



Facultad de Ciencias Naturales y Matemática

EVALUACIÓN COMPARATIVA DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL FRUTO LIOFILIZADO DE *SOLANUM BETACEUM* CAV. (TOMATE DE ÁRBOL) VARIEDADES ROJO, AMARILLO Y ROJO-MORADO; Y FORMULACIÓN DE UNA CREMA ANTIOXIDANTE.

Tesis para optar el Título Profesional de Licenciada en Química

AUTORA:

Tito Pillaca, María Cinthya

ASESORES:

Mg. Herrera Hernández, Nora Gabriela

Dr. Fuertes Ruitón, César

Lima-Perú

2019

ÍNDICE

	pág.
LISTA DE TABLAS	iv
LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE ANEXOS	ix
RESUMEN	1
ABSTRACT	2
CAPITULO I: INTRODUCCION	3
1.1 Descripción y Formulación Problema	4
1.1.1 Descripción de la realidad problemática	4
1.1.2 Formulación del problema.....	5
1.2 Antecedentes de la investigación.....	6
1.3 Objetivos de la investigación.....	9
1.3.1 Objetivo general	
1.3.2 Objetivos específicos	
1.4 Justificación.....	9
1.5 Hipótesis.....	12
1.5.1 Hipótesis General	
1.5.2 Hipótesis específicas	
CAPITULO II: MARCO TEORICO	13
2.1 Bases teórica.....	13
2.1.1 <i>Solanum betaceum cav</i> (tomate de árbol).....	13
2.1.1.1 Origen.....	13
2.1.1.2 Clasificación Taxonómica.....	14
2.1.1.3 Descripción planta.....	15
2.1.1.4 Composición química.....	20
2.1.2 Radicales libres.....	22
2.1.3 Estrés oxidativo (EO).....	24
2.1.4 Antioxidantes.....	24
2.1.5 Liofilización.....	34
CAPITULO III: METODOLOGÍA	37
3.1 Tipo de investigación.....	37
3.2 Ámbito temporal y espacial de la investigación.....	37
3.3 Variables.....	37
3.4 Población y muestra.....	37
3.5 Materiales, reactivos e instrumentos o equipos.....	38
3.6 Parte experimental.....	41

3.6.1 Preparación de la muestra.....	41
3.6.2 Tamizaje Fitoquímico de las tres variedades del fruto.....	42
3.6.3 Análisis de las tres variedades del fruto liofilizado.....	44
3.6.3.1 Determinación de polifenoles totales.....	44
3.6.3.2 Cuantificación de vitamina C (ácido ascórbico).....	47
3.6.3.3 Determinación de antocianinas monoméricas totales.....	49
3.6.3.4 Caracterización de antocianinas por medio de la espectrofotometría.....	53
3.6.3.5 Determinación de actividad antioxidante.....	55
3.6.4 Formulación de la crema antioxidante.....	59
3.6.5 Determinación de capacidad antioxidante de la crema formulada.....	61
3.6.6 Control de calidad de la crema.....	62
3.7 Análisis de datos.....	64

CAPITULO IV: RESULTADOS

4.1 Pruebas fitoquímica.....	65
4.2 Polifenoles totales presentes en <i>Solanum betaceum</i>	65
4.3 Cuantificación de vitamina C (ácido ascórbico).....	68
4.4 Antocianinas monoméricas totales.....	69
4.5 Capacidad antioxidante para extracto etanólico a partir fruto liofilizado de <i>Solanum betaceum cav.</i>	75
4.6 Preparación de la crema antioxidante.....	82
4.6.1 Resultados de solubilidad del fruto liofilizado.....	82
4.6.2 Formulación de la crema base.....	83
4.6.3 Determinación de la capacidad antioxidante de la crema a base del fruto.....	84
4.6.4 Control de calidad de la crema antioxidante.....	86
CAPITULO V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS.....	88
CAPITULO VI: CONCLUSIONES.....	94
RECOMENDACIONES.....	95
REFERENCIAS.....	96
ANEXOS.....	106

LISTA DE TABLAS

Tabla 1: Composición Química del fruto de <i>Solanum betaceum cav.</i>	21
Tabla 2: Antocianidinas indicando la máxima longitud de onda.....	30
Tabla 3: Volúmenes para la disolución de los extractos.....	45
Tabla 4: Preparación de tubos de ensayo para el método 2,6-Diclorofenol del extracto liofilizado de <i>Solanum betaceum cav.</i>	49
Tabla 5: Valores y diluciones de preparación del extracto para identificar antocianinas monoméricas totales.....	52
Tabla 6: Dilución de la muestra problema a partir de la solución madre para la capacidad antioxidante.....	56
Tabla 7: Preparación de tubos de reacción para el método DPPH del extracto.....	58
Tabla 8: Formulación de la crema	60
Tabla 9: Preparación de tubos de ensayo para el método DPPH a partir de la crema elaborada a base del fruto liofilizado.....	62
Tabla 10: Resultados de la marcha fitoquímica del fruto liofilizado	65
Tabla 11: Resultados de las absorbancias de los puntos de concentración del estándar de ácido gálico.....	66
Tabla 12: Resultados de la concentración de polifenoles totales presentes en la dilución de los extracto etanólico en las tres variedades de <i>Solanum betaceum cav.</i>	67
Tabla 13: Resultado final del contenido de polifenoles totales de los frutos liofilizados de <i>Solanum betaceum cav</i> de las variedades amarillo, rojo y rojo-morado.....	67
Tabla 14: Resultados de absorbancia final del estándar de ácido ascórbico.....	68
Tabla 15: Resultados de vitamina C presentes 1 gramo de muestra del fruto liofilizado de <i>Solanum betaceum cav.</i> (tomate de árbol) en cada variedad del fruto.....	69
Tabla 16: Antocianinas monoméricas totales expresados mg de antocianinas cianidina-3-glucosido/gramo del fruto liofilizado de <i>Solanum betaceum cav.</i>	69
Tabla 17: Valores de Rf del estándar de antocianinas.....	74
Tabla 18: Resultados de los Rf de las bandas de los extractos de <i>Solanum betaceum cav.</i> utilizando como fase móvil n-butanol: ac. acético: agua (4:1:5).....	75
Tabla 19: Resultados del % de capacidad antioxidante del estándar de ácido ascórbico.....	76
Tabla 20: Capacidad antioxidante y IC50 del fruto liofilizado amarillo de <i>Solanum betaceum cav.</i> (tomate de árbol).....	77

Tabla 21: Resultados de capacidad antioxidante y IC50 del fruto liofilizado rojo de <i>Solanum betaceum cav.</i> (tomate de árbol).....	78
Tabla22: Resultados de capacidad antioxidante y IC50 del fruto liofilizado rojo – morado de <i>Solanum betaceum cav.</i> (tomate de árbol).....	79
Tabla 23: Resultados de la capacidad antioxidante en mg ácido ascórbico /g fruto Liofilizado <i>Solanum betaceum cav.</i>	80
Tabla 24: Resultados de los análisis de compuestos de antioxidante del fruto de <i>Solanum betaceum cav.</i> de las variedades rojo, amarillo y rojo-morado del fruto completo liofilizado	82
Tabla 25: Resultados de solubilidad del fruto liofilizado rojo-morado de <i>Solanum betaceum cav.</i> (tomate de árbol).....	83
Tabla 26: Formulación de crema para tres concentraciones distintas.....	83
Tabla 27: Capacidad antioxidante de la crema base a diferentes concentraciones.....	84
Tabla 28: Capacidad antioxidante de la crema al 0.5%.....	84
Tabla 29: Capacidad antioxidante de la crema al 2 %.....	85
Tabla 30: Capacidad antioxidante de la crema al 5 %.....	85
Tabla 31: Características organolépticas de la crema.....	86
Tabla 32: Control fisico-químicos de la crema.	86

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fruto de <i>Solanum betaceum cav.</i> (Tomate de árbol).....	13
Figura 2. Raíces del tomate de árbol.....	15
Figura 3. Tallo del tomate de árbol.....	15
Figura 4. Hojas del tomate de árbol.....	16
Figura 5. Flores del tomate de árbol.....	16
Figura 6. Semillas del tomate de árbol.....	17
Figura 7. Fruto de tomate de árbol (1) variedad rojo-morado, (2) variedad anaranjado, (3) variedad amarilla.....	18
Figura 8. Sembrado y germinación de tomate de árbol.....	19
Figura 9: Formación de radicales libres por varios factores.....	23
Figura 10. Interacción de los radicales libres.....	25
Figura 11. Polifenoles más conocidos.....	27
Figura 12. Estructura química de flavonoides.....	28
Figura 13. Ion Flavilio, estructura general de las antocianinas R1 y R2 pueden ser H o azúcares; R pueden ser OH o H.....	29
Figura 14. Antocianidinas más importantes.....	30
Figura 15. Estructura de antocianinas a diferente pH.....	31
Figura 16. Oxidación del ácido ascórbico.....	33
Figura 17. Fases del agua y sistemas de secado.....	35
Figura 18. Principales etapas del liofilizado.....	36
Figura 19. Trozos del fruto de <i>Solanum betaceum cav.</i> (Tomate de árbol).	41
Figura 20. Fruto liofilizado y triturado de <i>Solanum betaceum cav.</i> de variedad roja y fruto rojo-morado liofilizado	42
Figura 21. Reacción del ácido gálico con el reactivo de Folin-Ciocalteu.....	44
Figura 22. Diluciones de extractos etanolicos y reacción del Folin-Ciocalteu de la tres variedades del fruto de <i>Solanum betaceum cav.</i>	46
Figura 23. Reacción de óxido reducción del 2,6-diclorofenol indofenol y la vitamina C.....	47
Figura 24. Reaccion de los extractos del fruto de <i>Solanum betaceum cav.</i> con el reactivo 2,6-Diclorofenol Indofenol Sal Sódica 2-hidrato.....	48

