

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA**

**FACULTAD DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS  
DEPARTAMENTO ACADEMICO DE CIENCIA, TECNOLOGÍA E  
INGENIERÍA DE ALIMENTOS.**



**“ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN HOJA Y CORTEZA DE PICHIRINA  
COLORADA (*Vismia cayennensis*), ATOMIZACION Y APLICACION  
EN UNA BEBIDA FUNCIONAL.”**

**Tesis**

**Para optar el título de:**

**INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

**DANIZA DOMÍNGUEZ RENGIFO**

**PROMOCIÓN 2007 - II**

**Tingo María - Perú**

**2009**

F60

D74

Domínguez Rengifo, Daniza

Actividad Antioxidante en Hoja y Corteza de Pichirina Colorada (*Vismia cayennensis*), Atomización y Aplicación en una Bebida Funcional. Tingo María, 2009

54 h.; 22 cuadros; 19 fgrs.; 40 ref.; 30 cm.

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

VISMIA CAYENNENSIS / ANTIOXIDANTES / ATOMIZACIÓN /

BEBIDA FUNCIONAL / POLIFENOLES / 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 27 de Abril de 2009, a horas 7:00 p.m. en la Sala de Audiovisuales de la Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias 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 la Bach. **DOMINGUEZ RENGIFO, Daniza** titulado:

**“ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN HOJA Y CORTEZA DE PICHIRINA COLORADA (*Vismia cayennensis*), ATOMIZACIÓN Y APLICACIÓN EN UNA BEBIDA FUNCIONAL”**

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. 22° de la Ley Universitaria 23733; los artículos 51° y 52° del Estatuto Actualizado de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.

Tingo María, 27 de Abril de 2009

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

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

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

.....  
Ing. Jhony W. Vargas Solórzano  
Asesor

## DEDICATORIA

### A DIOS

Por darme la vida, madurez, perseverancia  
para superar todas las barreras, y así alcanzar  
mis metas.

A mis padres **Gregorio y Loydith**

por brindarme su apoyo y creer  
siempre en mí.

A mi querida madre **Loydith**

por brindarme su comprensión y apoyo incondicional durante todos los  
años de mis estudios hasta lograr el objetivo trazado.

## **AGRADECIMIENTO**

- Al Ing. Jhony Vargas Solórzano, Asesor, por sus orientaciones y enseñanzas en la conducción de mi tesis.
- A mi amiga Ing. Vanessa Melchor Sandoval, por sus enseñanzas y apoyo técnico durante mi permanencia en el CIPNA – UNAS.
- Al Dr. Manuel Sandoval Chacón, coasesor, por permitirme trabajar en el Centro de Investigación de Productos Naturales de la Amazonía (CIPNA) de la UNAS, Tingo María, por sus orientaciones en la conducción de este trabajo de investigación
- A mis padres, Gregorio y Loydith, por haberme brindado aliento en medio de las dificultades y forjarme una profesión.
- Al personal de laboratorio de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, por las facilidades brindadas en el secado de las muestras.

## ÍNDICE

	Pag.
<b>I. INTRODUCCION.....</b>	<b>05</b>
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA.....</b>	<b>07</b>
2.1. ASPECTOS GENERALES DE LA <i>VISMIA CAYENNENSIS</i> .....	07
2.2. RADICALES LIBRES .....	08
2.3. ANTIOXIDANTES.....	10
2.4. POLIFENOLES.....	13
2.5. SECADO POR ASPERSIÓN .....	15
2.6. ALIMENTOS FUNCIONALES.....	17
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>20</b>
3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN.....	20
3.2. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS.....	20
3.2.1. Materia prima.....	20
3.2.2. Materiales.....	20
3.2.3. Equipos de laboratorio.....	21

3.2.4. Reactivos.....	22
3.3. MÉTODOS DE ANÁLISIS.....	22
3.3.1. Evaluación de la actividad antioxidante en hoja y corteza.....	22
3.3.2. Cuantificación de polifenoles totales.....	22
3.3.3. Cuantificación de catequinas.....	22
3.3.4. Análisis sensorial de la bebida funcional.....	22
3.4. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL.....	23
3.4.1. Evaluación de la actividad antioxidante y cuantificación de polifenoles totales en hoja y corteza .....	23
3.4.2. Obtención del producto atomizado.....	28
3.4.3. Elaboración de la bebida funcional.....	30
3.5. DISEÑO EXPERIMENTAL.....	32
3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	34
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>35</b>
4.1. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES EN HOJA Y CORTEZA.....	35

4.2. EVALUACIÓN DEL PRODUCTO ATOMIZADO .....	44
4.3. EVALUACIÓN SENSORIAL DE LA BEBIDA FUNCIONAL.....	44
<b>V. CONCLUSIONES.....</b>	<b>46</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES .....</b>	<b>47</b>
<b>VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>48</b>
<b>VIII. ANEXO .....</b>	<b>54</b>



## ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1	Balance de materia en la obtención de la hoja seca..... 35
Cuadro 2	Balance de materia en la obtención de la corteza seca ..... 36
Cuadro 3	Balance de materia en la preparación del extracto acuoso..... 37
Cuadro 4	Balance de materia en la preparación del extracto hidroalcohólico..... 38
Cuadro 5	% de inhibición de la <i>Vismia cayennensis</i> al radical DPPH..... 39
Cuadro 6	Coefficiente de inhibición de los extractos hidroalcohólicos y acuosos de hoja y corteza..... 40
Cuadro 7	Cuantificación de polifenoles totales de los extractos hidroalcohólicos y acuosos de hoja y corteza de Pichirina ..... 42
Cuadro 8	Evaluación del olor, color y sabor de la bebida funcional a diferentes concentraciones..... 44
Cuadro 9	Análisis de varianza del IC <sub>50</sub> de los extractos hidroalcohólicos y acuosos de hoja y corteza..... 59
Cuadro 10	Capacidad de inhibir DPPH del extracto hidroalcohólico de hoja (T1)..... 59

Cuadro 11	Capacidad de inhibir DPPH del extracto acuoso de hoja (T2).....	59
Cuadro 12	Capacidad de inhibir DPPH del extracto acuoso corteza (T3)....	60
Cuadro 13	Capacidad de inhibir DPPH del extracto hidroalcohólico de corteza (T4).....	60
Cuadro 14	Capacidad de inhibir DPPH del extracto atomizado de hoja / extracción acuosa (T5).....	60
Cuadro 15	Capacidad de inhibir DPPH del extracto atomizado de hoja/ extracción hidroalcohólica (T6).....	61
Cuadro 16	Capacidad de inhibir DPPH del extracto atomizado de corteza / extracción acuosa de(T7).....	61
Cuadro 17	Capacidad de inhibir DPPH del extracto atomizado de corteza / extracción hidroalcohólica (T8).....	61
Cuadro 18	Análisis de varianza del contenido de polifenoles totales en los extractos de hoja y corteza.....	63
Cuadro 19	Análisis de varianza de la evaluación del olor de la bebida funcional de Pichirina colorada.....	63
Cuadro 20	Análisis de varianza de la evaluación del color de la bebida funcional de Pichirina colorada.....	64

Cuadro 21	Análisis de varianza de la evaluación del sabor de la bebida funcional de Pichirina colorada.....	64
Cuadro 22	Escala hedónica para la evaluación sensorial.....	65

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1	Etapas del proceso de secado por aspersión ..... 17
Figura 2	Diagrama de flujo de la obtención de la muestra seca ..... 25
Figura 3	Diagrama de flujo de la preparación de los extractos acuosos e hidroalcohólico ..... 27
Figura 4	Diagrama de la obtención del producto atomizado..... 30
Figura 5	Flujograma de la elaboración de la bebida funcional..... 31
Figura 6	Esquema experimental para la evaluación de la A.A, cuantificación de polifenoles y obtención del producto producto atomizado..... 33
Figura 7	Esquema experimental para la evaluación sensorial de la bebida funcional..... 34
Figura 8	Coefficiente de inhibición ( $IC_{50}$ ) de extractos hidroalcohólicos y acuoso de hoja y corteza de Pichirina colorada..... 42
Figura 9	Contenido de polifenoles totales expresados en catequina, en los extractos hidroalcohólicos y acuosos ..... 44
Figura 10	% de inhibición del radical DPPH de la hoja blanqueado /

	extracción hidroalcohólica a diferentes concentraciones	55
Figura 11	% de inhibición del radical DPPH de la hoja banqueado/ extracción acuoso a diferentes concentraciones.....	55
Figura 12	% de inhibición del radical DPPH de la corteza / extracción acuosa a diferentes concentraciones.....	56
Figura 13	% de inhibición del radical DPPH de la corteza / extracción hidroalcohólica a diferentes concentraciones.....	56
Figura 14	% de inhibición del radical DPPH del extracto atomizado de hoja / extracción acuoso a diferentes concentraciones.....	57
Figura 15	% de inhibición del radical DPPH del extracto atomizado de hoja /ext. hidroalcohólica a diferentes concentraciones.....	57
Figura 16	% de inhibición del radical DPPH del extracto atomizado de corteza / extracción acuoso a diferentes concentraciones.....	58
Figura 17	% de inhibición del radical DPPH del extracto atomizado de corteza / ext. hidroalcohólica a diferentes concentraciones...	58
Figura 18	Curva estándar de catequina para la cuantificación de polifenoles totales.....	62
Figura 19	Curva estándar cuantificación de (+)-catequina por HPLC.	62

## RESUMEN

La *Vismia cayennensis* es común en los bosques ribereños y secundarios de Guyana y Perú. El objetivo fué evaluar la actividad antioxidante de hojas y cortezas de Pichirina colorada y, obtener un producto atomizado para su uso como bebida funcional. Las hojas y corteza de Pichirina colorada se recolectaron en horas de la mañana, de la hoja y corteza seca se prepararon extractos acuosos e hidroalcohólicos, y se determinó su actividad antioxidante por el método DPPH, la cuantificación de polifenoles totales por el método de Folín - Ciocalteu, la catequina por cromatografía líquida de alta performancia (HPLC). Finalmente se preparó la bebida funcional, y se evaluaron los atributos olor, color, sabor a concentraciones 0.5, 1, 2 g / L. En la actividad antioxidante se obtuvo mejores resultados en el tratamiento T5 extracto atomizado de hoja / extracción acuoso con  $IC_{50}$  de  $7.290 \pm 0.153 \mu\text{g/ml}$  ( $p < 0.05$ ), en el contenido de polifenoles totales se obtuvo mejores resultados en el tratamiento extracto atomizado de hoja / extr. acuosa con  $682.834 \pm 8.437$  y el tratamiento extracto atomizado de corteza / extr. acuoso con  $631.529 \pm 20.08$  mg catequina/ g hoja seca ( $p < 0.05$ ). En cuanto a la catequina, no se detectó su presencia en extracto atomizado de hoja / extr. acuosa. En la bebida funcional no se encontró diferencia significativa para el atributo olor, para los atributos color y sabor sí se encontró diferencia significativa, y la concentración de 0.5 g/ L fué la preferida entre los panelistas. Según los resultados obtenidos el T5 extracto atomizado de hoja / extr. acuosa tiene una mayor A.A, y el extracto atomizado de hoja y corteza mayor / ext. acuosa contenido de polifenoles totales.

Palabras clave: antioxidantes, polifenoles, *Vismia cayennensis*.

## I. INTRODUCCIÓN

En los países industrializados ha cambiando el concepto de nutrición, pasando del papel de la dieta de aportar los nutrientes necesarios, a la idea de que la dieta puede contener alimentos que, además de nutrir, promuevan específicamente la salud. Así surge el concepto del «alimento funcional» (AF), amplio abanico de productos nutritivos y no nutritivos que no sólo alimentan, sino que modulando o actuando sobre determinadas funciones y elementos del organismo, tienen un efecto beneficioso en la salud del individuo. En estos últimos años el consumo de antioxidantes naturales se ha incrementado a través de alimentos y bebidas funcionales (FERRER, 2 001)

La fuente de antioxidantes naturales se encuentra en hojas, cortezas, frutos y raíces de diversas plantas, llamadas plantas medicinales consumidas desde tiempos ancestrales y que tradicionalmente se consumen como infusiones.

En la selva peruana, podemos encontrar plantas con propiedades antioxidantes que son utilizadas para el tratamiento de diferentes enfermedades, y muchas de ellas aún no han sido estudiadas, en la que se incluye a la Pichirina colorada (*Vismia cayennensis*). Según fuentes etnobotánicas esta planta se usa para dolores estomacales, infecciones y como laxante, consumiéndose en forma de infusiones.

No hay reportes de estudios de la actividad antioxidante de la Pichirina colorada. Se sabe que los antioxidantes reaccionan con los radicales libres del

oxígeno, haciendo que éstas se transformen en sustancias estables. Los antioxidantes controlan la presencia de radicales libres en el organismo, puesto que éstos causan daño a la estructura y a la función de las membranas celulares, pudiendo ser dañadas el DNA de las proteínas de la célula. Estos daños se han relacionado con el inicio de muchas enfermedades degenerativas tales como cáncer, arterosclerosis, cataratas, y degeneración macular relativa a la edad así como al envejecimiento prematuro (RAMOS, 2 007).

Los objetivos del trabajo de investigación fueron:

- Evaluar la actividad antioxidante de hojas y cortezas de Pichirina colorada (*Vismia cayennensis*) por la técnica de DPPH.
- Cuantificar el contenido de polifenoles totales, en hoja y corteza de Pichirina colorada.
- Obtener un producto atomizado a partir del extracto con mayor actividad antioxidante y contenido en polifenoles totales, cuantificando el contenido de catequina.
- Elaborar una bebida funcional con el producto atomizado, y evaluar sus características sensoriales de olor, color y sabor de la bebida.



## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. ASPECTOS GENERALES DE LA *VISMIA CAYENNENSIS*

Es muy común en los bosques secundarios y ribereños de Guyana y Perú. El inventario de las purmas de Pucallpa reporta una abundancia de 14 árboles / ha, incluyendo otras especies de *Vismia* (ROOSMALEN, 1 985).

#### 2.1.1. Aspectos botánicos

##### a. Morfología

El árbol, es de 3 – 12 m de alto ó arbusto, fuste cilíndrico de 8 – 15 cm. de diámetro aproximado. Corteza externa, ligeramente fisurada. Ritidoma en placas rectangulares pequeñas y leñosas. Corteza interna, laminar, pardo claro; secreta gotitas de látex amarillento o anaranjado – rojizo.

