

NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
FACULTAD DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE CIENCIA, TECNOLOGÍA E
INGENIERÍA DE ALIMENTOS



**“TAMIZAJE FITOQUIMICO, POLIFENOLES TOTALES, ANTOCIANINAS Y
CAPACIDAD ANTIOXIDANTE, DEL HONGO COMESTIBLE
(*Auricularia aurícula*)”**

Tesis

Para optar el título de:

INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

CARDENAS SANDOVAL, WILLIAM

PROMOCIÓN 2015-I

Tingo María - Perú

2017

DEDICATORIAS

A DIOS

Por haberme permitido llegar hasta este punto por darme salud y su gracia perfecta, para lograr mis objetivos, además de toda su bendición, amor y bondad.

A mi madre Zoraida

Por los ejemplos de valores, perseverancia y constancia que lo caracterizan que me ha infundado en todo momento, por el valor mostrado para salir adelante y por sus consejos que me ha permitido ser una persona de bien, pero más aún por su amor.

A mi padre

Por su valor y trabajo arduo para salir adelante demostrándome que todo trabajo es digno del hombre.

A mis hermanos

Porque son motivos de ser mejor cada día, por compartir sus alegrías y anhelos; Pero ante todo agradezco a aquella persona que con su ejemplo de valor, coraje y amor por los suyos enfrenta la vida, que sin esperar nada a cambio me apoyo incondicionalmente, a ti mujer, hermana, madre y amiga Liliana Cárdenas Sandoval.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Agraria de la Selva y en especial a la Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias que me dieron la oportunidad de formar parte de ellas y a todos los docentes de la carrera.

Al Dr. Pedro Pablo Peláez Sánchez, por confiar en mí, por su apoyo y enseñanza y ser un verdadero ejemplo de entrega y dedicación a la investigación.

Al Ing. Darling de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, por su apoyo incondicional y desinteresado en el estudio de capacidad antioxidante.

Al Técnico Salazar, por su orientación en el estudio de tamizaje fitoquímico.

Al Ing. Ladislao Ruiz Rengifo, por su aportación en la caracterización y descripción del hongo comestible *Auricularia aurícula*.

A la Srta. Ing. Dánae Vásquez por su apoyo en las técnicas de análisis y en el desarrollo de estas.

Y por último y no menos importante a mi amigo Pablo Quiroga Julca por su colaboración, por sus ánimos, ocurrencias y vivencias pasadas en el desarrollo de toda la investigación.

Par ellos, muchas gracias por todo.

ÍNDICE

	Página
I. INTRODUCCIÓN.....	01
II. REVISIÓN DE LITERATURA	03
2.1. Aspectos generales de <i>Auricularia auricula</i>	03
2.1.1. Distribución y ecología	03
2.1.2. Clasificación taxonómica.....	04
2.1.3. Descripción botánica y composición química	04
2.2. Aspectos generales de tamizaje fitoquímico.....	06
2.2.1. Definición	06
2.2.2. Estructuras de metabolitos secundarios	06
2.3. Cromatografía en capa fina	07
2.4. Aspectos generales de Polifenoles	09
2.4.1. Descripción	09
2.4.2. Clasificación de polifenoles.....	11
2.4.3. Compuestos fenólicos en los hongos.	13
2.5. Aspectos generales de las Antocianinas	14
2.5.1. Definición	14
2.5.2. Estructura de las antocianinas y color	15
2.5.3. Factores que alteran la estabilidad de la antocianina	18
2.6. Generalidades de antioxidante y radicales libres	19

2.6.1. Definicion	19
2.6.2. Tipo de antioxidantes	20
2.6.3. Funcion de los antioxidantes	21
2.6.4. Radicales libres	22
2.6.5. Metodo de analisis para capacidad antioxidante.....	23
III. MATERIALES Y MÉTODOS	27
3.1. Lugar de ejecución	27
3.2. Material biológico.....	27
3.3. Equipos, materiales y reactivos	28
3.3.1. Equipos de laboratorios	28
3.3.2. Materiales de laboratorio.....	29
3.3.3. Reactivos y solventes.....	30
3.4. Métodos de análisis.....	30
3.4.1. Análisis químico proximal.....	30
3.4.2. Tamizaje fitoquímico	31
3.4.3. Cuantificacion de polifenoles totales	31
3.4.4. Cuantificacion de antocianinas	31
3.4.5. Evaluacion de la capacidad antioxidante	31
3.5. Metodología experimental.....	311
3.5.1. Caracterización químico proximal	31
3.5.2. Prepracion de la muestra	32

3.5.3. Caracterización fitoquímica del hongo comestible <i>A. auricula</i>	35
3.5.4. Cuantificación de polifenoles totales en el hongo comestible <i>Auricularia auricula</i>	35
3.5.5. Cuantificación de antocianinas en el hongo comestible <i>Auricularia auricula</i>	37
3.5.6. Determinación de la capacidad antioxidante del hongo comestible <i>Auricularia auricula</i>	39
IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES	44
4.1. Caracterización química proximal del hongo comestible <i>Auricularia auricula</i>	44
4.2. Caracterización fitoquímica del hongo comestible <i>Auricularia auricula</i>	46
4.2.1. Ensayo de solubilidad	46
4.2.2. Marcha fitoquímica de <i>Auricularia auricula</i>	47
4.2.3. Análisis cromatográfico de <i>Auricularia auricula</i>	50
4.3. Cuantificación de polifenoles totales en el hongo comestible <i>Auricularia auricula</i>	560
4.3.1. Determinación de la curva estándar	50
4.3.2. Cuantificación de polifenoles totales	52
4.4. Cuantificación de antocianinas del hongo comestible <i>A. auricula</i>	564
4.5. Capacidad antioxidante del hongo comestible <i>Auricularia auricula</i>	566

4.5.1. Determinación del coeficiente de inhibición (IC_{50}) radical 1,1 diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH)	566
4.5.2. Capacidad de inhibir el catión 2,2'-azino-bis (3- etilbenzotiazolin-6 ácido sulfónico) ($ABTS^{\circ+}$)	59
V. CONCLUSIONES.....	622
VI. RECOMENDACIONES	644
VII. ABSTRACT.....	65
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	677
ANEXOS	79
Apéndice 1. Análisis fisicoquímico del hongo comestible <i>Auricularia auricula</i> .	800
Anexo A. Análisis de varianza del contenido de humedad.....	800
Anexo B. Análisis de varianza del contenido de proteína.....	800
Anexo C. Análisis de varianza del contenido de grasa.....	800
Anexo D. Análisis de varianza del contenido de fibra.....	811
Anexo E. Análisis de varianza del contenido de ceniza.	811
Anexo F. Análisis de varianza del contenido de carbohidratos.....	811
Apéndice 2. Analisis cromatografico en el hongo comestible <i>Auricularia auricula</i>	82
Anexo A. Desarrollo del cromatograma.....	82
Anexo B. Revelado del cromatograma.	83

Apéndice 3. Cuantificación de polifenoles totales en el hongo comestible <i>Auricularia auricula</i>	83
Anexo A. Resultado de las absorbancias para la curva estandar de polifenoles.	83
Anexo B. Curva estandar del acido galico para la cuantificación de polifenoles totales.....	84
Anexo C. Analisis de varianza del contenido de polifenoles totales.	84
Apéndice 4. Determinación de contenido de antocianinas en el hongo comestible <i>Auricularia auricula</i>	85
Anexo A. Analisis de varianza del contenido de antocianinas.	85
Apéndice 5. Determinación de la capacidad antioxidante del hongo comestible <i>Auricularia auricula</i>	85
Anexo A. Analisis de varianza del IC50 del radical DPPH.	85
Anexo B. Análisis de varianza de IC50 del radical ABTS.....	85

INDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Partes sustituyentes de las antocianinas.....	16
2. Resultado del análisis químico proximal del <i>Auricularia auricula</i>	45
3. Resultado de solubilidad en los extractos de <i>Auricularia auricula</i>	46
4. Resultado del análisis fitoquímico del <i>Auricularia auricula</i>	488
5. Cuantificación de polifenoles totales, realizado en los dos estados de crecimiento del hongo comestible <i>A. auricula</i>	53
6. Cuantificación de antocianinas, realizado en los dos estados de crecimiento del hongo comestible <i>A. auricula</i>	55
7. Inhibición de radicales libres de DPPH (IC50).	58
8. Inhibición de radicales libres de ABTS (IC50).	60

INDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. <i>Auricularia auricula</i> , estado tierno.....	05
2. <i>Auricularia auricula</i> , estado maduro.....	05
3. Estructura del ergosterol.....	07
4. Ruta biosintetica de los compuestos polifenolicos	10
5. Estructura acidos hidroxinamicos.....	11
6. Nucleo basico de un flavonoide.....	12
7. Forma simple de un fenol.	14
8. Estructura de la antocianina.	16
9. Ruta de biosintesis de las antocianinas.....	17
10. Estructura de la antocianina a diferentes pH's.....	19
11. Estructura quimica de la ergotioneina.....	21
12. Reaccion coloreada del radical DPPH en presencia de un antioxidante para producir DPPH-H reducido.....	24
13. Reaccion de oxidacion-reduccion para la formacion del radical ABTS y su forma reducida ABTS-H.....	26
14. Flujograma de operaciones para la preparacion del extracto metanolico.	33
15. Esquema general de la marcha fitoquimica preliminar.	34
16. Diseño experimental para la cuantificacion de polifenoles totales en el hongo comestible <i>A. auricula</i>	36
17. Diseño experimental para la cuantificacion de antocianinas en el hongo comestible <i>A. auricula</i>	38

18.	Diseño experimental para la evaluación de la capacidad antioxidante del hongo comestible <i>A. auricularia</i> .	40
19.	Diseño experimental para la evaluación de la actividad antioxidante en el hongo comestible <i>A. auricula</i> .	42
20.	Representación del contenido de polifenoles totales en el hongo comestible <i>A. auricula</i> .	53
21.	Representación del contenido de antocianinas en el hongo comestible <i>A. auricula</i> .	56
22.	Comportamiento del IC50 con el radical DPPH del hongo comestible <i>A. auricula</i> .	58
23.	Comportamiento del IC50 con el radical ABTS del hongo comestible <i>A. auricula</i> .	60

RESUMEN

La presente investigación permitió desarrollar el conocimiento científico del hongo comestible (*Auricularia aurícula*) que crece en la Amazonía Peruana a través de su caracterización química y fitoquímica. Se evaluó la capacidad antioxidante de los extractos metanólicos. El análisis fitoquímico fue determinado por los métodos descritos por LOCK DE UGAZ (1988); la cuantificación de polifenoles por el método descrito por SYMONOWICZ *et al.* (2012) y SULTANA *et al.* (2012); la cuantificación de antocianinas por el método descrito por POO (2005); la capacidad antioxidante frente a los radicales DPPH y ABTS^{°+} por los métodos descritos por SCHERER y GODOY (2009) y PELLIGRINI *et al.* (1999). El análisis estadístico empleó el diseño completo al azar y la prueba de Tukey ($p < 0,05$), se utilizó el software InfoStat versión 2016. El hongo comestible en los estados tierno y maduro presentó $81,62 \pm 0,421\%$ y $91,43 \pm 2,102\%$ de humedad; $6,78 \pm 0,206\%$ y $8,92 \pm 0,025\%$ de proteína, respectivamente. Se encontró cantidades regulares de fenoles y glicósidos en los estados tierno y maduro y poca cantidad de compuestos de alcaloides. Los dos estados de crecimiento (tierno y maduro) presentaron cantidades de polifenoles de $7,725 \pm 0,56$ y $4,771 \pm 0,93$ (mg EAG/g muestra), antocianinas, $6,030 \pm 0,320$ y $34,966 \pm 10,710$ (mg cianidina-3-glucosido/100 g) respectivamente. La capacidad antioxidante frente a los radicales DPPH y ABTS^{°+}, reportó IC_{50} $1,016 \pm 0,012$ y $1,300 \pm 0,012$; IC_{50} $0,561 \pm 0,053$ y $0,580 \pm 0,002$ (mg/mL), para el hongo tierno y maduro respectivamente.

I. INTRODUCCIÓN

El presente trabajo es un aporte al conocimiento científico de las características químicas, fitoquímicas, polifenoles totales, antocianinas capacidad antioxidante del hongo comestible (*Auricularia aurícula*) de dos estados de crecimiento en estado maduro y en estado tierno; hongo que crece en la Amazonía peruana.

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

Los hongos ofrecen múltiples utilidades en la industria de alimentos como también en la medicina. Su acción preventiva o curativa se debe a sustancias químicas que provocan un efecto fisiológico en el organismo. Estas sustancias se conocen como principios activos y, generalmente son productos del metabolismo secundario de los hongos. Los principios activos tienen propiedades medicinales o preventivas, o funcionan incrementando el bienestar.

La importancia de la presente investigación radica en brindar un nuevo conocimiento acerca de *Auricularia aurícula*, a la que se atribuyen tradicionalmente propiedades medicinales que aún no han sido estudiadas; por tal motivo los objetivos establecidos para la investigación fueron:

- Caracterizar Fisicoquímicamente a *Auricularia aurícula*.
- Caracterizar fitoquímicamente a *Auricularia aurícula*.
- Cuantificar el contenido de polifenoles totales en *Auricularia aurícula*.
- Cuantificar el contenido de antocianinas en *Auricularia aurícula*.
- Determinar la capacidad antioxidante de *Auricularia aurícula*.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Aspectos generales de *Auricularia aurícula*.

2.1.1. Distribución y ecología.

Yan et al. (2004); Schenck y Dudley (1999) citado por REYES (2006) La distribución del genero *Auricularia* es amplia, concentrándose en las zonas tropicales y subtropicales del mundo. Sin embargo la mayor variedad de especies de este género se pueden encontrar en China y sud-este de Asia, que a su vez son los principales consumidores y productores a nivel mundial.

Auricularia aurícula está formado por hongos que desarrollan fructificaciones gelatinosas, con hifas de hialinas. Los basidios maduros presentan septos transversales, con o sin esterigmas, y producen esporas de hialinas a parduscas, con la pared más o menos gruesa, lisa y no amiloide. En este orden se incluyen una familia (*Auriculariaceae*), 32 géneros y 198 especies (VILLAMIZAR A. y CAYCEDO J. 2013).

Con respecto a su rol ecológico *A. aurícula* vive como saprófita sobre ramas caídas y puede aparecer formando grupos durante todo el año después de las lluvias. En forma silvestre también crece sobre troncos de árboles de mango (*Mangifera indica* L.), Cacao (*Theobroma cacao* Linn.),

cafeto (*Coffea arabica* L.), *Inga* spp, entre otros, (Quimio, 1989 citado por ARDON C., 2007).

2.1.2. Clasificación taxonómica

Reino	: Fungi
Nombre científico:	<i>Auricularia aurícula</i>
División	: Basidiomycota
Clase	: Agaricomycetes
Orden	: Auriculariales
Familia	: Auriculariaceae
Género	: <i>Auricularia</i>

Fuente: MICORODA (2012)

2.1.3. Descripción botánica y composición química

Hongos de consistencia gelatinoso-elástica, con el himenio en las partes inferiores o cóncavas. Carpóforo: de 3 a 8 cm, al principio con forma de copa, después de oreja más o menos regular y al final se transforma en una masa elástica, gelatinosa muy irregular, ondulada y con pliegues; margen incurvado ondulado, lobulado en la madurez. Cara externa convexa con la cutícula mate, pubescente, con arrugas o pliegues, de color pardo rojizo a pardo oliváceo, al final casi negra (MICORODA, 2012).

Según Stamets (1993), citado por ARDON C. (2007), la composición de *A. aurícula* es: 8-10% de proteína en base húmeda; 0.8-1.2% de grasa; 84-87% de carbohidratos (base seca); 9-14% de fibra y 4-7% de

cenizas. El contenido de humedad de las setas frescas es de aproximadamente 90%.



Figura 1. *Auricularia aurícula*, Estado tierno.



Figura 2. *Auricularia aurícula*, Estado maduro.

2.2. Aspectos generales de tamizaje fitoquímico

2.2.1. Definición

El tamizaje fitoquímico viene analizando y estudiando los efectos terapéuticos de las plantas y también en hongos; con la finalidad de precisar, comparar y clasificar las diversas propiedades de estas. El análisis fitoquímico tiene como objetivo conocer los principios activos o metabolitos secundarios responsables de cortar, aliviar o curar las enfermedades (LOCK DE UGAZ, 1988).

Las setas comestibles son conocidas por su alto valor proteico, su considerable concentración de vitaminas, minerales, fibra dietaria, bajos niveles de sodio y grasas insaturadas. Esto las convierte en un excelente nutraceutico ya que sus propiedades medicinales están directamente relacionadas con los compuestos que presentan acciones biológicas con potencial terapéutico. Dichos compuestos se pueden aislar tanto del micelio como del carpoforo y del medio de cultivo agotado. Dentro de estos se encuentran β -glucanos, enzimas, policetidos, acidos grasos, polifenoles, flavonoides y terpenoides, entre otros (SUAREZ y NIETO, 2011).

2.2.2. Estructuras de metabolitos secundarios

Los constituyentes químicos se agrupan según su origen biosintético común, y así podemos mencionar a los terpenos y esteroides, flavonoides, cremenos y benzofuranos, cumarinas, quinonas, alcaloides entre otras.

Terpenos: Corresponden a moléculas formadas por unidades de isopreno, unidas cabeza a cola. Se clasifican como hemiterpenos, monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, sesterpenos, triterpenos y tetraterpenos.

Los triterpenoides tetracíclicos tienen una gran relevancia en los macromicetos y, dentro de ellos, los esteroides son los metabolitos más abundantes. El ergosterol (Fig. 3) es el principal componente triterpenoidal de los hongos. Los metabolitos secundarios de esta clase presentan interesantes propiedades de tipo farmacológico; entre ellas, la anticancerígena y la antimicrobiana, antibiótica, antiinflamatoria, antifúngica, antitumoral e insecticida entre otras (SUAREZ y NIETO, 2011).

