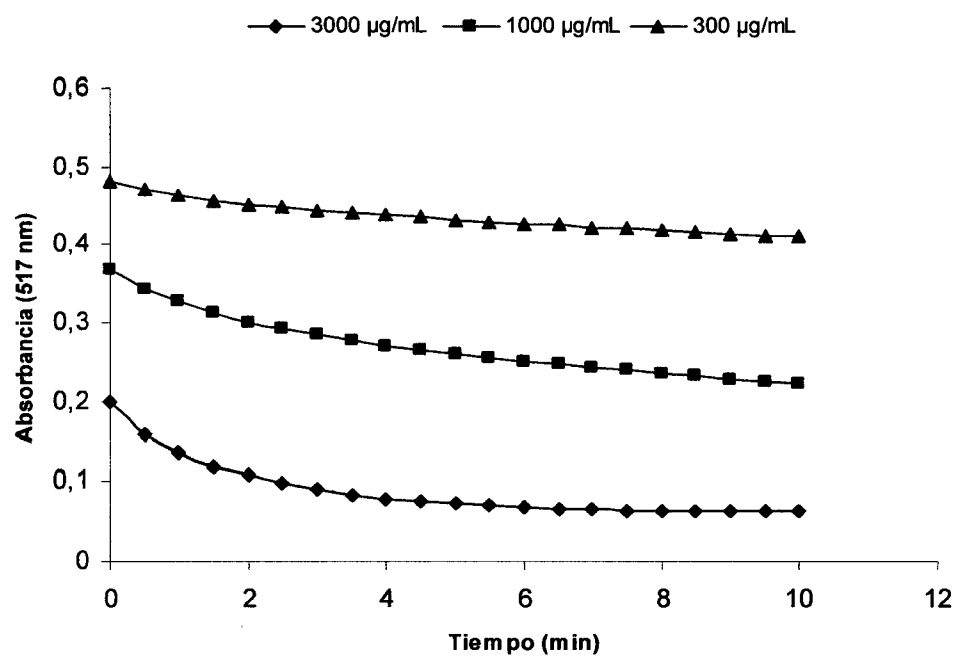


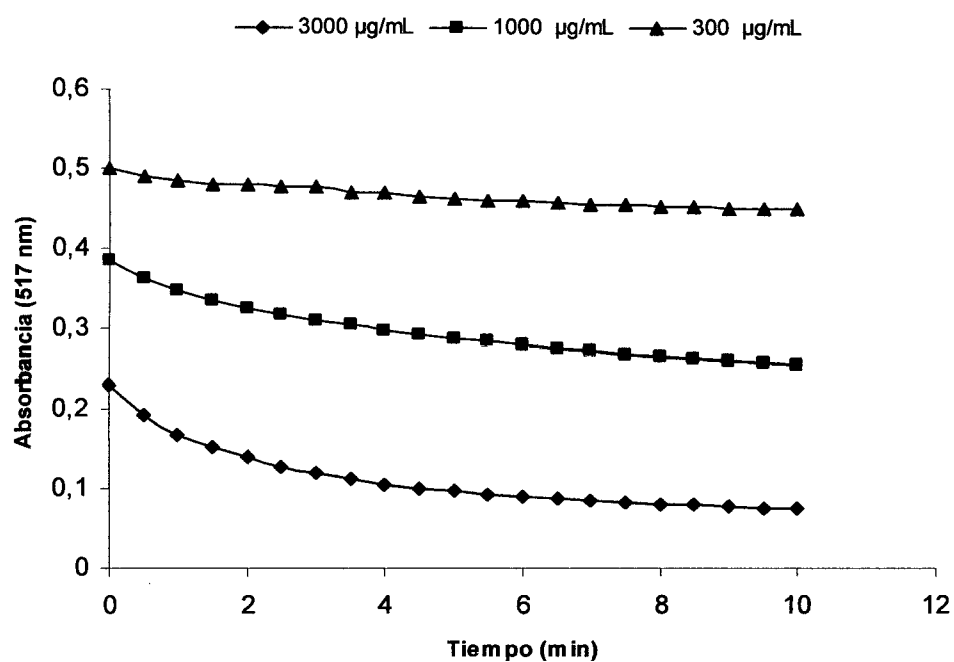
Figura 7. Cinética de reacción del radical DPPH a los 0 días.



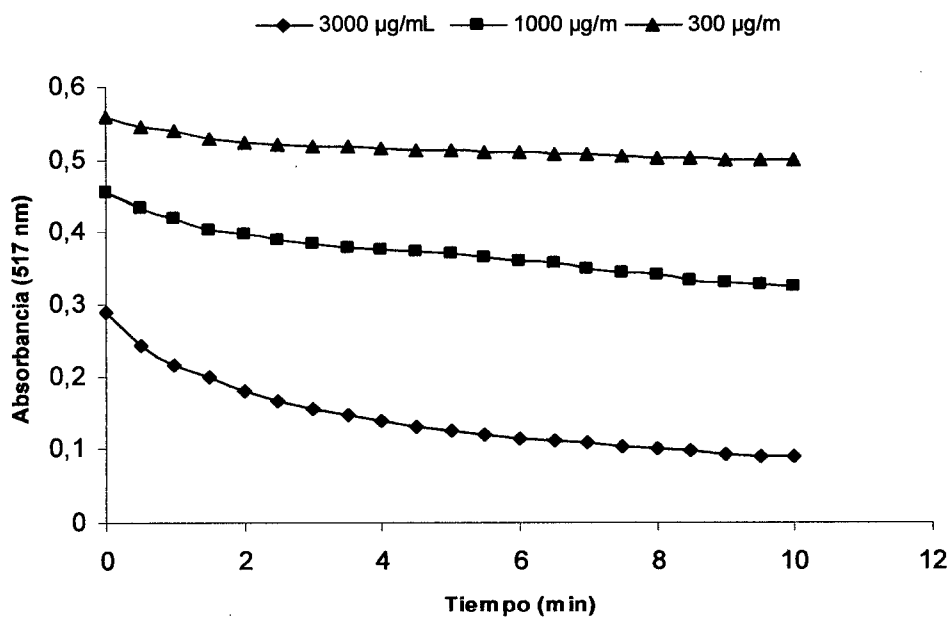
**Figura 8.** Cinética de reacción del radical DPPH a los 15 días.



**Figura 9.** Cinética de reacción del radical DPPH a los 30 días.



**Figura 10.** Cinética de reacción del radical a los 45 días.



**Figura 11.** Cinética de reacción del radical DPPH a los 60 días.



En todas las curvas de cinética (fig. 7, 8, 9, 10 y 11) desde los 0 días a 60 días, se puede observar que a la concentración de 300 y 1000  $\mu\text{g/mL}$  no tuvieron buen comportamiento (decrecimiento exponencial); pero a la concentración de 3000  $\mu\text{g/mL}$  se aprecia el mejor comportamiento, según HALLIWELL *et al.*, (1987), menciona que la degradación de color depende de la especie y la concentración de compuestos que tienen actividad antioxidante presentes en el extracto.