Las hojas, simples, opuestas, decusadas o algo dísticas, elipticolanceoladas y glabras. Ramitas terminales, redondo cuadrangulares en los entrenudos y rectangulares acanalados en los nudos. Yema terminal en forma de lanza, glabra y verde. Las flores, en panículas terminales; cáliz persistente en los frutos, algo estrellado – tormentosos; corola con pétalos blanco lanosos por dentro y glabros por fuera; 5 columnas estaminales; ovario súpero, 4 estigmas.

El fruto, baya ovoide a elipsoide o subglobosos, verde – azulado con puntitos rojos en la mitad superior y blancuzco lanoso en el ápice (ROOSMALEN, 1 982).

**b. Taxonomía**

Familia : Guttiferae.

Género : *Vismia*.

Especie : cayennensis (Jack.) Pers.

Nombre vulgar : Pichirina colorada, pichirina negra, pichirina amarilla.

**2.2. RADICALES LIBRES**

Los radicales libres son átomos o grupos de átomos que tienen un electrón desapareado o libre, por lo que son muy reactivos ya que tienden a captar un electrón de moléculas estables con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica. Una vez que el radical libre ha conseguido sustraer el electrón que necesita, la molécula estable 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 (DAJAS, 2 001).

Los radicales libres no son intrínsecamente letales; de hecho, nuestro propio cuerpo los produce en cantidades moderadas para luchar contra bacterias y virus (AVELLO, 2 005).

Las especies de oxígeno reactivo son producidas continuamente en una alta proporción como resultado del metabolismo aeróbico. Es decir, nuestro propio organismo crea las condiciones que contribuirán al declinamiento de las funciones vitales. En nosotros reside un enemigo interno que conspira para nuestra muerte y que se hace más patente con la edad (GONZÁLES, 2 000).

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 (DAJAS, 2 001).

Los radicales libres se generan durante el metabolismo, mientras las células del organismo transforman los alimentos en energía (DÍAZ *et al.*, 1 996).

Las especies reactivas de oxígeno pueden atacar componentes celulares vitales, dañar membranas celulares, inactivar enzimas, alterar el material genético a nivel del núcleo celular u oxidar lipoproteínas (ZÚÑIGA, 2 005).

Dentro de los oxidantes se encuentran: Superóxido ( $O_2^-$ ), peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), oxígeno aislado ( $O_2$ ), oxígeno singlete ( $^1O_2$ ), oxígeno nítrico (NO), peróxido (ROO), ozono (GONZÁLES *et al.*, 2 000).

El estrés oxidativo se produce cuando existe un desbalance entre la producción de especies radicalarias del oxígeno y las defensas naturales contra ellas (DAJAS, 2 001).

La producción de radicales es un fenómeno continuo con implicaciones en el envejecimiento y la carcinogénesis (GARCÍA *et al.*, 2 001).

El mecanismo por el que los radicales libres producen sus efectos transcurre mediante una reacción radicalaria, en la que se forman especies reactivas oxigenadas, que son los que producen los efectos nocivos. Este proceso se ve favorecido por la presencia de oxígeno y de luz ultravioleta, que inicia la formación de radicales libres (RIVERO *et al.*, 2 006).

### 2.3. ANTIOXIDANTES

Los antioxidantes son un grupo de moléculas, reconocidas por su capacidad para neutralizar los radicales libres; estas sustancias han surgido como alternativa para combatir deficiencias asociadas al estrés oxidativo, tales como las enfermedades cardiovasculares, reumáticas y a eventos tan comunes en los seres humanos como el envejecimiento (LÓPEZ, 2 007).

Un antioxidante es una sustancia capaz de neutralizar la acción oxidante de los radicales libres, liberando electrones en nuestra sangre que son captados por los radicales libres, manteniendo su estabilidad (AVELLO, 2 006).

Los antioxidantes "neutralizan", o bloquean la recepción en las moléculas del radical libre del oxígeno, que puede causar daño a la estructura y a la función de las membranas celulares, el DNA de las proteínas de la célula pueden ser dañados (RAMOS, 2 007).

Los antioxidantes impiden que otras moléculas se unan al oxígeno, al reaccionar-interactuar más rápido con los radicales libres del oxígeno y las especies reactivas del oxígeno que con el resto de las moléculas presentes, en un determinado microambiente – membrana plasmática, citosol, núcleo o líquido extracelular .La acción del antioxidante es de sacrificio de su propia integridad molecular para evitar alteraciones de moléculas -lípidos, proteínas, ADN, etc. funcionalmente vitales o más importantes. Su acción la realizan tanto en medios hidrofílicos como hidrofóbicos (VENEREO, 2 002).

Los antioxidantes son sustancias que detienen o previenen una cadena

de propagación oxidativa, mediante la estabilización del radical generado (radical libre). Nuestro organismo posee antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos para protegerse de estos radicales, sin embargo otra fuente muy importante de ellos son las plantas, y precisamente el estudio de estos compuestos es prioritario por su rol en la protección del cuerpo humano en contra de un número considerable de enfermedades degenerativas, las evidencias experimentales sugieren que protegen de manera importante las funciones biológicas de las células en contra de la actividad de los radicales libres (estrés oxidativo)( TREVIÑO, 2 002).

Los antioxidantes pueden participar por medio de diferentes mecanismos: deteniendo la reacción en cadena de oxidación de las grasas; eliminando el oxígeno atrapado o disuelto en el producto; eliminando las trazas de ciertos metales, como el cobre o el hierro, que facilitan la oxidación. Los que actúan por los dos primeros mecanismos son los antioxidantes propiamente dichos, mientras que los que actúan de la tercera forma se agrupan en la denominación legal de "sinérgicos de antioxidantes", o más propiamente, agentes quelantes (YAHUACA *et al*, 2 001).

Según CANO *et al*, 2 004; entre las funciones de los antioxidantes tenemos:

Los antioxidantes naturales que se encuentran en plantas aromáticas, pueden ser utilizados en sistemas alimenticios para: prevenir la oxidación de aceites y grasas o alimentos que contengan lípidos.

En la prevención de enfermedades degenerativas tales como las cardiovasculares y neurológicas, diferentes tipos de cánceres y otras disfunciones relacionadas con el estrés oxidativo.

El mecanismo de defensa antioxidante del organismo ante las especies reactivas tiene dos orígenes: Uno endógeno, los enzimas, y otro exógeno, los compuestos antioxidantes, que el organismo deberá incorporar a través de la ingesta diaria. Los compuestos antioxidantes no enzimáticos son, entre otros, la vitamina E, la vitamina C, los carotenoides, diversos minerales y los polifenoles. Los enzimas antioxidantes catalizan la desactivación selectiva de las especies reactivas generadas. Además, existen enzimas de degradación que eliminan aquellos componentes que las especies reactivas hayan alterado. El recambio celular por el cual las estructuras y los materiales alterados se eliminan y se resintetizan de nuevo es capital para evitar la acumulación de material inservible, que podría generar graves disfunciones (TUR, 2 004).

Entre los antioxidantes más conocidos figuran los tocoferoles, el ácido ascórbico, los flavonoides (quercitina, robinutina, luteolina, kaempferol, naringenina, catequinas, etc), antocianinas, carotenoides, ácidos fenólicos como: cafeico, ferúlico, gálico, clorogénico (CHAVES *et al.*, 2 000).

Debido a estos beneficios se ha realizado trabajos de investigación de la capacidad antioxidante entre ellas tenemos:

MELCHOR *et al.*, 2 002, evaluó la actividad antioxidante del té verde (*Camellia sinensis*) a diferentes tiempos de blanqueo (15, 30, 45, 60 seg.),

obtuvo valores de 83.61%, 86.32%, 83.36% y 85.08% respectivamente, todos a la concentración de 100 µg/ml, con un IC<sub>50</sub> de 47.59 µg /ml, 47.47 µg /ml, 47.12 µg /ml, 46.39 µg /ml, respectivamente.

GAVIRIA *et al.*, 2 007, extrajo el pigmento de *Attalea butyracea* y evaluó su capacidad atrapadora de radicales DPPH, encontrándose un IC<sub>50</sub> de 141.4 µg/ ml.

MURILLO *et al.*, 2 007, se evaluó la actividad antioxidante de los extractos etanólicos y acuosos de la corteza y hoja (EC, EH, AC, AH)de *Bauhinia kalbreyeri* Harms, midiendo su capacidad de captación de radicales libres utilizando el método del 1,1 difenil- 2- picrilhidrazil (DPPH),encontrándose una actividad secuestrante del radical DPPH mayor a 90 % a una concentración de 40 µg/ml; y un IC<sub>50</sub> de 18.75 µg/ml, 18.42 µg/ml, 27 µg/ml, 28.30 µg/ml respectivamente.

## 2.4. POLIFENOLES

Los polifenoles son un conjunto heterogéneo de moléculas, que poseen en su estructura varios grupos bencénicos, sustituidos por funciones hidroxílicas ; se encuentran en muchas plantas, algunas de uso común y por sus propiedades antioxidantes merecen mayor atención (HERNÁNDEZ *et al*, 1 999).

Los polifenoles, conjunto heterogéneo de moléculas, con actividad antioxidante, incluye a los fenoles ácidos y flavonoides (DRAGO, *et al*, 2 006).

Los polifenoles pueden interferir en distintas etapas que conducen al desarrollo de tumores malignos al proteger al DNA del daño oxidativo, inactivando de este modo los carcinógenos, inhibiendo la expresión de los genes mutágenos y de la actividad de las enzimas encargadas de la actividad de procarcinógenos, activando los sistemas enzimáticos responsables de la detoxificación de xenobióticos (GARCÍA, 2 005).

En los últimos años, ha cobrado especial interés la capacidad antioxidante que presentan determinados polifenoles, especialmente flavonoides (entre ellos la catequina), que es el grupo mejor definido entre los polifenoles de la dieta humana, presentes en diferentes vegetales (GUTIERREZ, 2 002). Hoy en día ya se conocen más de 5000 flavonoides diferentes (VALLS, 2 003).

Los polifenoles están relacionados con la calidad sensorial de los alimentos de origen vegetal, tanto frescos como procesados, contribuyen a la pigmentación de los alimentos vegetales a través de las antocianidinas (RAMOS *et al*, 2 005).

Los polifenoles son los antioxidantes más abundante en nuestra dieta, ya que la ingesta media diaria esta alrededor de 1 g, lo cual significa 10 veces mas que la ingesta de vitamina C, 100 veces más que la ingesta de vitamina E y 500 veces más que la ingesta de carotenoides (GARCÍA *et al*, 2 006).

La mayoría de los polifenoles de la madera son coloreados. Los elagitaninos poseen colores claros preferentemente amarillos, y los taninos condensados rojos oscuros o marrones (NUÑEZ, 2 002).



Entre las investigaciones realizadas de cuantificación de polifenoles totales tenemos:

CHEN *et al.*, 2 007, evaluó la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles de las hojas secas y frutos secos de guayaba. Los extractos de hojas de diferentes cultivares de guayaba (Hong Ba, Shi Ba Ji, Shui Jing Ba y Tu Ba) mostraron los siguientes resultados: Hong Ba, 294 mg (+)- catequina / g hoja seca; Shi Ji Ba, 296 mg (+)- catequina / g hoja seca; Shui Jing Ba, 267 mg (+)- catequina / g hoja seca; Tu Ba, 317 mg (+)- catequina / g hoja seca.

## **2.5. SECADO POR ASPERSION (ATOMIZACION)**

Por definición, corresponde a la transformación de un fluido en un material sólido, atomizándolo en forma de gotas minúsculas en un medio de secado en caliente. El principio del secado por aspersion es la producción de un polvo seco por medio de la atomización de una emulsión en una corriente de aire caliente en una cámara de secado. El agua se evapora instantáneamente, permitiendo que el material activo presente en la emulsión, quede atrapado dentro de una película de material encapsulante. Una de las grandes ventajas de este proceso, además de su simplicidad, es que es apropiado para materiales sensibles al calor, ya que el tiempo de exposición a temperaturas elevadas es muy corto 5 a 30 segundos (ANÓNIMO, 2 006).

Este proceso es uno de deshidratación, pero se considera también de encapsulación ya que puede producir partículas que atrapan el material a cubrir. Por definición, corresponde a la transformación de un fluido en un

material sólido, atomizándolo en forma de gotas minúsculas en un medio de secado en caliente. La distribución del tamaño de las partículas obtenidas por este método es en general menor a 100  $\mu\text{m}$ , aunque hay que destacar que ello depende de las condiciones del proceso (DEASY, 1 983).

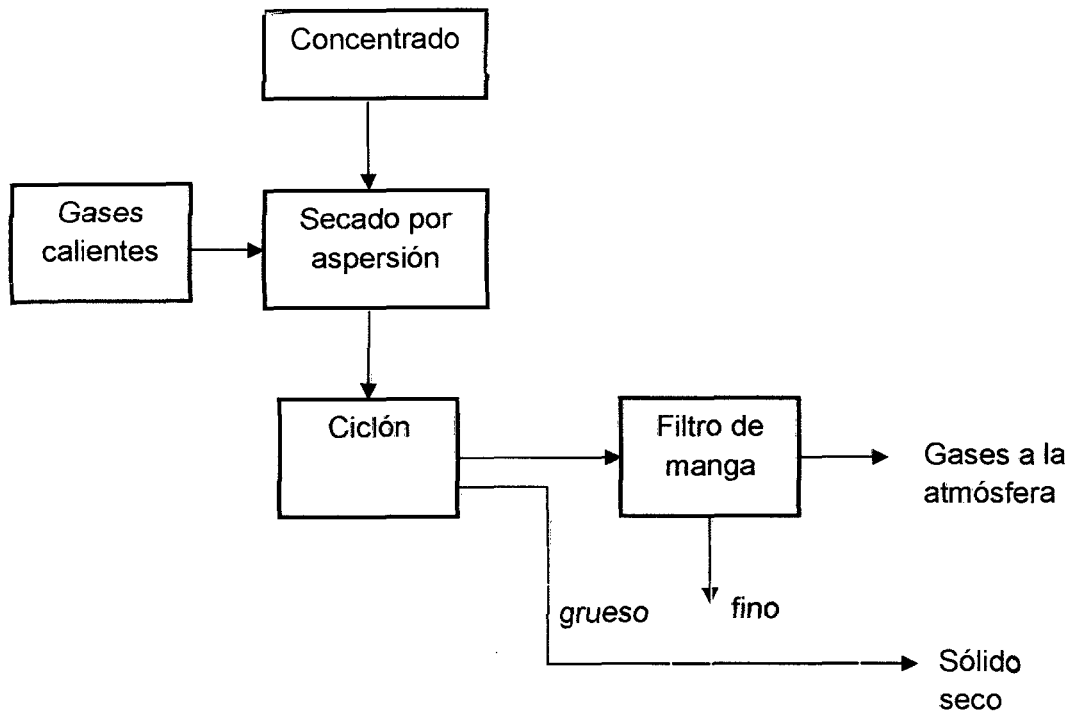
El secado por aspersion consiste en cuatro etapas de proceso: la atomización del fluido para tenerlo asperjado; el contacto del producto rociado con el aire; su deshidratación y la separación del producto seco. El material a encapsular es homogenizado con el acarreador, la mezcla es alimentada al secador por aspersion y se atomiza por medio de una boquilla o disco, posteriormente se vierte en una máquina en la que son sometidos a un aumento de temperatura instantáneo que los transforma al tamaño deseado entre 20 y 50 micras (ANÓNIMO, 2 006).