Figura 25. Extractos metanólico acidificado y reacción de pH diferencial en los extractos diluidos con buffer pH1 y pH 4.5 en las tres variedades del fruto liofilizado.....	51
Figura 26. Filtración de los extractos metanólico acidificados de las tres variedades del fruto <i>Solanum betaceum cav.</i>	53
Figura 27. Sembrado de los extracto del fruto liofilizado de <i>Solanum betaceum cav.</i> en papel filtro de celulosa.....	54
Figura 28. Elución de la muestra en una cámara cromatográfica descendente.....	54
Figura29. Disolución de las bandas seleccionadas en metanol acidificado.....	55
Figura 30. Reducción de la molécula 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo.....	56
Figura31. Reacción colorimétrica de las diferentes concentraciones del estándar con el reactivo DPPH para la identificación de antioxidantes.....	58
Figura 32. Reacción colorimétrica de las diferentes concentraciones de la crema con el reactivo DPPH para la identificación de antioxidantes.....	61
Figura 33. Extensibilidad de la crema antioxidante.....	64
Figura 34. Curva de calibración de polifenoles totales utilizando como estándar ácido gálico.....	66
Figura 35. Curva de Calibración del estándar de ácido ascórbico.....	68
Figura 36. Elución del extracto metanólico del fruto de variedad rojo-morado revelado con vapores de amoniaco.....	71
Figura 37. Bandas encontradas en los extractos del fruto liofilizado de variedad rojo-morado, amarillo y rojo a 365nm.....	71
Figura 38. Estructura de un flavonoide y el espectro de las bandas II y I de los estándares de antocianinas.....	73
Figura 39. Espectro de absorción de la Banda I del extracto metanólico de variedad rojo-morada.....	73
Figura 40. Espectro de absorción de la Banda I del extracto metanólico de variedad rojo-morado.....	74
Figura 41. Curva del porcentaje (%) de captación de radicales libres del estándar de ácido ascórbico.....	76
Figura 42. Curva de calibración del absorbancia del ácido ascórbico.....	77
Figura 43. Porcentaje (%) de captación de radicales libres del fruto liofilizado de variedad amarilla.....	78
Figura 44. Concentración extracto rojo vs porcentaje (%) capacidad antioxidante....	79
Figura 45: Concentración extracto rojo-morado vs porcentaje (%) capacidad antioxidante.....	80

Figura 46. Comparación del IC 50 del estándar de ácido ascórbico y las tres variedades del fruto.....	81
Figura 47. Solubilidad del liofilizado de fruto rojo-morado de <i>Solanum betaceum cav.</i> en diferentes soluciones.....	82
Figura 48. Crema a base del fruto liofilizado de tomate de árbol de variedad rojo-morado a diferentes concentraciones.....	84
Figura 49. Crema antioxidante de fruto liofilizado de <i>Solanum betaceum cav.</i> de variedad rojo-morado (tomate de árbol) al 5%.....	86

LISTA DE ANEXOS

ANEXO N ^o 1: Certificación Botánica.....	107
ANEXO N ^o 2: Preparación de la muestra de Solanum betaceum cav. de las variedades rojo, amarillo y rojo-morado.....	108
ANEXO N ^o 3: Fruto liofilizado y luego triturado de la variedad roja y rojo-morado de Solanum betaceum cav.(tomate de árbol).....	108
ANEXO N ^o 4: Análisis fitoquímica del fruto liofilizado de Solanum betaceum cav. de las variedades rojo, amarillo y rojo-morado.....	109
ANEXON ^o 5: Maceración de fruto liofilizado de Solanum betaceum cav. de las variedades rojo, amarillo y rojo-morado.....	109
ANEXO N ^o 6: Reacción de polifenoles totales de fruto liofilizado de Solanum betaceum cav. de las variedades rojo, amarillo y rojo-morado.....	110
ANEXO N ^o 7: Reacción de la vitamina C por espectrofotométrico analizados en el fruto liofilizado de Solanum betaceum cav. de variedad rojo, amarillo y rojo-morado.....	110
ANEXO N ^o 8: lecturas de solución metanólica acidificada a pH 2 para la extracción de antocianinas con un uso de un pH metro digital.....	110
ANEXO N ^o 9: Diluciones de los extractos a con buffer KCl (pH 1) y acetato de sodio (pH 4.5).	111
ANEXON ^o 10: Identificación de antocianinas por cromatografía de papel descendente.....	111
ANEXO N ^o 11: 1) Cromatografía en papel del extracto variedad roja, (2) cromatografía papel del extracto variedad rojo-morado.	111
ANEXO N ^o 12: Excipientes para la preparación de crema base.....	112
ANEXO N ^o 13: Análisis de capacidad antioxidante del extracto y de la crema	112
ANEXO N ^o 14: Espectros UV-Visible de la fracción 1y2 de variedad roja los cuales no identifican banda I característica de antocianinas.....	113
ANEXO N ^o 15: Espectros UV-Visible de la fracción del extracto de variedad amarillo, no identifican la banda I de antocianinas.....	114
ANEXO N ^o 16: Cálculo de la concentración de compuestos polifenólicos.....	114
ANEXO N ^o 17: Cálculo de antocianinas monoméricas totales.....	116
ANEXO N ^o 18:Cálculo de capacidad antioxidante del extracto de las tres variedades del fruto.....	117

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue comparar la capacidad antioxidante del fruto liofilizado de *Solanum betaceum Cav.* (Tomate de árbol) de las variedades rojo, amarillo, rojo-morado y formular una crema antioxidante a base del extracto de la variedad rojo-morado ya que esta variedad presentó mayor capacidad antioxidante. Se recolectaron los frutos en la región de Huánuco- Perú, se liofilizó el fruto (cáscara, semilla y pulpa), se prepararon los extractos de cada variedad y se analizaron los polifenoles con el reactivo de Folin Ciocalteu por espectrofotometría, ácido ascórbico con el reactivo 2,6-diclorofenol, antocianinas por el método pH diferencial y la capacidad antioxidante por el método DPPH.

Se preparó las cremas ha concentraciones de (0.5%, 2% y 5%) y se evaluó la capacidad antioxidante de las crema por el método DPPH, finalmente se realizó el control de calidad de la crema. Los resultados fueron los mayores para el fruto rojo-morado: polifenoles 6.821 mg Acido gálico (AG)/1g, vitamina C 0.81 mg Acido ascórbico (AA)/1g, antocianinas 0.261 mg cianidina /1g, capacidad antioxidante 23.25 mg Ácido ascórbico (AA)/1g, el fruto rojo presentó un segundo lugar y el amarillo un tercer lugar; sin embargo, los extractos rojo y amarillo no presentaron antocianinas, en conclusión entre los tres variedades el que presento el mejor valor de IC50 fue el extracto rojo-morado con 1101.82µg /mL, frente al estándar de AA con un IC50 de 29.77 µg / mL, es por ello que la crema elaborada a base de su extracto del fruto rojo-morado presento una buena capacidad antioxidante.

Palabras Clave: *Solanum betaceum*, tomate de árbol, antioxidante, antocianina, tamarillo, radicales libres, crema antioxidante, polifenoles.

ABSTRACT

The objective of the research was to compare the antioxidant capacity of the lyophilized fruit of *Solanum betaceum* Cav. (Tomato of tree) of the varieties red, yellow, red-purple and to formulate an antioxidant cream based on extract of the red-purple variety that presented greater antioxidant capacity. The three fruit varieties were collected in the Huanuco-Peru, the fruit was lyophilized (husk, seed and pulp) the extracts of each variety were prepared and total polyphenols were analyzed with Folin Ciocalteu reagents by espectrofotometric, ascorbic acid with 2,6-dichlorophenol indophenol, anthocyanins by the differential pH method and the antioxidant capacity by the DPPH method, was prepared the cream has preparation of (0.5%, 2% and 5%) and evaluation the antioxidant capacity of the cream by the DPPH method, finally the quality control of the cream was carried out. The results were the highest for the red-purple fruit: polyphenols 6.821 mg Gallic acid (GA) / 1g, vitamin C 0.81 mg Ascorbic acid (AA) / 1g, anthocyanins 0.261 mg cyanidin / 1g, antioxidant capacity 23.25 mg Acid ascorbic (AA) / 1g, for red fruit had a second place and yellow fuit had third place, however, red and yellow extracts do not present anthocyanins, in conclusion, among the three varieties, the one with the best IC₅₀ value was the red-purple extract with 1101.82µg / mL, compared to the AA standard with an IC₅₀ of 29.77µg / mL, that is why the cream made from its red-purple fruit extract showed a good antioxidant capacity.

Key words: *Solanum betaceum*, tomato tree, tamarillo, free radical, antioxidant cream, polyphenols.

CAPITULO I: INTRODUCCIÓN

En la actualidad el Perú presenta una alta biodiversidad de frutos y plantas cada una de estas especies presenta una gran variedad que aún falta estudiar, la importancia radica en su composición química encontrando diferentes principios activos que ayudarían a prevenir enfermedades.

En los andes peruanos existe el tomate de árbol (*Solanum betaceum cav.*) o anteriormente denominado *Cyphomandra betaceae*, es un fruto que presenta diferentes variedades en color (debido a los compuestos antioxidantes como carotenoides, flavonoides, antocianinas), tamaño y forma del fruto; el fruto es cosechado en las regiones de Cajamarca, Cusco, Ayacucho, Amazonas, Trujillo, Huánuco, etc. (Gutiérrez, 2017), la variedad del fruto más común es de coloración roja; sin embargo, hay otras variedades como Amarillo y rojomorado que presentan una gran importancia debido a la compuestos fenólicos y otros antioxidantes que presenta efectos beneficiosos sobre el organismo previniendo el riesgo de distintas enfermedades ya que pueden ayudar a neutralizar los radicales libres (Bárcenas y Preciado, 2014).