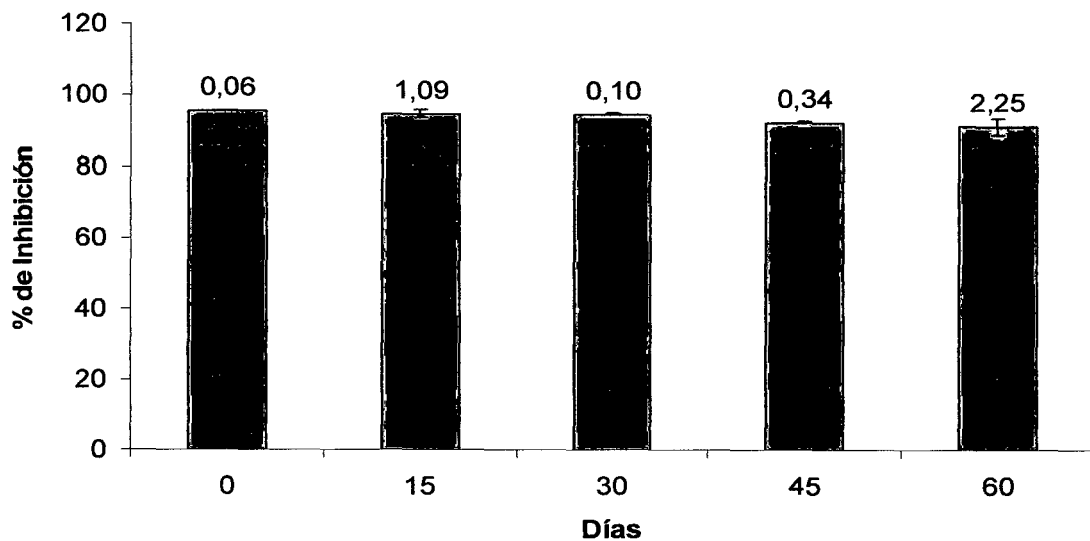
De acuerdo a las figuras mencionadas la cinética de reacción a los 15, 30, 45 y 60 días de almacenamiento presentan un aumento en las lecturas de la absorbancia, esto puede ser debido a que los alimentos o compuestos antioxidantes sufren cambios químicos durante el almacenamiento, los cuales le ocasionan una reducción de su poder antioxidante, estos efectos dependerían de la influencia de muchos factores, tales como la luz, la temperatura, enzimas y metales (GUTIÉRREZ, 2002).

Así mismo, MOSQUERA *et al.*, (2005), aduce que estos cambios se deberían a la variación de concentración y factores pertinentes al grado de reducción de las moléculas del radical libre, que estarían relacionados con las condiciones ambientales (temperatura externa, cantidad de luz) y con el tiempo de almacenado.

El hongo comestible fue almacenado a temperatura ambiente, el cambio más marcado sucedió a partir de los 45 días de almacenamiento, según KAO *et al.*, (2000), este comportamiento puede deberse a que la capacidad de inhibir radicales libres, radica en la concentración y naturaleza de los metabolitos secundarios presentes.

#### 4.4.2.2. Comportamiento del porcentaje de inhibición del radical DPPH

Los resultados del porcentaje de inhibición del hongo comestible (*Pleurotus ostreatus*) durante los 60 días de almacenamiento se muestra a continuación:



**Figura 12.** Porcentaje de inhibición del radical DPPH en el Almacenamiento.

En la figura 12 se puede apreciar los resultados del porcentaje de inhibición del radical DPPH, estos fueron evaluados estadísticamente en donde al realizar la comparación de medias mediante la prueba de Tukey ( $p < 0,05$ ) entre el día inicial ( $95,41 \pm 0,06$  %) y los 60 días ( $91,51 \pm 2,25$  %), no se encontró diferencia significativa y el decrecimiento del porcentaje de inhibición fue mínimo en los días de almacenamiento, al respecto BADUI (1994), indica que los antioxidantes en almacenamiento sufren cambios químicos y en algunas soluciones llegan incluso a cristalizar lo que ocasiona una reducción de

sus antioxidantes, además también puede oxidarse por efecto de la luz, alta temperatura y metales.

Por otro lado HUANG Y FRANKEL (1997), menciona que el potencial de la actividad antioxidante depende del sistema lipídico, presencia de catalizadores metálicos, temperatura de oxidación, concentración del antioxidante y el estado de oxidación.

#### 4.4.3. Evaluación microbiológica

Se realizó los análisis de numeración de mesófilos aerobios viables y la numeración de mohos y levaduras. Los resultados se presentan a continuación:

**Cuadro 6.** Análisis microbiológico del hongo comestible (*Pleurotus ostreatus*) durante el almacenamiento

Índice microbiológico	0 días	30 días	60 días
Numeración de mesófilos aerobios viables	$6 \times 10^3$ ufc/g	$10 \times 10^3$ ufc/g	$27 \times 10^3$ ufc/g
Numeración de mohos y levaduras	Ausencia	Ausencia	$1 \times 10^3$ / ufc/g

Las pruebas del análisis microbiológico del hongo comestible que se muestran en el cuadro 6, se realizaron cada 30 días. Con respecto a la numeración de mesófilos aerobios viables a los 0 días se tuvo  $6 \times 10^3$  ufc/g, a los 30 días fue  $10 \times 10^3$  ufc/g y los 60 días  $27 \times 10^3$  ufc/g, como se puede observar a medida que pasa el tiempo la cantidad va aumentando, según

MOSSEL Y MORENO (1982), mencionan que una numeración de microorganismos aerobios viables, refleja la calidad sanitaria de los productos analizados. Tasas superiores a  $10^9 - 10^7$  ufc/g suelen ser indicios de descomposición, lo que nos indicaría que el hongo comestible evaluado se encuentra en buenas condiciones.

Los resultados de la numeración de mohos y levaduras del hongo comestible presentados en el cuadro 6, en los 0 y 30 días, indica ausencia de mohos y levaduras, si embargo a los 60 días presentó un recuento de  $1 \times 10^3$  ufc/g. Al respecto, KOTULA Y PANDYA (1985), mencionan que el empaque es una barrera física con la que cuenta el producto para no contaminarse con los microorganismos en el ambiente.

#### **4.4.4. Evaluación sensorial**

El análisis sensorial del hongo comestible se realizó durante el almacenamiento por un periodo de 2 meses, las evaluaciones se realizaron cada 15 días, los atributos evaluados fueron: textura y sabor.

##### **4.4.4.1. Atributo textura**

La evaluación del atributo textura se realizó utilizando la ficha A-V y los resultados se presentan a continuación:

**Cuadro 7.** Resultados de la evaluación sensorial del atributo textura del hongo comestible en almacenamiento

<b>Días</b>	<b>Seco hidra.</b>	<b>Calificativo</b>	<b>Fresco</b>	<b>Calificativo</b>	<b>Significancia (P &lt; 0,05)</b>
<b>0</b>	2,72	suave	3,16	suave	*
<b>15</b>	2,83	suave	2,50	suave	*
<b>30</b>	2,44	turgente	3,44	suave	*
<b>45</b>	2,16	turgente	2,66	suave	*
<b>60</b>	2,22	turgente	2,88	suave	*

La evaluación de la textura se realizó una escala a 4 puntos, los resultados se presenta en el cuadro 7 y anexo VI.