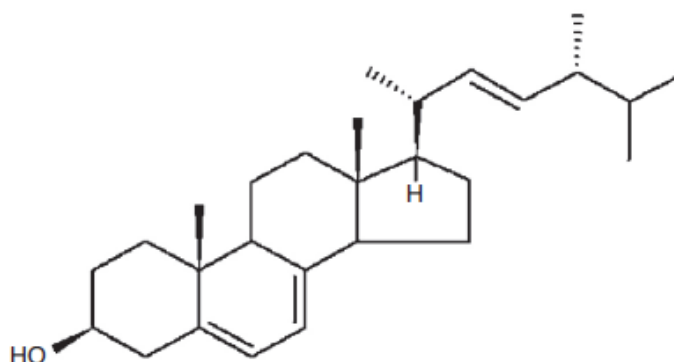


Figura 3. Estructura del ergosterol

2.3. Cromatografía en capa fina

JORRÍN *et al.* (2007) manifiesta que en la cromatografía en capa fina, CCF o TLC (“thin-layer chromatography, en la terminología inglesa) se puede utilizar como soporte cualquier sustancia que pueda dividirse en

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

Para el desarrollo de la cromatografía, las muestras, en un disolvente adecuado, se aplican puntualmente con la ayuda de jeringas, micropipetas o capilares en un extremo de la placa. El volumen de la muestra a aplicar es crítico, ya que va a afectar a la resolución (separación de los compuestos de una mezcla compleja), y depende de la concentración del compuesto o compuestos de interés en la muestra. Una vez aplicada y seca la muestra, la placa se introduce en un recipiente cerrado (tanque cromatográfico) y uno de los extremos (el más próximo a la línea de aplicación) se sumerge en un disolvente apropiado (fase móvil), cuyo nivel en el fondo del tanque debe quedar por debajo de la línea de aplicación. El solvente se desplaza a través del soporte por capilaridad provocando un reparto de los solutos entre él y la fase estacionaria de acuerdo a sus solubilidades relativas (coeficiente de reparto). Una vez que el solvente haya alcanzado un punto próximo al otro extremo de la placa, ésta se saca del tanque y se seca. Las manchas

correspondientes a cada compuesto, si no son visibles, se pueden revelar mediante técnicas analíticas concretas (JORRÍN *et al.* 2007).

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

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

2.4. Aspectos generales de Polifenoles

2.4.1. Descripción

Los polifenoles son uno de los grupos de metabolitos secundarios más numerosos, con más de 8000 estructuras químicas reportadas hasta el momento (GIL, 2012), que se caracterizan por la presencia de anillos aromáticos hidroxilados, estos se derivan de la L-fenilalanina (PETTI, 2009), por la ruta del ácido shikimico (Figura 4).

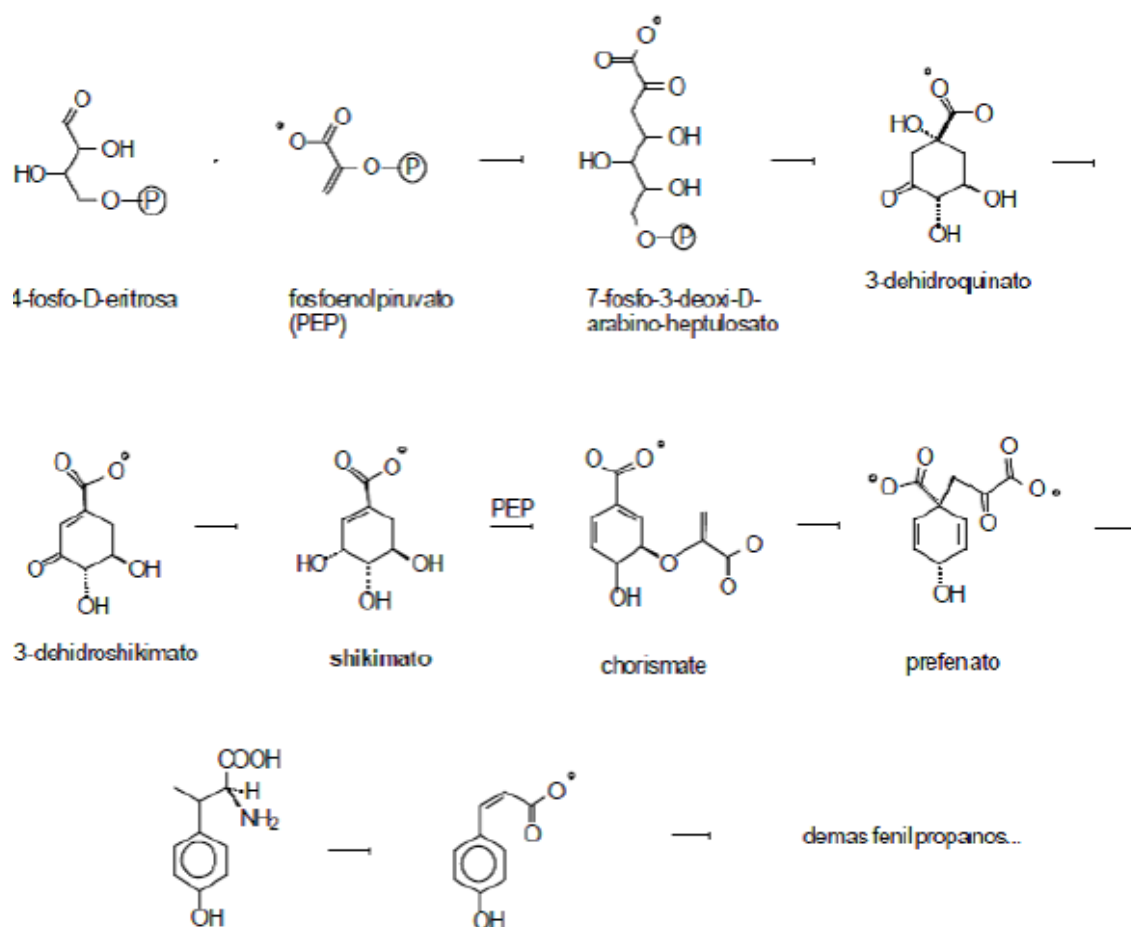


Figura 4. Ruta biosintetica de los compuestos polifenolicos (MABRY, et al. 1970).

Entre los compuestos polifenólicos se encuentran fenoles simples, ácidos fenólicos (derivados de los ácidos cinámico y benzoico), flavonoides, cumarinas, taninos condensados e hidrolizables y lignanos (NACZK, 2004).

Los compuestos fenólicos exhiben un amplio rango de propiedades fisiológicas, tales como antialérgico, antiinflamatorio, antimicrobiano, antioxidante, antitrombótico, protección cardiovascular y efectos vasodilatador, esto es atribuido a su actividad antioxidante (BALASUNDRAM *et al.*, 2005).

2.4.2. Clasificación de polifenoles

Las principales clases de polifenoles son los ácidos fenólicos y los flavonoides. De los primeros. Los más importantes son los ácidos hidroxicinámicos, los cuales están distribuidos en casi todas las plantas (FERGUSON, 2001). Siendo el más representativo de estos el ácido cafeico (Figura 5), el cual se encuentra en los alimentos, principalmente como un éster con el ácido quinico, el cual es conocido como ácido clorogénico (Figura 5) (TAPIERO, *et al.* 2002).

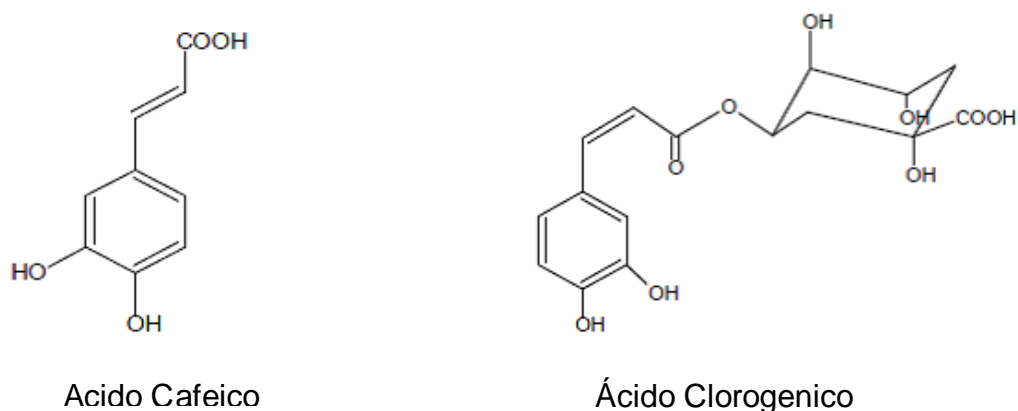


Figura 5. Estructura ácidos hidroxicinámicos (TAPIERO, *et al.* 2002).

Los flavonoides corresponden a un grupo de sustancias naturales con estructuras fenólicas variables. Su estructura química pertenece a la de los derivados de 1,3-difenilpropan-1-ona (chalconas), siendo uno de los grupos más conocidos los que contienen el sistema fenilcromona (venzo- γ -pirona) (ARCT, *et al.* 2008). Su esqueleto fundamental corresponde a los compuestos de tipo C6-C3-C6. (Figura 6)

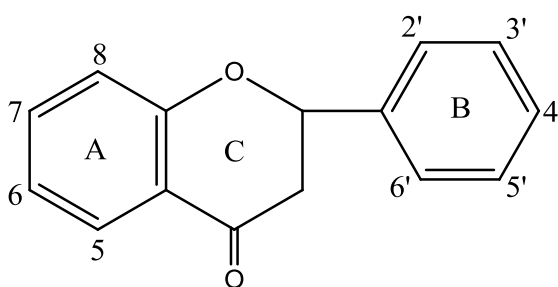


Figura 6. Núcleo básico de un flavonoide.

Los flavonoides generalmente están hidroxilados en las posiciones 3, 5, 7, 3', 4' y/o 5'; y frecuentemente uno o más de estos grupos hidroxilados están metilados, acetilados, fenilados o sulfatados.

La importancia que revisten estos compuestos se debe a que además de ser los metabolitos secundarios más ampliamente distribuidos en plantas, ya que alrededor de 5000 han sido extraídos e identificados. (ARCT, *et al.* 2008), muchos de estos compuestos intervienen en el sistema de defensa de las mismas, ya que protegen de la absorción radiación ultravioleta e inhiben el crecimiento de microorganismos, lo cual las protege de infecciones. También existen algunos que producen sabores desagradables evitando así el ataque de animales herbívoros.

De acuerdo a lo anterior se da la importante actividad antioxidante que presentan, la cual es debida a varios mecanismos como son el atrapamiento de las especies reactivas de oxígeno, inhibición de las enzimas responsables de producir aniones superóxido, quelatación de los metales de transición involucrados en los procesos de formación de radicales libres y la prevención de los procesos de peroxidación por reducción de radicales peróxido y alcóxido. (PYRZYNSKA *et al.* 2009). Esto se debe a que los grupos fenólicos poseen un alto potencial de reducción y pueden formar aniones radicales estabilizados por resonancia siendo tres grupos estructurales los que incrementan dicha estabilidad y por ende su capacidad antioxidante: el grupo o-dihidroxi (catecol) en el anillo B, el doble enlace en C2-C3 en conjugación con el grupo 4-ceto, el cuales el responsable de la deslocalización electrónica en el anillo B y la presencia de hidroxilos en C-3 y C-5, los cuales aumentan la acción de atrapamiento de radicales libres. (MAKRIS, *et al.* 2006).

2.4.3. Los compuestos fenólicos en los hongos.

Los hongos comestibles han sido utilizados desde tiempos inmemoriales por sus propiedades nutricionales y farmacológicas. En este sentido, se puede corroborar cómo los hongos superiores representan una fuente natural de potentes metabolitos bioactivos antioxidantes. Entre los compuestos bioactivos se encuentran polisacáridos, proteínas, compuestos fenólicos (flavonoides, lignanos y ácidos fenólicos), ligninas, triterpenos, etc. Estos compuestos son los responsables de las propiedades medicinales que tienen los hongos como la capacidad antioxidante, propiedad

inmunomoduladora, anticancerígena, antiglicémica y hepatoprotectora, entre otras (RONCERO, 2015).

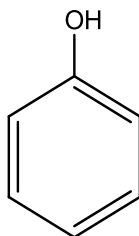


Figura 7. Forma simple de un fenol.

2.5. Aspectos generales de las Antocianinas

2.5.1. Definición

Las antocianinas tiene significado del griego *anthos* flor y *kyanos* azul, son el grupo más importante de pigmentos solubles al agua visibles para el ojo humano, forman parte de la familia de los polifenoles y se definen como flavonoides fenólicos. Los colores rosa, rojo, azul, malva y violeta de las flores frutas y verduras se deben a la presencia de estos pigmentos, se hallan en las células epidermales o subepidermales de la planta, principalmente en flores y frutos (CUEVAS *et al.*, 2008).

Actualmente se conocen aproximadamente 20, las más importantes son la pelargonidina, delphinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina, nombres que derivan de la fuente vegetal de donde se aislaron por primera vez; la combinación de estas con los diferentes azúcares genera aproximadamente 150 antocianinas. El color de las antocianinas depende de varios factores intrínsecos, como son los sustituyentes químicos que contenga

y la posición de los mismos en el grupo flavilio; por ejemplo si se aumentan los hidroxilos del anillo fenólico se intensifica el color azul mientras que la introducción de metoxilos provoca la formación del color rojo. (BADUI, 2006).

2.5.2. Estructura de las antocianinas y color

Las antocianinas son glucósidos de antocianidinas, pertenecientes a la familia de los flavonoides, compuestos por dos anillos aromáticos A y B unidos por una cadena de 3 C (Figura 8). Variaciones estructurales del anillo B resultan en seis antocianidinas conocidas: pelargonidina, cianidina, delphinidina, peonidina, petunidina, malvidina.

Su estructura química se conforma de un esqueleto que contiene quince carbonos (C6-C6-C3), ordenados en dos anillos aromáticos (anillo A benzoil y anillo B hidroxicinamoil) unidos por un tercer anillo que consta de tres carbonos y un oxígeno (C3O). (MENDOZA, 2012).

En las plantas las antocianidinas no se acumulan como tal, sino en su forma glucosilada; esto es, unidas a algún azúcar y en cuyo caso se denominan antocianinas. El azúcar presente en la molécula les confiere una gran solubilidad y estabilidad, generalmente se une a la antocianidina en la posición 3 del grupo fenólico, pero puede también hacerlo en las posiciones 5 y 7. Con base en el número de azúcares presentes en su estructura, las antocianinas se clasifican en: monoglucosidos (un azúcar), diglucosidos (dos azúcares) y triglucosidos (tres azúcares). Los tipos de azúcares presentes pueden ser: monosacáridos, disacáridos o trisacáridos.

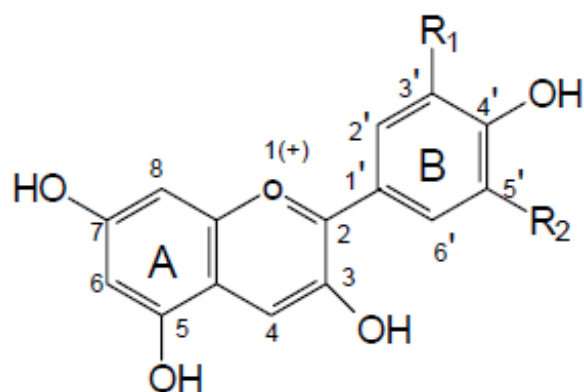


Figura 8. Estructura de la antocianina

Cuadro 1. Partes sustituyentes de las antocianinas.

Aglicona	Sustitución		Longitud max. (nm) espectro visible
	r1	r2	
Pelargonidina	H	H	494 (naranja)
Cianidina	OH	H	506 (naranja-rojo)
Delfinidina	OH	OH	508 (azul-rojo)
Peonidina	OCH3	H	506 (naranja-rojo)
Petunidina	OCH3	OH	508 (azul-rojo)
Malvidina	OCH3	OCH3	510 (azul-rojo)

Fuente: GARSON (2008)

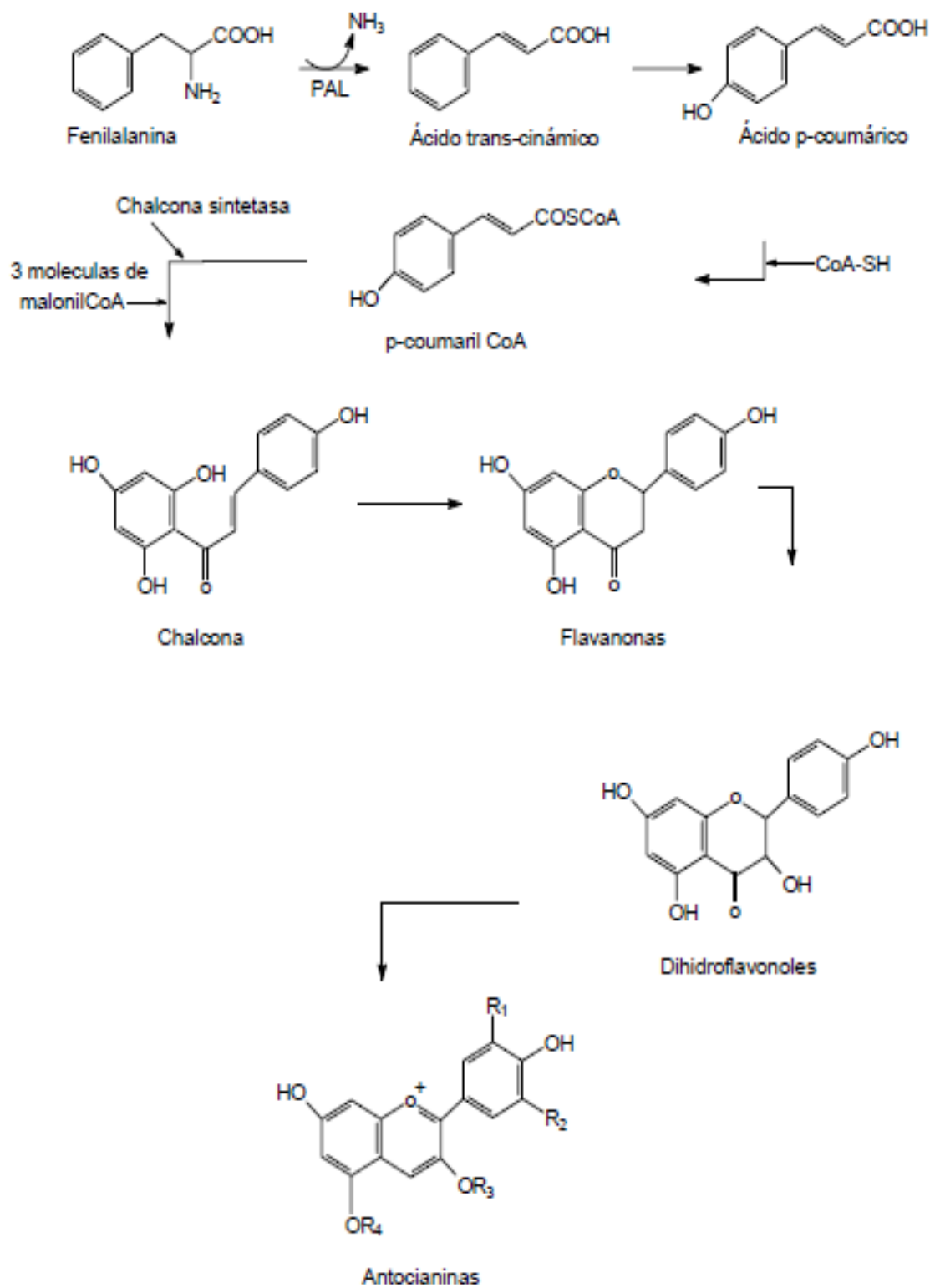


Figura 9. Ruta general de biosíntesis de las antocianinas.