Actualmente existen ensayos clínicos que evidencia que los antioxidantes de origen vegetal presentan actividad antioxidante y son empleados en diferentes industrias como farmacéuticas, alimenticias, cosméticas, etc. (Alcala y Castellano, 2010)

1.1 Descripción y Formulación del Problema

1.1.1 Descripción de la realidad problemática:

Los radicales libres se generan a nivel intracelular y extracelular de manera natural, ha esto se suman las fuentes externas que generan también un exceso de radicales libres, actualmente la contaminación del aire, el estrés, la radiación solar, el humo del tabaco y otros químicos expuestos en el aire dañan la piel ya que está se encuentra expuesta de manera directa con el ambiente, generando un gran daño por radicales libres y esto trae un problema llevándolo al desequilibrio de su defensa antioxidante, acelerando el mecanismo de envejecimiento, deshidratación de la piel, acné, manchas de pigmentación, irritabilidad de la piel o la formación del cáncer cutáneo (Alcalá y Castellanos, 2010, p. 272-274).

La radiación ultravioleta genera estrés oxidativo a nivel cutáneo tomando como resultado foto envejecimiento y cáncer de piel ya que a nivel molecular se ha demostrado que las sustancias reactivas de oxígeno (ROS) interfieren con la formación celular normal al afectar la expresión de los genes originando apoptosis celular que conduce a la carcinogénesis (Magliano, 2014, p.91,95).

Según Alcalá y Castellanos (2010) mencionan que al menos el 50% del daño de la piel es inducido por luz solar y atribuye a la formación de radicales libres, además mencionan que la exposición a la radiación ultravioleta (RUV) induce a la producción de cromóforos moléculas que al absorber la luz principalmente de la radiación de longitud de onda media (UVB) y longitud de onda larga (UVA) producen radicales libres (p. 273).

Los radicales libres constituyen el motivo principal del envejecimiento cutáneo y de otras enfermedades, ya que son sustancias que quitan electrones de diversas estructuras y las

dañan. El envejecimiento cutáneo aumenta mucho con la edad y con los contaminantes ambientales que proceden de las industrias, la calefacción, los automóviles, etc., estos disminuyen la hidratación y aumentan el efecto carcinógeno de los ultravioletas y los radicales libres (Castro, González, Mora, Rosa & Savigñon, 2010, p. 7).

Hay abundante información donde mencionan que los productos naturales presentan antioxidantes que ayudan a eliminar los radicales libres y algunas enfermedades de la piel, es por ello que se trabajó con las tres variedades rojo, amarillo y rojo-morado del fruto *Solanum betaceum Cav.*

1.1.2 Formulación del problema

1.1.2.1 Problema General:

- ¿Existirán diferencias en la actividad antioxidante de las tres variedades rojo, amarillo, rojo-morado de los frutos liofilizados de *Solanum betaceum Cav*??

1.1.2.2 Problemas Específicos:

- ¿Cuál será la concentración de los compuestos polifenólicos presente en las variedades roja, amarillo y rojo-morado del fruto liofilizado de *Solanum betaceum Cav*.?
- ¿Cuál será la concentración de vitamina C presente en las variedades roja, amarillo y rojo-morado del fruto liofilizado de *Solanum betaceum Cav*.?
- ¿Cuál será la concentración de antocianinas presente en las variedades roja, amarillo y rojo-morado del fruto liofilizado de *Solanum betaceum Cav*.?
- ¿Cuál será la capacidad antioxidante de las variedades roja, amarillo y rojo-morado del fruto liofilizado de *Solanum betaceum Cav*? por el método DPPH?
- ¿Cuál será la capacidad antioxidante de la crema formulada a base del fruto liofilizado de *Solanum betaceum Cav*? por el método DPPH?

1.2 Antecedentes de la investigación

El tomate de árbol o sachatomate (*Solanum betaceum*) es una planta que se desarrolla en los Andes Peruanos, también crece en otros países como Chile, norte de Argentina, Ecuador y Bolivia, el fruto es producido más en Brasil y Colombia, estos frutos se pueden encontrar en diferentes variedades como amarillo, rojo, violeta, naranja. La pulpa es de color variable y presenta colores como amarillo, anaranjado o anaranjado rosáceo según Acosta, 2011, p 14, 15, 21; Manual de Tomate de árbol. C.C.B., 2015, p.10-12.

De acuerdo con el documento de Amaya et al. (2006) los estudios químicos de este fruto fresco indican que es una fuente importante de beta caroteno (provitamina A), vitamina B6, vitamina C (ácido ascórbico), vitamina E y hierro. El contenido de nitrógeno y aminoácidos libres es alto, el tomate de árbol también presenta altos contenidos de potasio, magnesio, fósforo, así como de pectinas y carotenoides, sin embargo, también se menciona que el fruto presenta otros componentes químicos que son responsables de la coloración del fruto como las antocianinas, leuco antocianinas, flavonas y flavonoles. Como uso medicinal el fruto o las hojas son calentados y son aplicadas en forma tópica contra la inflamación de amígdalas o amigdalitis especialmente (p.6-7), según Morales y Romero (2009) indicaron que fruto tomate de árbol presentó metabolitos secundarios como taninos, saponinas, flavonoides, alcaloides esteroideos y el extracto acuoso no presenta glicósidos cardiotónicos.

Carrasco y Encina (2008) estudiaron el tomate de árbol de la región de Junín y otros frutos encontrando al aguaymanto y al tomate de árbol con un alto contenido de proteínas (1.9 g/100 g para ambos frutos) y para compuestos fenólicos 130 mg de ácido gálico/100 g muestra y un alto valor de carotenoides de 4 mg-caroteno/100 g con respecto a los demás frutos.

Vasco et al.(2009) estudiaron los frutos de esta especie de Ecuador y realizaron una comparación con los frutos de España encontrando que los el fruto amarillo y rojo-purpura de Ecuador eran más grandes (107 y 188g) que las frutas españolas (43 y 63g) además los fenólicos totales de variedades amarillo y rojo púrpura fueron 125 y 187 mg de ácido gálico / 100 g de peso fresco y de vitamin C para variedad amarilla 0.17 y variedad rojo purpura 0.16 mg ácido ascórbico /g fruto fresco, encontrándose de antocianinas 0.38 mg cianidina-3-O-glucósido en la variedad rojo púrpura sin embargo la variedad amarilla no presentó valor p.283-285, además Bobbio y Rodríguez (1983) estudiaron las antocianinas del fruto tomate de árbol de Brasil de color rojo marrón encontrando los tres pigmentos en la semillas: malvidina-3-glucosil-glucosa, peonidina-3-glucosil-glucosa y pelargonidina-3-glucosil-glucosa y en la cáscara se identificó: pelargonidina-3-glucosil-glucosa a su vez el azúcar identificada tentativamente fue maltosa p.191-194.

Adicionalmente Geetha, Karpagapandi, Nallakurumban, Suja y Vijayakumar (2015), cuantificaron el contenido de vitamina C del fruto de tomate de árbol encontrando 33.6 mg / 100 g de fruta fresca, la cuantificación de fenoles totales fue de 190.0 mg de estándar de ácido gálico / 100 g de fruta fresca y beta caroteno 1.72 µg/g de fruta fresca. Los resultados de Geetha et al., (2015) concluyeron que (*Solanum betaceum* Cav.) tiene una cantidad significativa de compuestos fenólicos, flavonoides y carotenoides que contribuyen a la actividad antioxidante de la fruta, demostrando así que el fruto es una de las fuentes ricas de propiedades antioxidantes, así como de vitaminas y minerales que pueden mejorar la salud humana (p.63-64). Cardona et al.,(2010) mencionan que en los último años la industrias de alimentos, cosméticas y farmacéuticas, han tenido que enfrentarse a la tendencia de los consumidores ya que exigen en los productos ingredientes “no químicos”, con el fin de favorecer y cuidar su salud, es por ello que estas toman enserio a los antioxidantes fenólicos

ya que pueden ser aplicados como sustitutos de componentes sintéticos y como ingredientes activos para proteger la piel en dermatología, Cárdenas y Rojas (2007) la piel contiene numerosas terminaciones y receptores nervios que detectan los estímulos relacionados con temperatura, tacto, presión y dolor.

Mosquera, Tapia y Pérez (2012) mencionan que los principios activos a los que se les atribuye la actividad antioxidante suelen ser los flavonoides, compuestos polifenólicos y principalmente antocianidinas, actualmente existen numerosos trabajos de materiales vegetales con alto contenido de ácidos grasos que demuestran que no solo son una fuente alimenticia, sino también representan un potencial de materia prima para la industria, Mosquera elabora tres cremas a base de tres extractos de *Mauritia flexuosa* (Morete), *Plukenetia volubilis* (Sacha inchi) y *Oenocarpus bataua* (Ungurahua) los resultados del estudio indicaron que los tratamientos por 28 días con las cremas permitieron mejorar el estado de la piel del rostro de las voluntarias, de acuerdo a la evaluación clínica estas cremas lograron mejorar significativamente la luminosidad y suavidad de la piel del rostro de las voluntarias, p.16, 20, 22.