De los resultados a los 0 y 15 días en almacenamiento, ambos productos tuvieron calificativos que indican que existe diferencia estadística; sin embargo, por la escala de calificación son similares por que alcanzan un calificativo “suave”.

A partir de los 30 días se puede apreciar que también existe diferencia estadística teniendo el hongo hidratado un menor calificativo “turgente” 2,44 y el hongo fresco tiene una textura 3,44 teniendo un calificativo “suave”, según BADUI (1994), esto puede deberse a que las propiedades reológicas como la textura, reacciones químicas, enzimáticas dependen de la actividad acuosa.

A los 45 y 60 días de almacenamiento se tuvieron comportamientos similares para ambos la textura para el hongo hidratado fue “turgente” y para el

fresco fue “suave”, esto puede aducirse a lo reportado por DESROSIER (1963), que indica que el calentamiento degrada constituyentes del sabor y textura del alimento. Así mismo, FENNEMA (1992), aduce que la actividad del agua está relacionada con la textura de los alimentos. Los alimentos con una actividad del agua elevada tienen una textura más jugosa, tierna y masticable. Cuando la actividad del agua de estos productos disminuye, aparecen atributos de textura indeseables como dureza, sequedad y endurecimiento.

#### 4.4.4.2. Atributo sabor

La evaluación del atributo sabor se realizó utilizando la ficha A-V y los resultados se presentan a continuación:

**Cuadro 8.** Resultados de la evaluación sensorial del atributo sabor del hongo comestible en almacenamiento

Días	Seco hidra.	Calificativo	Fresco	Calificativo	Significancia (P < 0,05)
0	3,77	Agradable	3,16	ni agrada ni desagrada	*
15	3,55	Agradable	3,44	ni agrada ni desagrada	ns
30	3,77	Agradable	3,44	ni agrada ni desagrada	*
45	3,55	Agradable	3,61	Agradable	*
60	3,11	ni agrada ni desagrada	3,50	Agradable	*

En el cuadro 8 y anexo VI se presenta los resultados de la evaluación sensorial del hongo comestible hidratado y fresco, realizando la evaluación sensorial a los 0 días se puede indicar que el hongo hidratado presentó un valor de 3,77 que corresponde a una escala de evaluación de “agradable” mientras que el hongo fresco tuvo un calificativo de 3,16 que corresponde a “ni agrada ni desagrada”.

Según KIM (2005), aduce que los hongos comestibles continúan respirando después de la cosecha y tienen una tasa de respiración relativamente alta comparado con otros productos frescos, esta respiración produce cambios en el sabor del hongo.

A los 15 días de almacenamiento no se encontró diferencia estadística entre los dos tratamientos hongos almacenados y hongos frescos.

A los 30 días de almacenamiento se comportaron mejor los hongos hidratados con un calificativo de 3,77 “agradable” esto puede deberse a que los hongos conservados en seco tienen un buen sabor y el secado previene su deterioro. El secado preserva a los hongos quitando suficiente agua para inactivar a las enzimas y los microorganismos (KIM, 2005).

A los 60 días de almacenamiento también se encontró diferencia estadística entre los tratamiento con respecto al sabor, los hongos hidratados tuvieron un menor calificativo “ni agrada ni desagrada” en comparación a los hongos frescos cuyo calificativo fue 3,50 “agradable” esto puede deberse a lo reportado por KIM (2005), indica que el deterioro durante el almacenamiento puede ser causado por bacterias y hongos, en donde su carne se oscurece y bajo ciertas circunstancias de almacenamiento, las enzimas reaccionan con el

oxígeno y forman pigmentos oscuros, tal decoloración disminuye la calidad de los hongos.



## V. CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos se logró las siguientes conclusiones:

- La composición química proximal del hongo comestible fue humedad 90,7%, proteína 0,40%, grasa 0,02%, fibra 0,16%, ceniza 0,08%, carbohidrato 8,64 % y vitamina "C" 0,947 mg/100 g.
- El mayor contenido de polifenoles se encontró en el hongo secado a 65°C con un valor de  $276,833 \pm 3,18$  µg/g hongo.
- El mayor porcentaje de inhibición del radical DPPH por acción del hongo comestible fue  $92,73 \pm 0,29\%$  y después de 60 días de almacenamiento se determinó una humedad 10,70%, porcentaje de inhibición  $91,51 \pm 2,25\%$ , NMAV  $27 \times 10^3$  ufc/g, numeración de mohos y levaduras  $1 \times 10^3$  ufc/g, destacando el atributo textura con la característica "turgente" y el sabor como "ni agrada ni desagrada".

## **VI. RECOMENDACIONES**

- Realizar trabajos de investigación referidos a la procedencia del hongo comestible en diferentes pisos ecológicos.
- Realizar la caracterización de minerales incluyendo metales pesados en el hongo comestible.
- Promover la producción a gran escala y la comercialización de hongos secados como se comercializa otros hongos.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- A.O.A.C. 1990. Official methods of analysis of the association of Official analytical chemist. Editado por Sidney Williams. Arlington. Virginia. EEUU. 1-31p.
- 1995. Official methods of analysis of the association of Official analytical chemist. Ed. Board. Washington D.C. - USA. Vol. 2. 815p.
- ÁLVAREZ, E.; DE LA ROSA, L.; MARTÍNEZ, N.; GONZÁLES, G. 2007. Total phenols and antioxidant activity of commercial and wild mushrooms from Chihuahua, México. 329-334 p.
- ANDERSON, D.; PHILIPS, B. 2001. Comparative in vitro and in vivo Effects of antioxidants. J. Food. Chem. Tox. 37: 1015 - 1025.
- BARBADO, J. 2003. Hongos comestibles. Ed. Albatros. Buenos aires. 75 116p.
- BADUI, S. 1994. Química de los alimentos. Edit. Alhambra mexicana. México. 15-40p.
- BECERRIL, A. 2003. Optimización del filtrante en base a te verde (*Camelia sinensis*), Hierba luisa (*Cymbopogon citratos Staph*) y pampa orégano (*Limpia alba*) mediante la metodología de superficie de respuesta. Tesis Ingº Ind. Alim. Universidad Nacional Agraria de la Selva. Tingo María-Perú. 145p.
- BERENSON, M. 1983. Estadística para la administración y economía. Ed Interamericana. México 481-482p.
- BOTELHO, T.; RAMOS, B. 1985. Cogumelos comestibles. Sao paulo. Brasil. Ed. Icome. 83p.