Las ventajas de usar el secado por aspersion son: su gran simplicidad; apropiado para materiales sensibles al calor, ya que el tiempo de exposición a elevadas temperaturas es corto de 5 a 30 segundos ( PEDROZA *et al.*, 2 002).

### **2.5.1. Etapas**

El secado por aspersion consiste en cuatro etapas de proceso:

- La atomización del fluido para tenerlo asperjado.
- El contacto del producto rociado con el aire.
- Su deshidratación y a la separación del producto seco.



**Figura 1.** Etapas del proceso de secado por aspersión.

Fuente: REINA, 2 002.

## 2.6. ALIMENTOS FUNCIONALES

No existe un acuerdo para definir en forma precisa lo que son los “alimentos funcionales”. Muchos consideran que se trata de un concepto aún en desarrollo y que bien podría considerárselos como productos intermedios entre los tradicionales y la medicina. Pero podrían definirse como “cualquier alimento en forma natural o procesada, que además de sus componentes nutritivos contiene componentes adicionales que favorecen la salud, la capacidad física y el estado mental de una persona” (CHASQUIBOL, 2 003).

Un alimento funcional es el que tiene una apariencia similar a la de un alimento convencional, se consume como parte de una dieta normal y, además de su función nutritiva básica, se ha demostrado que presenta propiedades

fisiológicas beneficiosas y/ o reduce el riesgo de contraer enfermedades crónicas (MAZZA, 2 000).

The International Life Science Institute (ILSI) establece que solo se puede considerar que un alimento es funcional si se logra demostrar satisfactoriamente que posee un efecto beneficioso sobre una o varias funciones específicas en el organismo, que mejora el estado de salud y de bienestar, o bien que reduce el riesgo de una enfermedad (CHASQUIBOL, 2 003).

Alimento funcional es un producto común, semejante en apariencia física a los alimentos convencionales, que se consume como parte de la dieta diaria, aporta nutrimentos y sustancias funcionales capaces de producir efectos metabólicos o fisiológicos demostrados, útil para el mantenimiento de una buena salud física y mental; y auxiliar en la reducción del riesgo de adquirir enfermedades crónicas y degenerativas (PELAYO, 2 003).

El término “Alimentos funcionales” se refería a alimentos procesados que contienen ingredientes que ayudan a ciertas funciones específicas del organismo, además de ser nutritivos: “alimentos para su uso específico de salud” (food for specied health use o FOSHU); estos alimentos son elegibles para llevar un sello de aprobación del Ministerio de Salud y bienestar (CHASQUIBOL, 2 003).

Los alimentos funcionales son productos nutritivos y no nutritivos que, no sólo alimentan, sino que modulando o actuando sobre determinadas funciones

del organismo, producen un efecto beneficioso más allá del puramente nutricional. Un AF se define como aquel que «está demostrado suficientemente que actúa beneficiosamente sobre una o más funciones del cuerpo, más allá de su efecto nutricional, mejorando la salud y el bienestar y/o reduciendo el riesgo de enfermedad». Puede ser un alimento natural, un alimento al que se ha añadido, eliminado o modificado un componente por medios biotecnológicos, un alimento en el que se ha modificado la biodisponibilidad de uno o más de sus componentes o una combinación de cualquiera de estas posibilidades (FERRER, 2 001).

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. LUGAR DE EJECUCIÓN**

El presente trabajo se realizó en las instalaciones del Centro de Investigación de Productos Naturales de la Amazonia (CIPNA) de la Universidad Nacional Agraria de la Selva (Av. universitaria s/n) 1.5 km. de la carretera central Tingo Maria - Huánuco, a 650 m.s.n.m con una humedad relativa de 80% y una temperatura promedio de 25° C.

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

##### **3.2.1. Materia prima**

Se utilizó las hojas y corteza de Pichirina colorada del Distrito de Tulumayo, Provincia de Leoncio Prado, Departamento de Huánuco.

##### **3.2.2. Materiales**

En la recolección y preparación de muestra:

Machetes, linterna, tijera de podar de 8", tijera telescópica, rama alta, guantes de cuero, costales, rafia, molino, bolsas de polietileno, cinta de embalaje.

En la extracción de la muestra:

Vasos de precipitación de 1 L, Marcador Frascos de vidrio con tapa Probetas Pipetas Microtubos Tips para micropipetas: 10 100 µl y 100 – 1000 µl. Gradillas.

### 3.2.3. Equipos de Laboratorio

- Estufa modelo ODH6- 9240A (TOMOS Heating Drying Oven).
- Centrifuga modelo MIKRO R22 (Hettich Zentrifuge).
- Balanza analítica modelo AE 163 (METTER TOLEDO, Switzerland),
- Espectrofotómetro UV/VIS Genesys 6 (Thermo Electrón Corporation),
- Equipo de cromatografía líquida de alta performance (HPLC) modelo LC-10AVP (Shimadzu Scientific, MD, USA.). Equipado con: Desgasificador modelo FCV – 10AL VP, Bomba modelo LC – 10ATVP, Columna cromatográfica C18-110R Gemini, Horno de columna modelo CTO – 10ASVP Detector UV-Vis modelo SPD – 10AVVP, Controlador Modelo SCL – 10AVP, Software de interfase CLASS – VP, Computadora compatible USB – 52X, Inyector de muestra de capacidad 20 µl.
- Homogenizador de soluciones VORTEX.
- Selladora,
- Cocina eléctrica
- Refrigeradora
- Micropipetas

### **3.2.4. Reactivos**

- Solución de fenol de Folín – ciocalteu, Sigma Chemical.
- Carbonato de sodio, Sigma Chemical.
- (+)- catequin, Sigma Chemical.
- Etanol.
- 2,2-Difenil-1-picrilhidrazil (DPPH),
- Metanol.
- Metanol (grado HPLC), Sigma Chemical.
- Ácido acético, Sigma Chemical.

## **3.3. MÉTODOS DE ANÁLISIS**

### **3.3.1. Evaluación de la actividad antioxidante (A.A) de hoja y corteza**

Se realizó mediante el método de inhibición del radical DPPH, reportado por SANDOVAL *et al.*, 2 001.

### **3.3.2. Cuantificación de polifenoles totales.**

Se realizó mediante el método de Folín - Ciocalteu, reportado por SANDOVAL *et al.*, 2 001.

### **3.3.3. Cuantificación de catequinas**

Se realizó mediante el método de análisis cromatográficos (HPLC), reportado por DING *et al.*, 1 999.

### **3.3.4. Análisis sensorial de la bebida funcional.**

Se utilizó el análisis afectivo “medida del grado de satisfacción



(Rating)", con este análisis se pudo conocer la aceptabilidad por parte del consumidor; se determinó el grado de satisfacción de los consumidores en respuesta a la medida de cómo cumple el alimento evaluado con sus requerimientos o expectativas (UREÑA, 1 999).

### **3.4. METODOLOGÍA EXPERIMENTAL**

#### **3.4.1. Evaluación de la actividad antioxidante (A.A) y cuantificación de Polifenoles totales de hoja y corteza**

##### **3.4.1.1. Obtención de la muestra seca.**

La hoja y corteza fueron acondicionadas siguiendo las operaciones de la figura 2 que se describen a continuación:

- **Recolección**

La hoja y corteza de *Vismia cayennensis* se recolectaron del distrito de Tulumayo en horas de la mañana.

- **Selección**

Se realizó con la finalidad de eliminar hojas con presencia de pardeamiento enzimático, magulladas, etc.

- **Limpieza**

Se realizó con la finalidad de separar los mohos que se están adheridos a la corteza, usando un cuchillo se procede a raspar su superficie hasta que quede completamente marrón.

- **Blanqueado**

Se realizó para detener el pardeamiento enzimático en las hojas seleccionadas, inactivando así a la enzima polifenol oxidasa, sumergiendo las hojas en agua caliente (95° C) por 10 segundos.

- **Oreado**

Se realizó, para eliminar el exceso de agua que quedó en la hoja después del blanqueado, las hojas fueron tendidas sobre sábanas de costal y se dejaron a temperatura ambiente por 8 horas.

- **Secado**

Las hojas después del oreado y la corteza limpia, fueron secadas en la estufa a 65°C por 9 horas en el caso de las hojas y 7 horas en el caso de la corteza.

- **Molienda**

La molienda de la hoja y corteza se realizó en un molino de acero inoxidable, y se obtuvo partículas de 1mm.

- **Envasado y codificado**

Las muestras fueron envasadas en bolsas de polietileno, selladas herméticamente, y se codificaron sus nombres.

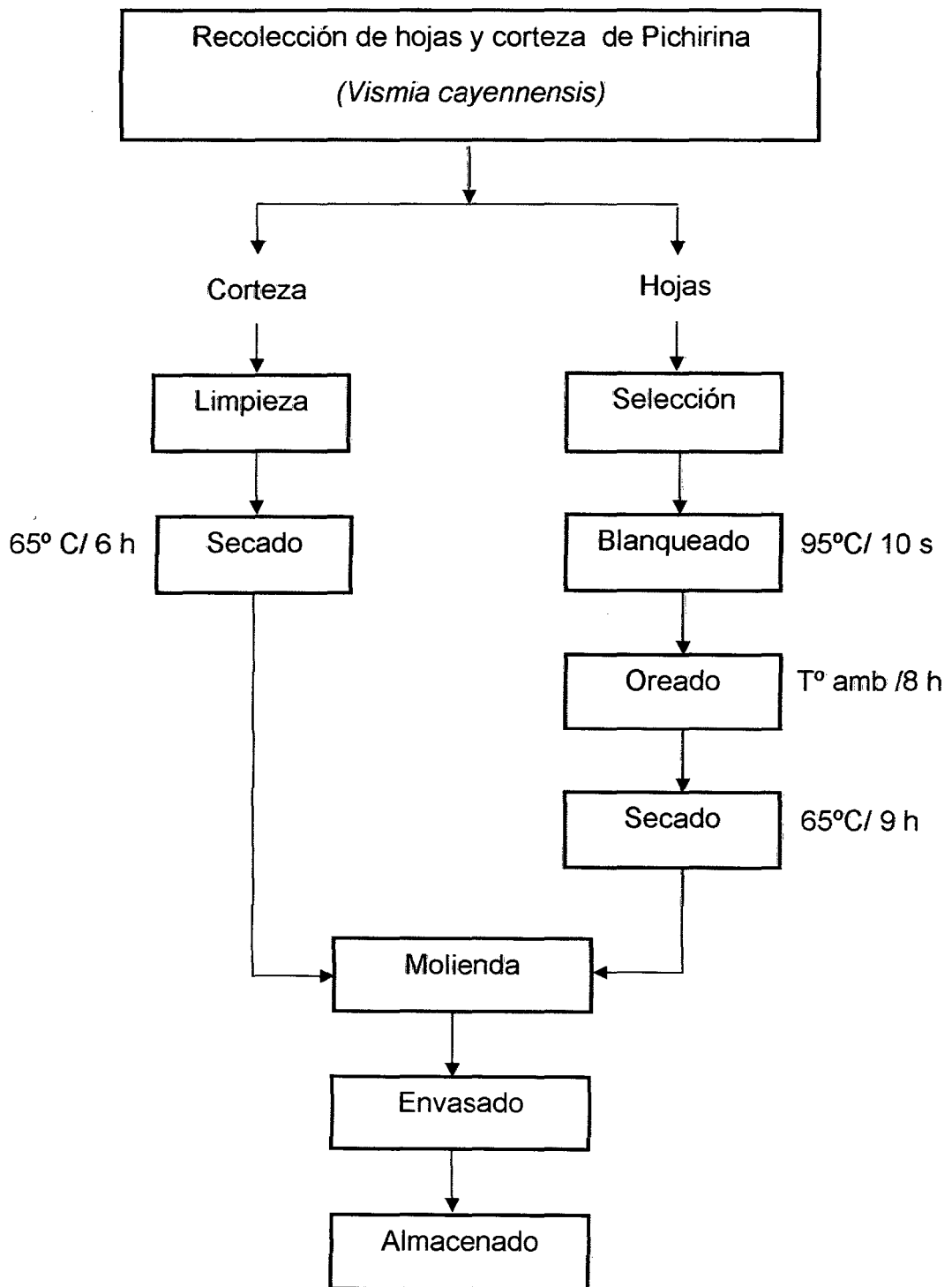


Figura 2. Diagrama de flujo de la obtención de la muestra seca.

- **Almacenamiento**

Las muestras envasadas se almacenaron en cajas de cartón.

El almacenamiento se realizó en un lugar fresco a temperatura ambiente.