Cardona et al. (2010) nos dice:

Los antioxidantes son solubles en disolventes polares, generalmente mediante el uso de agua, metanol o etanol que contiene una pequeña cantidad de ácido clorhídrico o el ácido fórmico. La extracción con metanol es un 20% más eficaz que con etanol y 73% más eficaz que solo agua. La acetona también ha sido utilizada para extraer antioxidantes de diferentes fuentes vegetales, lo que permite una extracción más eficiente y reproducible a baja Temperatura (p. 19).

1.3 Objetivos de la investigación

1.3.1 Objetivo general:

- Comparar la capacidad antioxidante de las tres variedades amarillo, rojo-morado y rojo del fruto liofilizado de *Solanum betaceum Cav.* (Tomate de árbol) y formular una crema antioxidante empleando la variedad del fruto de *Solanum betaceum* que presente mejor resultado de capacidad antioxidante.

1.3.2 Objetivos específicos:

- Cuantificar los compuestos polifenólicos presente en las variedades amarillo, rojo-morado y rojo del fruto liofilizado de *Solanum betaceum Cav.*
- Cuantificar la vitamina C presente en las variedades amarillo, rojo-morado y rojo del fruto liofilizado de *Solanum betaceum Cav.*
- Cuantificar las antocianinas totales en el fruto liofilizado de *Solanum betaceum Cav.* en las tres variedades.
- Determinar la capacidad antioxidante presente en las variedades amarillo, rojo-morado y rojo del fruto liofilizado de *Solanum betaceum Cav.* por el método DPPH.
- Determinar la capacidad antioxidante de la crema a base de un fruto liofilizado de *Solanum betaceum Cav.*

1.4 Justificación

Las células han desarrollado mecanismos que las protegen del efecto nocivo de los radicales libres que sirven como bases en los sistemas de defensa constituidos por antioxidantes. Cuando se incrementa la formación de radicales libres, estos sistemas de defensa se activan para mantener el equilibrio. Los antioxidantes se definen como aquellas sustancias presentes

en bajas concentraciones respecto a las sustancias oxidables (Contreras, Prieto y Velásquez, 2004, p. 39).

La piel es el órgano más expuesto de manera directa al daño oxidativo por radicales libres (RL) por ello existen ensayos clínicos que proporcionan evidencia de como ayudan los antioxidantes (AOs) al ser aplicados de manera tópica, en consecuencia los productos farmacéuticos han crecido de modo acelerado en los últimos años, principalmente como complemento en las terapias contra el envejecimiento cutáneo. Las vitaminas C y E se encuentran en baja cantidad en la piel foto dañada (Alcalá y Castellanos, 2010, p.272). Betanzos, Delgado y Sumaya (2010) indicaron: “algunos reportes muestran a la terapia antioxidante como una alternativa para prevenir y contrarrestar a las diversas enfermedades asociadas al estrés oxidativo, manteniendo el balance entre la formación y neutralización de los radicales libres” (p.14).

Magliano (2014) nos dice: “Hoy en día se prefiere el uso de antioxidantes naturales derivados de plantas en los preparados cosméticos sobre los antioxidantes sintéticos. Los extractos de antioxidantes de origen vegetal contienen generalmente una mezcla de compuestos naturales, que podrían tener efectos sinérgicos, por lo tanto, pueden tener mejores efectos y menos toxicidad” (p. 92). Con el paso del tiempo se reportaron que los antioxidantes mejoran la apariencia de la piel y aumentan la síntesis de fibras de elastina y colágeno. Los antioxidantes se forman en gran proporción en frutos y plantas y estas son: las vitaminas, carotenoides, flavonoides, taninos y compuestos polifenólicos (Magliano, 2014, p. 94).

Según Amaya, Hashimoto y Julca (2006); Kerkhofs, Lister, Morrison & Wright (2005) hay diversos estudios de nueva Zelanda (país que cultiva a baja escala este fruto) donde se atribuyen propiedades medicinales al tomate de árbol gracias a su propiedad antioxidante.

La vitamina C es un antioxidante importante que ayuda a neutralizar los radicales libres donando un electrón y generando un radical libre más estable y luego donando un segundo electrón que genera como resultado el ácido dihidro ascórbico, el cual se descompone por el dihidro ascorbato reductasa o convertido nuevamente en ácido L-ascórbico. La vitamina C sirve de cofactor de la prolil y lisil hidroxilasas, ya que son enzimas esenciales para la síntesis del colágeno, así mismo otros estudios han demostrado que la vitamina C es importante para preservación del colágeno dérmico, aumentando la estabilidad y disminuyendo la sensibilidad al calor del colágeno según Farris y Donoghue, (2009) p.94.

Una solución a este problema es la elaboración de una crema antioxidante a base del fruto de tomate de árbol, la aplicación tópica ayudaría a equilibrar el exceso de radicales libres en la piel (ocasionados por contaminantes) ya que el fruto resalta por sus cualidades medicinales debido a su contenido de compuestos antioxidantes, uno de los principales son la vitamina C, B6, E, otros como antocianinas, flavonas, flavonoles, polifenoles y otros.

Avello y Suwalsky (2006); Magliano (2014) mencionan que las aplicaciones tópicas de los antioxidantes, provenientes del extracto de té verde estimulan la proliferación de queratinocitos epidérmicos, inhiben la apoptosis inducida por UV y pueden frenar la proliferación de células neoplásicas. La cosmética natural según Arriagada, Castaño, Herrera, Tamayo, Tello y Villena (2012) representa un segmento minoritario del consumo en comparación con la cosmética convencional, sin embargo, mencionan que los estudios de mercado confirman una gran tendencia del crecimiento en los próximos años del 15% frente al 5% global de los restantes productos de cuidado personal, así mismo hace referencia que el mercado de cosméticos de la Unión Europea es el mayor de este tipo a nivel mundial en torno a un 40% y el mayor crecimiento se ha dejado notar en Alemania e Italia, siendo la propia Alemania, junto con el Reino Unido, la que cuenta con el mercado más amplio (p. 25-

27). Esta investigación pretende realizar un análisis comparativo de la capacidad antioxidante de las tres variedades del fruto de tomate de árbol (rojo, amarillo, rojo-morado) las cuales no son muy conocidas y permitir la formulación de una crema antioxidante, ya que la piel es el órgano más expuesto de manera directa al daño oxidativo, esto se hará con el fin de aprovechar los beneficios naturales de este fruto.

El poco estudio que presentan las variedades del fruto de tomate de árbol (*Solanum betaceum*) en Perú conlleva a una alternativa innovadora que motivó la propuesta de este trabajo de investigación el cual se enfocó en los componentes antioxidantes.

1.5 Hipótesis:

1.5.1 Hipótesis general

H₁: Las tres variedades rojo, amarillo y rojo-morado del fruto liofilizado de *Solanum betaceum* Cav. (Tomate de árbol) tienen capacidad antioxidante y por lo tanto la crema a base del extracto de *Solanum betaceum*, tiene capacidad antioxidante.

1.5.2 Hipótesis específicas

H₁. Las variedades amarillo, rojo-morado y rojo del fruto liofilizado de *Solanum betaceum* Cav. presentan compuestos polifenólicos.

H₂. Las variedades amarillo, rojo-morado y rojo del fruto liofilizado de *Solanum betaceum* Cav. presentan vitamina C.

H₃. Las variedades amarillo, rojo-morado y rojo del fruto liofilizado de *Solanum betaceum* Cav. presentan antocianinas.

H₄. Las variedades amarillo, rojo-morado y rojo del fruto liofilizado de *Solanum betaceum* Cav. presentan capacidad antioxidante.

H₅. La crema a base del fruto liofilizado de *Solanum betaceum* Cav. presenta capacidad antioxidante.

CAPITULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 Bases teóricas

2.1.1 *Solanum betaceum* Cav. (Tomate de árbol)



Figura 1. Fruto de *Solanum betaceum* Cav. (Tomate de árbol)

Fuente: Amaya, et al. (2006) y Manual de Tomate de Arbol, C.C.B. (2015).

2.1.1.1 Origen de *Solanum betaceum* Cav. :

El tomate de árbol es proveniente de la Región Andina del Perú en los departamentos de Amazonas, Cajamarca, Cuzco, Huánuco, Junín, Pasco y San Martín, pero también es originario de Chile, Ecuador y Bolivia donde ha crecido extensivamente como lo es también en Argentina, Brasil y Colombia. En La Libertad se la encuentra desde el nivel del mar hasta los 3.000 metros de altura principalmente en los valles interandinos de las provincias de la Sierra y ceja de Selva; mencionan que en 1903 esta planta fue introducida al África, India y Australia, países que la producen en las regiones montañosas. Los frutos del tomate de árbol se han hecho muy populares en Nueva Zelanda (Acosta, 2011; Amaya et al., 2006; *Manual de Tomate de Arbol*, 2015).

Bárcenas-Pozos y Preciado (2012) mencionan que este fruto crece muy bien en Nueva Zelanda y ha sido introducido a otros países donde es cultivada a menores escalas mientras que Vasco (2009) indica que el tomate de árbol o sachatomate es originario de los Andes Ecuatorianos y peruanos, también se cultivan en Nueva Zelanda (llamado tamarillo).

2.1.1.2 Clasificación Taxonómica:

El tomate de árbol es una planta diploide con 24 cromosomas originalmente clasificado con un primer nombre *Solanum betaceum* por el botánico español Cavanilles en 1799, luego fue modificado por Sendtner en 1845 al género *Cyphomandra* donde permanece hasta poco tiempo, cuando Bohs (1995) lo reintegró a *Solanum*, dicho cambio obedeció a los estudios moleculares, utilizando el ADN realizado por Olmstead y Palmer en 1992, según lo indicó León Fuetes (2004).