2.5.3. Factores que alteran la estabilidad de la antocianina

pH: Este es uno de los factores más importantes. Las antocianinas son más estables en un medio ácido (pH 1) que en un medio neutro o alcalino. En medio ácido la forma predominante es la del ion flavilio, el cual da el color rojo, cuando esta es sometida a pH básico o alcalino, el ion flavilio es susceptible al ataque nucleofílico por parte del agua, produciéndose la pseudobase carbinol, esto es a pH 4.5 y seguido se forma la chalcona, las dos formas son incoloras (HUTCHINGS, 1999).

Oxígeno: la presencia de oxígeno y ácido ascórbico contribuye a la degradación de antocianinas. La pérdida de antocianinas ante la presencia de oxígeno depende del pH y se relaciona a la concentración presente de la pseudo-base. La retención de color es mejorada cuando el oxígeno es removido por calentamiento, puede ser por vacío o por flujo de nitrógeno (KALLIO *et al.*, 2009). La presencia de oxígeno acelera la destrucción de pelargonina-3-glucosido en ambas soluciones de buffer de pH 2-4. (LUKTON *et al* 1956).

Temperatura: la antocianina es destruida por el calor durante el procesamiento y almacenamiento (MARKAKIS, 1982). Un incremento logarítmico en la destrucción de la antocianina ocurre con un incremento en la temperatura. TIMBERLAKE (1980) observó que el equilibrio entre las estructuras es endotérmico, en una dirección de izquierda a derecha: Base quinoidal ↔ Cation flavilio ↔ Pseudobase carbinol ↔ Chalcona.

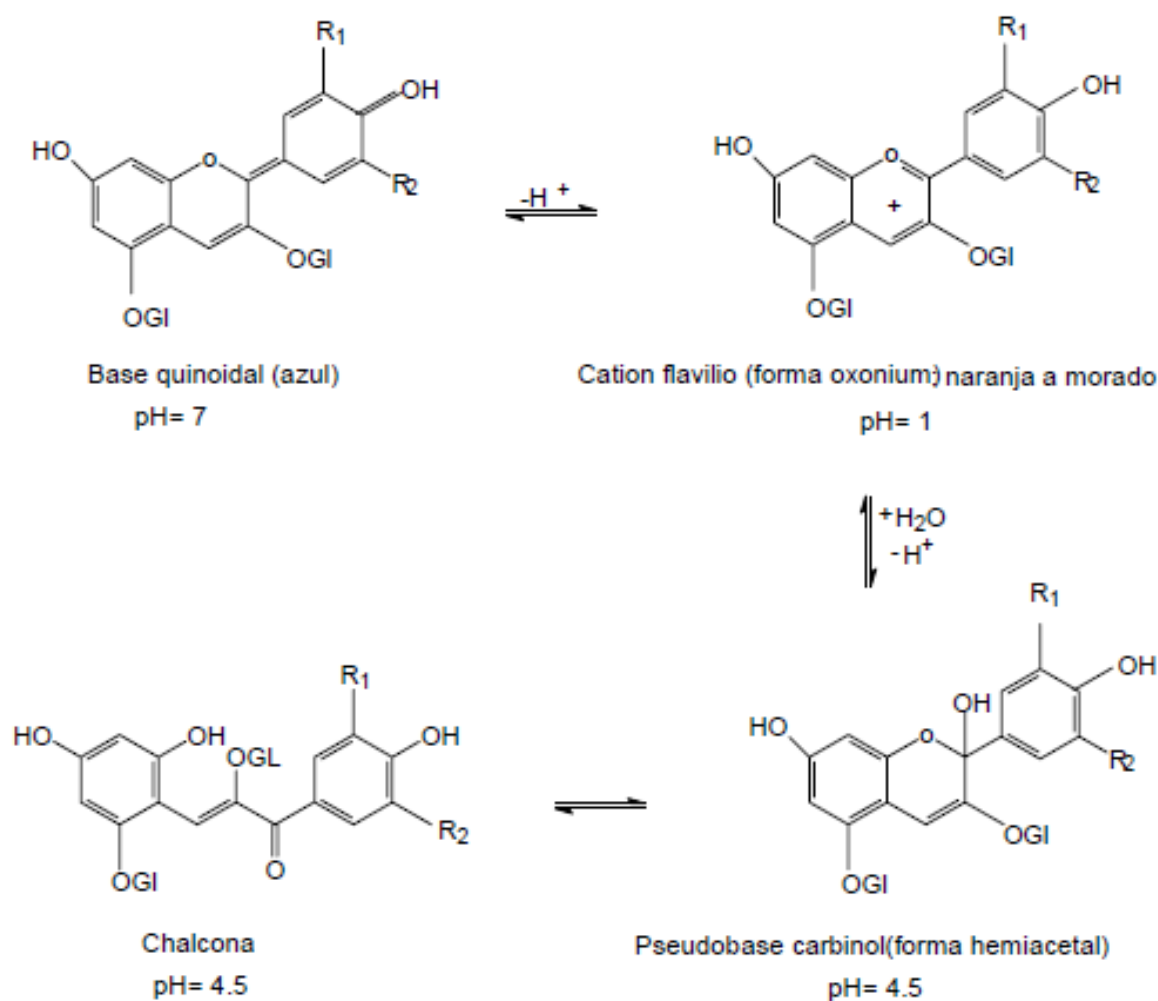


Figura 10. Estructura de la antocianina a diferentes pH's.

2.6. Generalidades de antioxidante y radicales libres

2.6.1. Definición

RAMOS *et al.* (2008) menciona que un antioxidante es una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas. Se produce una oxidación, siempre que una especie cede electrones a otra, la especie que gana electrones se reduce, y la que pierde se oxida. En estas

reacciones de oxidación, a veces se pueden producir radicales libres, especies muy oxidativas y que pueden producir daños al organismo.

2.6.2. Tipo de antioxidantes

Antioxidantes endógenos

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

Antioxidantes exógenos

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

Los antioxidantes exógenos son los que se ingieren con la dieta encontrándose en diversos alimentos como las frutas, verduras y también en las setas.

2.6.3. Función de los antioxidantes

Los antioxidantes impiden que otras moléculas se unan al oxígeno, al reaccionar interactúan más rápido con los radicales libres del oxígeno que con el resto de moléculas presentes, la acción del antioxidante es de sacrificio de su propia integridad molecular para evitar alteraciones de moléculas de proteínas, hidratos de carbono, lípidos, ácidos nucleicos y moléculas de bajo peso molecular. Su acción la realizan tanto en medios hidrofílicos como hidrófobos (MENDOZA, 2012).

Dentro de la composición química de los hongos, los antioxidantes más destacados son los compuestos fenólicos. En el reino Fungi encontramos el polifenol **ergotioneina** (2-mercaptohistidina trimetilbetaina). La ergotioneina es capaz de atrapar especies reactivas de oxígeno y nitrógeno así como mediadores inflamatorios (DIAZ, 2015).

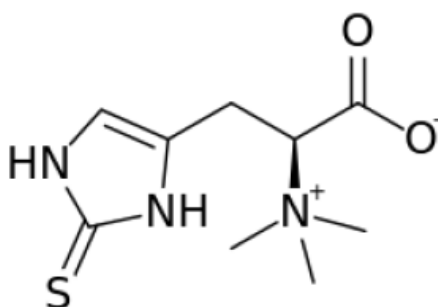


Figura 11. Estructura química de la ergotioneina.

Dentro de la composición química de los hongos también destacan las vitaminas como: tocoferoles, vitamina C y los β -carotenos (DIAZ, 2015).

2.6.4. Radicales libres

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

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

Los más frecuentes son los derivados del oxígeno y colectivamente se denominan ROS (siglas de “reactive oxygen species”). 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 (DIAZ, 2015).

El daño oxidativo causado por radicales libres se relacionan con el envejecimiento y otras enfermedades como aterosclerosis, diabetes, cáncer y cirrosis. Entre los ROS más importantes destacan el radical superóxido (O_2^-), el radical perhidroxilo (HO_2^-), el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el radical hidroxilo (OH^-) y otros como el oxígeno singlete (1O_2) o el ozono (O_3) (DIAZ, 2015).

Los radicales libres pueden generarse también a partir de fuentes exógenas, como las radiaciones ionizantes, ultra violeta, la visible o térmica, algunos productos químicos carcinógenos (aumento de metales pesados, xenobióticos, componentes de tabaco, pesticidas), también diversos medicamentos y drogas antitumorales pueden inducir la liberación de radicales libres como el acetaminofén, andriamicina, neomicina, polimixina B, la kanamicina, la gentamicina y el cloranfenicol, así como factores orgánicos y metabólicos (dieta hipercalórico, dieta insuficiente en antioxidantes, diabetes, procesos inflamatorios, traumatismo y ejercicios extenuantes) (HALLIWELL *et al.*, 1999; RODRIGUEZ *et al.*, 2001).

2.6.5. Método de análisis para capacidad antioxidante

Se pueden utilizar distintos métodos para la estimación de la capacidad antioxidante. Los más importantes consisten en estimar el contenido en fenoles totales o en estimar la capacidad antioxidante que estos tienen. Por ejemplo, se utilizan métodos como el de Folin-Ciocalteu, el DPPH, ABTS, EL TBARS, el del blanqueamiento del β -caroteno o el método CUPRAC. Los resultados se han obtenido de extractos acuosos de las muestras, previamente desecados y congelados. Estas condiciones pretenden asemejar el tratamiento culinario que en condiciones normales recibirían las setas, es decir, la cocción en medios acuosos (DIAZ, 2015).

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

(LEBEAU *et al.*, 2000) menciona que este método fue primeramente sugerido en 1950 para medir la capacidad de donación de átomos de hidrogeno de compuestos actuando así como antioxidantes. El método se basa en la capacidad del radical coloreado 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo para ser reducido por el supuesto antioxidante (R-H donador de átomos de hidrogeno) según indica en la siguiente figura:

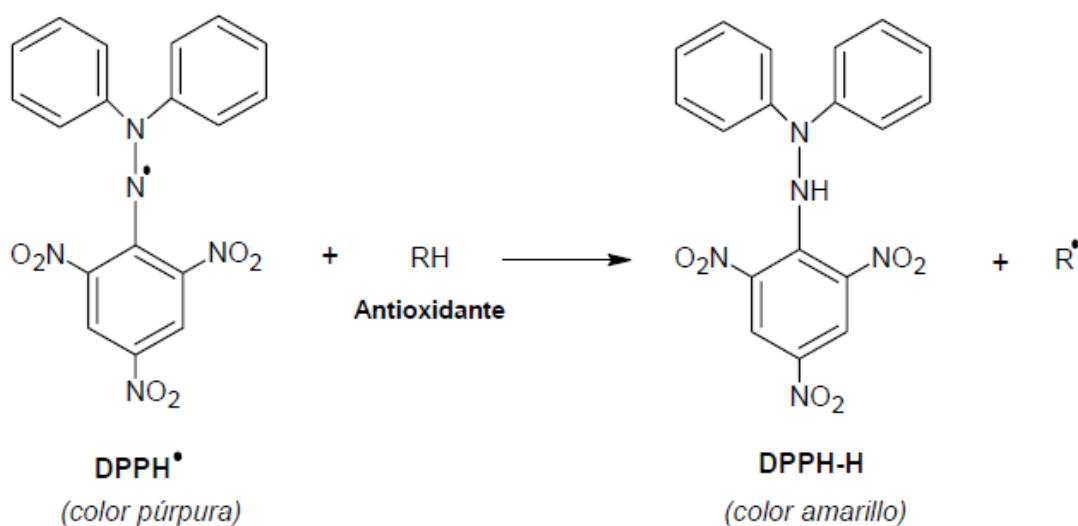


Figura 12. Reacción coloreada del radical DPPH (color purpura) en presencia de un antioxidante para producir DPPH-H reducido (color amarillo).

La acción de los antioxidantes se visualiza espectrofotométricamente por la desaparición del color purpura del radical a 515 nm hasta que la absorbancia permanece constante. La capacidad antioxidante se cuantifica de diversos modos, o bien determinando el parámetro EC₅₀ que se define como la cantidad de antioxidante necesario para

reducir la concentración inicial de DPPH• a la mitad o bien como el porcentaje de DPPH• captado por el antioxidante. (RAMIREZ, 2009)

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

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

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

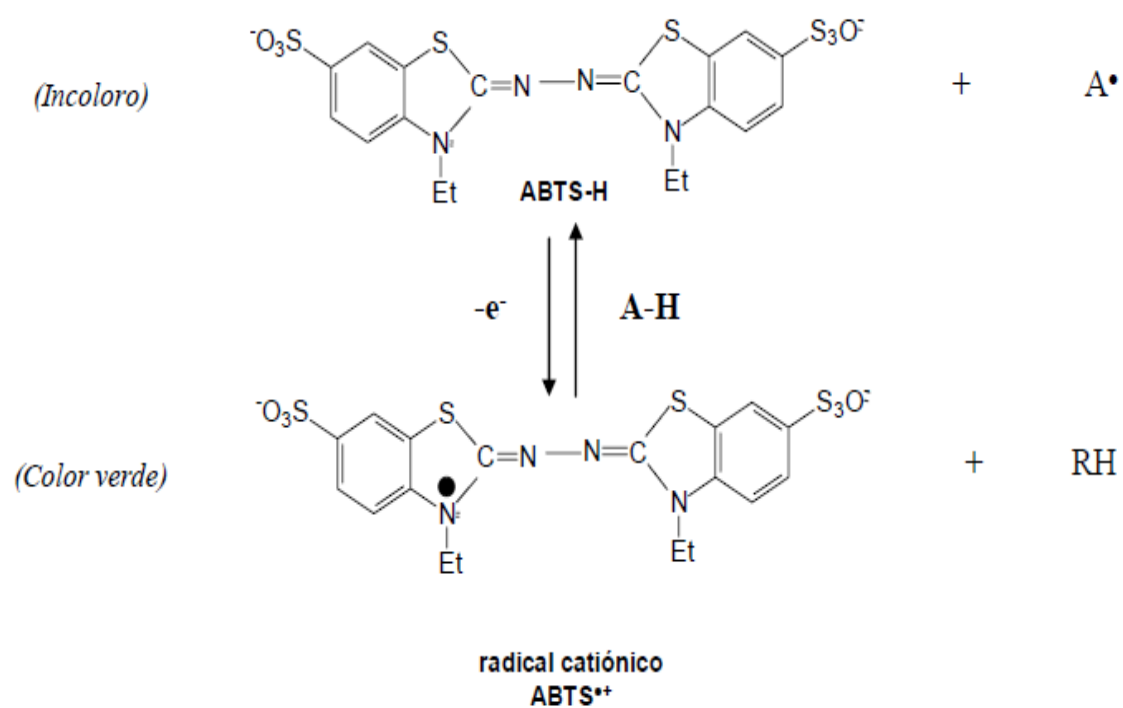


Figura 13. Reacción de oxidación-reducción para la formación del radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ y de su forma reducida ABTS-H.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución

El presente trabajo se realizó en los laboratorios de nutrición de la facultad de Zootecnia, fitoquímica de la facultad de Recursos Naturales y en el Centro de Investigación para el Desarrollo Biotecnológico de la Amazonía (CIDBAM), Centro de Investigación de Productos Naturales de la Amazonía (CIPNA), de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, ubicado en la ciudad de Tingo María, provincia de Leoncio Prado, región Huánuco; a una altitud de 660 m.s.n.m. a 09°17'08" de latitud Sur, a 75°59'52" de latitud Oeste, con clima tropical húmedo y con una humedad relativa media de 84% y una temperatura media anual de 24°C.

3.2. Material biológico

El material fue recolectado de la zona conocida como cueva de las pavas a 8 Km., de la localidad de las Palmas, distrito de Mariano Dámaso Beraun, provincia de Leoncio Prado, Región Huánuco, en las coordenadas: 9°36'91.7" de latitud Sur, 75°96'29.7" de longitud Oeste y una altitud de 719 m. El material biológico estudiado fue el Hongo comestible *Auricularia aurícula* en

sus estados de crecimiento (tierno y maduro); éstas fueron transportadas al laboratorio para su respectivo estudio.

La identificación taxonómica fue realizada en el laboratorio de Hongos de la facultad de Recursos naturales renovables de la universidad Nacional Agraria de la Selva por el Ing. Ladislao.