### **3.4.1.2. Preparación de extractos**

Para la preparación de los extractos a partir de las muestras secas se siguió los pasos que se muestran en la Figura 3, que se desarrolla a continuación:

- **Extracción acuosa**

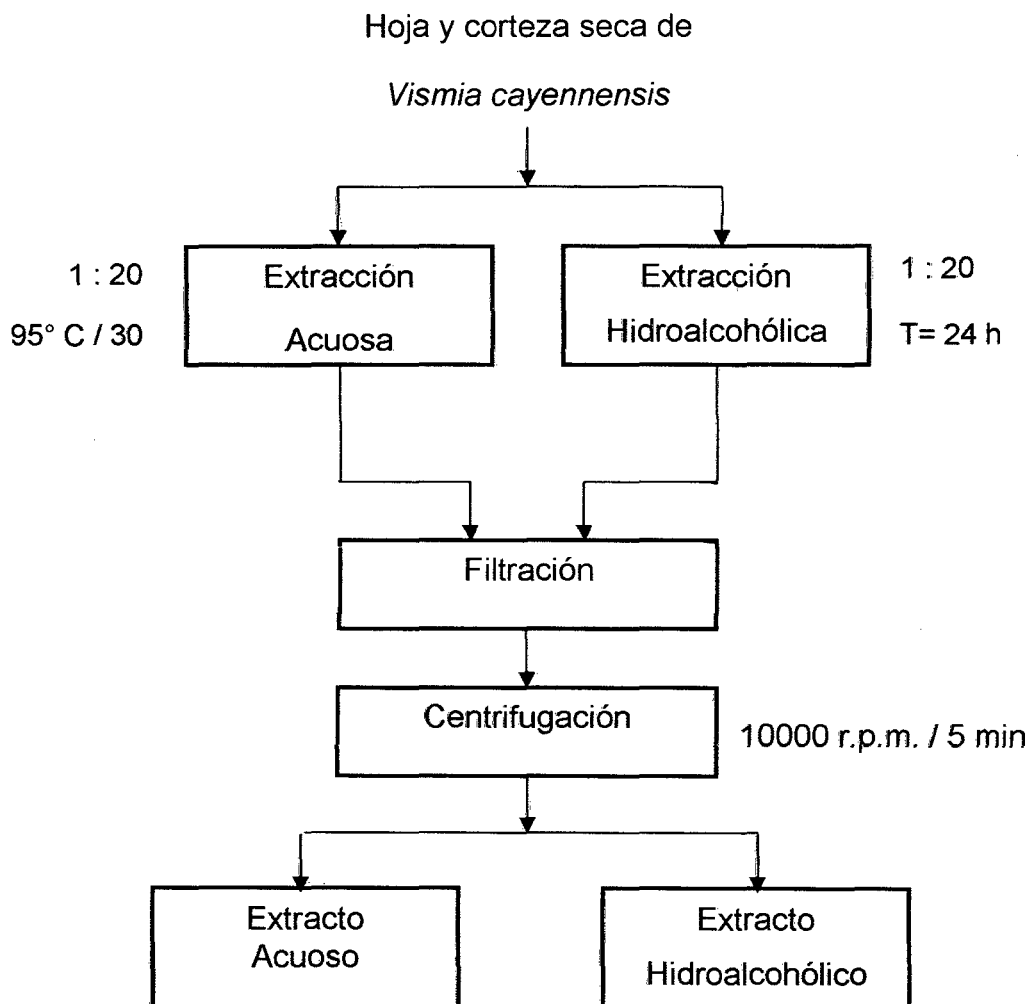
De las muestras secas y molidas se preparó el extracto acuoso, la relación muestra / solvente fue 1: 20 (1g de muestra seca y 20 ml de agua) haciendo una concentración de 50 µg/ml, la solución se mantuvo a 95° C por 30 minutos.

- **Extracción hidroalcohólica**

Para la extracción hidroalcohólica se utilizó como solvente una solución de 50% de etanol y 50% de agua, la relación muestra / solvente fué 1: 20 (1 g de muestra seca: 10 ml de etanol y 10 ml de agua destilada), esta solución se dejó reposar por 24 horas a temperatura ambiente.

- **Filtración**

Para filtrar los extractos acuosos e hidroalcohólicos, se usó una capa delgada de algodón, debido a que las partículas groseras a filtrar eran de 1mm.



**Figura 3.** Diagrama de flujo de la preparación de los extractos acuosos e hidroalcohólicos.

- **Centrifugación**

Después de filtrar los extractos, se centrifugaron a 10 000 r. p. m / 5 min, con el fin de descartar a las partículas mas pequeñas y obtener una solución cristalina.

### **3.4.2. Obtención del producto atomizado**

Los extractos acuosos de hoja y corteza de *Vismia cayennensis*, fueron atomizados en la planta industrial H-H Technology E.I.R.L., Lima - Perú, el proceso fué desarrollado según SANDOVAL *et al.*, (1 998), que se muestra en la Figura 4, la cual detallamos a continuación:

- **Recepción de muestra**

Se usó la muestra con mayor actividad antioxidante y contenido de polifenoles.

- **Extracción**

De la muestra seca se preparó una extracción acuosa, en una relación de 1: 10 (1 parte de muestra: 10 partes de agua) a 75° C por 6 horas.

- **Filtrado**

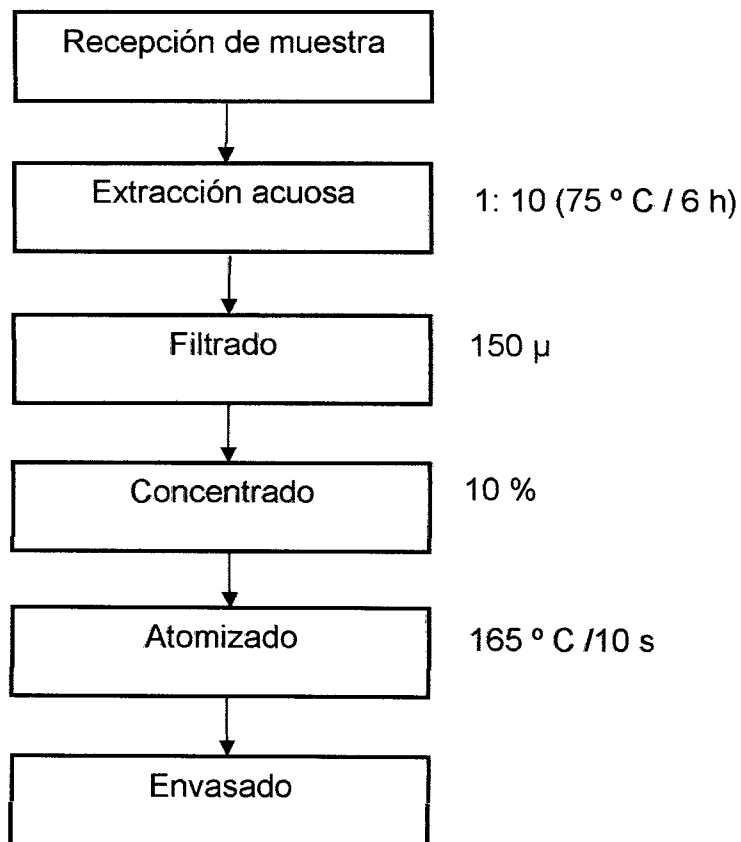
Posterior a la preparación del extracto, con el fin de eliminar el material sólido, se realizó el filtrado para obtener un tamaño granular de 150 micras utilizándose mallas de acero inoxidable.

- **Concentrado**

El extracto fue concentrado hasta obtenerse el 10 % de sólidos totales.

- **Atomizado**

El extracto concentrado fué atomizado a temperatura de 165°C por 10 segundos, colectándose el polvo en bolsas de polietileno; para este proceso se utilizó un atomizador de acero inoxidable de capacidad de atomización de 20 litros / hora.



**Figura 4.** Diagrama de la obtención del producto atomizado.

- **Envasado**

Finalmente se envasó el producto atomizado, en bolsas de polietileno y fueron almacenados en un lugar seco a temperatura ambiente.

### **3.4.3. Elaboración de la bebida funcional.**

Para la elaboración de la bebida funcional se utilizó el atomizado del mejor extracto de Pichirina colorada la cual se muestra en la Figura 5, que detallamos:

- **Recepción de muestra**

Se utilizó el producto atomizado del mejor extracto.

- **Pesado**

La bebida funcional se evaluó a 3 diferentes concentraciones por tal motivo se utilizó una balanza analítica y se pesaron 0.5, 1, 2 g de producto atomizado.

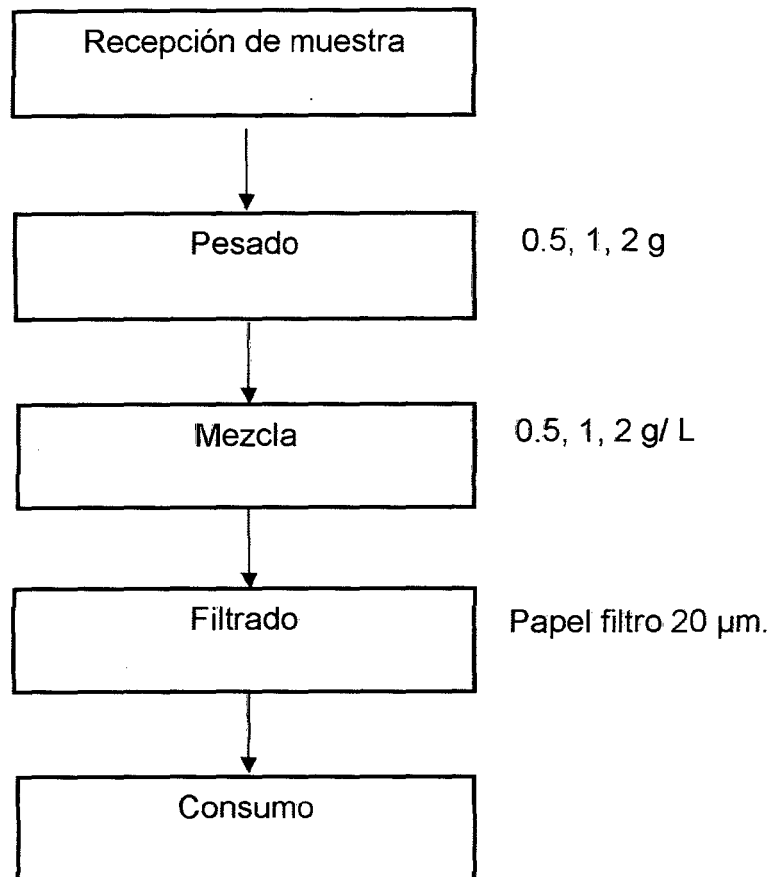
- **Mezcla**

Después de pesar las muestras, éstas fueron mezcladas con agua caliente, obteniendo concentraciones de 0.5, 1 y 2 g/L.

- **Filtrado**

Finalmente, se filtraron las soluciones con papel filtro Whatman (20  $\mu\text{m}$ ).





**Figura 5.** Flujograma de elaboración de la bebida funcional.

Después de la preparación de la bebida funcional, se realizó la evaluación sensorial, en el laboratorio de Análisis sensorial de la UNAS, en la evaluación participaron 15 panelistas semientrenados, quienes calificaron la bebida funcional mediante el análisis afectivo “medida de grado de satisfacción” (UREÑA, 1 999) y se utilizó la escala hedónica presentada en el cuadro 23 (Anexo – 24).

### 3.5. DISEÑO EXPERIMENTAL

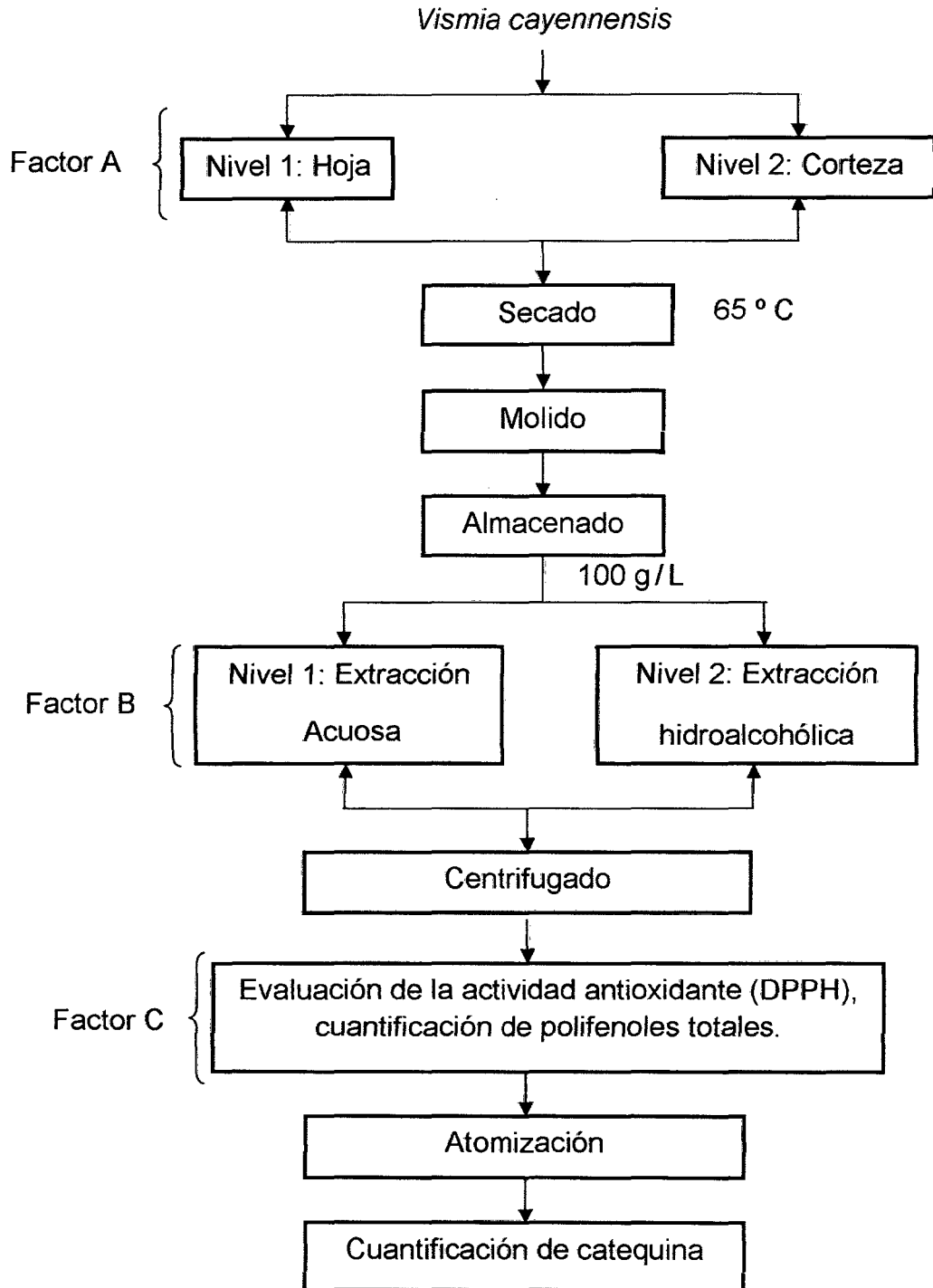
En la Figura 6 se presenta el esquema experimental de evaluación de la actividad antioxidante, cuantificación de polifenoles totales y la obtención del producto atomizado. En el esquema experimental, tenemos las variables independientes y las variables dependientes, la cual detallamos a continuación:

En las variables independientes tenemos a dos factores, factor A y factor B. El factor A que son las partes evaluadas de la planta, tiene dos niveles conformados por: nivel 1 es la hoja y nivel 2 es la corteza de *Vismia cayennensis*. El factor B que el tipo de extracción conformado también por dos niveles: nivel 1 es la extracción acuosa y, nivel 2 es la extracción hidroalcohólica.