- CAPPELLO, G. 2003. ¿Son los hongos macroscópicos un peligro o un beneficio para la salud?. México. [http://www.ujat.mx/publicaciones/horizonte\\_sanitario/ediciones/2003\\_sep\\_dic/hsv2n3\\_capello.pdf](http://www.ujat.mx/publicaciones/horizonte_sanitario/ediciones/2003_sep_dic/hsv2n3_capello.pdf).
- CÁRDENAS, E. 2001. Sustancias flavonoides. Department of molecular Pharmacology & Toxicology. School of Pharmacy University of Southern California los Angeles. 27: 456 -459 p.
- CASADO, R.; LANDA, A.; CALVO, M. 2007. Actividad antioxidante de *Jungia Paniculata (asteraceae)* y de sus flavonoides. Pamplona. España. 82-100p.
- CODEX. 1981. Norma del Codex para los hongos comestibles desecados. 1-4p.
- CORTES, R.; GARCÍA, S.; SUÁREZ, M. 2007. Fortificación de hongos comestibles (*pleurotus ostreatus*) con calcio, selenio y vitamina "C". [www.scielo.org.co/pdf/vitae/v14n1/v14n1a03.pdf](http://www.scielo.org.co/pdf/vitae/v14n1/v14n1a03.pdf).
- CLARCKSON, P.; THOMPSON, H. 2000. Antioxidants: What role do they play in physical activity and heald?. J. Am. Soc. Clin. Nutr. U. S. A. 72 (suppl): 637S - 46S.
- CHOI, Y.; LEE, S.; CHUN, J.; LEE, H.; LEE, J. 2005. Influence of heat treatment on the antioxidant activities and polyphenolic compounds of Shiitake (*Lentinus edodes*) mushroom. República de Korea. 361-763p.
- DESROSIER, W. 1963. Conservación de alimentos. Edit. Continental. México. 44-271p.

- DEVECE, C.; RODRÍGUEZ, J.; FENOLL, L.; TUDELA, J.; CATALA, J.; DE LOS REYES, E.; GARCÍA, F. 1999. Enzyme inactivation analysis for industrial blanching applications: comparison of microwave, conventional, and combination heat treatments on mushroom polyphenoloxidase activity. *J. Agric. Food Chem.* 47: 4506-4511p.
- ESTRELLA, C. 2002. Actividad antioxidante del extracto acuoso de cedron (*Aloysia tripillia*) en diferentes modelos *in vitro*. Tesis Ing<sup>o</sup> Ind. Alim. Universidad Nacional Agraria de la Selva. Tingo María- Perú. 103p.
- FAO. 1981. Manuales para el control de calidad de los alimentos. Análisis microbiológico. Roma. Italia. 133p.
- Fennema, O. 1992. Química de los alimentos. Edit. Acribia. Zaragoza. España 1093p.
- GHILLEAN, T. 1987. The use of edible fungus by Amazonia indians. 11p.
- GUTIÉRREZ, F. 2002. Papel de los polifenoles en la oxidación del aceite de oliva virgen. 669-676p.
- GONZÁLES, M.; BETANCOURT, M.; ORTIZ, R. 2000. Daño oxidativo y antioxidante. *Bioquímica.* 25 (1): 3 - 9 p.
- GORODNICHEV, V.; BORISOV, G. 1978. Influence of temperature on the equilibrium moisture content of medicinal granulations. Vol. 11. N<sup>o</sup>. 10. 113-116p.
- GUZMÁN, G. 1989. Hongos. Ed. Limusa. México. 12-13p.
- HART, F.; FISHER, H. 1977. Análisis moderno de los alimentos. Ed. Acribia. Zaragoza, España. 619p.

- HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.; ROUNA, O. 1987. The deoxyribose method. A simple "test -tub" assay for determination of rate constants for reactions of hydroxyl radicals. *Analytical biochem.* 165. 215-219p.
- HIRAMATSU, M.; YOSHIKAWA, T. 1997. Food and radical. Plenum press. New York and London. 165 p.
- HUANG, S.; FRANKEL, E. 1997. Antioxidant activity of tea catechins in different lipids system. *J. Food Chem.* N° 45: 303-3038.
- HURTADO, S.; MUÑOZ, M. 2005. Producción de *pleurotus ostreatus*, fermentación líquida y evaluación antioxidante. [www.utadeo.edu.co/dependencias/alimenticias.pdf](http://www.utadeo.edu.co/dependencias/alimenticias.pdf).
- KAO, Y.; HIIPAKKA, R.; LIAO, S. 2000. Modulation of endocrine systems and food intake by green tea epigallocatechin gallate. *Endocrinology.* 141p.
- KARAKAYA, S.; NEHIR, S. 2006. Total Phenols and Antioxidant Activities of Some Herbal Teas and *In Vitro* Bioavailability of Black Tea Polyphenols. Faculty of Engineering, Department of Food Engineering. 23 (1), 1-8p.
- KIM, B. 2005. Almacenamiento y procesamiento de los hongos. México. 208-213p.
- KOTULA, K.; PANDYA, P. 1985. Bacterial contamination of broiler chickens before scalding. *J. Food. Protect.* 58 (12):1326 – 1329.
- KOTWALIWALE, N.; BAKANE, P.; AJAY, V. 2007. Changes in textural and optical properties of oyster mushroom during hot air drying. *Journal of Food Engineering* 78:1207-1211p.
- LAMBERT, E. 1977. El cultivo del champiñón, centro regional de ayuda técnica; México. 12p.

- LEBEAU, J.; FURMAN, C.; BERNIER, J.; DURIEZ, P.; TESSIER, E.; COTELLE, N. 2000. Antioxidant properties of di-tert-butylhydroxylated flavonoids. *Free Rad. Biol. And Med.* 990-991p.
- LESPINARD, A.; GOÑI, S.; MACHERONI, R. 2007. Escaldado de hongos (*agaricus bisporus*). Simulación por elementos finitos utilizando geometrías 2d axisimétrica y 3d, con y sin malla móvil. Argentina. 3590-3602p.
- LOUIS, M. 2000. Aditivos en las industrias agroalimentarias. Ed. Acribia. Zaragoza. España. 193-205p.
- MARTÍNEZ, S. 1999. Proyecciones estadísticas. 1<sup>ra</sup> ed. Edit. San marcos. Perú. 91-102p.
- MARTÍNEZ, D.; SOBAL, M.; MORALES, P.; MARTÍNEZ, W.; MARTÍNEZ, M. 2000. Los hongos comestibles, propiedades nutricionales y su contribución a la alimentación. México 10-14p.
- MARTÍNEZ-VALVERDE, I.; PERIAGO, M.; ROS, G. 2000. Significado nutricional de los compuestos fenólicos en la dieta. *Alan.* 50(1): 5-15.
- MENDEIETA, O.; MEDINA, M. 1995. Secado natural y solar de hongos comestibles silvestres de la Región San Martín. Perú. 97-111p.
- MIGNUCCI, J. 1986. Perspectivas para el cultivo de setas en puerto rico y el caribe. Puerto rico. 24p.
- MOSQUERA, M.; OSCAR, M.; NIÑO, O.; JAIME, M.; CORREA, Y.; BUITRAGO, D. 2005. Estandarización del método de captura de radicales libres para la evaluación de la actividad antioxidante de extractos. Colombia. 231-234p.