3.3. Equipos, materiales y reactivos

3.3.1. Equipos de laboratorios

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

- Equipo Soxhlet, Gerhardt. Germany.
- Bureta automática.
- Horno Mufla LABOR Műszeripari Művek temperatura regulable de 250 °C a 900 °C.
- Secador cilíndrico LABOR Műszeripari Művek temperatura regulable de 40 °C a 250 °C.
- Potenciómetro de Inolab. Co, Alemania.
- Estufa BARNSTEAD LAB-LINE. Model N°3510-1.
- Balanza SARTORIUS Model TE1502S
- Lámpara UV-CE. Model M02-0955

3.3.2. Materiales de laboratorio

Tubos de plástico con tapa de 15 y 20 mL., cubetas de poliestireno Gene Mate(1cm x 1cm x 4.5cm), tubos de ensayo Pírex USA., microtubos (1.5-2.0 mL.), vasos de precipitación (1000 mL., 500 mL., 100 mL., 50 mL., 10 mL.), fioles (1000 mL., 500 mL., 100 mL., 50 mL., 10 mL.), gradillas, probetas de 10, 100 y 500 mL., termómetros, Tips de 200 y 1000 µL., micropipetas regulables de 10 – 100 µL y de 100 – 1000µL., matraces erlenmeyer de 50 y 250 mL. Kimax USA., campana de desecación con perlas de silicagel, crisoles de porcelana, cap. 50 mL. Haldenwanger Berlín, papel filtro Watman N° 42, espátulas metálicas.

3.3.3. Reactivos y solventes

Agua destilada desionizada (H₂O_{dd}), 1,1 diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH), 90%. Sigma Chemical, 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazoline-6ácido sulfónico) (ABTS+), 98%. Sigma Chemical, persulfato de Potasio (K₂S₂O₈) p.a. Sigma Chemical, Folin-Ciocalteu, Merck. Germany, carbonato de sodio (Na₂CO₃) p.a. ISO. Scharlau, ácido gálico (C₇H₆O₅) al 98,1% Sigma Aldrich, Hexano (C₆H₁₄) p.a. Merck. Germany, ácido sulfúricos 95-97% p.a. Merck. Germany, hidróxido de sodio (NaOH) en lentejas p.a. ISO. Merck. Germany, ácido sulfúrico (H₂SO₄) 50%, acetona (C₃H₆O), diclorometano (CH₂Cl₂), etanol 96° (C₂H₆O), tricloruro (FeCl₃), ácido clorhídrico (HCl), metanol 99% (CH₃OH), Silicagel (60-200 Mesh) J.T. Baker.

3.4. Métodos de análisis

3.4.1. Análisis químico proximal

- **Humedad**, método 23.003 AOAC (1997).
- **Proteína**, método 991.29 AOAC (1997).
- **Grasa**, método 935, 60 AOAC. (1997).
- **Fibra**, método 930.20 AOAC (1997).
- **Cenizas**, método 942.50 de calcinación directa AOAC (1997).
- **Carbohidratos**, se determinara por diferencia de los demás componentes del análisis fisicoquímico (HART y FISHER, 1991).

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

3.4.3. Cuantificación de polifenoles totales: Se realizó por el método espectrofotométrico desarrollado por Folin Ciocalteu (1927), reportado (SYMONOWICZ *et. al.*, 2012; SULTANA *et. al.*, 2012).

3.4.4. Cuantificación de antocianinas: Se realizó por el método del pH diferencial reportado por (POO, 2005).

3.4.5. Evaluación de la capacidad antioxidante

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

Método de inhibición del radical DPPH, descrito por Brand-Williams *et al.*, (1995), Modificado por SCHERER, R.; GODOY, (2009).

Capacidad de inhibir el catión 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6 ácido sulfónico) (ABTS^{o+}) (PELLIGRINI *et al.*, 1999).

3.5. Metodología experimental

3.5.1. Caracterización químico proximal

Se realizó el análisis fisicoquímico del hongo comestible, teniendo en cuenta el estado de crecimiento del hongo. Siguiendo los métodos ya descritos en el ítem métodos de análisis (3.4.1).

3.5.2. Preparación de la muestra

Recolección: Los hongos obtenidos fueron llenados en bolsas de polietileno y llevados al laboratorio.

Selección: Se determinó en función de su estado de crecimiento del hongo comestible (tierno y Maduro).

Desecación: Los hongos se desecaron en estufa a 40°C por un tiempo de 24 horas.

Triturado: Esta operación se realizó mediante un mortero y pilón, obteniéndose partículas muy pequeñas. Esto para facilitar el proceso de extracción.

Envasado: Las muestras fueron envasadas en bolsas de polietileno con peso aproximado de 300 g para luego ser selladas.

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

Preparación del extracto

Se preparó un extracto metanólico de hongo comestible a una concentración de 100 mg/mL, se pesó 2,5 g de muestra, luego se enraso hasta 25 mL con solución metanólica, se transfirió a un frasco de vidrio de color ámbar, se tapó herméticamente y se macero por 24 h, se filtró y se almacenó en frascos de color ámbar a -18°C hasta su posterior análisis.

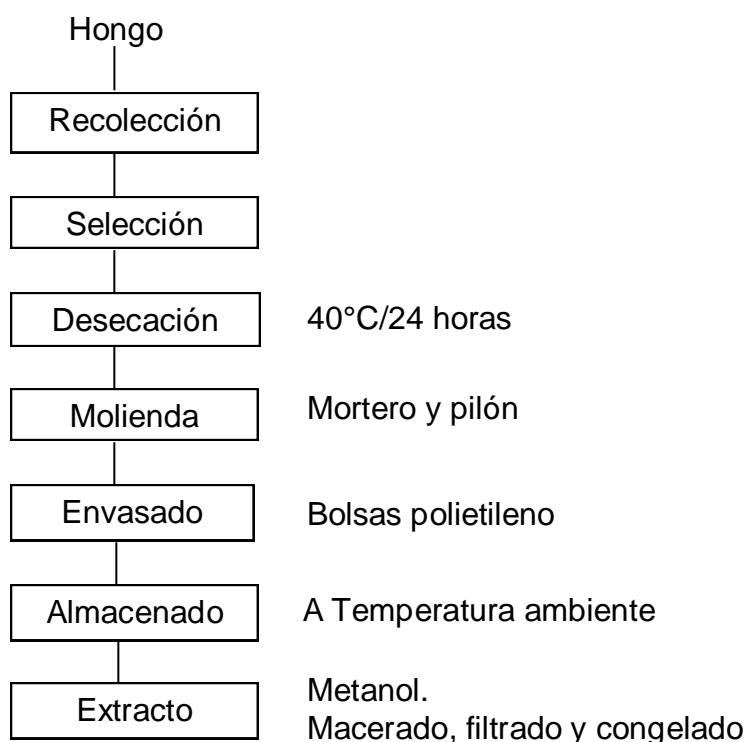


Figura 11. Flujograma de operaciones para la preparación del extracto metanólico.

3.5.3. Caracterización fitoquímica del hongo comestible *A. aurícula*.

Ensayo de solubilidad

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

Preparación del extracto

Se pesó 10 g del hongo triturado de cada estado de crecimiento; se añadió 100 mL de metanol de grado reactivo analítico (ACS) en frascos color ámbar; se acondiciono a temperatura ambiente en un equipo de agitación constante (shaker) por un tiempo de 72 horas, luego se filtró cada tratamiento,

se llevó a centrifugar, para finalmente obtener el extracto que se almaceno en frascos ámbar a - 15°C hasta su posterior análisis.

Marcha fitoquímica

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

Ensayos cromatográficos

En la cromatografía en capa fina, se usó como eluente metanol, como fase estacionaria se usó una placa de silicagel soportada sobre vidrio. Se utilizó una lámpara con posibilidad de hacer observaciones a luz fluorescente a UV/V 254nm y 365nm.

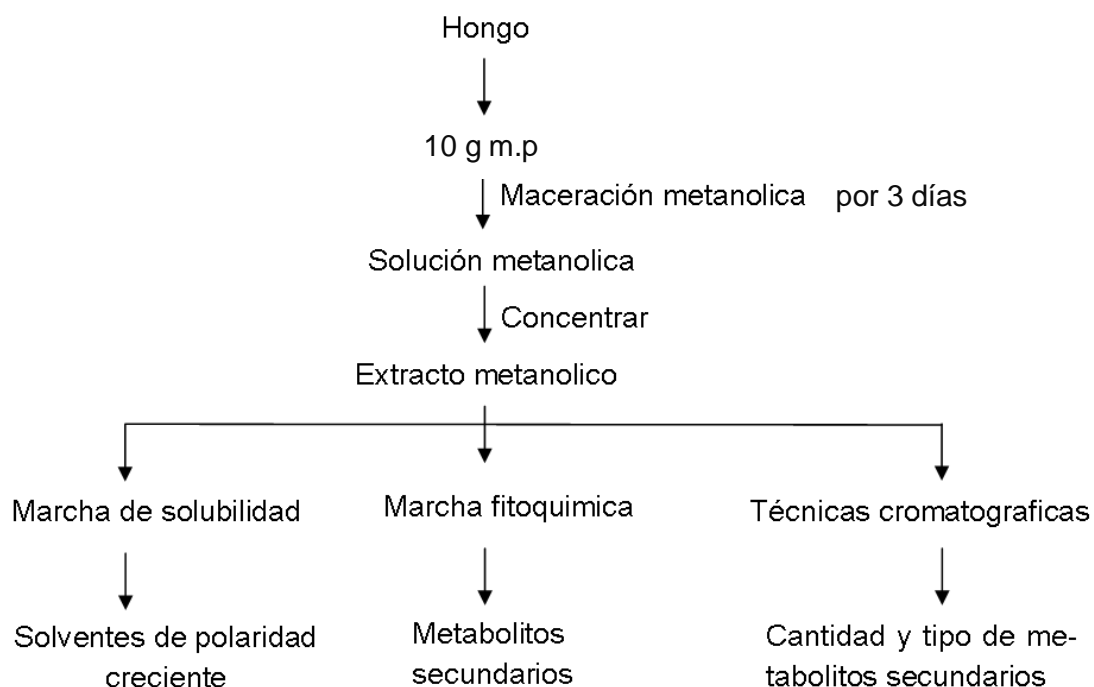


Figura 12. Esquema general de la marcha fitoquímica preliminar.

3.5.4. |Cuantificación de polifenoles totales en el hongo comestible *Auricularia aurícula.*

Determinación de la curva estándar

La curva estándar se realizó preparando una solución stock de 10 mL de ácido gálico a una concentración de 2 mg/mL a partir de ello se hicieron las concentraciones siguientes: 1; 0,500; 0,250; 0,125; 0.063 mg/mL, cada dilución se preparó por triplicado. Se agregó a cada tubo 1580 μ L de agua desionizada y 20 μ L de muestra control y estándares, para el control se adiciono 20 μ L de agua desionizada; se homogenizo ligeramente luego se agregó 100 μ L de solución de fenol Folin Ciocalteu, se incubo por 1 minuto a temperatura ambiente; se neutralizo la reacción agregando 300 μ L de Na_2CO_3 al 20% y finalmente se incubo por 2 horas a temperatura ambiente, para una completa reacción, luego se realizó la lectura en espectrofotómetro UV/VIS a 700 nm; con los resultados obtenidos se hizo la gráfica concentración vs absorbancia, se procedió a determinar la ecuación y el coeficiente de correlación

Cuantificación de polifenoles totales

La cuantificación de polifenoles totales de los tratamientos de hongos, se realizó partiendo del extracto metanolico 100 mg/mL (filtrado y centrifugado 10000rpm/10min a 4°C), a partir de ello se realizó la dilución de trabajo a 10 mg/mL, con 3 repeticiones por tratamiento, luego se adiciono en las tubos de ensayo para cada tratamiento 1580 μ L de agua desionizada, 20 μ L

de extracto diluido (10 mg/mL), 100 μ L de fenol Folin Ciocalteu y finalmente 300 μ L de Na_2CO_3 al 20% y se incubo por 2 horas a temperatura ambiente y oscuridad, luego se realizó la lectura en espectrofotómetro UV/VIS a una longitud de onda de 700 nm. Las absorbancias obtenidas fueron reemplazadas en la ecuación de la curva estándar y expresadas en equivalente de ácido gálico (g EAG/100g muestra) (AMAKURA, 2000).

Los resultados fueron analizados mediante el diseño completo al azar (DCA en los tratamientos (HT y HM) donde hubo diferencia estadística se procedió a determinar la prueba de Tukey $p < 0,05$ para ello se utilizó el programa InfoStat 2016.

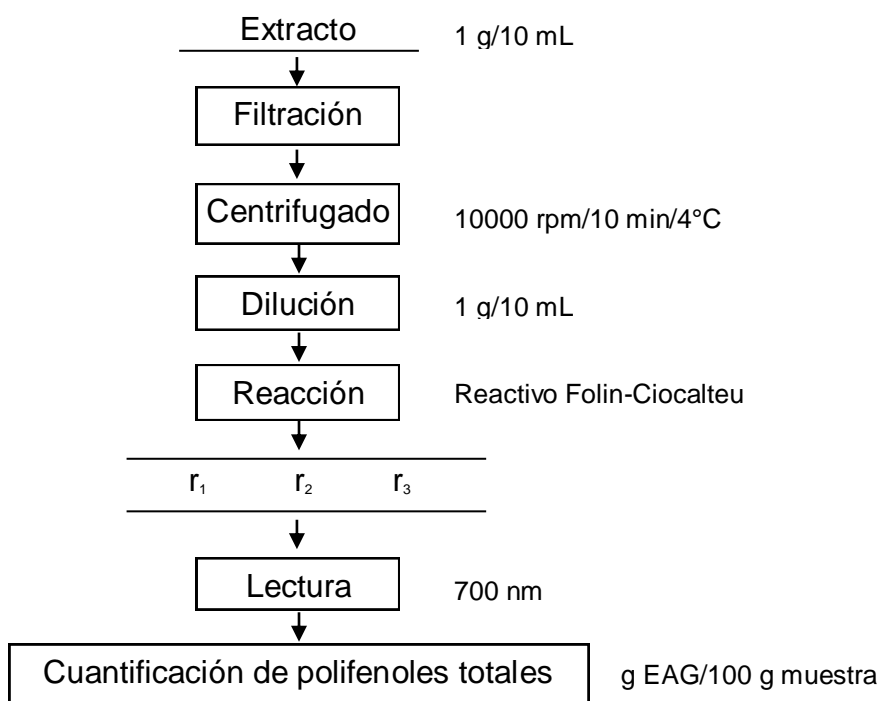


Figura 16. Diseño experimental para la cuantificación de polifenoles totales en el hongo comestible *A. aurícula*.

3.5.5. Cuantificación de antocianinas en el hongo comestible *Auricularia aurícula*.

Preparación de la solución buffer

Se preparó dos soluciones buffer.

Buffer pH = 1: 125 mL de 0,2 M KCl y 375 mL de 0,2 M HCl y aforado a 1L con agua desionizada.

Buffer pH = 4,5: 200 mL de 1 M CH₃COONa, 120 mL de 1 M HCl y 180 mL de H₂O desionizada y aforado a 1 L.

Procedimiento de análisis

Para la cuantificación de antocianinas se realizó partiendo del extracto metanólico 100 mg/mL, filtrado y centrifugado 10000 rpm/10 min a 4°C, se trabajó con 3 repeticiones por tratamiento, tal como se muestra en la Figura 17, en una cubeta de poliestireno se adiciono 200 µL de extracto de (*Auricularia aurícula*: tierno y maduro) mas 800 µL de buffer para ambos pH (1 y 4,5); y para el control se adiciono 1 mL de buffer para cada pH (1 y 4,5) y se hizo la lectura en espectrofotómetro UV/VIS a una longitud de onda de 410 y 700 nm.

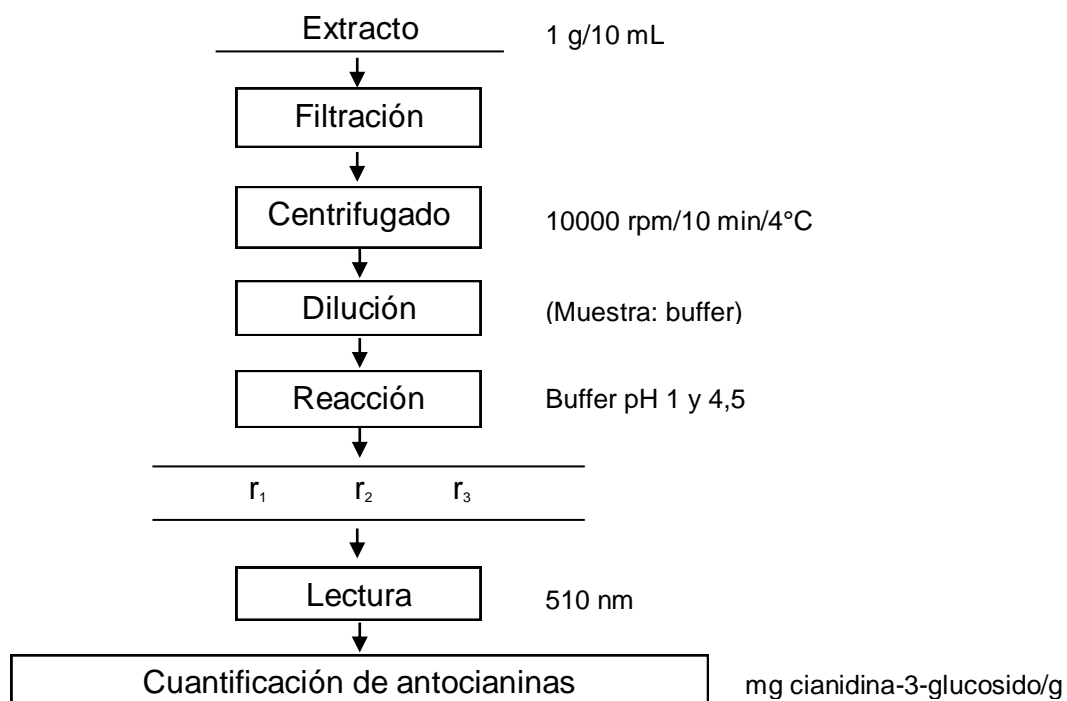


Figura 17. Diseño experimental para la cuantificación de antocianinas en el hongo comestible *A. aurícula*.

Las absorbancias obtenidas fueron reemplazadas en la ecuación y expresadas en mg cianidina-3-glucosido/g muestra.

$$C(\text{mg/g}) = (A_{\text{pH}=1,0} - A_{\text{pH}=4,5}) \times 482,82(1000/24825) \times \text{DF}$$

Dónde: C (mg/g) = mg de cianidina-3-glucosido por g de muestra.