En las variables dependientes tenemos al factor C que es el resultado de la evaluación de la actividad antioxidante ( $\mu\text{g/ml}$ ) y contenido de polifenoles totales (mg catequina/ g muestra seca) evaluados en los extractos de las partes de la *Vismia cayennensis*.

En la Figura 7 se muestra el esquema experimental que se usó para la evaluación sensorial de la bebida funcional de la *Vismia cayennensis*.

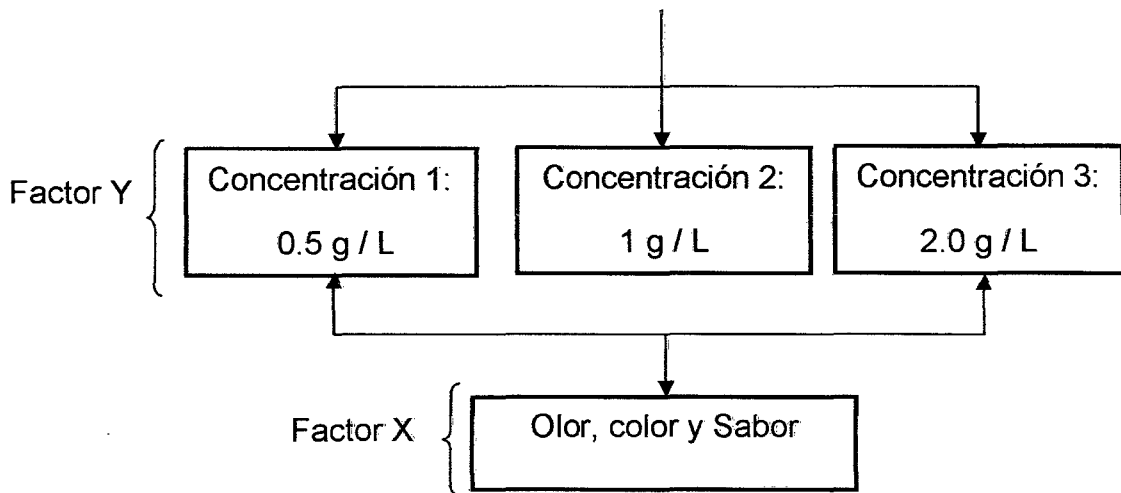
En la evaluación sensorial, la variable independiente es el factor X que es la concentración de la bebida funcional (0.5, 1, 2 g/L); y la variable dependiente es el factor Y que son los resultados de la evaluación de los atributos olor, color, sabor.



Variables independientes: Factor A y B.

Variables dependientes: Factor C.

**Figura 6.** Esquema experimental para la evaluación de la actividad antioxidante, cuantificación de polifenoles y obtención del producto atomizado.

Elaboración de la bebida funcional de *Vismia cayennensis*

Variables independientes: Factor Y.

Variables dependientes: Factor X.

**Figura 7.** Esquema experimental para la evaluación sensorial de la bebida funcional.

### 3.6. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados de la actividad antioxidante, cuantificación de polifenoles totales y la evaluación sensorial (olor, color, sabor) de la bebida funcional, fueron analizados mediante el diseño completamente al azar (DCA) con tres repeticiones (Romero, 2008).

Para los resultados con diferencia estadística significativa se usó la prueba de Tuckey  $p > 0.05$ .

El análisis estadístico de los datos se realizó mediante el programa STATGRAPHICS Plus versión 5.1, 2004 Statistical Graphics Corp.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSION

### 4.1. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES EN LA HOJA Y CORTEZA

#### 4.1.1. Rendimiento en la obtención de la muestra seca

Los resultados del balance de materia y rendimiento de la obtención de la muestra seca (hoja y corteza) se presentan en los cuadros 1 y 2.

En el cuadro 1 se muestra los resultados del balance de materia y rendimiento de la obtención de la hoja seca.

**Cuadro 1.** Balance de materia en la obtención de la hoja seca.

OPERACIÓN	MATERIA EN MOVIMIENTO				
	Ingresa Kg	Sale kg	Continua kg	R.O (%)	R.P (%)
Recolección	100	-	100	100	100
Selección	100	3	97	97	97
	Hoja , 97				
Blanqueado	Agua,10	-	107	100	107
Oreado	107	8	101	92	101
Secado	101	60	41	40,59	41
Molienda	41	0,2	40,8	99,51	40,8
Envasado	40,8	0,1	40,7	99,75	40,7
Almacenado	40,7	-	40,7	100	40,7

R.O.: Rendimiento por operación.

R.P.: Rendimiento por proceso.

En el presente balance de materia encontramos que la mayor pérdida, se dá en las operaciones de selección y secado, con rendimientos por operación de 97 y 41 por ciento, respectivamente.

En la selección se perdió 3 kg, debido a que se descartó aquellas hojas con pardeamiento enzimático; en el secado se elimina 60 kg de agua, ya que se lleva la muestra a 65°C / 9 h es la mayor pérdida por operación y proceso.

En el cuadro 2 se detallan los resultados del balance de materia y rendimiento de la obtención de corteza seca.

**Cuadro 2.** Balance de materia en la obtención de la corteza seca.

<b>MATERIA EN MOVIMIENTO</b>					
	<b>Ingresa</b>	<b>Sale</b>	<b>Continua</b>	<b>R.O</b>	<b>R.P</b>
<b>OPERACIÓN</b>	<b>Kg</b>	<b>kg</b>	<b>kg</b>	<b>(%)</b>	<b>(%)</b>
Recolección	100	-	100	100	100
Limpieza	100	2	98	98	98
Secado	98	49	49	50	49
Molienda	49	0,2	48,8	99,59	48,8
Envasado	48,8	0,2	48,6	99,59	48,6
Almacenado	48,6	-	48,6	100	48,6

R.O.: Rendimiento por operación.

R.P.: Rendimiento por proceso.

En el balance de materia y rendimiento de la obtención de la corteza seca, las operaciones con mayor pérdida fueron la limpieza con una pérdida de 2 kg y un rendimiento por operación de 98 por ciento, esto es por que la corteza tiene en su superficie a mohos por tal motivo se raspa hasta que quede marrón uniforme; y tenemos al secado en la cual se eliminó 49 kg de agua.

En todo el proceso se obtuvo 48,6 por ciento de rendimiento para la obtención de la corteza seca.

#### 4.1.2. Rendimiento en la preparación de los extractos

En el cuadro 3 se presenta los resultados del Balance de materia de la extracción acuosa:

**Cuadro 3.** Balance de materia en la preparación del extracto acuoso.

<b>MATERIA EN MOVIMIENTO</b>					
	<b>Ingresa</b>	<b>Sale</b>	<b>Continúa</b>	<b>R.O</b>	<b>R.P</b>
<b>OPERACIÓN</b>	<b>(L)</b>	<b>(L)</b>	<b>(L)</b>	<b>(%)</b>	<b>(%)</b>
Extracción acuosa	100	83,33	16,67	16,67	16,67
Filtración	16,67	0,2	16,47	98,8	16,47
Centrifugación	16,47	0,05	16,42	99,7	16,42

R.O.: Rendimiento por operación.

R.P.: Rendimiento por proceso.

Al realizar la extracción acuosa se tuvo una pérdida de 83,33 L con un rendimiento por operación del 16,67 por ciento, debido a que se lleva el extracto a 95°C por 30 minutos, el agua se evapora.

En este proceso se tuvo un rendimiento de 16,42 por ciento.

Los resultados del balance de materia de la extracción hidroalcohólica se muestran a continuación en el cuadro 4:

**Cuadro 4.** Balance de materia en la preparación del extracto hidroalcohólico.

<b>MATERIA EN MOVIMIENTO</b>					
	<b>Ingresas</b>	<b>Sale</b>	<b>Continúa</b>	<b>R.O</b>	<b>R.P</b>
<b>OPERACIÓN</b>	<b>(L)</b>	<b>(L)</b>	<b>(L)</b>	<b>(%)</b>	<b>(%)</b>
Extr. hidroalcohóli.	100	-	100	100	100
Filtración	100	0,05	99,95	99,95	99,95
Centrifugación	99,95	0,04	99,91	99,99	99,91

R.O.: Rendimiento por operación

R.P.: Rendimiento por proceso

Podemos observar que este proceso no presenta mayores pérdidas, ya que al final del proceso se obtuvo un 99,91 por ciento, sus pérdidas son mínimas.



#### 4.1.3. Evaluación de actividad antioxidante (A.A)

Para la evaluación de la actividad antioxidante se realizó mediante la degradación del radical DPPH, cuyos resultados se presentan en el cuadro 5.

**Cuadro 5.** % de inhibición de la *Vismia cayennensis* al radical DPPH.

Tratamientos	Máxima Inhibición (%)	Concentración ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ )
T1	89,40 $\pm$ 0,64	230
T2	85,91 $\pm$ 2,98	30
T3	84,67 $\pm$ 0,42	100
T4	91,18 $\pm$ 0,34	250
T5	90,91 $\pm$ 1,62	18
T6	88,29 $\pm$ 0,19	150
T7	88,38 $\pm$ 0,77	30
T8	90,93 $\pm$ 0,45	70

T1: hoja / extracción hidroalc. T2: hoja / extracción acuoso. T3: corteza / extracto hidroal. T4: corteza / extracto acuoso T5: ext. atomizado hoja / extracción T6: ext. atomizado hoja / extracción hidroalc. T7: ext. atomizado corteza / extracción acuoso T8: ext. atomizado corteza / extracción hidroalc. Datos expresados en media  $\pm$  SD, n = 3.

De los resultados obtenidos en la capacidad antioxidante de la *Vismia cayennensis* (cuadro 5), se afirma que el tratamiento T5 (extracto atomizado de hoja / extracción acuosa) con 90,912 %  $\pm$  1,624 a la concentración de 18  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , presenta mayor actividad antioxidante y en menor concentración que los demás tratamientos incluso los obtenidos por MELCHOR, *et al*, (2 002) y los obtenidos por MURILLO *et al*., (2 007).

#### 4.1.3.1. Coeficiente de inhibición (IC<sub>50</sub>)

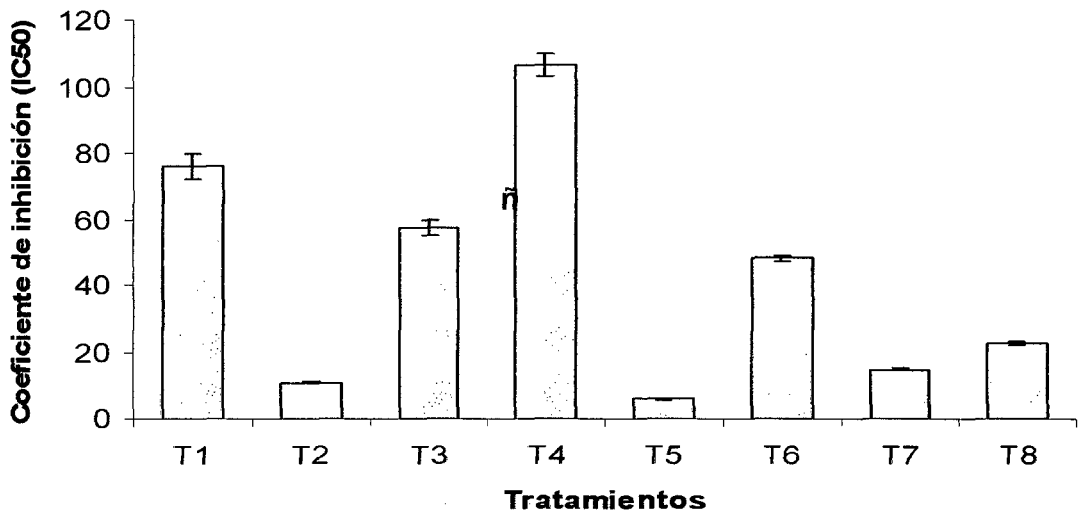
Para comparar la eficiencia de la inhibición del radical DPPH, se calculó la cantidad de muestra seca en g) que se requiere para inhibir el 50 % de DPPH (IC<sub>50</sub>) usado en la reacción. Los resultados se presentan en el cuadro 6.

**Cuadro 6.** Coeficiente de inhibición de los extractos hidroalcohólicos y acuosos de hoja y corteza.

Tratamientos	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
Hoja - ext. hidroalcohólico.	75,90 ± 4,04 <sup>e</sup>
Hoja - ext. Acuoso	10,75 ± 0,30 <sup>a</sup>
Corteza - ext. acuoso	57,44 ± 2,27 <sup>d</sup>
Corteza - ext. hidroalcohólico	106,41 ± 3,25 <sup>f</sup>
Ext. atomizado de hoja - ext. acuoso	5,99 ± 0,38 <sup>a</sup>
Ext. atomizado de hoja - ext. hidroalcohólico	48,29 ± 0,91 <sup>c</sup>
Ext. atomizado de corteza - ext. acuoso	14,83 ± 0,35 <sup>ab</sup>
Ext. atomizado de corteza - ext. hidroalcohólico	22,46 ± 0,36 <sup>b</sup>

Datos expresados en media ± SD, n = 3. (a-b-c-d-e-f) diferencia significativa (p<0.05). Evaluado mediante prueba de TUCKEY.

El análisis estadístico entre tratamientos que se presenta en el cuadro 9 (Anexo - 9 ) que indicó alta significancia ( $P < 0.05$ ). En los valores de  $IC_{50}$  obtenidos (cuadro 6) para los tratamientos, podemos ver la excelente capacidad antioxidante de el tratamiento T5 (extracto atomizado de hoja / extracción acuoso) con  $5,990 \mu\text{g/ml} \pm 0,383$ ; frente a un  $47,59 \mu\text{g/ml}$  de *Camellia sinensis* (MELCHOR, et al., 2 002);  $141,2 \mu\text{g/ml}$  obtenido de la *Attalea butyracea* (GAVIRIA et al., 2 007) y  $18,42 \mu\text{g/ml}$  obtenido de la *Bauhinia kalbreyeri* Harms (MURILLO et al., 2 007).



**Figura 8.** Coeficiente de inhibición ( $IC_{50}$ ) de extractos hidroalcohólico y acuosos de hoja y corteza.

En la presente figura podemos apreciar que el tratamiento T5 presenta la barra más pequeña, lo cual quiere decir que frente a los demás tratamientos se necesita menos cantidad de esta muestra para lograr inhibir el 50 % de radicales presentes.

#### 4.1.4. Cuantificación de polifenoles totales.

Los resultados de la cuantificación de polifenoles totales se presentan en el cuadro 7.