- MOSSEL, P.; MORENO, O. 1982. Microbiología de los alimentos. Edit. Acribia. Zaragoza. España (ISBN: 84 – 200 – 0561 – 4).
- M. K. M. 2008. Polifenoles y sus usos en el cáncer. [www.mkm-pi.com/mkmpi.php.page.article\\_pdf](http://www.mkm-pi.com/mkmpi.php.page.article_pdf). 1-5p
- PEINADO, M.; MORAL, M.; MARTÍNEZ-LARA, E.; SILAS, E.; JIMÉNEZ, A.; HERNÁNDEZ-COBOS, R.; BLANCO, S.; RODRIGO, J.; PEDROSA, J. 2000. Envejecimiento y neurodegeneración: Bases moleculares y celulares. Revisión. Revista de Neurología. 31 (11): 1054 - 1065 p.
- PIQUERAS, J. 2004. Los hongos como alimentos funcionales. Barcelona pag.46-48.p  
<http://joseppiqueras.iespana.es/Bibliografia/Setas%20como%20AF.pdf>.
- POKOKNY, P 2001. Antioxidantes de los alimentos. Ed. Acribia. S. A. Zaragoza. España. 141p.
- POLYAKOV, N.; LESHINA, T.; KONOVALOVA, T.; KISPERT, L. 2001. Carotenoides as scavengers of free radical un fenton reaction. Antioxidants or pro - oxidants. J. Free. Rad. Biol. Med. 31 (3): 398-404p.
- RAMOS, K.; NAVARRO, A.; CHANG, L. 2004. Evaluación de nuevos biosorbentes para la remoción de cadmio. Perú.136-146p
- SANDOVAL, M.; OKUHAMA, N.; MELCHOR, V.; CONDEZO, L.; LAO, J.; MILLER, M. 2001. Antioxidant activity of the criciferous vegetable maca (*Lepidum meyenii*). J. Agric. Food. Chem. 79: 207-213p.
- SCALBERT, A.; WILLIAMSON, G. 2000. Dietary intake and bioavailability of polyphenols. J. Am. Soc. Nut. Sci. 130: 2073S - 2085S.



- STEINECK, H. 1987. Cultivo comercial de champiñón. Ed. Acribia. S. A. Zaragoza. España. 1-2p.
- THOMAS, M. 2000. The role of free radicals and antioxidants. *Nutrition*. 16 (7/8): 716 - 718 p.
- UREÑA, M.; ARRIGO, M.; MIRANDA, O. 1999. Evaluación sensorial de los alimentos. Editorial Agraria. Universidad Nacional Agraria la Molina. 11-122p.
- VASCONCELLOS, J. 2000. Alimentos funcionales. Conceptos y beneficios para la salud. *The world of food science*. Institute of food technology (IFT). California. U.S.A. 5435 - 5442 P.
- VILLANUEVA, JUAN. 2003. Antocianinas, ácido ascórbico. Polifenoles totales y actividad antioxidante en la cáscara de camu camu (*Myrciaria floribunda*). Tesis Ing<sup>o</sup> Ind. Alim. Universidad Nacional Agraria de la Selva. Tingo María- Perú. 6-60p.
- YAMAGUCHI, T.; TAKAMURA, H.; MATOBA, T.; TERAOKA, Y. 1998. HPLC method for evaluation of the free radical-scavenging activity of food by using 1,1-diphenil,-2-picrylhydrazil. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 62, 1201-1204.
- YAN, X.; SUZUKI, M.; OHNISHI - KAMEYAMA, M.; SADA, Y.; NAKANISHI, T.; NAGATA, T. 1999. Extraction and identification of antioxidants in the roots of Yacon (*smallanthus sanchifolius*). *J. Agric. Food. Chem.* 47: 4711 – 4713.

YILDIRIM, A.; MALVA, A.; KARA, A. A. 2001. Determination of antioxidant and antimicrobial activity of kumex crispus L. Extracts. J. Agric. Food. Chem. 49: 4083-4089p.

ZAVALA-NIGOA, J.; LOARCA-PIÑA, G.; GARCÍA-GASCA, T. 2005. Evaluación del contenido fenólico, capacidad antioxidante y actividad citotóxica sobre células caco-2 del extracto acuoso de orégano (*lippia graveolenskunth*).[www.respyn.uanl.mx/especiales/2007/ee-072007/documentos/trabajos\\_libres/110\\_zavala-nigoa\\_y\\_col..pdf](http://www.respyn.uanl.mx/especiales/2007/ee-072007/documentos/trabajos_libres/110_zavala-nigoa_y_col..pdf)

**ANEXO**

**A-I.-** Análisis de varianza de la cuantificación de polifenoles totales en extractos acuosos del hongo comestible (*Pleurotus ostreatus*) en tres tipos de secado.

Fuente de variación	GL	SC	CM	FC	Sig.
Tratamiento	2	17570,38889	8785,19444	680,14	**
Error experimental	6	77,50000	12,91667		
Total	8	17647,88889			

$r^2 = 0,995609$     $CV = 1,655363$     $SEM = 3,593976$    Promedio = 217,1111

**A-II.-** Análisis de varianza del porcentaje de inhibición del radical DPPH en extractos acuosos del hongo comestible (*Pleurotus ostreatus*) en tres tipos de secado.

Fuente de variación	GL	SC	CM	FC	Sig.
Tratamiento	2	2310,267356	1155,133678	394,68	**
Error experimental	6	17,560667	2,926778		
Total	8	2327,828022			

$r^2 = 0,992456$     $CV = 2,316704$     $SEM = 1,710783$    Promedio = 73,84556

**A-III.- Análisis de varianza de la evaluación de la humedad del hongo comestible (*Pleurotus ostreatus*) en almacenamiento.**

Fuente de variación	GL	SC	CM	FC	Sig.
Tratamiento	4	19,85686000	4,96421500	20,88	**
Error experimental	5	1,18875000	0,23775000		
Total	9	21,04561000			

$$r^2 = 0,943516 \quad CV = 5,158110 \quad SEM = 0,487596 \quad \text{Promedio} = 9,453000$$

**A-IV.- Análisis de varianza del comportamiento del porcentaje de inhibición del radical DPPH en el hongo comestible (*Pleurotus ostreatus*) en almacenamiento.**

Fuente de variación	GL	SC	CM	FC	Sig.
Tratamiento	4	34,58573333	8,64643333	2,26	*
Error experimental	10	38,27580000	3,82758000		
Total	14	72,86153333			

$$r^2 = 0,474678 \quad CV = 2,084699 \quad SEM = 1,956420 \quad \text{Promedio} = 93,84667$$

## A-V: Ficha de evaluación sensorial

**Producto: hongo comestible (*Pleurotus ostreatus*)**

Nombre:.....Fecha:...../...../.....Hora:.....

Señor panelista a continuación se le presenta dos muestras para que evalúe su grado de aceptación, y marque con una **X** la muestra elegida.

Gracias.