PM = la masa molecular de la cianidina-3-glucosido es 484,82

AbM = la absorvitudad molar a 510 nm, a pH = 1,0; pH = 4,5 es la corrección de la formación de productos de degradación es 24825 y DF= Factor de dilución.

3.5.6. Determinación de la capacidad antioxidante del hongo comestible *Auricularia aurícula*.

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

Inhibición del radical 1,1 diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH), método descrito por Brand-Williams (*et al.* (1995), Modificado por SCHERER, R.; GODOY, (2009).

Para la determinación del coeficiente de inhibición (IC_{50}) del radical DPPH el procedimiento se presenta en la Figura 7. Para ello se preparó 10 mL de solución stock de DPPH a 1mM en metanol al 99 % de pureza, se agitó hasta la solubilización completa del compuesto, la solución de almacenó a 4°C protegido de la luz. A partir de esta solución stock se preparó 50 mL de DPPH a 100 μ M en metanol al 99% de pureza. El coeficiente de inhibición (IC_{50}) indica la cantidad de extracto hongo mg/mL, requerido para inhibir el 50% del radical libre DPPH.

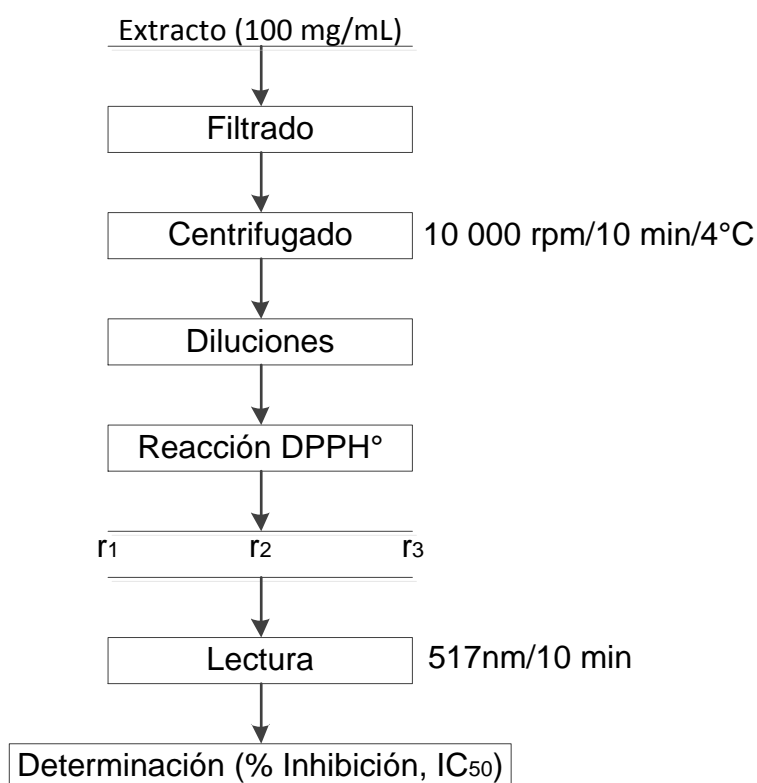


Figura 18. Diseño experimental para la evaluación de la capacidad antioxidante del hongo comestible *A. aurícula*.

Las concentraciones del extracto metanólico del hongo comestible en sus dos estados de crecimiento tierno (100, 300, 500, 700 $\mu\text{g/mL}$); maduro (100, 300, 500, 700 $\mu\text{g/mL}$).

La reacción se realizó en una cubeta de poliestireno donde se adicionó 25 μL de la solución de trabajo y 950 μL de solución DPPH a 100 μM , la lectura se realizó en un espectrofotómetro de UV/VIS a una longitud de onda de 517 nm con un tiempo de 10 minutos en intervalos de tiempo cada 30 segundos. Para calcular el porcentaje de inhibición se utilizó la siguiente ecuación:

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

Dónde: Abs control: Absorbancia del control.

Abs Muestra: Absorbancia de la muestra en 10 minutos.

El diseño experimental de trabajo se presenta en la Figura 10, los resultados de la capacidad de inhibir (IC_{50}) del radical DPPH fueron analizados mediante el diseño completo al azar (DCA) (RITCHEY, 2002) y en los niveles donde hubo diferencia estadística se aplicó la prueba de Tukey ($p < 0,05$), mediante el software InfoStat versión 2011-Profesional (Español).

Capacidad de inhibir el catión 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6 ácido sulfónico) ($ABTS^{\circ+}$).

Según la metodología desarrollada por PELLIGRINI *et al.* (1999) el radical $ABTS^{\circ+}$ se forma tras la reacción de ABTS (7mM) con persulfato potásico (140 mM, concentración final) incubados a temperatura ambiente y en oscuridad durante 16 horas. Una vez formado el radical $ABTS^{\circ+}$ se diluyó con etanol hasta obtener un valor de absorbancia entre 0,7 a 1,2 a 734 nm. Para la inhibición del radical $ABTS^{\circ+}$ en los distintos tratamientos se realizó el filtrado y centrifugado 10000 rpm/10 min a 4°C, a partir de ello se prepararon soluciones de trabajo.

Para la determinación del coeficiente de inhibición (IC_{50}) del radical $ABTS^{\circ+}$ el procedimiento se presenta en la Figura 19. Las concentraciones del extracto metanolico del hongo tierno (350, 500, 650, 800, $\mu\text{g/mL}$) y maduro (200, 400, 600, 800 $\mu\text{g/mL}$).

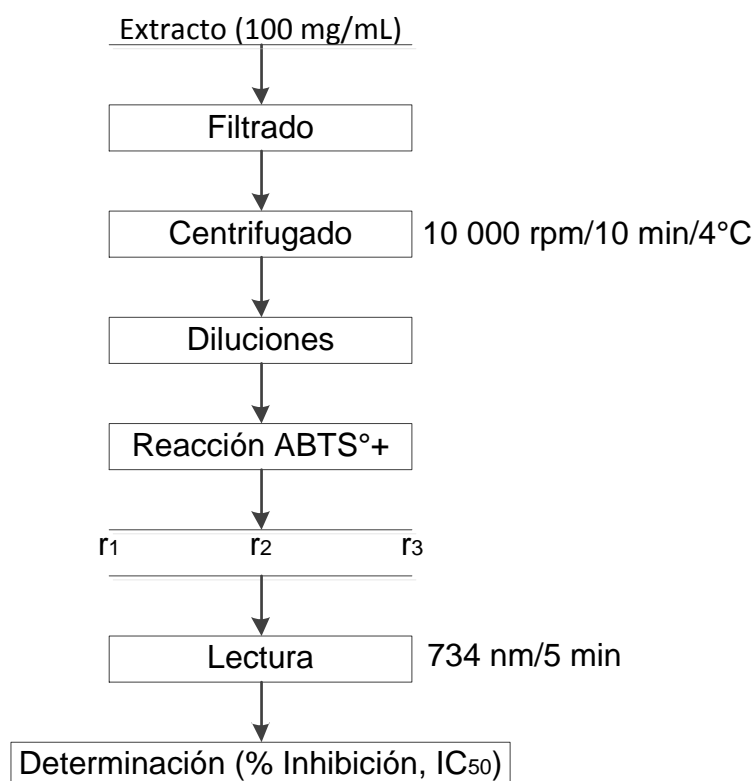


Figura 19. Diseño experimental para la evaluación de la actividad antioxidante en el hongo comestible *A. aurícula*.

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

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

Dónde: Abs control: Absorbancia del control.

Abs Muestra: Absorbancia de la muestra en 5 minutos.

La actividad antioxidante del radical fue expresada en IC₅₀, para ello se expresó en función de concentración versus porcentaje de inhibición; con lo cual se obtuvo una curva de ajuste del tipo lineal, sobre la cual se determinó el valor de IC₅₀.

Los resultados de la capacidad de inhibir (IC₅₀) del radical ABTS^{°+} fueron analizados mediante el diseño completo al azar (DCA), para los niveles donde hubo diferencia estadística se aplicó la prueba de Tukey (p<0,05), mediante el software InfoStat versión 2016.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIONES

4.1. Caracterización químico proximal del hongo comestible *A. aurícula*.

En el Cuadro 2. se muestra el análisis del hongo comestible *Auricularia aurícula*. Analizando estadísticamente se encontró diferencia significativa (Apéndice 1). Se tienen reportes de la caracterización bromatológica de *Auricularia aurícula*. RIOS *et al.*, (2005), reporta contenido de humedad 92,37%; proteína 9,25%; grasa 0,41%; carbohidrato 47,32 y cenizas 3,36.

En el contenido de humedad del cuadro 1. para los dos estados de crecimiento del hongo, tierno y maduro presentaron $89,510 \pm 1,010\%$ y $90,030 \pm 1,002\%$ respectivamente. Los resultados de proteína se reportan en el cuadro 1, siendo $0,697 \pm 0,002\%$ para el estado tierno y $0,762 \pm 0,022\%$ para el estado maduro. RIOS *et al.*, (2005) reporto humedad de 92,37% y 0,706% de proteína, que se asemeja a lo reportado en la investigación.

En el cuadro 2 se muestra el porcentaje de grasa para los dos estados de crecimiento tierno y maduro siendo $0,025 \pm 0,004\%$ y $0,064 \pm 0,003\%$ respectivamente. RIOS *et al.*, (2005) encontró 0,02% de grasa, que es semejante a lo reportado en la investigación.

En cuanto al porcentaje de fibra descrita en el cuadro 1. Entre los dos estados crecimiento tierno y maduro presento $0,315\pm 0,004\%$ y $0,413\pm 0,003\%$. Así mismo un contenido de ceniza $0,436\pm 0,003\%$ y $0,378\pm 0,006\%$ para el hongo tierno y maduro respectivamente. Según Stamets (1993), citado por ARDON C. (2007) reporto $0,69\%$ de fibra y $0,36\%$ de cenizas.

De la misma manera en el cuadro 2 se muestra el porcentaje de carbohidrato $9,017\pm 0,007\%$ y $8,353\pm 0,035\%$ respectivamente para los dos estados de crecimiento tierno y maduro. Según Stamets (1993), citado por ARDON C. (2007) reporto $7,56 - 7,83\%$ de carbohidrato.

Cuadro 2. Resultado del análisis químico proximal de *Auricularia aurícula*.

Análisis Químico proximal	Estados de crecimiento	
	Tierno	Maduro
Humedad %	$89,510^1 \pm 1,010^a$	$90,030^1 \pm 1,002^a$
Proteína (%) (N x 6,25)	$0,697^1 \pm 0,002^a$	$0,762^1 \pm 0,022^b$
Grasa (%)	$0,025^1 \pm 0,004^a$	$0,064^1 \pm 0,003^b$
Fibra (%)	$0,315^1 \pm 0,004^a$	$0,413^1 \pm 0,003^b$
Ceniza (%)	$0,436^1 \pm 0,003^a$	$0,378^1 \pm 0,006^b$
Carbohidrato (%)	$9,017^1 \pm 0,007^a$	$8,353^1 \pm 0,035^b$

Los valores representan (promedio \pm SEM) datos del experimento (n=1) valores de una misma columna con superíndices distintos, indica diferencia estadística ($p < 0,05$). % Base húmeda¹

4.2. Caracterización fitoquímica del hongo comestible *A. aurícula*.

4.2.1. Ensayo de solubilidad

Cuadro 3. Resultado de solubilidad en los extractos de *Auricularia aurícula*

Solventes	Estados de crecimiento	
	Tierno	Maduro
Éter de petróleo	++	++
Benceno	+	+
Cloroformo	+	+
Acetona	–	–
Etanol	++	++
Metanol	+++	+++
Agua destilada	++	++

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

En el Cuadro 3 se muestra los resultados de solubilidad obtenido de los extractos del hongo comestible en sus estados de crecimiento tierno y maduro; realizado con solventes de polaridad creciente, siendo el metanol y etanol solventes polares, de donde se deduce que los componentes químicos mayoritarios son de estructura y naturaleza polar, coincidiendo con Tsai y Elmastas (2007), citado por RAMIREZ (2009) quién reportó compuestos bioactivos en hongos comestibles.

En extractos metanolicos, este solvente tiene la capacidad de extraer compuestos antioxidantes, esto se debe a que este disolvente tiene la capacidad de causar daño al tejido a nivel de pared celular, permitiendo así la salida de componentes intracelulares (LOPEZ, 2014).

4.2.2. Marcha fitoquímica de *Auricularia aurícula*

Los resultados del análisis fitoquímico del hongo comestible se muestran en el Cuadro 4, para ello, se partió de extractos metanolicos puesto que este solvente tiene la capacidad de extraer compuestos antioxidantes, esto se debe a que este disolvente tiene la capacidad de causar daño al tejido a nivel de pared celular, permitiendo así la salida de componentes intracelulares (LOPEZ, 2014).

Los resultados del análisis fitoquímico del hongo comestible en sus estados de crecimiento se presentan en el siguiente cuadro.

Cuadro 4. Resultado del análisis fitoquímico de *Auricularia aurícula*.

Tipo de reacción	Estados de crecimiento		Compuestos
	Tierno	Maduro	
Gelatina	-	-	Taninos
Cloruro férrico	+	++	fenoles
Mayer	-	-	Alcaloides
NaOH	-	-	Quinonas
Molish	++	++	Glicosidos
Dragendorf	+	+	Alcaloides
Ninhidrina	-	-	Aa libres

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

En el Cuadro 4, se muestra la ausencia de compuestos de aminoácidos libres en los estados de crecimiento tierno y maduro. Según PILLANCARI (2010), reporto resultados negativos de aminoácidos libres en su investigación Extracción, aislamiento y análisis cualitativo de polisacáridos, terpenos y proteínas presentes en *Flammulina velutipes*. Los aminoácidos libres constituyen el grupo de los aminoácidos no proteicos, cuya función no se conoce muy bien, así como la de la mayoría de los metabolitos secundarios (ENRÍQUEZ *et al.*, 2008).

En cuanto a la detección de alcaloides, dio positivo con uno de los reactivos utilizados siendo este el de Dragendorf, encontrándose en poca cantidad en los dos estados de crecimiento del hongo comestible. LLAURADO *et al.* (2011) menciona su potencial inmunocutáneo y antitumoral en animales

tratados con hongos superiores. Así también BOLAÑO y SOTO (2011) aluden actividades biológicas, atribuidas al contenido de diferentes moléculas químicas como alcaloide, aminoácidos, esteroides, ácidos orgánicos, en *Ganoderma s.p.*

En la detección de glicósidos se determinó regular cantidad en los dos estados de crecimiento del hongo comestible; al presentarse una coloración verde violácea. POMILLO (2012) reporta la presencia de este compuesto en ectoendomicorrizas de hongos superiores. LARA *et al.* (2016) identifica abundante cantidad de carbohidratos reductores en *Pleurotus ostreatus*.

Para la detección de quinonas no se reportó presencia en los dos estados de crecimiento. GIRALDO (2014) menciona, las quinonas se derivan de fenoles simples como la hidroquinona que se encuentra en concentraciones relativamente bajas en productos naturales.

Para la detección de fenoles se reportó presencia en poca cantidad para los dos estados de crecimiento del hongo comestible. LOCK (1988) menciona que los fenoles son compuestos polifenolicos que son relativamente polares, pudiendo ser detectados en medio de una solución acuosa o alcohólica de cloruro férrico. Por otro lado AVILA (2009) reporta presencia de fenoles totales en *Lentinula edodes*.

No se encontró presencia de taninos en el hongo comestible. LÓPEZ *et al.* (2003), indica que la presencia de taninos en el Shiitake puede deberse a la presencia de taninos hidrolizables, y que por producto de dicha hidrolisis haya sido incorporado por el hongo. De igual manera CHEGWIN

(2004), se ha encontrado que algunos basidiomicetos tienen la capacidad de tomar los metabolitos del medio de cultivo en el que se desarrollan.

4.2.3. Análisis cromatográfico de *Auricularia aurícula*.

Con respecto al análisis cromatográfico efectuado (Anexo A del Apéndice 2) al extracto metanólico y en los dos estados de crecimiento del hongo comestible; Se determinó la fase móvil para ello se utilizó como mejor eluyente metanol (CH₃OH), la detección de compuestos fenólicos se debe al color de la fluorescencia que desarrollan a la luz UV. Asimismo se realizó la cromatografía en escala preparativa, usando el mismo sistema de solventes ya mencionado; se observaron 2 manchas, el color pardo oscuro indicaría presencia de cuerpos fenólicos y el color amarillo fluorescente observado, indicaría la presencia de fenoles y/o flavonoides, tal como manifiesta (RAVAROCCI y CARRASCO, 2010).

4.3. Cuantificación de polifenoles totales en el hongo comestible *A. aurícula*.

4.3.1 Determinación de la curva estándar

Para realizar la cuantificación de polifenoles totales se elaboró una curva estándar en base a ácido gálico cuyas concentraciones estuvieron comprendidas entre 1,00 a 0,0625 mg/mL. Los resultados se presentan en el anexo A del apéndice 3, con los valores encontrados se procedió a realizar la curva estándar la cual se presenta en el anexo B del apéndice 3.

Para una curva estándar se debe utilizar compuestos puros y recomendados por los protocolos de análisis, en este caso se trabajó con ácido gálico recomendado por (SANDOVAL *et al.*, 2001). Éste método se basa en la capacidad de los fenoles para reaccionar con agentes oxidantes; contiene molibdato y tungstato sódico, que reaccionan con cualquier tipo de fenol, formando complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico (GUTIERREZ *et al.*, 2008); es un compuesto estable y sólo pierde 5% de su valor real después de dos semanas de refrigerado y tapado (AQUINO *et al.*, 1989).

Según los resultados mostrados en la Figura 20, es una ecuación de primera orden teniendo como variables “y”-absorbancia y “x”-concentración, al respecto MARTINEZ (2005) menciona que una ecuación lineal expresa la relación entre la variable endógena Y, y las variables exógenas X, se trata de encontrar la línea media que resuma o sintetice la dependencia entre la variable Y, y las X, esto permitirá la bondad del ajuste realizado. El valor de $R^2=0,999$ expresa que existe una relación positiva muy fuerte o casi perfecta, esto concuerda con lo mencionado por (HERNANDEZ *et al.*, 2001 y MARTINEZ, 2005), que menciona que valores igual a 1 significa un ajuste lineal perfecto.