Para cuantificar los polifenoles totales, se tomó como modelo la curva estándar de catequina, presentado en la figura 18 (Anexo - 18).

**Cuadro 7.** Cuantificación de polifenoles totales de los extractos hidroalcohólicos y acuosos de hoja y corteza.

Tratamientos	mg Catequina / g muestra seca
Hoja - ext. hidroalcohólico.	$11,31 \pm 0,43^f$
Hoja - ext. acuoso	$106,96 \pm 3,97^c$
Corteza - ext. acuoso	$60,65 \pm 4,55^{de}$
Corteza - ext. hidroalcohólico	$11,67 \pm 5,08^f$
Ext. atomizado de hoja - ext. acuoso	$682,83 \pm 20,08^a$
Ext. atomizado de hoja - ext. hidroalcohólico.	$43,72 \pm 0,53^e$
Ext. atomizado de corteza - ext. acuoso	$631,53 \pm 8,44^b$
Ext. atomizado de corteza - ext. hidroalcohólico.	$35,47 \pm 6,28^{ef}$

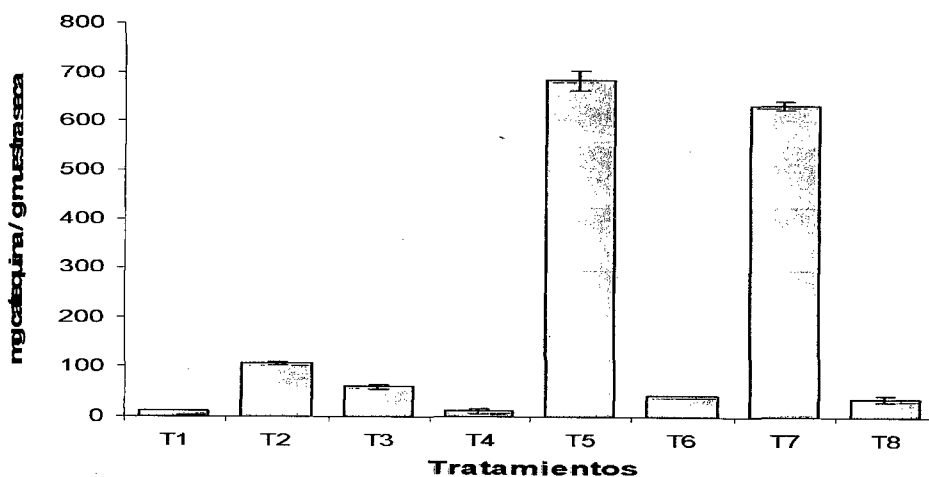
Datos expresados en media  $\pm$  SD, n = 3. (a-b-c-d-e-f) diferencia significativa ( $p < 0.05$ ). Evaluado mediante la prueba de TUCKEY.

En el análisis estadístico que presentado en el cuadro 18 (Anexo – 20), se muestra que existe diferencia altamente significativa entre los tratamientos.

En los resultados obtenidos (cuadro 7), los extractos atomizados de hoja y corteza / extracción acuosa presentan mayor contenido de polifenoles, que los extractos de hoja y corteza seca, esto se debe a que la atomización transforma un fluido en un material sólido, atomizándolo en forma de gotas minúsculas en un medio de secado en caliente (DEASY, 1 983), en este proceso se ha eliminado el agua, de manera que el producto esta más concentrado.

Los tratamientos con mayor contenido de polifenoles totales son : T5 (extracto atomizado de hoja / extracción acuosa); con 682,834 mg catequina / g muestra seca , T7 (extracto atomizado de corteza / extracción acuosa) con 631,528 mg Catequina / g muestra seca, que a comparación de lo reportado por Chen *et al.*, (2 007), nuestros resultados son mayores, por ello la *Vismia cayennensis* se le puede considerar, como una nueva fuente natural de polifenoles.

En la figura 9 se muestra el contenido de polifenoles totales, destacando el T5.



**Figura 9.** Contenido de polifenoles totales expresados como catequina, en extractos hidroalcohólicos y acuosos de hoja y corteza.

## 4.2. EVALUACIÓN DEL PRODUCTO ATOMIZADO

### 4.2.1. Cuantificación de Catequina

En la cuantificación de catequina se evaluó el extracto atomizado de hoja/ ext. acuoso de *Vismia cayennensis*, en los resultados no se observó concentraciones detectables de catequina. Aunque se reportó alto contenido de polifenoles; hoy en día ya se conocen más de 5 000 flavonoides diferentes (VALLS, 2 003).

la *Vismia cayennensis* es posible que posea otros flavonoides ya que es un grupo muy amplio y en este caso no necesariamente catequina.

## 4.3. EVALUACIÓN SENSORIAL DE LA BEBIDA FUNCIONAL

Los resultados de la evaluación sensorial de la bebida funcional se presentan en el siguiente cuadro:

**Cuadro 8.** Evaluación del olor, color y sabor de la bebida funcional a diferentes concentraciones.

Tratamiento	Concentración (g/L)	olor	color	sabor
C1	0.5	4,60 <sub>a</sub>	4,2 <sub>a</sub>	3,2 <sub>b</sub>
C2	1	4,73 <sub>a</sub>	5,0 <sub>ab</sub>	4,3 <sub>ab</sub>
C3	2	4,73 <sub>a</sub>	5,4 <sub>b</sub>	4,8 <sub>a</sub>

Datos expresados en media  $\pm$  SD, n = 3. (a-b) diferencia significativa (p<0.05). Evaluado mediante la prueba de TUCKEY.

En la evaluación del olor el análisis de varianza que se muestra en el cuadro 19 (Anexo - 21) indica que no hay diferencia significativa entre los resultados.

En el análisis de varianza de los atributos color y sabor que se presenta en el cuadro 20, 21 (Anexo – 22, 23) nos indica que si existe diferencia significativa entre las concentraciones.

En la evaluación del color y el sabor de la bebida funcional a través de la prueba de Tuckey (cuadro 9) con las concentraciones de 0.5, 1, 2 g/ L; el C1 y el C2 son estadísticamente iguales, el C2 y el C3 también no tienen diferencia estadística, pero entre el C1 y el C3 si hay diferencia significativa.

## V. CONCLUSIONES

El desarrollo de la investigación permitió establecer las siguientes conclusiones:

1. El extracto atomizado de hoja seca de Pichirina colorada extracción acuosa, mostró mayor actividad antioxidante, con un coeficiente de inhibición ( $IC_{50}$ ) de 5.99  $\mu\text{g/ml}$  a una concentración de 18  $\mu\text{g/ml}$ .
2. Los mayores contenidos de Polifenoles Totales se obtuvieron de los tratamientos T5 (extracto atomizado de hoja / extracción acuoso) con 682.834 mg Catequina / g muestra seca, T7 (extracto atomizado de corteza / extracción acuosa con 631.528 mg Catequina / g muestra seca.
3. En el tratamiento T5 (extracto atomizado de hoja / extracción acuoso), no se determinó presencia de catequina en el tratamiento.
4. El análisis sensorial de la bebida funcional, indicó que no hay diferencia estadística significativa para el atributo olor, considerando las concentraciones 0.5, 1, 2 g / L, pero sí hubo diferencia estadística significativa para los atributos color y sabor. De las diferentes concentraciones la concentración 0.5 g/L fuè la que obtuvo mayor aceptación entre los panelistas, con el calificativo "Me agrada" con respecto a los atributos olor color y sabor.



## VI. RECOMENDACIONES

1. Para almacenar, una materia prima rica en antioxidantes a partir de la hoja de *Vismia cayennensis*, es preciso realizar el blanqueado de las hojas antes del secado, para evitar el pardeamiento enzimático y la degradación de muchos componentes benéficos.
2. Correlacionar la actividad antioxidante de la *Vismia cayennensis*, con la cuantificación de otros compuestos bioactivos, tales como triterpenos, flavonoides.
3. Diseñar alimentos que permitan la incorporación del producto atomizado de la *Vismia cayennensis*.
4. Toda planta posee ciertas sustancias tóxicas, unos más que otros; por tal motivo se debe realizar estudios toxicológicos de la *Vismia cayennensis*.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AVELLO M, SUWALSKY M. 2006."Radical libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección, Atenea 464, II Seminario. pp. 161-172.
- CANO A., AMAO M. B.; 2004, Sociedad Mexicana de Nutrición y Tecnología de alimentos, Universidad Autónoma del estado de México, vol 4, Reynosa ,México, pp. 186.
- CHAVES G; MONTIEL G. M; SGROPPO S. C ; AVANZA, J. R. 2000."Capacidad antioxidante de pimientos morrones", Universidad Nacional del Nordeste, Corrientes, Argentina. pp 1- 4.
- CHASQUIBOL S. LENGUA C.DELMAS I. RIVERA D.,BAZAN D., AGUIRRE M.,BRAVO A., 2003, Alimentos funcionales o fitoquímicos, clasificación e importancia, Rev. Per. Quím, Lima, 5 (2): 9 – 20.
- CHEN H. Y.; YEN G.C. 2007. "Antioxidant activity and free radical – scavenging capacity of extracts from guava (*Pisidium guajava* L.) leaves", Food Chem. Taichung,Taiwan.101.pp 686 694.
- DAJAS F. 2001. "La capacidad antioxidante del ácido acetilsalicílico y el estrés oxidativo en pacientes hipertensos mayores de 65 años", Instituto de Investigaciones Biológicas Clemente Estable, Uruguay, Montevideo. pp 1- 5.

- DEASY, P., 1983. Microencapsulation and Related Drug Process. Marcel Dekker Inc. N.Y.pp. 21-59.
- DÍAZ L. B.- COLMENERO U. M., MARÍN F. B. 1996. "Capacidad antioxidante de la melatonina: su papel defensivo contra afecciones relacionadas con la edad", Medicina Clínica, Barcelona: 668 – 674.
- DING M. HAIJUN Y. SHANQIANG X.1999. Rapid, direct determination of polyphenols in tea by reversed-phase column liquid chromatography. Journal of Chromatography A, 849 (1999) 637–640.
- DRAGO S M. E ; LOPEZ L. M; SAINZ E. T. 2006. "Componentes bioactivos de alimentos funcionales de origen vegetal ", Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas, vol. 37, Distrito Federal. México, México, pp.58 – 68.
- FERRER L., DALMAU S., 2001, Alimentos funcionales: probióticos, Act Pedi.á esp.; España.59: 150 – 155.
- GARCÍA RAMÍREZ, B. 2001,"Absorción in vivo de oligómeros de epicatequina", Universidad Rovira y Virgili, Tarragona .España.pp 38 – 67.
- GARCÍA J. R; ÁLVAREZ P.E; LAURA A; MERCADO M. G; HERRERA D. B. 2006." Valoración de la capacidad antioxidante y actividad polifenol oxidasa en duraznos de diferentes áreas de producción", Proyecto XI.22 Desarrollo de tecnologías para la conservación de vegetales frescos cortados ". San Pedro, Brazil. pp 1- 5.

- GAVIRIA M. C., CIFUENTES O., MONSALVE G., ROJANO B., 2007, Actividad antioxidante de extractos metanólicos de *Attalea butyracea*, Scie. Tech. año XIII. (33): 298 – 299.
- GONZALEZ J. E.; 2000. "Bases moleculares del envejecimiento", Universidad Autónoma de Puebla, Puebla, México. 7: 17 – 20.
- GUTIÉRREZ M. A., 2002, Vino, polifenoles y protección a la salud, Rev. Cub. Alim. Nutr, Villa Clara , Cuba 16(2):135 – 140.
- HERNÁNDEZ Á. M., P. - GONZÁLEZ E. A. 1999. "Plantas que contienen polifenoles. Antioxidantes dentro del estilo de vida", Rev. Cubana Invest. Biomed. 18 (1): 12 – 14.
- LÓPEZ R., ECHEVERRI, F. 2007. ¿Son seguros y efectivos los antioxidantes?. Scie. et Tech., Antioquia , Año XIII, (33): 23 – 25.
- MAZZA, G. 2000, "Alimentos Funcionales - Aspectos bioquímicos y de procesado". Edit. Acribia, S.A. Zaragoza, España. pp 22 - 23.
- MELCHOR S. V., 2002. "Procesamiento tecnológico para la obtención de té verde (*Camellia sinensis*): Determinación de su Actividad Antioxidante y Cuantificación de Flavanoles por HPLC", Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo Maria, pp 33 – 65.
- MURILLO E., LOMBO O., TIQUE M., MÉNDEZ J. 2007. Potencial antioxidante de *Bauhinia kalbreyeri* Harms (FABACEAE). Inf. Tecn. Tolima. 18(6):65-74.

- NÚÑEZ E. C. 2002."Distribución radial de polifenoles en troncos de (*Eucalyptus grandis*)", Programa de Investigación de Celulosa y Papel, Argentina. pp 1 – 2.
- PEDROZA I. R., MACÍAS B. S., VERNON C. E., 2002. Oil thermo-oxidative stability and surface oil determination of biopolymer microcapsules. Rev. Mex. de Ing. Quím. pp 438 – 440.
- PELAYO Z. C., 2003, Las frutas y hortalizas como Alimentos funcionales, Departamento de Biotecnología, División de CBS, California, EE.UU: 12 – 16.
- RAMOS E. F. MUÑOZ J. M. 2005." Compuestos fenólicos en los alimentos", VII Congreso Nacional de Ciencias Y Tecnología de Alimentos, UNSM.Lima .Perú. pp 1 – 6.
- RAMOS C.S. 2007. "Los carotenoides: el licopeno y su acción en el cáncer, Toxicología alimentaria, Lima, Perú, pp 3 – 12.
- REINA, H.J., 2002, El secado por aspersion. Una alternativa para el tratamiento de los concentrados procedentes de la planta de osmosis inversa.( On line).www.ewtech.ing.com. Energy & Waste Technologies, Barcelona, España. 12 p.

RIVERO R. A, BETANCORT R.J. 2006. "Evaluación de la actividad antioxidante de polifenoles de algas marinas", Facultad de Ciencias del Mar - UPGC.Practica VI.3. España, pp 1- 3.

ROMERO MARES P., 2008,"Especialización en Estadística aplicada diseño de experimentos I".UNAM, México: 25 – 28.

ROOSMALEN, M.G.M. VAN. 1985. Fruits of the Guianan Flora. Institute of Systematic Botany, Utrecht, 483p.

SANDOVAL C. M., THOMPSON J.H., ZHANG X.J., LIU X., MANNICK E.E, H. SADOWSKA K., R.M. CHARBONNET, D.A. CLARK, M.J.SMILLER,1998, Antiinflammatory actions of cat's claw: the role of NF- $\kappa$ B, Aliment. Pharmacol. Ther. 12: 1279-1289.