### SABOR

Puntos	Características	07	18
5	Muy agradable		
4	Agradable		
3	Ni agrada ni desagrada		
2	Desagradable		
1	Muy desagradable		

### TEXTURA

Puntos	Características	07	18
4	Muy suave		
3	Suave		
2	turgente		
1	Muy turgente		

## A-VI: Resultados del análisis organoléptico en almacenado

**Método:** Prueba sensorial de comparaciones pareadas múltiples de Friedman

**Panelistas:** 18

**Muestras:** Código 07 = hongo comestible (*Pleurotus ostreatus*) hidratado

Código 18 = hongo comestible (*Pleurotus ostreatus*) fresco

### 0 Días

#### 1. SABOR

	7	18	Total
1	4 (2)	4 (2)	8
2	4 (2)	4 (2)	8
3	4 (2)	4 (2)	8
4	5 (2)	4 (1)	9
5	4 (2)	3 (1)	7
6	3 (1)	4 (2)	7
7	4 (2)	3 (1)	7
8	3 (2)	1 (1)	4
9	3 (2)	2 (1)	5
10	4 (2)	4 (2)	8
11	4 (2)	3 (1)	7
12	4 (2)	4 (2)	8
13	4 (2)	3 (1)	7
14	3 (1)	4 (2)	7
15	4 (2)	2 (1)	6
16	4 (2)	3 (1)	7
17	3 (2)	2 (1)	5
18	4 (2)	3 (1)	7
	68 (34)	57 (25)	125

Calculando el estadístico correspondiente:

$$A_2 = \sum [(2)^2 + (2)^2 + \dots + (1)^2 + (1)^2] = 105$$

$$B_2 = \frac{1}{18} \sum [(34)^2 + (25)^2] = 98,94$$

$$B_2 = 98,94$$

$$T_2 = \frac{(18 - 1) [ 98,94 - ((18)(2)(2+1)^2 / 4) ]}{105 - 98,94}$$

$$T_2 = 50,33$$

$$F_t = (1,17) = 4,45; P < 0,05$$

$$T_2 > F_t^*$$

Aplicando las múltiples comparaciones

$$F = \sqrt{\frac{2 \times 18 (105 - 98,94)}{17}} = 3,58$$

$$F = 3,58$$

Ordenando

$$R = | 34 - 25 | = 9$$

$$\therefore 9 > 3,58^*$$



## 2. TEXTURA

	7	18	Total
1	2 (1)	3 (2)	5
2	3 (1)	4 (2)	7
3	3 (1)	4 (2)	7
4	3 (2)	3 (2)	6
5	2 (1)	3 (2)	5
6	2 (1)	3 (2)	5
7	3 (1)	4 (2)	7
8	2 (2)	2 (2)	4
9	3 (1)	4 (2)	7
10	3 (2)	3 (2)	6
11	2 (1)	3 (2)	5
12	3 (2)	3 (2)	6
13	4 (2)	3 (1)	7
14	3 (2)	3 (2)	6
15	3 (1)	4 (2)	7
16	3 (2)	2 (1)	5
17	2 (1)	3 (2)	5
18	3 (2)	3 (2)	6
	49 (26)	57 (34)	106

Calculando el estadístico correspondiente:

$$A_2 = \sum [ (1)^2 + (1)^2 + \dots + (2)^2 + (1)^2 ] = 108$$

$$B_2 = \frac{1}{18} \sum [ (26)^2 + (34)^2 ] = 101,78$$

$$B_2 = 101,78$$

$$T_2 = \frac{(18 - 1) [101,78 - ((18)(2)(2+1)^2 / 4)]}{108 - 101,78}$$

$$T_2 = 56,79$$

$$F_t = (1,17) = 4,45; P < 0,05$$

$$T_2 > F_t^*$$

Aplicando las múltiples comparaciones

$$F = \sqrt{\frac{2 \times 18 (108 - 101,78)}{17}} = 3,63$$

$$F = 3,63$$

Ordenando

$$R = |34 - 26| = 8$$

$$\therefore 8 > 3,63 *$$

## 15 Días

### 1. SABOR

	7	18	Total
1	3 (2)	3 (2)	6
2	3 (1)	4 (2)	7
3	4 (2)	4 (2)	8
4	4 (2)	3 (1)	7
5	4 (2)	3 (1)	7
6	3 (1)	4 (2)	7
7	4 (2)	3 (1)	7
8	4 (2)	4 (2)	8
9	3 (1)	4 (2)	7
10	3 (2)	3 (2)	6
11	4 (2)	4 (2)	8
12	4 (2)	3 (1)	7
13	3 (2)	3 (2)	6
14	4 (2)	3 (1)	7
15	4 (2)	4 (2)	8
16	4 (2)	4 (2)	8
17	2 (1)	3 (2)	5
18	4 (2)	3 (1)	7
	64 (32)	62 (30)	126

Calculando el estadístico correspondiente:

$$A_2 = \sum [(2)^2 + (1)^2 + \dots + (2)^2 + (1)^2] = 114$$

$$B_2 = \frac{1}{18} \sum [(32)^2 + (30)^2] = 106,89$$

$$B_2 = 106,89$$

$$T_2 = \frac{(18 - 1) [ 106,89 - ((18)(2)(2+1)^2 / 4) ]}{114 - 106,89}$$

$$T_2 = 61,90$$

$$F_t = (1,17) = 4,45; P < 0,05$$

$$T_2 > F_t^*$$

Aplicando las múltiples comparaciones

$$F = \sqrt{\frac{2 \times 18 (114 - 106,89)}{17}} = 3,88$$

$$F = 3,88$$

Ordenando

$$R = |32 - 30| = 2$$

$$\therefore 2 < 3,88 \text{ n.s}$$

## 2. TEXTURA

	<b>7</b>	<b>18</b>	<b>Total</b>
1	3 (2)	3 (2)	6
2	3 (2)	2 (1)	5
3	3 (2)	2 (1)	5
4	2 (2)	2 (2)	4
5	3 (2)	2 (1)	5
6	3 (2)	2 (1)	5
7	3 (2)	2 (1)	5
8	3 (2)	2 (1)	5
9	3 (2)	2 (1)	5
10	2 (1)	3 (2)	5
11	4 (2)	3 (1)	7
12	4 (2)	3 (1)	7
13	3 (2)	3 (2)	6
14	2 (1)	3 (2)	5
15	3 (2)	3 (2)	6
16	2 (1)	3 (2)	5
17	3 (2)	2 (1)	5
18	2 (1)	3 (2)	5
	51 (32)	45 (26)	96