4.3.2 Cuantificación de polifenoles totales

Dentro de los hongos comestibles existen investigaciones por sus cualidades medicinales, reportando compuestos aislados de hongos que exhiben marcada actividad biológica y farmacológica; que permite presumir la presencia de polifenoles.

La cuantificación de polifenoles totales realizado en los dos estados de crecimiento (tierno y maduro) se presenta en el Cuadro 6, los resultados fueron expresados en miligramos en equivalente de ácido gálico (mg EAG). Según el análisis estadístico estos presentaron diferencia estadística significativa (Anexo A del Apéndice 3).

Los hongos han demostrado poseer actividad antioxidante, la cual ha sido encontrada tanto en cuerpos fructíferos como el micelio; usualmente poseen una amplia variedad de moléculas secuestrantes de radicales libres como polisacáridos y polifenoles (LIU, OOI y CHANG, 1997; MAU *et al.*, 2002).

El contenido de polifenoles totales realizado al hongo comestible en sus dos estados de crecimiento tierno y maduro se encontró $7,725 \pm 0,56$ y $4,771 \pm 0,93$ mg EAG/g muestra, respectivamente.

KITZBERGER *et al.* (2007), cuantificaron el contenido de polifenoles usando el método de Folin-Ciocalteu, en muestras de *Lentinula edodes* 10,5 mg Ac gálico equivalente/g muestra. Del mismo modo BELTRAN *et al.* (2013) reportó 1,384 mg de ácido gálico/g muestra en *Pleurotus sp*, estos resultados están muy cercanos a lo reportado en la investigación.

Cuadro 5. Cuantificación de polifenoles totales, realizado en los dos estados de crecimiento del hongo comestible *A. aurícula*.

Muestra	Tratamiento	Polifenoles Totales (mg EAG/g muestra)
Tierno	HT	7,725±0,56 ^b
Maduro	HM	4,771±0,93 ^a

Los valores representan (promedio ± SEM) datos provienen del experimento (n=5). HT =Hongo tierno; HM=Hongo maduro. Valores distintos indican diferencias estadísticamente significativas (ANOVA-Tukey, $p < 0,05$).

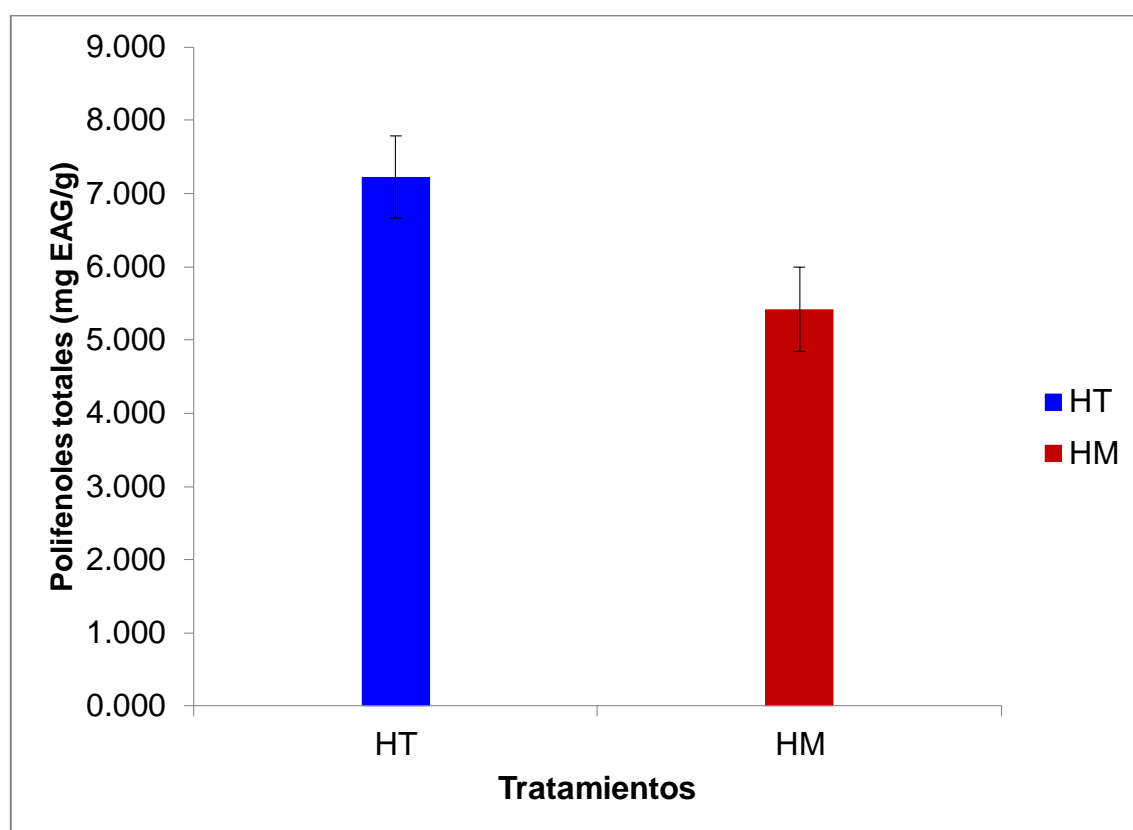


Figura 20. Representación del contenido de polifenoles totales en el hongo comestible *Auricularia aurícula*.

Las diferencias en los resultados de la investigación y los mencionados por los diferentes autores en los contenidos de polifenoles totales, BARROS *et al.*, (2009) menciona que los compuestos no fenólicos, como son el ácido ascórbico, los azúcares y los aminoácidos, producen una sobrevaloración del contenido de polifenólico.

4.4. Cuantificación de antocianinas del Hongo comestible *A. aurícula*

Las antocianinas pertenecen al grupo de los compuestos fenólicos, particularmente de los flavonoides, que se caracterizan por su solubilidad en agua y por sus colores brillantes ampliamente distribuidos en el reino vegetal. En el Cuadro 7 y Figura 22 se presentan los resultados de la cuantificación de antocianinas en dos estados de crecimiento del hongo comestible *Auricularia aurícula*, en estado tierno y maduro, siendo estos $6,030 \pm 0,320$ y $34,966 \pm 10,710$ mg cianidina-3-glucosido/100 g de muestra, respectivamente.

Según el análisis estadístico estos presentaron diferencia estadística significativa (Anexo A del Apéndice 4). Aunque no se encontró reporte de antocianinas en hongos comestibles, se reportó en tomates el contenido de antocianinas por el método del pH diferencial en un rango de 2-40 mg/100 g (GUERRA y ORTEGA, 2006); así mismo en el maíz morado se encuentra en un rango 110-340 mg/100 g de muestra (GORRITI *et al.*, 2009).

DUSSI (2007) describe que existe una relación lineal entre la acumulación de antocianinas y la intensidad lumínica. En la cual los carbohidratos juegan un papel clave debido a que proveen el sustrato para la biosíntesis de flavonoides e inducen la expresión de genes implicados en la biosíntesis de antocianinas (UBI, 2004). Por otro lado JANSEN *et al.*, (1998) alude que una radiación moderada de UV-B (280-320) puede estimular la síntesis de compuestos bioactivos como una respuesta de defensa. Algunos estudios han demostrado el incremento de las antocianinas por efecto de la radiación UV (220-380 nm) en diferentes fuentes vegetales y en distintas etapas de desarrollo (MAHADAVIANT y SAGHEINT, 2008; GUO y WANG, 2012).

Cuadro 6. Cuantificación de antocianinas, realizado en los dos estados de crecimiento del hongo comestible *A. aurícula*.

Estado de crecimiento	Tratamiento	(mg cianidina-3-glucosido/100 g)
Tierno	HT	6,030±0,320 ^b
Maduro	HM	34,966±10,710 ^a

Los valores representan (promedio±SEM) datos provienen del experimento (n=6) valores distintos indican diferencias estadísticamente significativas (ANOVA-Tukey, p<0,05).

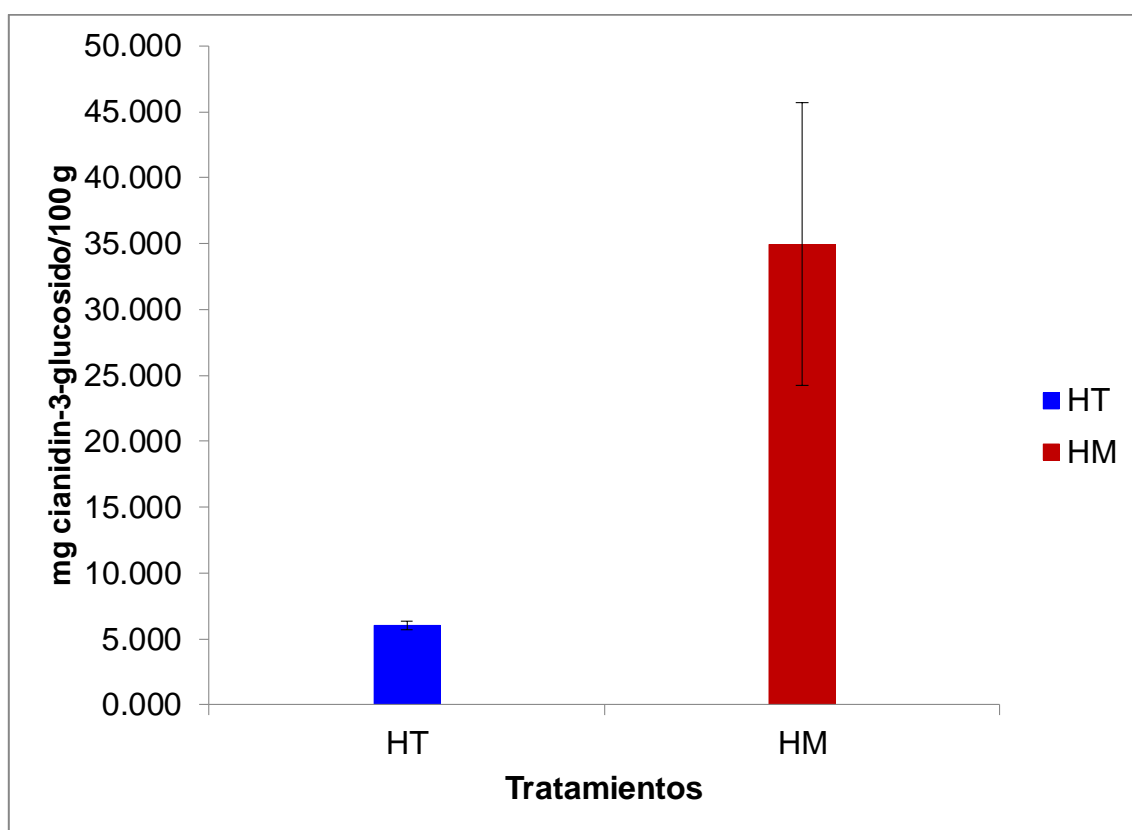


Figura 21. Representación del contenido de antocianinas en el hongo comestible *Auricularia aurícula*.

4.5. Capacidad antioxidante del hongo comestible *Auricularia aurícula*.

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

El ensayo antioxidante DPPH está basado en la habilidad del DPPH, un radical libre para convertirse en incoloro en presencia de extractos de planta. El radical DPPH posee un electrón impar en que es el responsable de la absorbancia a 517 nm y también del color púrpura visible. Cuando el DPPH acepta un electrón donado por un compuesto de ensayo antioxidante, el

DPPH es decolorado esto puede ser medido cuantitativamente a partir de la disminución de la absorbancia (KUMAR *et al.*, 2011).

En el Cuadro 8 y Figura 23 se representan los resultados del coeficiente de inhibición (IC_{50}) radical 1,1 diphenyl-2-picryl-hydrazyl (DPPH) en los dos estados de crecimiento de *Auricularia aurícula*, según el análisis estadístico estos presentaron diferencia estadística significativa (Anexo A del Apéndice 5), podemos indicar que las eficiencias para inhibir el radical DPPH del hongo tierno y maduro fueron IC_{50} $1,016 \pm 0,012$ y $1,300 \pm 0,012$ (mg/mL) respectivamente; este resultado puede ser comparado con lo reportado por AVILA (2009) que indica valores IC_{50} 0,157; 0,450; 0,670 (mg/mL) en *Lentinula edodes*. Así mismo BELLOSO *et al.*, (2012) reporta reducción del radical DPPH de las especies *Amanita garabitoana* y *Agaricus bisporus* IC_{50} 1,07-1,29; 2,00-2,94 (mg/mL) respectivamente, siendo estos muy cercanos a lo reportado en la investigación.

Los hongos han demostrado poseer actividad antioxidante, la cual ha sido encontrada tanto en cuerpos fructíferos como en el micelio; usualmente poseen una amplia variedad de moléculas secuestrantes de radicales libres como polisacáridos y polifenoles (LIU y CHANG, 1997; MAU *et al.*, 2002).

Cuadro 7. Inhibición de radicales libres de DPPH (IC_{50}).

Fases de crecimiento	Tratamiento	IC_{50} (mg/mL)	$1/IC_{50}$ (mg/mL)
Tierno	HT	$1,016 \pm 0,012^b$	$0,984 \pm 0,012$
Maduro	HM	$1,300 \pm 0,012^a$	$0,769 \pm 0,007$

Los valores representan (promedio \pm SEM) datos provienen del experimento (n=7) valores de una misma columna con superíndices distintos, indica diferencia estadística ($p < 0,05$).

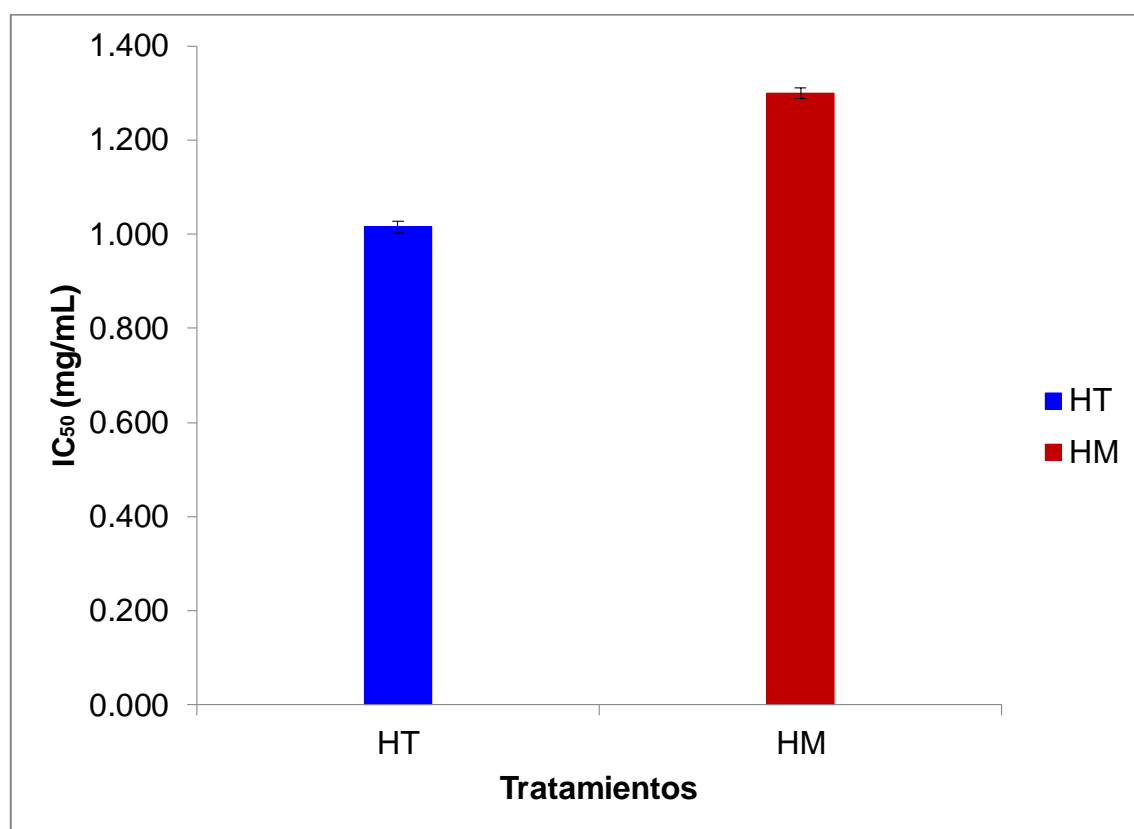


Figura 22. Comportamiento del (IC_{50}) con el radical DPPH del Hongo comestible *Auricularia aurícula*.

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

Para determinar la capacidad antioxidante del hongo comestible *Auricularia auricula* en sus dos estados de crecimiento; se evaluó frente al radical ABTS^{°+}, los resultados del coeficiente de inhibición al 50% (IC₅₀) se muestran en el Cuadro 9 y Figura 24, según el análisis estadístico no se reportaron diferencia estadística significativa (Anexo B del Apéndice 5), la capacidad antioxidante que presentaron los tratamientos en sus dos estados de crecimiento tierno y maduro IC₅₀ 0,561±0,053 y 0,580±0,002 (mg/mL) respectivamente.

Realizando una comparación en resultados BELLOSO (2012) menciona actividad antioxidante por medio del reactivo ABTS, de las especies *Amanita garabitoana* y *Boletus edulis* un IC₅₀ 2,29-3,56 y 0,63-1,35 (mg/mL) respectivamente.

KUMAR *et al.*, (2011), la cuantificación de la decoloración del radical ABTS^{°+} se genera debido a la interacción con especies donantes de hidrógeno o de electrones. Es una técnica que no permite discriminar extractos que contienen buenos compuestos antioxidantes. Al comparar resultados con los radicales DDPH y ABTS, se encuentra diferencia. (KUMAR *et al.*, 2011), menciona el radical DPPH es estable en su formación por fácil disolución en metanol. En contraste, el radical catión ABTS se crea por reacción entre el ABTS con el oxidante, persulfato de potasio, lo cual lo hace menos estable y más transitorio.

Cuadro 8. Inhibición de radicales libres de ABTS^{o+} (IC₅₀).

Fases de crecimiento	Tratamiento	IC ₅₀ (mg/mL)	1/IC ₅₀ (mg/mL)
Tierno	HT	0,561±0,053 ^a	1,794±0,180
Maduro	HM	0,580±0,002 ^a	1,724±0,006

Los valores representan (promedio ± SEM) datos provienen del experimento (n=8) valores de una misma columna con superíndices distintos, indica diferencia estadística (p<0,05).