SANDOVAL M; OKUHAMA N; ANGELES F; 2001."Técnicas de investigación para determinar la actividad antioxidativa y antiinflamatoria de plantas medicinales de la Amazonia", 1 st Internacional Workshop, Iquitos, Perú. pp 22 – 34.

SECADO por aspersion y su uso en la encapsulación, 2006. [En línea].

([http://www.quiminet.com/ar8/ar\\_2%25EB%252B%251Ff%253C%25B7.htm](http://www.quiminet.com/ar8/ar_2%25EB%252B%251Ff%253C%25B7.htm). artículos, 26 Jun.2006).

TREVIÑO N. ORANDAY C. RIVAS M. VERDES S. NUÑEZ G. MORALES R. 2002.

Potencial antioxidante en cactáceas. Fac. de Ciencias Biológicas UANL.

pp 1.

TUR J. A. 2004. "Los antioxidantes en la Dieta Mediterránea", Rev. Esp. Nut.

Com., Palma de Mallorca, España, pp: 198-207.

UREÑA, P., D' ARRIGO H., GIRON M. 1999. "Evaluación sensorial de los alimentos" Aplicación didáctica, 1 ed., Lima, Perú, edi. Agraria: 95 – 99.

VALLS B. 2003, El papel antioxidante de los alimentos de origen vegetal vitaminas y polifenoles, Universidad de Valencia, Valencia, España. pp 1- 9.

VENEREO GUTIÉRREZ J. R. 2002. "Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes", Rev. Cubana Med. Militar. Habana, Cuba 31(2): 126 – 133.

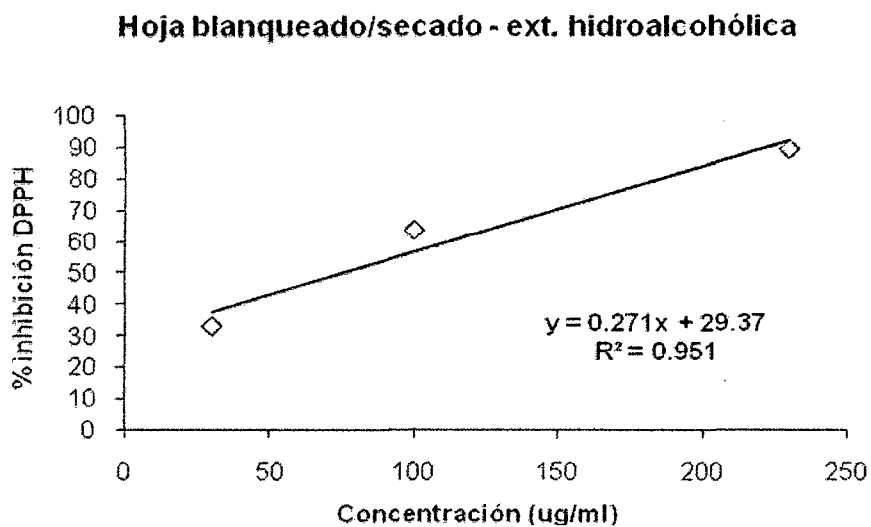
YAHUACA M. P., GUTIÉRREZ H. R. ALVARADO ACOSTA J.L. 2001. "Actividad anti- lipoperoxidante de diversos compuestos antioxidantes, su participación en el daño hepático", 5as Jornadas de Investigación Universidad Autónoma de Zacatecas, Zacatecas, México. pp 1- 5.

ZÚÑIGA M. M., 2005, Caracterización de fibra dietaria en orujo y capacidad antioxidante en vino, hollejo y semilla de uva. Universidad de Chile, Santiago, Chile: 15 – 18.

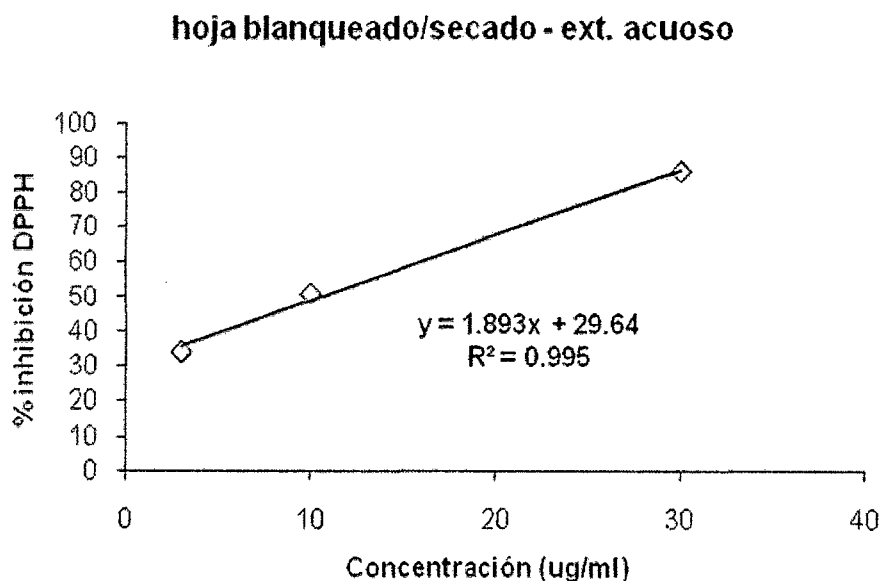
## **VI. ANEXO**



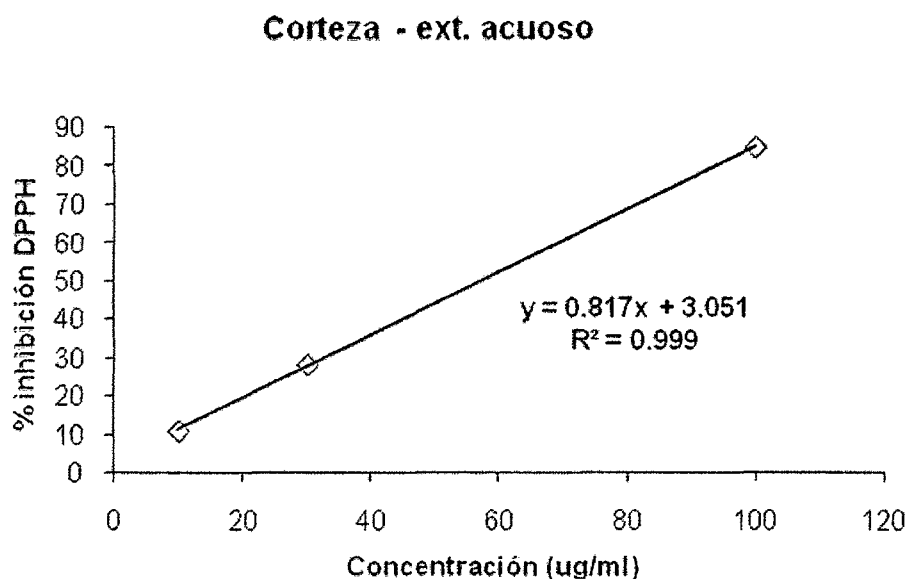
1. **Figura 10.** % de inhibición del radical DPPH de la hoja blanqueado / extracción hidroalcohólica a diferentes concentraciones.



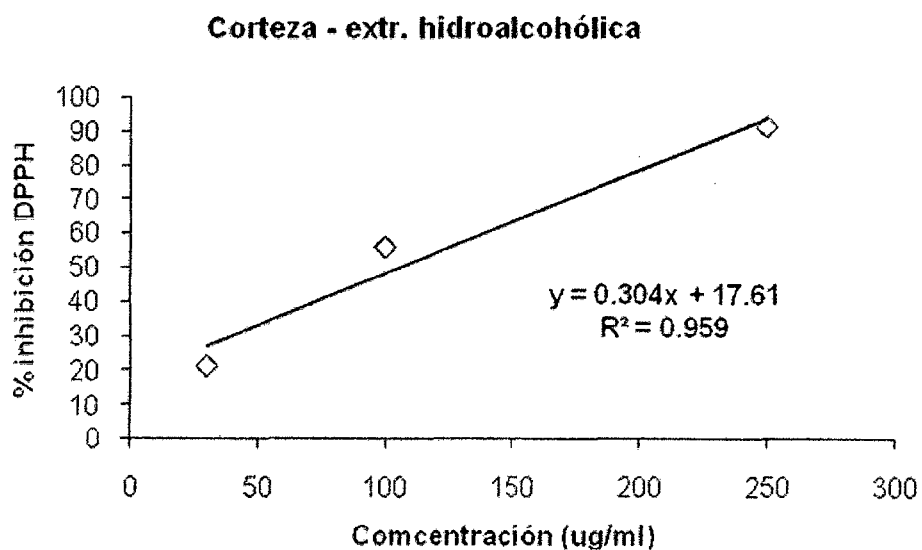
2. **Figura 11.** % de inhibición del radical DPPH de la hoja blanqueado / extracción acuoso a diferentes concentraciones.



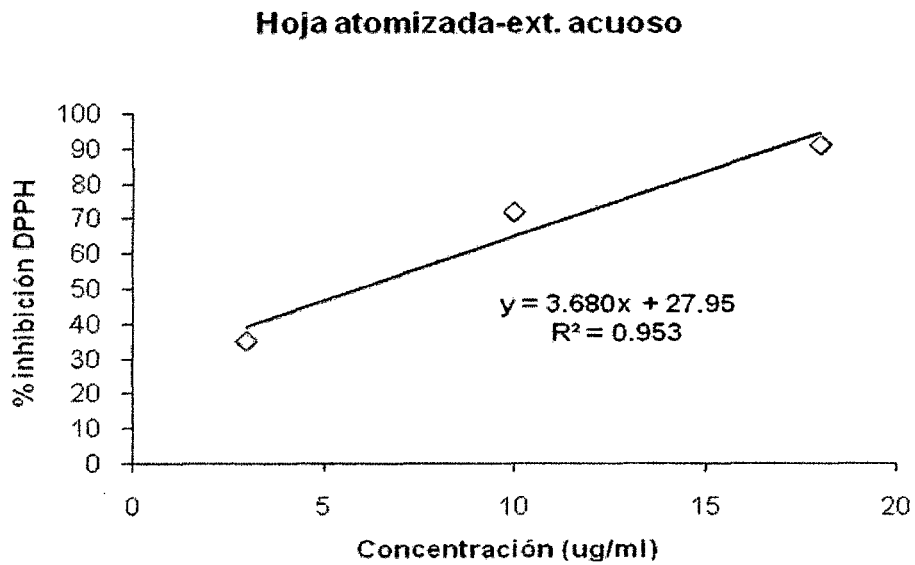
3. **Figura 12.** % de inhibición del radical DPPH de la corteza / extracción acuoso a diferentes concentraciones.



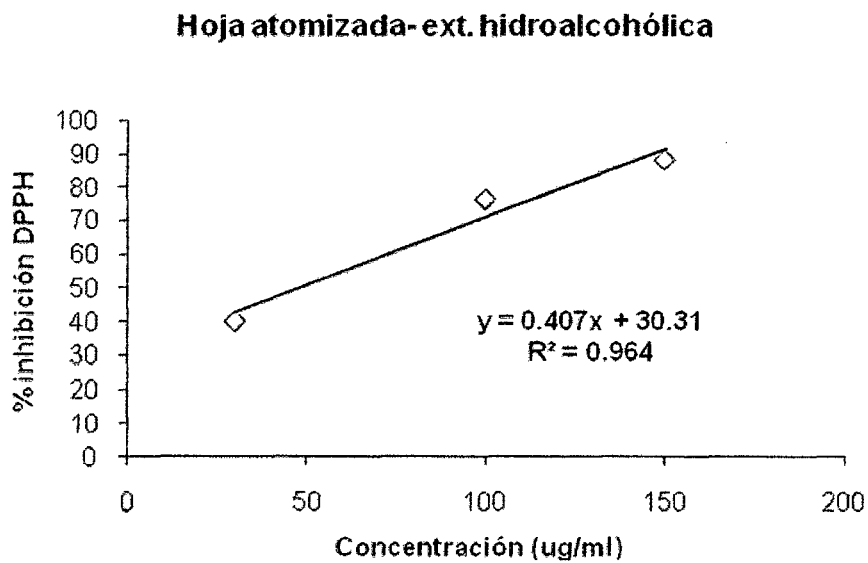
4. **Figura 13.** % de inhibición del radical DPPH de la corteza / extracción hidroalcohólica a diferentes concentraciones.



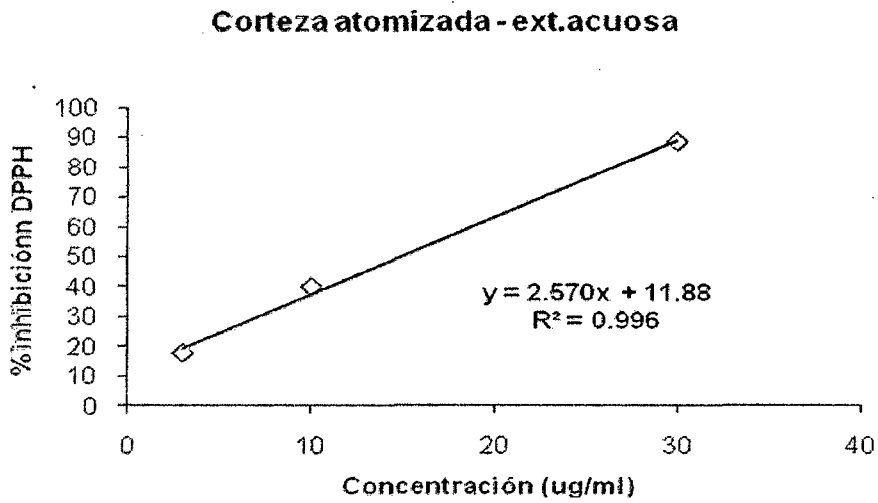
5. **Figura 14.** % de inhibición del radical DPPH del extracto atomizado de hoja / extracción acuosa a diferentes concentraciones.