- **Reino:** Vegetal
- **División:** Magnoliophyta
- **Clase:** Dicotiledónea o Magnoliopsida
- **Orden :** Solanales
- **Familia:** Solanaceae
- **Género:** Solanum
- **Especie:** *Solanum betaceum Cav.*
- **Nombre común:** Tomate de árbol

Fuente: Enrada (2011)

El sinónimo del fruto es *Cyphomandra Betacea Send.* se le conoce popularmente con el nombre de "tomate de árbol", berenjena, tomate de palo o sachatomate (Perú), en Ecuador, Colombia y México se le llama tomate de monte, tomate silvestre, pepino de monte y en Bolivia gallinazo panga, tomate chimango, tomateiro da serra en Brasil y tamarillo en Nueva Zelanda, país en donde ha sido introducido, Amaya et al.(2006).

2.1.1.3 Descripción de la planta

- **Raíz:** “Alcanza 1 metro de profundidad y presenta la mayor concentración de pelos absorbentes, las raíces que se generan desde las semillas son pivotantes, profundas y ramificadas, mientras que las provenientes de estacas son superficiales” (Acosta, 2011).



Figura 2. Raíces del tomate de árbol

Fuente: Manual de Tomate de Arbol, C.C.B. (2015).

- **Tallo:** El tomate de árbol es un arbusto que alcanzar de 2 a 3 metros altura, el tallo es recto, cilíndrico y presenta un diámetro de 5 y 12 cm, el inicio de la ramificación va entre 1.2 y 1.8 m de altura, la consistencia tanto de tallo como de ramificaciones es semileñosa y frágil (Acosta, 2011).



Figura 3. Tallo del tomate de árbol

Fuente: Manual de Tomate de Arbol, C.C.B. (2015).

- **Hojas:** Son enteras tomando la forma de corazón y ligeramente pubescentes, las hojas de la parte baja pueden medir entre 40 y 50 cm, mientras que las hojas secundarias y terciarias alcanzan 20cm (Acosta, 2011).



Figura 4. Hojas del tomate de árbol

Fuente: Manual de Tomate de Arbol, C.C.B. (2015)

- **Flores:** Se presentan en inflorescencias cimosas (cerradas) y son hermafroditas con un cáliz campanulado y corola rotada, campanulada, estrellada o urceolada de diversos colores (blanco, rosado, amarillo, verde o púrpura), los estambres presentan filamentos cortos, insertos en la base de la corola (Amaya et al., 2006).



Figura 5. Flores del tomate de árbol

Fuente: Manual de Tomate de Arbol, C.C.B. (2015).

- **Frutos y semillas:** El fruto es una baya comúnmente carnosa y en ciertos casos seca, globosa a veces ovoide y contiene una gran cantidad de semillas de forma aplanada y usualmente rodeadas de una sustancia mucilaginosa; el embrión es curvo y el endospermo abundante, los frutos de este género presentan una marcada variación en caracteres como el color (Acosta, 2011).



Figura 6. Semillas del tomate de árbol

Fuente: Manual de Tomate de Arbol, C.C.B. (2015).

- **Variedades del fruto:** Las plantas de tomate de árbol son muy homogéneas en sus caracteres morfológicos excepto por la variación de algunos caracteres del fruto como son su tamaño, color y forma, debido a la variabilidad y a la falta de trabajos de

investigación en la región andina, se conocen al menos tres tipos de frutos diferenciados por el color de la piel en estado maduro: el rojo, el amarillo y el morado, según (Acosta ,2011; *Manual de Tomate de Arbol, C.C.B. (2015).*) las variedades son:

Rojo: Piel de color rojo-anaranjado, a veces con franjas longitudinales de color marrón no muy intensas; pulpa de color anaranjado, su forma es ovalada, tiene un peso entre 50 y 80 g y su sabor es más ácido que el de los frutos de tipo amarillo.

Amarillo: Piel de color amarillo intenso con franjas verticales poco notorias de color marrón-verdoso; pulpa de color amarillo-anaranjado, la forma es ovalada, tiene un peso aproximado de 50 a 70 g y su sabor es menos ácido que el de los frutos rojos y morados, por lo que son considerados los mejores para la elaboración de conservas.

Rojo- Morado: Se conoce también como “tomate de mora”, este fruto tiene una piel de color morado intenso con ligeras franjas verticales de color verde y pulpa de color anaranjado, aunque el mucílago es de color morado es por ello que el zumo es también morado. El fruto es redonda u ovalada, tiene un peso comprendido entre 60 y 100 g y su sabor es más ácido que el de los frutos amarillos, este tipo es el más común en las plantaciones de Nueva Zelanda, donde fue obtenido por selección en la década de 1920.

Anaranjado-redondo: Piel, pulpa y mucílago de color anaranjado, similar al tipo anaranjado-puntón pero de menor tamaño e igual peso que el anterior, la longitud y el diámetro son 5.5 y 4.7 cm respectivamente y pesa unos 70 g (Acosta, 2011; Heatherbell, Reidn, Wrolstad, 1982).

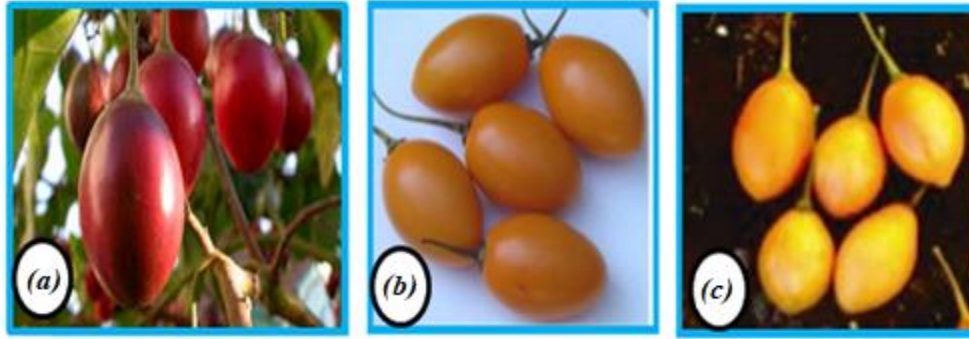


Figura 7. Variedad rojo-morado (a), variedad anaranjado (b), variedad amarilla (c).

Fuente: Manual de Tomate de Arbol, C.C.B. (2015).

- **Otras descripciones:** Como se puede observar el tomate de árbol es una baya de forma ovoidal punteada en su extremo inferior, está cubierto por una cáscara gruesa y presenta un sabor amargo, estos puede tomar tonalidades: rojas, naranjas y amarillas moradas. El fruto según la variedad inicial cambia de color, de verde a rojo/amarillo a las 16 semanas, luego de la antesis floral alcanza la maduración las 22-23 semanas (Acosta, 2011; *Manual de Tomate de Arbol, C.C.B., 2015*).
- **Reproducción:** El tomate de árbol se puede propagar sexualmente (por semillas) y asexualmente (vegetativamente) mediante la obtención de estacas, ramas o injertos. Se corta el fruto, se extraen, se lavan y finalmente se secan en la sombra, luego se les colocan en un congelador durante 24 horas para acelerar la germinación. El 100% de las semillas germinarán entre 4 a 6 días, el tomate del árbol no puede tolerar la sequedad prolongada y debe tener un amplio suministro de agua durante los períodos sumamente secos según Acosta (2011); *Manual de Tomate de Arbol, C.C.B. (2015)*.



Figura 8. Sembrado y germinación de tomate de árbol
Fuente: Manual de Tomate de Arbol, C.C.B. (2015).

- **Clima y Suelo:** la temperatura para cultivar está comprendida entre 14 a 20°C a temperaturas menores de 4°C se destruye el follaje por ser muy sensible, la planta no tolera vientos fuertes ya que produce la caída de las flores, rotura de las ramas y destrucción de las hojas. La planta se adapta muy bien a todo tipo de suelo pero su mejor desarrollo lo alcanza en suelos de textura media con buen drenaje y con alto contenido de materia orgánica según Amaya et al., 2006.
- **Uso medicinal:** Se usa la fruta cocida en Colombia para aliviar encías, en Ecuador se usa las hojas prensadas de tomate de árbol para aliviar la garganta irritada, se le atribuyen propiedades beneficiosas para el hígado y para bajar el colesterol (Ugás, 2014). Fortalece el sistema inmunológico y la visión, además de funcionar como antioxidante es una buena fuente de pectina (Amaya et al., 2006).

2.1.1.4 Composición Química de *Solanum betaceum Cav.* (Tomate de árbol):

Los frutos del tomate de árbol son fuente importante por sus cualidades nutricionales como provitamina A, vitaminas C, B6, E y hierro, esta especie es baja en hidratos de carbono, una

media fruta contiene menos de 40 calorías, encontrándose minerales como el calcio, hierro y fósforo (Amaya et al., 2006, p. 6).

También presenta un alto contenido en pectina, Vasco (2009) menciona que la presencia de algunos pigmentos de antocianinas, carotenoides, flavonas, flavonoles y leucoantocianinas se ha encontrado en la gelatina de la semillas de color rojo púrpura, siendo la delfinidina-3-rutinosida la principal de las antocianinas y los principales compuestos volátiles responsables del aroma de la fruta se han caracterizado como trans-3-hexenal, cis-3-hexenol, metilhexanoato, 3-hidroxi-butanoatos y 3-hidroxi-hexanoatos (Vasco, 2009; Kerkhofs, Lister, Morrison y Wright, 2005).

Según Gutiérrez (2017) los compuestos fenólicos o polifenoles son parcialmente responsables de la calidad sensorial y nutricional de los alimentos de origen vegetal, tanto frescos como procesados, el contenido de compuestos fenólicos dan al fruto y bebida la astringencia y el sabor amargo (p. 7).

Tabla 1.