Calculando el estadístico correspondiente:

$$A_2 = \sum [ (2)^2 + (2)^2 + \dots + (1)^2 + (2)^2 ] = 102$$

$$B_2 = \frac{1}{18} \sum [ (32)^2 + (26)^2 ] = 94,4$$

$$B_2 = 94,4$$

$$T_2 = \frac{(18 - 1) [ 94,4 - ((18)(2)(2+1)^2 / 4) ]}{102 - 94,4}$$

$$T_2 = 29,97$$

$$F_t = (1, 17) = 4,45; P < 0,05$$

$$T_2 > F_t^*$$

Aplicando las múltiples comparaciones

$$F = \sqrt{\frac{2 \times 18 (102 - 94,4)}{17}} = 4,01$$

$$F = 4,01$$

Ordenando

$$R = | 32 - 26 | = 6$$

$$\therefore 6 > 4,01^*$$

## 30 Días

### 1. SABOR

	7	18	Total
1	3 (2)	2 (1)	5
2	3 (1)	4 (2)	7
3	3 (2)	2 (1)	5
4	4 (2)	3 (1)	7
5	4 (2)	4 (2)	8
6	3 (2)	2 (1)	5
7	4 (2)	3 (1)	7
8	4 (2)	3 (1)	7
9	3 (1)	4 (2)	7
10	3 (1)	4 (2)	7
11	4 (2)	3 (1)	7
12	4 (1)	5 (2)	9
13	5 (2)	4 (1)	9
14	5 (2)	4 (1)	9
15	3 (2)	3 (2)	6
16	4 (2)	3 (1)	7
17	4 (1)	5 (2)	9
18	5 (2)	4 (1)	9
	68 (31)	62 (25)	130

Calculando el estadístico correspondiente:

$$A_2 = \sum [ (2)^2 + (1)^2 + \dots + (2)^2 + (1)^2 ] = 96$$

$$B_2 = \frac{1}{18} \sum [ (31)^2 + (25)^2 ] = 88,11$$

$$B_2 = 88,11$$

$$T_2 = \frac{(18 - 1) [ 88,11 - ((18)(2)(2+1)^2 / 4) ]}{96 - 88,11}$$

$$T_2 = 15,32$$

$$F_t = (1,17) = 4,45; P < 0,05$$

$$T_2 > F_t^*$$

Aplicando las múltiples comparaciones

$$F = \sqrt{\frac{2 \times 18 (96 - 88,11)}{17}} = 4,09$$

$$F = 4,09$$

Ordenando

$$R = |31 - 25| = 6$$

$$\therefore 6 > 4,09^*$$

## 2. TEXTURA

	<b>7</b>	<b>18</b>	<b>Total</b>
1	3 (1)	4 (2)	7
2	2 (1)	3 (2)	5
3	3 (1)	4 (2)	7
4	2 (1)	3 (2)	5
5	2 (1)	3 (2)	5
6	3 (1)	4 (2)	7
7	3 (1)	4 (2)	7
8	2 (1)	3 (2)	5
9	3 (2)	2 (1)	5
10	3 (1)	4 (2)	7
11	3 (1)	4 (2)	7
12	3 (1)	4 (2)	7
13	2 (1)	3 (2)	5
14	2 (1)	3 (2)	5
15	2 (1)	3 (2)	5
16	2 (1)	4 (2)	6
17	2 (1)	3 (2)	5
18	2 (1)	4 (2)	6
	<b>44 (19)</b>	<b>62 (35)</b>	<b>106</b>

Calculando el estadístico correspondiente:

$$A_2 = \sum [ (1)^2 + (1)^2 + \dots + (2)^2 + (2)^2 ] = 90$$

$$B_2 = \frac{1}{18} \sum [ (19)^2 + (35)^2 ] = 88,11$$

$$B_2 = 88,11$$

$$T_2 = \frac{(18 - 1) [ 88,11 - ((18)(2)(2+1)^2 / 4) ]}{90 - 88,11}$$

$$T_2 = 63,95$$

$$F_t = (1,17) = 4,45; P < 0,05$$

$$T_2 > F_t^*$$

Aplicando las múltiples comparaciones

$$F = \sqrt{\frac{2 \times 18 (90 - 88,11)}{17}} = 2,00$$

$$F = 2,00$$

Ordenando

$$R = | 35 - 19 | = 14$$

$$\therefore 14 > 2,00^*$$



## 45 Días

### 1. SABOR

	<b>7</b>	<b>18</b>	<b>Total</b>
1	3 (1)	4 (2)	7
2	3 (1)	4 (2)	7
3	3 (2)	3 (2)	6
4	4 (2)	3 (1)	7
5	4 (2)	3 (1)	7
6	4 (2)	4 (2)	8
7	4 (2)	3 (1)	7
8	3 (2)	3 (2)	6
9	3 (1)	4 (2)	7
10	3 (2)	3 (2)	6
11	4 (2)	4 (2)	8
12	3 (2)	3 (2)	6
13	3 (1)	4 (2)	7
14	4 (2)	4 (2)	8
15	4 (2)	3 (1)	7
16	4 (2)	4 (2)	8
17	4 (1)	5 (2)	9
18	4 (2)	4 (2)	8
	<b>64 (31)</b>	<b>65 (33)</b>	<b>129</b>

Calculando el estadístico correspondiente:

$$A_2 = \sum [ (1)^2 + (1)^2 + \dots + (1)^2 + (1)^2 ] = 117$$

$$B_2 = \frac{1}{18} \sum [ (31)^2 + (33)^2 ] = 113,89$$

$$B_2 = 113,89$$

$$T_2 = \frac{(18 - 1) [ 113,89 - ((18)(2)(2+1)^2 / 4) ]}{117 - 113,89}$$

$$T_2 = 179,78$$

$$F_t = (1, 17) = 4,45; P < 0,05$$

$$T_2 > F_t^*$$

Aplicando las múltiples comparaciones

$$F = \sqrt{\frac{2 \times 18 (117 - 113,89)}{17}} = 2,57$$

$$F = 2,57$$

Ordenando

$$R = |33 - 31| = 2$$

$$\therefore 2 < 2,57 *$$

## 2. TEXTURA

	<b>7</b>	<b>18</b>	<b>Total</b>
1	2 (2)	2 (2)	4
2	2 (1)	3 (2)	5
3	2 (1)	3 (2)	5
4	2 (1)	3 (2)	5
5	2 (2)	2 (2)	4
6	2 (2)	2 (2)	4
7	2 (1)	3 (2)	5
8	3 (2)	2 (1)	5
9	2 (1)	3 (2)	5
10	2 (1)	3 (2)	5
11	2 (2)	2 (2)	4
12	3 (2)	2 (1)	5
13	2 (1)	3 (2)	5
14	2 (1)	3 (2)	5
15	3 (2)	3 (2)	6
16	2 (1)	3 (2)	5
17	2 (1)	3 (2)	5
18	2 (1)	3 (2)	5
	<b>39 (25)</b>	<b>48 (34)</b>	<b>87</b>