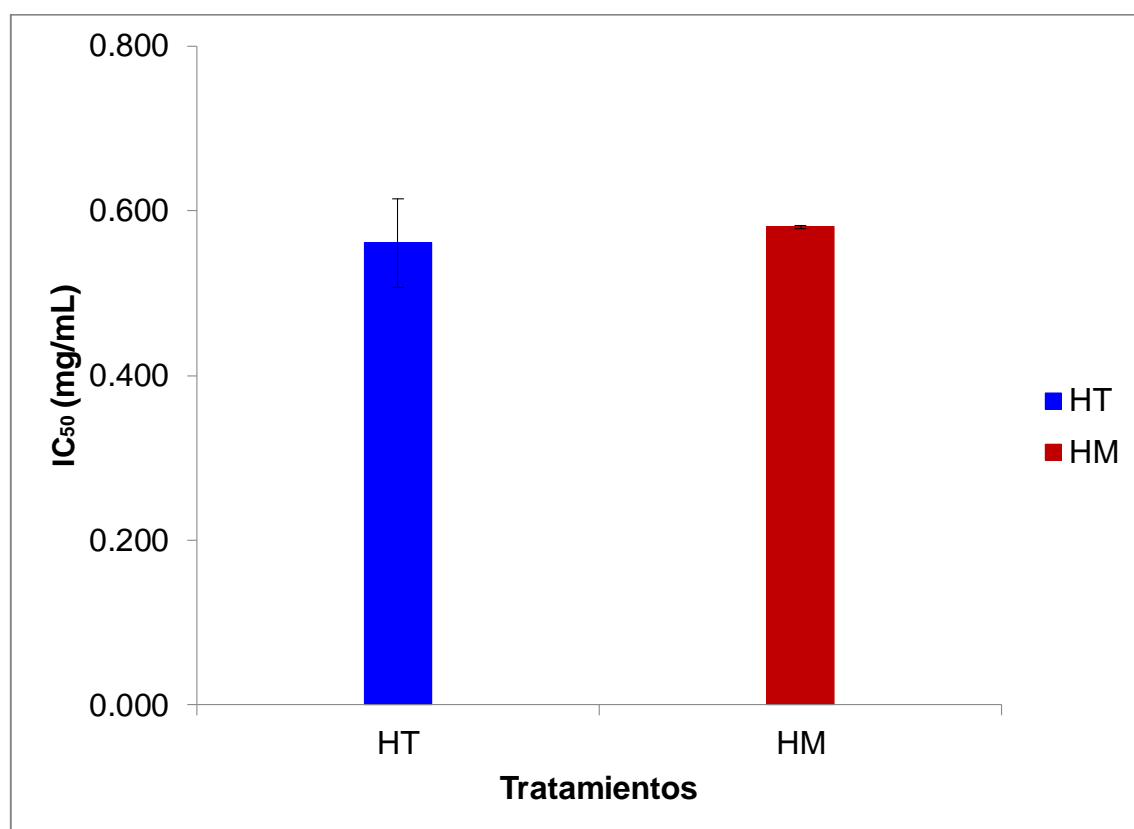


Figura 23. Comportamiento del (IC₅₀) con el radical ABTS^{o+} del hongo comestible *Auricularia aurícula*.

El ensayo de ABTS^{°+} es una herramienta excelente para conocer la actividad antioxidante de la donación de hidrógeno y la ruptura de la cadena de antioxidantes, además tiene característica máxima de absorbancia de 734 nm, que disminuye con la recolección de radicales de protones, además el ensayo ha sido extensamente usado en muchos estudios recientes para detectar la propiedad antioxidante de extractos de plantas (KUMAR *et al.*, 2011).

Respecto a los polifenoles, los champiñones son los hongos que contienen mayor nivel de estos antioxidantes. Una ración de champiñón (85 g) contiene entre 43 y 75 mg de fenoles totales. Se ha encontrado una relación positiva entre ese mayor contenido en fenoles y la capacidad de secuestrar radicales libres, siendo estos fenoles los compuestos que más contribuyen a la capacidad antioxidante (DUBOST, 2007).

V. CONCLUSIONES

1. El hongo comestible *Auricularia aurícula* en su estado tierno y maduro mostró contenidos de: $81,62 \pm 0,421$ y $91,431 \pm 2,102\%$ de humedad; $6,782 \pm 0,206$ y $8,922 \pm 0,025\%$ de proteína; $0,392 \pm 0,095$ y $1,272 \pm 0,510\%$ de grasa; $7,152 \pm 1,137$ y $13,362 \pm 0,305\%$ de fibra; $3,242 \pm 0,586$ y $7,452 \pm 0,363\%$ de ceniza; $81,322 \pm 1,455$ y $85,782 \pm 3,532\%$ de carbohidrato respectivamente.
2. Se determinó mayor presencia de glicósidos en los dos estados de crecimiento del hongo comestible *Auricularia aurícula*, así también poca y regular presencia de compuestos fenólicos en estado tierno y maduro respectivamente y menor presencia de alcaloides en los dos estados de crecimiento.
3. Las cantidades del contenido de polifenoles totales en los estados de crecimiento tierno y maduro del hongo comestible *Auricularia aurícula* fueron $7,725 \pm 0,56$ y $4,771 \pm 0,93$ (mg EAG/g muestra) respectivamente.
4. El contenido de antocianinas encontrado $6,030 \pm 0,320$ y $34,966 \pm 10,710$ (mg cianidina-3-glucosido/100 g) en los dos estados de crecimiento tierno y maduro del hongo comestible *Auricularia aurícula* respectivamente.

5. La capacidad antioxidante de los extractos metanolicos del hongo comestible *Auricularia aurícula* en sus dos estados de crecimiento tierno y maduro frente al radical DPPH tomaron valores IC_{50} $1,016 \pm 0,012$ y $1,300 \pm 0,012$ mg/mL respectivamente.
6. La capacidad antioxidante frente al catión $ABTS^{\circ+}$ de los extractos metanolicos del hongo comestible *Auricularia aurícula* en sus dos estados de crecimiento tomaron valores IC_{50} $0,561 \pm 0,053$ y $0,580 \pm 0,02$ mg/mL respectivamente.

VI. RECOMENDACIONES

Según los resultados obtenidos en el estudio, se recomienda lo siguiente:

1. Para la recolección de muestras se recomienda recolectarlos en épocas de lluvias donde existe bastante humedad y el mayor crecimiento de hongos comestibles.
2. Para evaluar la marcha fitoquímica, polifenoles totales, antocianinas, capacidad antioxidante, en los diferentes estados de crecimiento de *Auricularia aurícula*, se recomienda realizar un previo escaldado para facilitar la extracción de los compuestos bioactivos y los análisis.
3. Desarrollar parámetros a diferentes temperaturas para el análisis de capacidad antioxidante de *Auricularia aurícula*.
4. Realizar comparaciones de análisis de compuestos bioactivos para *Auricularia aurícula* en diferentes zonas geográficas.
5. Se recomienda realizar el cultivo de manejo controlado de *Auricularia aurícula*, para evaluar sus propiedades bioactivas.
6. Evaluar el estudio farmacológico en los estados de crecimiento de *Auricularia aurícula*.

VII. ABSTRACT

The present research allowed to develop the scientific knowledge of the edible fungus (*Auricularia auricula*), that grows in the Peruvian Amazon being characterized chemically and phytochemically. The antioxidant capacity of the methanolic extracts was evaluated. Phytochemical analysis was determined by the methods described by LOCK DE UGAZ (1988); The quantification of polyphenols by the method described by SYMONOWICZ *et al.*, (2012) and SULTANA *et al.*, (2012); The quantification of anthocyanins by the method described by POO (2005); The antioxidant capacity against the radicals DPPH and ABTS^{o+} by the methods described by SCHERER and GODOY (2009) and PELLIGRINI *et al.* (1999). Statistical analysis used the complete randomized design and the Tukey test ($p < 0.05$), the software InfoStat version 2016. The edible fungus in the tender and mature states presented $81,62 \pm 0,421\%$ and $91,43 \pm 2,102\%$ moisture; $6,78 \pm 0,206\%$ and $8,92 \pm 0,025\%$ protein respectively. Regular amounts of phenols and glycosides were found in the tender and mature states and few amounts of alkaloid compounds. A polyphenol content of $7,725 \pm 0,56$ and $4,777 \pm 0,93$ (mg EAG / g sample) was present in the two mature and mature growing states, an anthocyanin content of $6,030 \pm 0,320$ and $34,966 \pm 10,710$ (mg cyanidin-3-glucoside / 100 g) respectively.

The antioxidant capacity against the radicals DPPH and ABTS^{°+}, reported IC 50 1,016±0,012 and 1,300±0,012; IC 50 0,561±0,053 and 0,580±0,002 (mg / mL), respectively for mature and tender fungus.

Key words: *Auricularia*, phytochemistry, polyphenols, anthocyanins, antioxidant.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANDERSON, D., PHILLIPS, B. 2001. Comparative in vitro and in vivo effects of antioxidants. *Food. Chem Toxicol.* 37: 1015-1025.
- AOAC.1997.Official Methods of analysis of AOAC (Association of Official Analytical Chemists) International; Agricultural Chemicals, Foods, Contaminants and Drugs.V1 y V2 Arlington: A.O.A.C. Inc. 2658 p.
- AMAKURA, Y.; UMINO, T.; TSUJI, S.; TONOGAI, Y. 2000. Influence of jam processing on the radical scavenging activity and phenolic content in berries. *J. Agric. Food Chem.* 48: 6292-6297.
- AQUINO, R., DE SIMONE, F., PIZZA, C., CONTI, C., STEIN, M. 1989. Plants metabolites, structure and in vitro antiviral activity of quinovic acid glycosydes from *Uncaria tomentosa* and *Guetarda playpoda*. *Journal of*
- ARCT, J., PYTKOWSKA, K. 2008. Flavonoids as components of biologically active cosmeceuticals. *Clinics in Dermatology.* 26: 347 p.
- ARDON C. 2007 “la producción de hongos comestibles” Facultad de Humanidades Universidad de San Carlos de Guatemala Guatemala.
- AVILA, I. 2009. Estudio de los compuestos polifenolicos, con énfasis en flavonoides, del Hongo *Lentinula edodes* y determinación de la actividad antioxidante. Bogotá, Colombia. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Departamento de Química. 100 p.

- BADUI, S. 2006. Química de los alimentos. Ed. por E. Quintanilla. 4 ed. México. Person educacion. 736 p.
- BALASUNDRAM, N., SUNDRAM, K., SAMMAN, S. 2005. Phenolic compounds in plants and agro-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. Analytical, Nutritional and Clinical Methods. Food Chemistry. 99: 191-203 p.
- BARROS, L., DUEÑAS, M., FERREIRA, I., BAPTISTA, P. 2009. Efecct of *Lactarius piperatus* fruiting body maturity stage on antioxidant activity measured by several biochemical assays. Food and Chemical Toxicology. 47: 1076 p.
- BELTRAN, Y., MORRIS, H., DE LA CRUZ, E., QUEVEDO, Y., BERMUDEZ, R. 2013. Contenido de fenoles totales en extractos de *Pleurotus* obtenidos con solventes de diferente polaridad. Rev. Cubana de investigaciones biomédicas. Cuba. 32(2): 121-129.
- BELLOSO, K., GONZALES, C., SUAREZ, A. 2012. Actividad antioxidante de extractos de diez basidiomicetos comestibles en Guatemala. Para optar, Químicas Biólogas. Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala. 102 p.
- BOLAÑO, A. 2011. Macrohongos comestibles y medicinales comunes en la vegetación de la Universidad del Valle, Colombia. Universidad del Valle., Colombia. p. 31-38.
- CHEGWIN, C. 2004. Estudio químico preliminar de los metabolitos secundarios mayoritarios de tipo esterolico presentes en el extracto en acetato de etilo del hongo cacromiceto *Pleurotus sajor-caju* e inicio en la

- búsqueda de estatinas en el mismo. Trabajo de grado. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. Dep. De Química, Bogotá.
- CUEVAS, M., ANTEZANA, A., WINTERHALTER, P. 2008. Análisis y caracterización de antocianinas en diferentes variedades de maíz boliviano. Memorias Red-Alpha-Lagrotech. Comunidad Europea. Cartagena. p. 79-95.
- DIAZ, B. 2015. Composición química y antioxidantes en setas comestibles. Trab. Nutrición Humana y Dietética. p. 24-30.
- DUBOST, J. 2007. The mushrooming health benefits of fungi. Food Technology. 17: 61-68.
- DUSSI, M. 2007. Intercepción y distribución lumínica en agroecosistemas frutícolas. En Sozzi, G.O. Ed. Árboles frutales: ecofisiología, cultivo y aprovechamiento, Universidad de Buenos Aires. p. 200-241.
- ENRÍQUEZ, A., PRIETO, E., DE LOS RÍOS, E., RUIZ, S. 2008. Estudio farmacognóstico y fitoquímico del rizoma de *Zingiber officinale* Roscoe “Jengibre” de la ciudad de Canchamayo-Región Junín-Perú. Rev. Med. Vallejana. Vol. 5(1).
- FERGUSON, L. 2001. Role of plant polyphenols in genomic stability. Mutation Research. 475: 89-111
- GARCIA, L., GARCÍA, L., ROJO, D., SÁNCHEZ, E. 2001. Plantas con propiedades antioxidantes. Rev. Cubana Invest. Biomed. 20(3): 231-5.
- GARCIA, N., GARCIA, G., ROJO, D., SANCHEZ, G. 2001. Plantas con Propiedades Antioxidantes. Instituto Superior de Ciencia Básicas y

- Preclínicas “Victoria Ceirón”. Revista Cubana de Investigación Biomédica. 20(3): 231-235.
- GARZON, L. 2008. Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: revisión. Acta biol. Colombia. Bogotá, Colombia. 13(3):27-36
- GIL, J.; 2012. Estabilidad y actividad antioxidante de catequinas presentes en cacao colombiano durante los procesos de pre e industrialización. Medellín, Colombia. Universidad de Antioquía. 119 p.
- GIRALDO, F. 2014. Productos naturales. Universidad Nacional Abierta y a Distancia, Dosquebradas. p. 1-241.
- GONZALES-TORRES, M., BETACOURT-RULE, M., ORTIZ-MUÑIZ, R. 2000. Daño Oxidativo y Antioxidantes. Bioquímica. Universidad Autónoma Metropolitana – Unidad Iztapalapa. México. 25(1): 3-9.
- GORRITI, A., QUISPE, F., ARROYO, J., CORDOVA, A., JURADO, B., SANTIAGO, LL., TAYPE, E. 2009. Extracción de antocianinas de las corontas de *Zea mays L.* “Maíz morado”. Facultad de farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú. 12(2):64-74.
- GUIJA, H., TRONCOSO, L., E. 2005. Propiedades prooxidantes del Camu Camu (*Myrciaria dubia*). Revista científica de América Latina y el Caribe, España y Portugal. 66 (6): 261-268.
- GUERRA, M., ORTEGA, G. 2006. Separación, caracterización estructural y cuantificación de antocianinas mediante métodos químico-físicos. Parte I. Rev. ICIDA, Cuba. 2.

- GUTIERREZ, D., ORTIZ, C., MENDOZA, A. (2008). Medición de fenoles y actividad antioxidante en malezas usadas para alimentación animal. Santiago de Queretano, México. 1: 220-1108.
- HALLIWELL, B., GUTTERIDGE, J.M.C. 1999. Free radicals in biology and medicine. Oxford University Press, New York.
- HART, L. y FISHER, J.1991. Análisis Moderno de los Alimentos. Edit. Acribia. Zaragoza, España. p. 236-625
- HERNANDEZ, R., FERNANDEZ, C., BAPTISTA, L. 2001. Metodología de la investigación. Edit. McGraw-Hill interamericana de editores, S.A. México, 503 p.
- HUTCHINGS, JA. 1999. Food Color and Appearance. 2 ed. Gaithersburg, Md: Aspen Publisher.
- JANSEN, M., GABA, V., GREENBERG, B. 1998. Higher plants and UV-B radiations: damage repair and acclimation. Trends in Plant Science. 3: 131-135.
- JORRÍN, J., ABRIL, M., BÁRCENA, J. 2007. Separación de aminoácidos por cromatografía en capa fina y detección mediante reacción con ninhidrina. Universidad de Córdoba, España. 11 p.
- KALLIO, HP. 2009. Effect of a low dose of sea buckthorn berries on circulating concentration of cholesterol, triacylglycerols and flavonols in healthy adults. Eur J Nutr. 48(5): 277-82.
- KITZBERGER, C. SMANIA, A., PEDROSA, R., SALVADOR, S. 2007. Antioxidant and antimicrobial activities of shiitake (*Lentinula edodes*)

- extracts obtained by organic solvents and supercritical fluids. *Journal of Food Engineering*. p. 80-631.
- KUMAR, M., KUMAR, S., KAUR, S. 2011. Investigations on DNA protective and antioxidant potential of chloroform and ethyl acetate fractions of *Koelreuteria paniculata* Laxm. Vol. 5(3): 421-427.
- KUSKOSKI, M., ASUERO, A., TRONCOSO, A., MANCINI-FILHO, J., FETT, R. 2005. Aplicación de Diversos Métodos Químicos para Determinar Actividad Antioxidante en Pulpa de Frutos. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*. Campinas, 25 (4): 726-732.
- LARA, Y., VALENCIA, G., CRUZ, A., GARIN, M. Caracterización de extractos acuosos pH 4 de *Pleurotus ostreatus*. Encuentro Nacional de Biotecnología, (10, México). 2016. UNAM. 1 p.
- LEBEAU, J., FURMAN, C., BERNIER, J., DURIEZ, P., TEISSIER, E., COTELLE, N. 2000. Antioxidant Properties of Di-tert-Butyl hydroxylated Flavonoids. *Free Radicals Biology & Medicine*. 29(9): 900-912.
- LIU, F., OOI, V., CHANG, S. 1997. Free radical scavenging activities of mushroom polysaccharide extracts. *Life Science*. 64: 1005-1011.
- LOCK DE UGAZ, O. 1988. Investigación fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales. Primera edición. Lima, Perú. Edit. Pontificia Universidad Católica del Perú. 212 p.
- LOPEZ, O., LOPEZ, A., PALOU, E. 2014. Capacidad antioxidante de subproductos de semillas de amaranto (*Amaranthus hypochondriacus*). *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, Universidad de las Américas Puebla, México. 64(1):1-9.