*Composición Química del fruto de **Solanum betaceum Cav.** (Tomate de árbol)*

Componentes	Rango	unidad de medida
--------------------	--------------	-------------------------

Contenido de sólidos solubles	9.4 – 13.5	°Brix
pH	3.2 – 3.85	U
Acidez total (expresada en ácido málico)	1.0 – 2.4	g
Humedad	81.0 – 89.0	g
Proteínas	1.5 – 2.5	g
Grasa	0.05 – 1.28	g
Glucosa	0.45 – 1.22	g
Fructosa	0.61 – 1.5	g
Sacarosa	0.3 – 2.97	g
Fibra	1.4 – 6.0	g
Ácido cítrico	1.27 – 1.8	g
Ácido málico	0.05 – 0.15	g
Ácido quínico	0.4 – 0.8	g
Ceniza	0.05 – 1.5	g
Vitamina A	540 – 2475	I.U.
Vitamina B	0.20 – 0.58	mg
Vitamina C (ácido ascórbico)	19.7 – 57.8	mg
Vitamina E	1.8 – 3.5	mg
Sodio	0.6 – 8.9	mg
Potasio	290 – 495	mg
Calcio	3.9 – 14.5	mg
Magnesio	19.7 – 24.0	mg
Hierro	0.32 – 0.94	mg
Cobre	0.05 – 0.2	mg
Zinc	0.1 – 0.2	mg
Magnesio	19.7 – 24.0	mg
Fósforo	32.0 – 40.2	mg

Fuente: Acosta Pablo, 2011.

Según Acosta (2011) la composición química de los frutos de tomate de árbol, recopilados por varios autores (Morton, 1982; Pileri, 1989; Rathore, 1992; Romero et al., 1994; Boyes y Strübi, 1997; Lister et al., 2005; Mwithiga et al., 2007; Pantoja et al., 2009 y Vasco et al., 2009) son los siguientes para 100g de la muestra como se indica en la tabla 1.

2.1.2 Radicales libres:

Los radicales libres (RL) son moléculas que presentan uno o más electrones desapareados en su órbita externa, estos electrones libres generan una gran inestabilidad en la molécula que

les lleva a captar electrones de otras moléculas oxidándolas de forma que generan una cadena de nuevas moléculas inestables y reactivas. Los electrones de los átomos y de las moléculas ocupan regiones denominadas orbitales, estos sólo pueden contener dos electrones como máximo. Cuando en un orbital externo hay un solo electrón se llama radicales libres, estos son generalmente muy reactivos y buscan con avidez completar su par electrónico, esto se puede lograr mediante una reacción entre dos radicales, por lo cual ambos dejan de serlo (terminación) o bien sustrayendo un electrón de otra molécula, misma que se convierte entonces en un radical (propagación), este último mecanismo puede dar lugar a reacciones en cadena es decir a la extensión del daño inicial (Bidegain, Korc y Martell , 1995; Piña,1996).

Los radicales libres son resultados de procesos fisiológicos propios del organismo como el metabolismo de los alimentos, la respiración y el ejercicio o bien son generados por factores ambientales como la contaminación industrial, el tabaco, la radiación, los medicamentos, los aditivos químicos en alimentos procesados y los pesticidas (Contreras, Prieto y Velásquez , 2004, p. 38-42).

Los radicales libres son producidos normalmente durante el metabolismo y también pueden originarse a partir de contaminantes ambientales (compuestos químicos, gases, humo de tabaco, alta radiación, smog químico y otros) provocando un daño oxidativo esto se puede prevenir por moléculas antioxidantes, las cuales son capaces de donar electrones para estabilizar a los radicales libres y neutralizar sus efectos dañinos, los radicales libres pueden ser de origen endógeno (sintetizados por el organismo) y exógeno (provenientes de fuentes externas como los alimentos naturales, entre estos se encuentran las vitaminas A, E y C, los β -carotenos, luteína, flavonoides, licopenos (Betanzos et al., 2010, p 11-12).

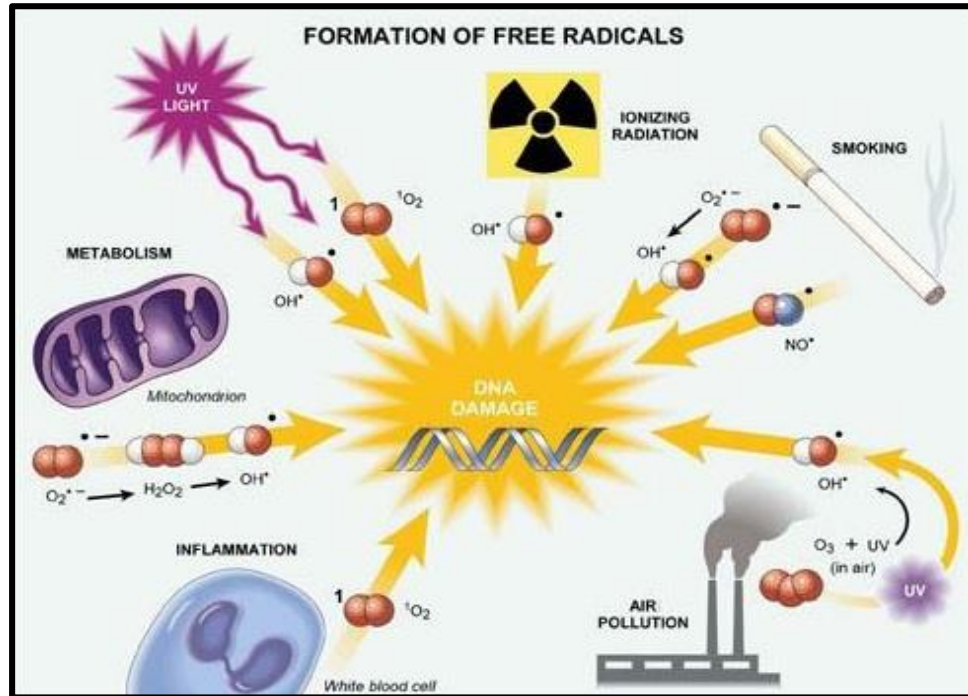


Figura 9: Formación de radicales libres por varios factores
Fuente: Wancjer, 2014.

Los radicales libres son elaborados continuamente como un producto del metabolismo normal de cada célula y están activadas por un conjunto de mecanismos enzimáticos y otros de atrapamiento pero existen algunos factores que favorecen la producción de radicales. Los RL se forman en condiciones fisiológicas en proporciones controladas por los mecanismos defensivos de las células. En situaciones patológicas esta producción aumenta considerablemente pasando al estrés oxidativo. Se relacionan con muchas enfermedades crónicas por el daño que producen en todos los aparatos y sistemas del organismo como algunos tipos de cáncer de pulmones, estómago, piel y otros (Contreras et al., (2004); García, Hernández, Mondragón, Núñez y Ramírez (2014).

2.1.3 Estrés oxidativo (EO):

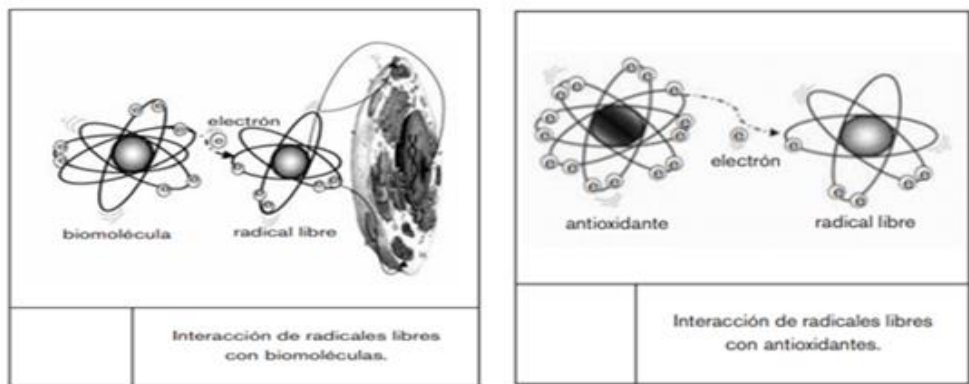
El aumento en la concentración de RL produce un exceso en la oxidación, lo cual provoca un desbalance entre la velocidad de formación y su neutralización por el sistema antioxidante

endógeno en el organismo, dando lugar a lo que se conoce como estrés oxidativo (EO) capaz de producir severos daños celulares. El estrés oxidativo es responsable de la degeneración celular, debido a que los RL pueden reaccionar químicamente con proteínas, lípidos y ADN, produciendo en milisegundos un daño celular irreversible que puede llevar al daño del tejido y eventualmente a la muerte celular (Betanzos et al., 2010; Díaz, Escobar & Pizarro, 2013). En estos últimos años la radiación ultravioleta está generando quemaduras solares, envejecimiento prematuro en piel y la inducción de cáncer en la piel. Actualmente la contaminación ambiental va en aumento es por ello que los intentos para reducir la exposición a la radiación ultravioleta conllevan al uso de protectores solares, gorras o ropa protectora, etc., sin embargo estos no siempre tienen éxito. Cuando la radiación penetra en la piel, una parte es rechazada otra es absorbida, esta porción absorbida es más importante ya que causa daño generando una respuesta tisular. Las radiaciones producen cambios fisiológicos y reacciones anormales, la respuesta depende de los factores individuales, raciales o regionales (grosor de la capa cornea, distribución de la melanina, etc. (Castañares, Figueroa y Méndez, 2001, p. 71-74).