Calculando el estadístico correspondiente:

$$A_2 = \sum [ (2)^2 + (1)^2 + \dots + (2)^2 + (2)^2 ] = 105$$

$$B_2 = \frac{1}{18} \sum [ (25)^2 + (34)^2 ] = 98,94$$

$$B_2 = 98,94$$

$$T_2 = \frac{(18 - 1) [ 98,94 - ((18)(2)(2+1)^2 / 4) ]}{105 - 98,94}$$

$$T_2 = 50,33$$

$$F_t = (1, 17) = 4,45; P < 0,05$$

$$T_2 > F_t^*$$

Aplicando las múltiples comparaciones

$$F = \sqrt{\frac{2 \times 18 (105 - 98,94)}{17}} = 3,58$$

$$F = 3,58$$

Ordenando

$$R = | 34 - 25 | = 9$$

$$\therefore 9 > 3,58^*$$

## 60 Días

### 1. SABOR

	<b>07</b>	<b>18</b>	<b>Total</b>
1	3 (1)	4 (2)	7
2	3 (1)	4 (2)	7
3	3 (2)	3(2)	6
4	4 (2)	3 (1)	7
5	2 (1)	4 (2)	6
6	4 (2)	3 (1)	7
7	3 (1)	4 (2)	7
8	3 (1)	4 (2)	7
9	3 (1)	4 (2)	7
10	3 (1)	4 (2)	7
11	3 (1)	4 (2)	7
12	4 (2)	3 (1)	7
13	2 (1)	3 (2)	5
14	3 (2)	3 (2)	6
15	4 (2)	3 (1)	7
16	3 (1)	4 (2)	7
17	3 (1)	4 (2)	7
18	3 (2)	2 (1)	5
	<b>56 (25)</b>	<b>63 (31)</b>	<b>119</b>

Calculando el estadístico correspondiente:

$$A_2 = \sum [ (1)^2 + (1)^2 + \dots + (2)^2 + (1)^2 ] = 96$$

$$B_2 = \frac{1}{18} \sum [ (25)^2 + (31)^2 ] = 88,11$$

18

$$B_2 = 88,11$$

$$T_2 = \frac{(18 - 1) [ 88,11 - ((18)(2)(2+1)^2 / 4) ]}{96 - 88,11}$$

$$T_2 = 15,32$$

$$F_t = (1,17) = 4,45; P < 0,05$$

$$T_2 > F_t^*$$

Aplicando las múltiples comparaciones

$$F = \sqrt{\frac{2 \times 18 (96 - 88,11)}{17}} = 4,09$$

$$F = 4,09$$

Ordenando

$$R = |31 - 25| = 6$$

$$\therefore 6 > 4,09^*$$

## 2. TEXTURA

	07	18	Total
1	3 (1)	4 (2)	7
2	2 (1)	4 (2)	6
3	2 (1)	3 (2)	5
4	2 (1)	3 (2)	5
5	3 (2)	3 (2)	6
6	2 (1)	3 (2)	5
7	2 (2)	2 (2)	4
8	2 (2)	2 (2)	4
9	2 (1)	3 (2)	5
10	3 (2)	3 (2)	6
11	2 (2)	2 (2)	4
12	3 (2)	2 (1)	5
13	2 (2)	2 (2)	4
14	2 (1)	4 (2)	6
15	2 (1)	3 (2)	5
16	2 (2)	2 (2)	4
17	2 (1)	4 (2)	6
18	2 (1)	3 (2)	5
	40 (26)	52 (35)	92

Calculando el estadístico correspondiente:

$$A_2 = \sum [(1)^2 + (1)^2 + \dots + (2)^2 + (2)^2] = 111$$

$$B_2 = \frac{1}{18} \sum [ (26)^2 + (35)^2 ] = 105,61$$

$$B_2 = 105,61$$

$$T_2 = \frac{(18 - 1) [ 105,61 - ((18)(2)(2+1)^2 / 4) ]}{111 - 105,61}$$

$$T_2 = 77,62$$

$$F_t = (1,17) = 4,45; P < 0,05$$

$$T_2 > F_t^*$$

Aplicando las múltiples comparaciones

$$F = \sqrt{\frac{2 \times 18 (111 - 105,61)}{17}} = 3,38$$

$$F = 3,38$$

Ordenando

$$R = | 35 - 26 | = 9$$

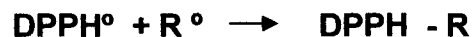
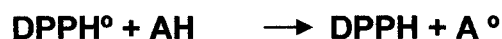
$$\therefore 9 > 3,38^*$$

## A-VII. Protocolo del metodo de 2,2-Difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)

### Evaluación de la actividad antioxidante

#### 1. Principio

El radical libre y estable 2,2-Difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) es un indicador para medir su capacidad de secuestro de cualquier compuesto con actividad antioxidativa. Su mecanismo de reacción consiste en la sustracción de un átomo de hidrogeno proveniente de un donador (ej. Compuesto fenólico) para generar el compuesto difenilpicrilhidrazine y una especie radical (ej. Radical fenoxil). La reacción desarrolla un cambio de color violeta a amarillo a medida que disminuye la absorbancia a 517 nm. La reducción de DPPH sigue la siguiente reacción:



DPPH<sup>°</sup> : Forma radical de DPPH

AH : Antioxidante

R<sup>°</sup> : Especies radicales

#### 2. Materiales

- Espectrofotómetro UV/vis.
- Cubetas de poliestireno (1cm x 1cm x 4,5 cm)
- Micropipetas (1000ul, 200ul, 100ul)
- Pipetas, tips.

#### 3. Reactivos

- 2,2-Difenil-1-picrilhidrazil (DPPH).

- 95% Etanol.
- Agua destilada.

#### 4. Procedimiento

- ✓ Preparar las siguientes soluciones stock en agua destilada.

##### **Soluciones**

1 mM DPPH en 95% Etanol. 10 ml.

Luego de preparar la solución de DPPH vortexear por 2-3 minutos hasta una completa solubilización del compuesto. Almacenar a 4°C protegido de la luz. Una vez preparado la solución stock se recomienda hacer uso de ello por una semana, luego descartar.

- ✓ A partir de la solución stock preparar 20 ml de 100  $\mu$ M DPPH en 95% etanol.

**Las concentraciones finales de DPPH pueden variar de acuerdo al investigador y a las condiciones del experimento.**

**Se sugiere utilizar concentraciones entre (50 - 100  $\mu$ M).**

Al mismo tiempo, preparar concentraciones crecientes a partir de la solución stock. Las concentraciones de las muestras es 2x de la concentración final.

- ✓ Agregar 500  $\mu$ L de muestra a 500  $\mu$ L de la solución de 100  $\mu$ M DPPH en una cuveta de poliestireno.

**Nota:** En esta etapa del experimento es crítico mantener un adecuado uso de micropipetas, especialmente con compuestos que reaccionan rápidamente con DPPH.



- ✓ La inhibición de los radicales libres DPPH<sup>o</sup> es determinado por la decoloración de la solución de violeta a amarillo, el cual es medido por espectrofotometría a 517 nm. A medida que hay un mayor secuestro de los radicales libres por un antioxidante, la absorbancia disminuye.

## 5. Cálculos

Para calcular la capacidad de secuestro de radicales DPPH<sup>o</sup> por un compuesto desconocido, utilizar la siguiente expresión:

$$\% \text{ DPPH inhibición} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{muestra (t)}}) / A_{\text{control}}] \times 100$$

**Donde:**

$A_{\text{control}}$  : Absorbancia del control.

$A_{\text{muestra (t)}}$  : Absorbancia del compuesto experimental en tiempo t.

Muestras y controles deben correrse por triplicado para conseguir una mejor precisión y reproducibilidad de datos.