- LÓPEZ, T., PADRÓ, L. 2003. Estudio fitoquímico preliminar de las hojas y tallos de la especie *Pedillanthus tithymaloides* (L). Poit. Fac. Ciencias Naturales, Universidad de Oriente. Vol. XV. N° 3.
- LUKTON, A., CHICHESTER, CO., MACKINNEY, G. 1956. The breakdown of strawberry anthocyanin pigment. Food Technol. 10: 427-432.
- LLAURADO, G., MORRIS, H., MARCOS, J., CASTAN, L., BERMUDEZ, R. 2011. Plantas y hongos comestibles en la modulación del sistema inmune. Rev. Cubana de Investigaciones Biomedicas, Cuba. 30(4):511-527.
- MABRY, K., THOMAS, M. 1970. The Systematic identification of Flavonoids. Springer Verlag. New York.
- MAHADAVIANT y SAGHEINT, 2008; GUO y WANG, 2012. Respuesta de las plantas ante la radiación ultravioleta. [En línea]: LIGHTBOURN RESEARCH, (<http://lightbourn.me/index.php/respuesta-de-las-plantas-ante-la-radiacion-ultravioleta/>, documentos, 30 abr. 2015).
- MAKRIS, D., KALLITHRAKA, P. 2006. Flavonols in grapes, grape products and wines: Burden, profile and influential parameters. Journal of Food Composition and Analysis. 19: 396 p.
- MARKAKIS, P. 1982. Antocyanins as food colors. New York: Academic Press.
- MARTÍNEZ, E. 2005. Errores frecuentes en la interpretación del coeficiente de determinación lineal. Anu. Jur. Eco.: p. 315-332.
- MAU, J., LIN, H., SONG, F. 2002. Antioxidant properties of several specially mushrooms. Food research international. 35: 519-526.

- MENDOZA, C. 2012. Las antocianinas del maíz: su distribución en la planta y producción. Tesis maestro en ciencias. Montecillo, México. Escuela de posgrado de recursos genéticos y productibilidad genética. 130 p.
- MICORODA. 2012. Auricularia auricula-judae. Asociación micológica de la Roda. [En línea]: Micoroda, (<http://www.micoroda.es>, catalogo, 2012).
- NACZK, M., SHAHIDI, F. 2004. Extraction and analysis of phenolics in food. *Journal of Chromatography*. 1054: 95 p.
- PILLANCARI, P. 2010. Extracción, aislamiento y análisis cualitativo de polisacáridos, terpenos y proteínas presentes en *Flammulina velutipes*. Tesis Facultad de Ciencias, Química y Farmacia. Valdivia, Chile. Universidad Austral de Chile. 80 p.
- PELLIGRINI, N., RE, R., YANG, M., RICE-EVANS, C. 1999. Screening of Dietary Carotenoids and Carotenoid-Rich Fruit Extracts of Antioxidant Activities Applying 2,2-Azinobis (3-Ethylenebenzothiazoline-6-sulfonic acid) Radical Cation Decolorization Assay. *Methods in Enzymology*. 299: 379-391.
- PETTI, S., SCULLY, C. 2009. Polyphenols, oral health and disease. A review, *Journal of Dentistry*. 37: 413-423
- PINEDA, A. 2005. Determinación de las propiedades antioxidantes de variedades de injerto (*Pouteria viridis*) que se cultivan en tres regiones de Guatemala. Tesis, Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala. 79 p.

- POKORNY, J.; YANISHLIEVA, N.; GORDON, M. 2005. Antioxidantes de los alimentos. Aplicaciones prácticas. Zaragoza, España, Editorial ACRIBIA, S.A. 364 p.
- POLYAKOV, N., LESHINA, T., KONOVALOVA, T., KISPERT, L. 2001. Carotenoids as scavengers of free radicals in fenton reaction. Antioxidants or pro-oxidants. J. Free. Rad. Biol. Med. 31(3): 398-404.
- POMILLO, A. 2012. Investigación en Química de Productos Naturales en Argentina: vinculación con la bioquímica. Rev. Bioquímica Clínica, Argentina. 46(1): 73-82.
- POO, B. 2005. Concentración de Antocianinas en jugo de cranberries (*Vaccinium macro carpon* Ait.) mediante Nano filtración. Universidad Austral de Chile. Facultad de Ciencias Agrarias. Escuela de Ingeniería en alimentos. Valdivia –Chile. [En línea]: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uch/2005/fap821c/doc/fap821c.pdf>.
- PRIOR, R., WU, X., SCHAICH, K. 2005. Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. Journal of Agricultural and Food Chemistry. Vol. 53 (10): 4290-4302.
- PYRZYNSKA, K., BIESAGA, M. 2009. Analysis of phenolic acids and flavonoids in honey. Trends in Analytical Chemistry. 68: 893 p.
- RAMIREZ, A. 2009. Estudio de las propiedades bioactivas de hongos comestibles para el diseño de productos carnicos funcionales. Tesis doctoral Ciencias de la Alimentacion. Madrid, España. Universidad Autonoma. p. 50-75.

- RAMOS, E., CASTAÑEDA, B., IBÁÑEZ, A. 2008. Evaluación de la capacidad antioxidante de plantas medicinales peruanas nativas e introducidas. Centro de Investigación de Medicina Tradicional, Instituto de Investigación, Facultad de Medicina Humana, Universidad San Martín de Porres. Revista Académica Perú Salud. Vol. 8 N°1: 56-72
- RAVAROCCI, C., CARRASCO, W. 2010. Tamizaje fitoquímico, perfil cromatográfico y Evaluación de la actividad antioxidante in vitro, de las cortezas de *Erythrina fusca* L., *Campsiandra angustifolia* S. B., y *Swartzia polyphylla* DC. Para optar título de Químico Farmacéutico. Iquitos, Peru. Universidad Nacional de la Amazonia Peruana. 104 p.
- REYES, T. 2006. Determinación de metabolitos con actividad antimicrobiana desde basidiocarpos de *Auricularia polytricha*. Universidad Austral de Chile, Facultad de Ciencias. Valdivia, Chile. 59 p.
- RIOS, A., MOSQUERA, L. 2005. Caracterización bromatológica y compuestos bioactivos de la seta *Auricularia aurícula*. Rev. Institucional, Universidad Tecnológica del Choco D.L.C. 22: 45-48.
- RODRIGUEZ, J., MENENDEZ, J., TRUJILLO, Y. 2001. Radicales libres en la Biomedicina y estrés oxidativo. Inst. Superior de Medicina Militar "Dr. Luis Dias Soto". Rev. Cubana Med. Milit. 30(1): 36-44.
- RONCERO, R. 2015. Propiedades Nutricionales y Saludables de los Hongos. Centro Tecnológico de Investigación del Champiñon de La Rioja. La Rioja. p. 27-43

- SANDOVAL, M., OKUHAMA, N., ANGELES, F., MELCHOR, V., CONDEZO, L., MILLER, M. 2001. Antioxidant activity of the cruciferous vegetable maca (*Lepidium meyenii*). Food chemistry. p. 1-23.
- SANDOVAL, M.; OKUHAMA, N.; ANGELES, F.; MELCHOR, V.; CONDEZO, L.; LAO, J. y MILLER, M. 2001. Antioxidant Activity of the Cruciferous Vegetable Maca (*Lepidummeyenii*). Food Chemistry. p. 1-23.
- SCHERER, R., GODOY, H. 2009. Antioxidant activity index (AAI) by the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. Food Chem. 112: 654-658.
- SUAREZ, A., NIETO, I. 2011. Cultivo biotecnológico de macrohongos comestibles: una alternativa en la obtención de nutraceuticos. Rev. Iberoamericana de Micologia. Bogota. 30(1): 1-8.
- SULTANA, B.; HUSSAIN, Z.; ASIF, M.; MUNIR, A. 2012. "Investigation on the Antioxidant Activity of Leaves, Peels, Stems Bark, and Kernel of Mango (*Mangifera indica* L.)." J Food Sci. 77(8): 849-52.
- SYMONOWICZ, M.; SYKULA-ZAJAC, A.; LODYGA-CHRUŚCIŃSKA, E.; RUMORA, I.; STRAUKAS, M. (2012). Evaluation of polyphenols and anthocyanins contents in black chokeberry - *Photiniamelanocarpa* (Michx.) fruits extract. Acta Pol Pharm. 69(3): 381-7.
- TAPIERO, H., TEW, K., NGUYEN, G., MATHE, G. 2002. Polyphenols: do they play a rol in the prevention of human pathologies?. Biomedicine and Pharmacotherapy. 56:200 p.
- TIMBERLAKE, CF. Anthocyanins-Occurrence, Extraction and Chemistry. Food Chem. 5(1):69-80.

UBI, B. 2004. External stimulation of anthocyanin biosynthesis in Apple fruitl.

Journal of Food, Agriculture and Environment 2(2): 65-70.

VILLAMIZAR, A., CAYCEDO J. 2013. Fitopatología; Basidiomycetes.

Facultad de Ciencias Agrarias, Pamplona (Colombia). Mimeografiado.

40 p.

ANEXOS

Apéndice 1. Análisis fisicoquímico del hongo comestible *Auricularia aurícula*.

Anexo A. Análisis de varianza del contenido de humedad.

F.V	S.C	G.L	C.M	F	p-VALOR
Tratamiento	0,41	1	0,41	0,41	0,5591
Error experimental	4,05	4	2,30	-----	-----
Total	4,46	5	-----	-----	-----
$R^2 = 0,94$		CV = 1,12		MEDIA = 89,77	

Anexo B. Análisis de varianza del contenido de proteína.

F.V	S.C	G.L	C.M	F	p-VALOR
Tratamiento	0,01	1	0,01	26,99	0,0065
Error experimental	9,6E-04	4	2,4E-04	-----	-----
Total	0,01	5	-----	-----	-----
$R^2 = 0,87$		CV = 2,12		MEDIA = 0,73	

Anexo C. Análisis de varianza del contenido de grasa.

F.V	S.C	G.L	C.M	F	p-VALOR
Tratamiento	2,2E-03	1	2,2E-03	194,49	0,0002
Error experimental	4,5E-05	4	1,1E-05	-----	-----
Total	2,2E-03	5	-----	-----	-----
$R^2 = 0,98$		CV = 7,40		MEDIA = 0,045	

Anexo D. Análisis de varianza del contenido de fibra.

F.V	S.C	G.L	C.M	F	p-VALOR
Tratamiento	0,01	1	0,01	1575,16	<0,0001
Error experimental	3,7E-05	4	9,3E-06	-----	-----
Total	0,01	5	-----	-----	-----
R ² = 1,00		CV = 0,84		MEDIA = 0,365	

Anexo E. Análisis de varianza del contenido de ceniza.

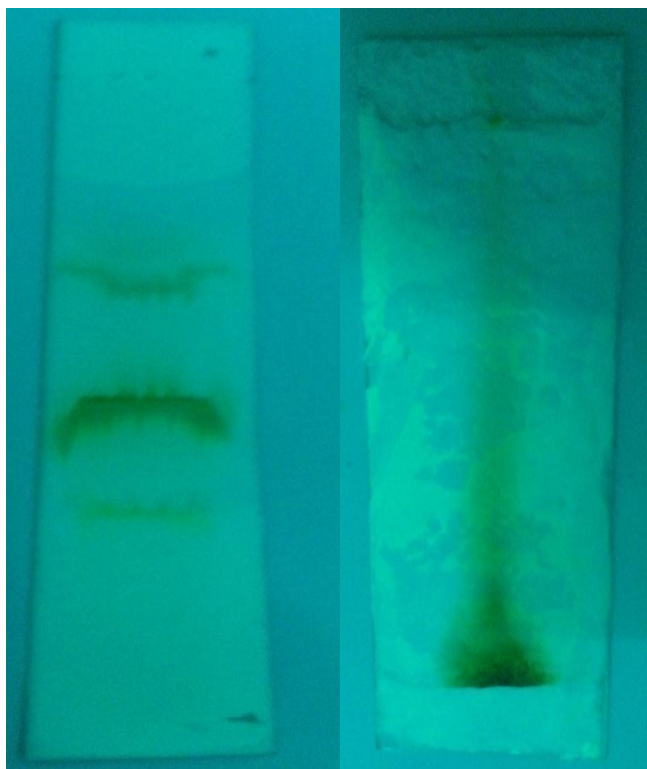
F.V	S.C	G.L	C.M	F	p-VALOR
Tratamiento	110,48	1	110,48	5570222,83	<0,0001
Error experimental	7,9E-05	4	2,0E-05	-----	-----
Total	27,54	5	-----	-----	-----
R ² = 0,97		CV = 0,09		MEDIA = 4,73	

Anexo F. Análisis de varianza del contenido de carbohidratos.

F.V	S.C	G.L	C.M	F	p-VALOR
Tratamiento	95,40	1	95,40	147375,29	<0,0001
Error experimental	2,6E-03	4	6,5E-04	-----	-----
Total	59,02	5	-----	-----	-----
R ² = 1,00		CV = 0,58		MEDIA = 4,365	

Apéndice 2. Análisis cromatografico en el hongo comestible *Auricularia aurícula*.

Anexo A. Desarrollo del cromatograma.



Anexo B. Revelado del cromatograma.

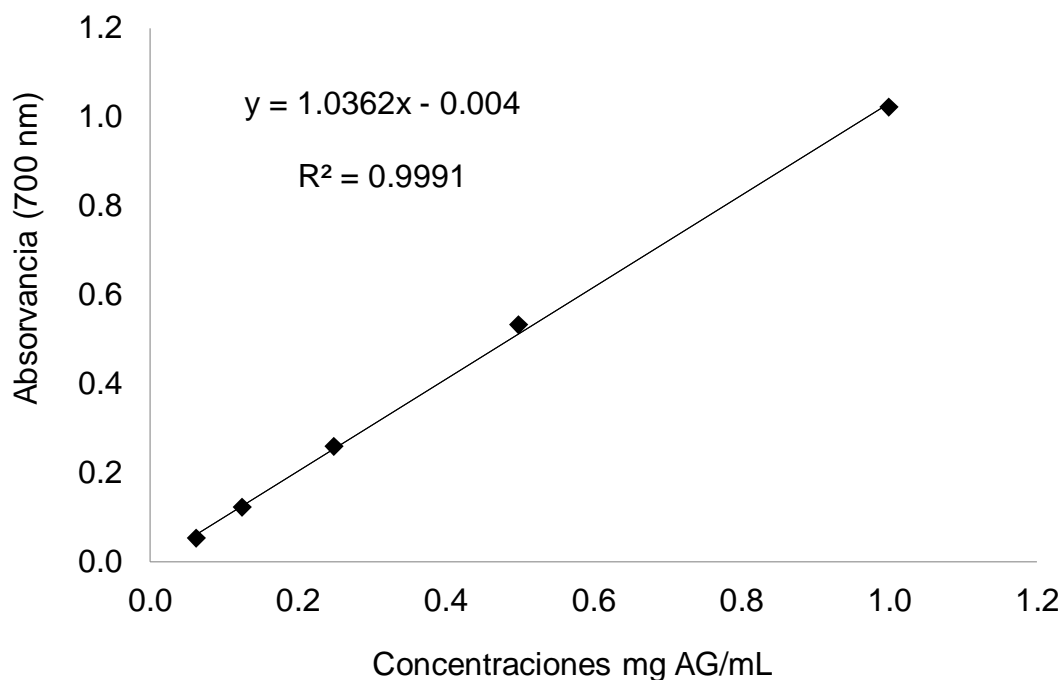
**Apéndice 3. Cuantificación de polifenoles totales en el hongo comestible*****Auricularia aurícula.***

Anexo A. Resultado de las absorbancias para la curva estándar de polifenoles.

Concentraciones (mg EAG/mL)	Absorbancias (700 nm)			Promedio
	r ₁	r ₂	r ₃	
1,000	0,976	0,995	1,099	1,023
0,500	0,525	0,523	0,552	0,533
0,250	0,286	0,244	0,243	0,258
0,125	0,122	0,120	0,123	0,122
0,063	0,049	0,052	0,056	0,052

Los valores representan (promedio) datos provienen del experimento (n=4). Valores distintos indican diferencias estadísticamente significativas (ANOVA-Tukey, p<0,05).

Anexo B. Curva estándar del ácido gálico para la cuantificación de polifenoles totales.



Anexo C. Análisis de varianza del contenido de polifenoles totales.

F.V	S.C	G.L	C.M	F	p-VALOR
Tratamiento	0,56	1	0,56	22,18	0,0092
Error experimental	0,10	4	0,03	-----	-----
Total	0,66	5	-----	-----	-----

$R^2 = 0,85$ $CV = 12,30$ $MEDIA = 1,29$

Apéndice 4. Determinación de contenido de antocianinas en el hongo comestible *Auricularia aurícula*.

Anexo A. Análisis de varianza del contenido de antocianinas.

F.V	S.C	G.L	C.M	F	p-VALOR
Tratamiento	734,85	1	734,85	3288,23	0,0001
Error experimental	0,89	4	0,22	-----	-----
Total	735,74	5	-----	-----	-----

$R^2 = 1,00$ $CV = 2,71,$ $MEDIA = 17,42$

Apéndice 5. Determinación de la capacidad antioxidante del hongo comestible *Auricularia aurícula*.

Anexo A. Análisis de varianza de IC50 del radical DPPH.

F.V	S.C	G.L	C.M	F	p-VALOR
Tratamiento	0,12	1	0,12	902,87	0,0002
Error experimental	0,00054	4	0,00013	-----	-----
Total	0,12	5	-----	-----	-----

$R^2 = 0,99$ $CV = 1,00$ $MEDIA = 1,16$

Anexo B. Análisis de varianza de IC50 del radical ABTS.

F.V	S.C	G.L	C.M	F	p-VALOR
Tratamiento	0,00058	1	0,00058	0,41	0,5566
Error experimental	0,01	4	0,0014	-----	-----
Total	0,01	5	-----	-----	-----

$R^2 = 0,09$ $CV = 6,59$ $MEDIA = 0,57$