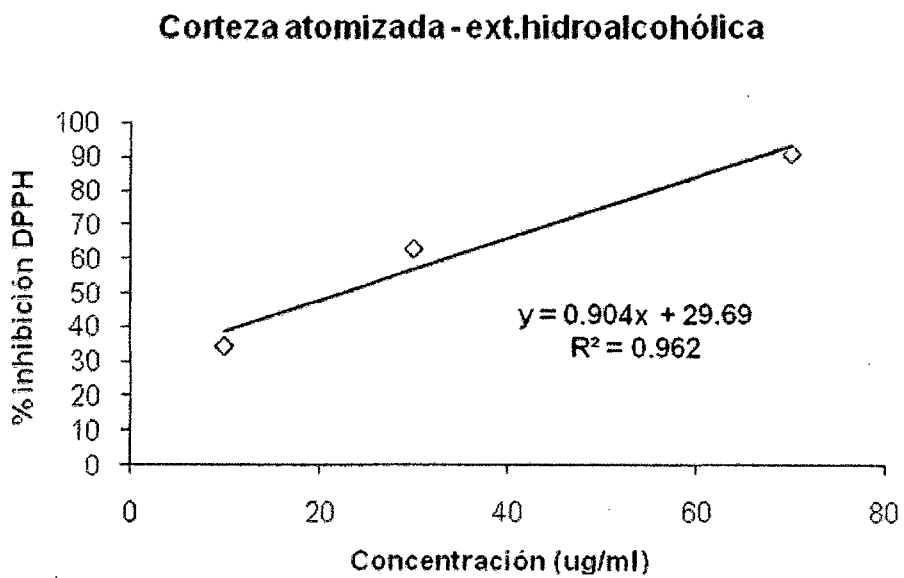
6. **Figura 15.** % de inhibición del radical DPPH del extracto atomizado de hoja / extracción hidroalcohólica a diferentes concentraciones.



7. **Figura 16.** % de inhibición del radical DPPH del extracto atomizado de corteza / extracción acuosa a diferentes concentraciones.



8. **Figura 17.** % de inhibición del radical DPPH del extracto atomizado de corteza / extracción hidroalcohólica a diferentes concentraciones.



9. **Cuadro 9.** Análisis de varianza del IC<sub>50</sub> de los extractos hidroalcohólicos y acuosos de hoja y corteza.

F.V	G.L	SC	C.M	Fc	Valor P
Tratamientos	7	26983.0	3854.72	300.63	0.0000
Error experimental	16	205.151	12.8219		
Total	23	27188.2			

10. **Cuadro 10.** Capacidad de inhibir DPPH del extracto hidroalcohólico de hoja (T1).

Hoja blanqueado/secado - extracción hidroalcohólica (µg/ml)				
	30	100	230	r
T1	32.935 ± 2.911	63.619 ± 1.070	89.399 ± 0.635	0.976

11. **Cuadro 11.** Capacidad de inhibir DPPH del extracto acuoso de hoja de (T2).

Hoja blanqueado/secado - extracción acuoso (µg/ml)				
	3	10	30	r
T2	33.800 ± 0.267	50.629 ± 1.340	85.906 ± 2.978	0.998

12. **Cuadro 12.** Capacidad de inhibir DPPH del extracto acuoso de corteza (T3).

<b>Corteza - extracción acuoso (<math>\mu\text{g/ml}</math>)</b>				
	<b>10</b>	<b>30</b>	<b>100</b>	<b>r</b>
<b>T3</b>	10.811 $\pm$ 2.115	28.103 $\pm$ 3.987	84.669 $\pm$ 0.416	1.000

13. **Cuadro 13.** Capacidad de inhibir DPPH del extracto hidroalcohólico de corteza de Pichirina colorada (T4).

<b>Corteza - extracción hidroalcohólico (<math>\mu\text{g/ml}</math>)</b>				
	<b>30</b>	<b>100</b>	<b>250</b>	<b>r</b>
<b>T4</b>	21.349 $\pm$ 1.714	55.965 $\pm$ 3.446	91.18 $\pm$ 0.339	0.980

14. **Cuadro 14.** Capacidad de inhibir DPPH del extracto atomizado de hoja / extracción acuosa (T5).

<b>Extracto atomizado de hoja - extracción acuoso (<math>\mu\text{g/ml}</math>)</b>				
	<b>3</b>	<b>10</b>	<b>18</b>	<b>r</b>
<b>T5</b>	35.235 $\pm$ 1.00	71.802 $\pm$ 5.906	90.912 $\pm$ 1.624	0.976

**15. Cuadro 15.** Capacidad de inhibir DPPH del extracto atomizado de hoja / extracción hidroalcohólico (T6).

<b>Extracto atomizado de hoja - extracción hidroalcohólico (<math>\mu\text{g/ml}</math>)</b>				
	<b>30</b>	<b>100</b>	<b>150</b>	<b>r</b>
<b>T6</b>	$40.271 \pm 3.130$	$76.542 \pm 1.058$	$88.291 \pm 0.186$	0.982

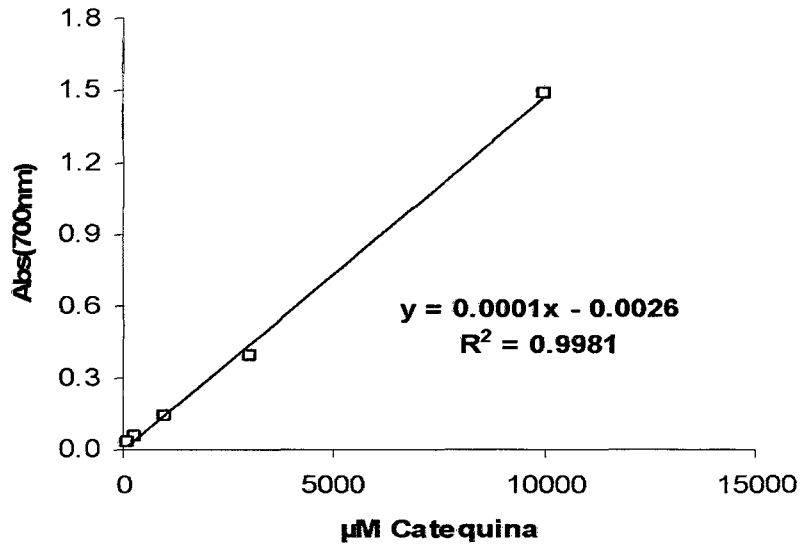
**16. Cuadro 16.** Capacidad de inhibir DPPH del extracto atomizado de corteza/ extracción acuoso (T7).

<b>Extracto atomizado de corteza - extracción acuoso (<math>\mu\text{g/ml}</math>)</b>				
	<b>3</b>	<b>10</b>	<b>30</b>	<b>r</b>
<b>T7</b>	$17.833 \pm 5.526$	$39.969 \pm 2.979$	$88.384 \pm 0.769$	0.998

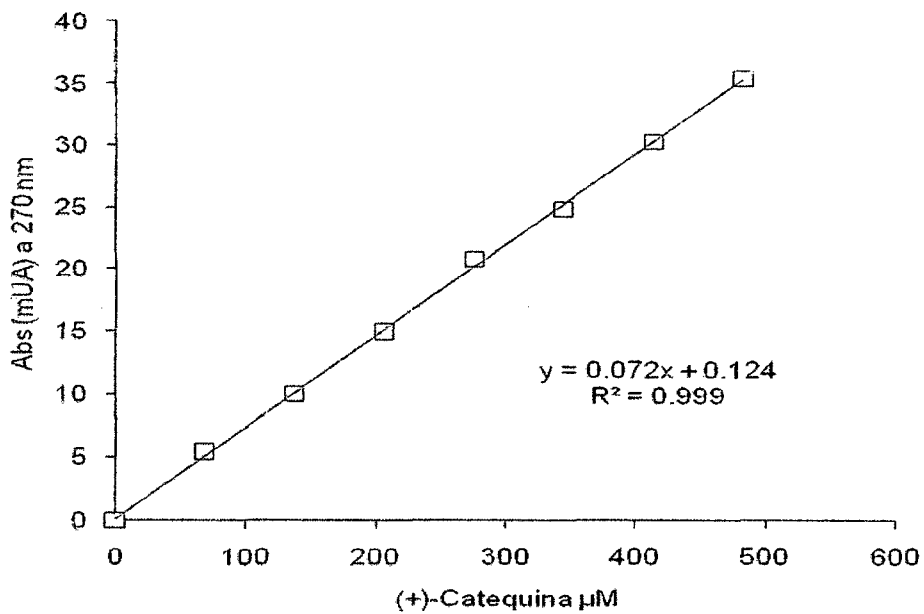
**17. Cuadro 17.** Capacidad de inhibir DPPH del extracto atomizado de corteza / extracción hidroalcohólica (T8).

<b>Extracto atomizado de corteza - ext. Hidroalcohólica (<math>\mu\text{g/ml}</math>)</b>				
	<b>10</b>	<b>30</b>	<b>70</b>	<b>r</b>
<b>T8</b>	$34.629 \pm 0.223$	$62.984 \pm 3.536$	$90.931 \pm 0.449$	0.981

18. **Figura 18.** Curva estándar de Catequina para la cuantificación de polifenoles totales.



19. **Figura 19.** Curva estándar para la cuantificación de (+)-catequina por HPLC.





**20. Cuadro 18.** Análisis de varianza del contenido de polifenoles totales en los extractos de hoja y corteza.

F.V	G.L	SC	C.M	Fc	Valor P
Tratamientos	7	1.7098E6	244265.0	3388.51	0.0000
Error experimental	16	1153.38	72.0864		
Total	23	1.71101E6			

**21. Cuadro 19.** Análisis de varianza de la evaluación del olor de la bebida funcional de *Vismia cayennensis*.

F.V	G.L	SC	C.M	Fc	Valor P
Tratamientos	2	0.177778	0.0888889	0.08	0.9213
Error experimental	42	45.4667	1.08254		
Total	44	45.6444			

**22. Cuadro 20.** Análisis de varianza de la evaluación del color de la bebida funcional.

F.V	G.L	SC	C.M	Fc	Valor P
Tratamientos	2	11.2	5.6	4.36	0.0191
Error experimental	42	54	1.28571		
Total	44	65.2			

**23. Cuadro 21.** Análisis de varianza del sabor de la bebida funcional .

F.V	G.L	SC	C.M	Fc	Valor P
Tratamientos	2	19.9111	9.95556	6.53	0.0034
Error experimental	42	64.0	1.52381		
Total	44	83.9111			

**24. Cuadro 22.** Escala hedónica para la evaluación sensorial.

Calificaciones	Valores
Me agrada muchísimo	7
Me agrada mucho	6
Me agrada	5
Me agrada más o menos	4
Me desagrada poco	3
Me desagrada mucho	2
Me desagrada muchísimo	1

**25. Radical 2, 2-diphenyl-1-picrilhydrazyl (DPPH).**

Se realizó mediante el método de inhibición del radical DPPH, reportado por SANDOVAL *et al.*, 2001.

Se preparó la solución de DPPH, se agitó de 2 a 3 minutos hasta una completa solubilización del compuesto y se almacenó a 4 ° C.

De la solución de stock se preparó 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 utilizó concentraciones entre 50 – 100  $\mu$ M.

Se agregó 25  $\mu$ L de muestra a 975  $\mu$ L de la solución de 100  $\mu$ M de DPPH en una cubeta de poliestireno.

La inhibición de los radicales libres DPPH es determinado por la decoloración de la solución de violeta a amarillo, el cual es medido por espectrofotometría a 515 nm. A medida que hay un mayor secuestro de los radicales libres por un

antioxidante, la absorbancia disminuye.

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

## 26. Cuantificación de polifenoles totales

Se realizó mediante el método de Folín - Ciocalteu, reportado por SANDOVAL *et al*, 2001.

Se preparó la solución de carbonato de sodio al 20% y 1M de (+)- catequin en metanol.

Se agregó a cada tubo 1.58 ml de H<sub>2</sub>O y 20 µL de muestra (control y/ o estándares) , y se vortió ligeramente.

Luego se agregó 100 mL de solución de fenol Folín- ciocalteu, se mezcló nuevamente e incubó por un minuto a temperatura ambiente.

Luego se neutralizó la reacción con 300 µL de solución 20% carbonato de sodio y se incubó por 2 horas a temperatura ambiente.

Finalmente se agregó 1 mL solución (con muestra control y/ o estándar) en una cubeta de poliestireno ; y se realizó la lectura de la absorbancia por espectrofotómetro a 700 nm.

## 27. Cuantificación de catequinas

Se realizó mediante el método de análisis cromatográficos (HPLC), reportado por DING *et al*, 1999.

En el sistema HPLC se utilizó la columna Shimadzu Shim – pack CLS – ODS (M)/ 5 µm /250 mm x 4.6 mm.

Para determinar el contenido de catequina, los extractos de hoja y corteza atomizada / extracción acuosa fueron centrifugados, homogenizados y filtrados con membranas de 0.2  $\mu\text{m}$ .

A partir de una solución de catequina, se preparó las concentraciones, que se usó para levantar la curva estándar.

Se registró las lecturas a 270nm, utilizando la solución acuosa con 30 % de metanol, 0.1 % ac. Acético, y agua desionizada; esta solución fué usada como fase móvil, con un caudal de 1ml / min.

Se usó el software Class-VP del sistema del HPLC para obtener la ecuación de la curva estándar y a la vez esta servirá para estimar la cantidad en mg de catequina /g de muestra seca.

**CIPNA**

Centro de Investigación de Productos Naturales  
de la Amazonía

**UNAS**

Universidad Nacional Agraria de la Selva  
Tingo María

## A QUIEN CORRESPONDA

El presente documento tiene por finalidad hacer constancia que el Dr. Manuel Sandoval dirige en el CIPNA el Programa de Investigación de Plantas Medicinales de la Amazonia. Las investigaciones que se ejecutan son financiadas por la cooperación internacional.

Dentro de los trabajos de investigación realizados destaca el estudio "**ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN HOJA Y CORTEZA DE PICHIRINA COLORADA (*Vismia cayennensis*), ATOMIZACION Y APLICACION EN UNA BEBIDA FUNCIONAL**", conducido por la Bach. Daniza Domínguez Rengifo de la Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias. Esta investigación fue financiada completamente con fondos del Proyecto Perú-Corea.

Como parte de la investigación para determinar la capacidad antioxidante de este recurso natural, los extractos seleccionados fueron procesados por atomización (spray drying) en la planta industrial H-H Technology, EIRL, Lima Perú aplicando el proceso desarrollado y publicado por Sandoval et al. 1998.

Atentamente,

*Manuel Sandoval*

Manuel Sandoval Chacón, Ph.D.  
Investigador Principal  
CIPNA-UNAS

Abril 29, 2009

**CIPNA**

**Ciencia & Naturaleza al Servicio del Bienestar Humano**

Apartado 156, Tingo María, Perú -Teléfono: (51) 62-562342 Anexo 212 - Fax: (51) 62-561156

Email: [cipna@msn.com](mailto:cipna@msn.com)