2.1.4 Antioxidante:

Un antioxidante es una molécula capaz de prevenir o evitar la oxidación de otra molécula, por lo que es una herramienta eficaz en la neutralización de los radicales libres por interacción y estabilización de especies reactivas o por la transformación de éstas en configuraciones más estables y de reactividad reducida. La oxidación es la pérdida de electrones que produce una reducción o aceptación de electrones según García et al., (2014, p.447). Los antioxidantes pueden ser endógenos (principalmente enzimáticos como catalasa, glutatión peroxidasa entre otros, que transforman estos radicales libres en productos no tóxicos) o exógenos que son aportaciones de moléculas antioxidantes por parte de la dieta, que neutralizan los efectos oxidantes de los radicales libres, por su mecanismo de actuación se pueden considerar dos tipos principales de antioxidantes (I y II), los primarios (tipo I) son aquellos que rompen la reacción en cadena de la oxidación mediante la donación de hidrógeno y la generación de radicales más estables, sin embargo, los antioxidantes secundarios (tipo II) son aquellos que retardan la oxidación mediante otros mecanismos como la quelación de metales, la regeneración de antioxidantes primarios, la descomposición de hidroperóxidos y la eliminación de oxígeno (Gordon, 1990).

Figura 10: Interacción de los radicales libres. **Fuente:** Contreras et al., 2004.



2.1.4.1 Antioxidantes exógenos:

Según Cronin, Leibfritz, Mazur, Moncol, Telser y Valko (2007); Kandaswami y Middleton (1994) los antioxidantes exógenos son obtenidos externamente y se encuentran en la naturaleza como los vegetales, plantas, los cuales contienen diferentes antioxidantes pero no todos los vegetales sintetizan antioxidantes del mismo tipo, por ello surge la necesidad de conocer las diferencias entre las fuentes vegetales de antioxidantes de nuestra dieta (frutas, verduras, granos y otros) para de esta manera utilizar los efectos complementarios que estas presentan de forma que previene enfermedades de tipo degenerativo.

Una gran cantidad de estudios han establecido que los compuestos fenólicos de las plantas y vegetales incluyendo los flavonoides son antioxidantes importantes con efectos antimutagénicos y anti carcinogénicos. La actividad antioxidante de los polifenoles es de mayor interés ya que presenta varios estudios y la importancia de este es que contienen en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo fenólicos, los cuales reaccionan con los radicales libres (Coronado, Gutiérrez, Radilla, Vázquez & Vega y León 2015).

➤ **Clasificación de antioxidantes naturales:**

- **Polifenoles:**

Los compuestos fenólicos o polifenoles provienen del metabolismo secundario de las plantas, químicamente son compuestos que tienen al menos un anillo aromático al que se encuentran unidos uno o más grupos hidroxilo, estos compuestos son relativamente polares y tienden a ser solubles en agua, pudiendo ser detectados por el intenso color verde, púrpura, azul o negro que producen cuando se les agrega una solución acuosa o alcohólica de cloruro férrico, dada su naturaleza aromática presentan intensa absorción en la región UV (Lock, 1994, p.111).

Serrano (2009) nos dice: “Se han escrito más de 8000 polifenoles distintos que pueden clasificarse en diferentes grupos en función del número de anillos fenólicos que contiene y el tipo de sustituyente unido a estos anillos. Las principales clases de polifenoles por ser los

más ampliamente distribuidos en los alimentos son: flavonoides, ácidos y alcoholes fenólicos, estilbenos y lignanos” (p.3-4).

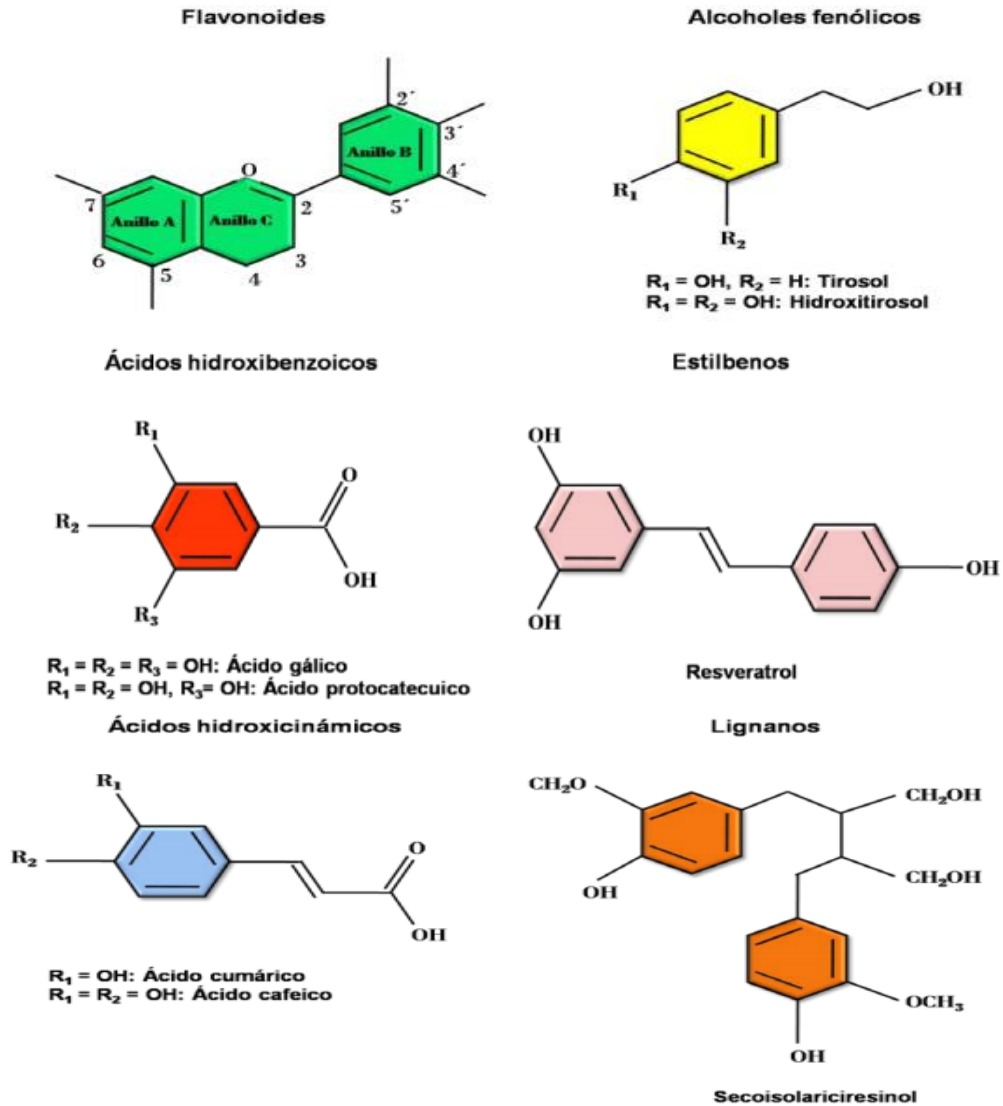


Figura 11: Polifenoles más conocidos, **Fuente:** Serrano G., (2009).

- **Flavonoides:**

Los Flavonoides son compuestos de bajo peso molecular que comparten un esqueleto común de difenil-pirano (C6-C3-C6), compuesto por dos anillos de fenilos (A y B) ligados a través de un anillo C (heterocíclico) (Serrano, 2009, p.4-5).

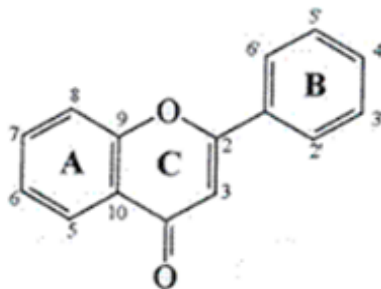


Figura 12: Estructura química de flavonoides

Los flavonoides se encuentran en frutas, verduras, semillas y flores, los átomos de carbono en los anillos C y A se enumeran del 2 al 8 y los del anillo B desde el 1' al 6'. El interés de los flavonoides es por su actividad farmacológica, ya que presentan actividades antioxidantes, anti-inflamatorias, anti-trombóticas, anti-microbianas, anti-alérgicas, anti-tumorales. En base a su estructura los flavonoides se subdividen en ocho grupos principales: flavonas, flavanonas, isoflavonas, flavonoles, antocianinas, chalconas (Fonseca, Jiménez & Martínez, 2009, p.73-74).

- **Antocianinas:**

Las antocianinas son compuestos polares del tipo flavonoides, se encuentran en algunos frutos y flores que van del color rojo, morado, violeta al azul como los arándanos, camote morado, col morada, las ciruelas, las uvas o el maíz morado, estas poseen diferentes funciones en la planta como son la atracción de polinizadores para la posterior dispersión de semillas y la protección de la planta contra los efectos de la radiación ultravioleta y contra la contaminación viral (Garzón, 2008; Linares y Miche, 2016; Valencia, 2016); sin embargo, también ayudan al organismo humano y funcionan como protectores de los capilares de la

retina, además presentan otras propiedades antivirales y hemostáticas, desempeñando un papel positivo frente a infecciones (Guerra y Ortega ,2006p. 4). Las antocianidinas son derivados del catión 2-fenilbenzopirilio y debido a la poca solubilidad de estas en el agua, no se encuentran de manera libre en la naturaleza sino en su forma glicosilada, siendo una de las más abundantes la cianidina 3-glucósido (Lock, 1994, p.103).

Las antocianinas químicamente son glicósidos de antocianidinas, están compuestas por dos anillos aromáticos A y B unidos por una cadena de 3 carbonos (Aguilera, Chew, Meza y Reza, 2011; Garzón, 2008, p. 29).

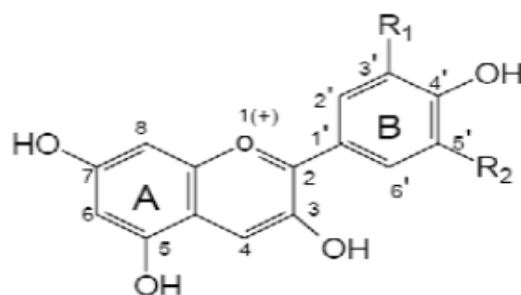


Figura 13: Ion Flavilio, estructura general de las antocianinas R1 y R2.

Fuente: Garzón, (2008).

La antocianina está constituida por una molécula de antocianidina que es la aglicona a la cual se le une un azúcar por medio de un enlace β -glicosídico. La estructura química básica de estas aglicona es el ion flavilio, también llamado 2-fenilbenzopirilio que consta de dos grupos aromáticos: un benzopirilio y un anillo fenólico; el catión flavilio (un ion con carga positiva) es al que se debe el color llamativo de antocianinas (Garzón, 2008; Linares y Miche, 2016; Valencia, 2016).

Clasificación de antocianidinas:

Las antocianidinas conocidas son aproximadamente 20 y las más importantes son:

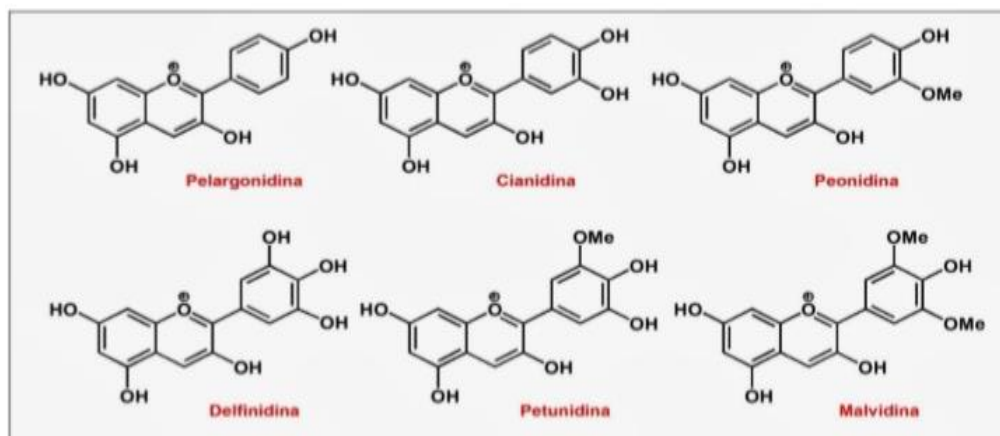


Figura 14: Antocianidinas más importantes. **Fuente:** Valencia, (2016)

El color de las antocianidinas depende del número y orientación de los grupos hidroxilo y metoxilo de la molécula. Incrementos en la hidroxilación (OH) producen desplazamientos hacia tonalidades azules mientras que incrementos en las metoxilaciones producen coloraciones rojas (Garzón, 2008 p.29).

Tabla 2.

Lista de antocianidinas indicando la máxima longitud de onda y su coloración.

Aglicona	Sustitución		λ máx. (nm)
	R ₁	R ₂	Espectro visible
Pelargonidina	H	H	944 (naranja)
Cianidina	OH	H	506(naranja-rojo)
Delfinidina	OH	OH	508 (azul-rojo)
Peonidina	OCH ₃	H	506 (naranja-rojo)
Petunidina	OCH ₃	OH	508 (azul-rojo)
Malvidina	OCH ₃	OCH ₃	510 (azul-rojo)

Fuente: Garzón, 2008, p.29.

La presencia de oxígeno da la máxima estabilidad térmica de la antocianidina-3-glucosilada a pH 1.8 a 2.0, mientras que para la antocianidina-3,5-diglicosilada lo es pH 4.0-5.0. Las Antocianinas presentan dos máximos de absorción uno en la región visible entre 465 a 560 y otro más pequeño en el UV alrededor 275 nm (Lock,1997, p.103; Harborne, 1962).

Factores que influyen en la estabilidad y color:

- **Efecto del pH:** Su estabilidad depende del pH ya que a pH 1 predomina el catión flavilio que es la forma más estable de las antocianinas y que es de color rojo, a valores de pH entre 2 y 4 ocurre la pérdida de un protón y adición de agua, encontrándose las antocianinas bajo las formas quinoidales de color azul, a pH entre 5 y 6 se encuentran las pseudo bases carbinol y chalcona, que son incoloras y de color amarillo, respectivamente; ambas bastante inestables a pH superiores a 7 estas se degradan rápidamente por oxidación con el aire, dependiendo del pH las antocianinas pueden existir en cuatro especies diferentes: base quinoidal, catión flavilio, pseudo base carbinol y chalcona, (Lock,1997; Camavilca y Leyva, 2015; Linares y Miche, 2016; Valencia, 2016).

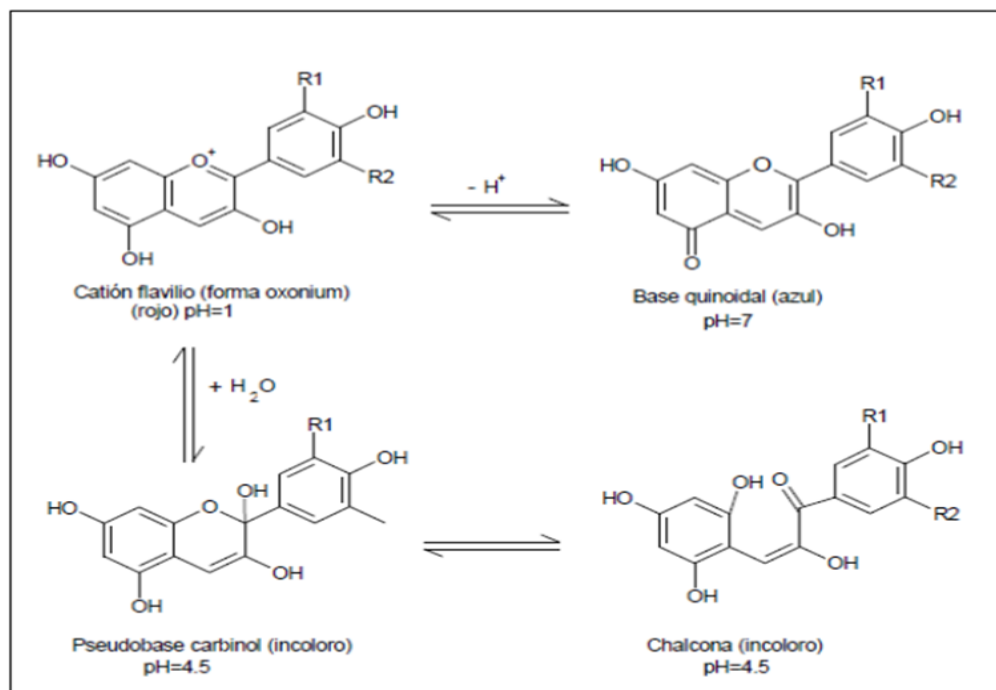


Figura 15: Estructura de antocianinas a diferente pH.

Fuente: Valencia, 2016, p. 6.

- **Temperatura:** Las conversiones estructurales de las antocianinas son reacciones endotérmicas, resisten procesos térmicos a altas temperaturas durante cortos periodos

de tiempo, por efecto del calor a temperaturas por encima de los 60 °C, estas se degradan según una cinética de primer orden. Por lo tanto las antocianinas altamente hidroxiladas son menos estables térmicamente que las metiladas, glicosidadas o acetiladas, los incrementos de la temperatura provocan pérdidas del azúcar glicosilante en la posición 3 de la molécula y la apertura de anillo, con la consecuente producción de chalconas incoloras (Martínez, 2015; Lock, 1997).

- **La incidencia de la luz:** La luz es un factor que acelera la degradación de las antocianinas. Se evidenció que la sustitución del hidroxilo en el carbono 5 explica que la antocianina sea más susceptible a la foto degradación, los glucósidos en posición 5 y 5:5 de pelargonidina, peonidina, malvidina y hirsutidina en solución y aparecen como manchas ultravioleta-fluorescentes en los cromatogramas, sin embargo, las otras antocianinas dan colores apagados y no presentan fluorescencia (Martínez, 2015).
- **Presencia de oxígeno:** Las antocianinas pueden oxidarse por reacción directa con oxígeno, o bien a través de una oxidación indirecta como la reacción con otros compuestos produciendo un color marrón o incoloro, también pueden reaccionar con radicales de oxígeno actuando como antioxidantes, esta oxidación se favorece al elevar la temperatura, por ejemplo la presencia de ácido ascórbico produce decoloración de las antocianinas probablemente por el peróxido de hidrógeno que se forma durante la oxidación (Martínez ,2015; Lock, 1997).

- **Vitaminas:**

Las vitaminas deben obtenerse a través de la alimentación ya que el cuerpo humano no las produce, las vitaminas se pueden dividir en dos grupos, las solubles en agua (hidrosolubles) y las solubles en grasa (liposolubles). Las vitaminas solubles en grasa son las vitaminas A, D, E, y K que se almacenan en el cuerpo y se consumen con alimentos que contienen grasas, se encuentran relacionadas principalmente a los procesos de formación o mantenimiento de estructuras tisulares de procesos inmunológicos y actividad antioxidante. Las hidrosolubles (vitaminas del grupo B1, B2, niacina, ácido pantoténico, B6, biotina, ácido fólico, B12 y vitamina C (Azcona, 2013, p. 85-86).

Vitamina C (Ácido Ascórbico):

El ácido ascórbico se sintetiza a partir de la glucosa, presenta propiedades antioxidantes, es polar y por tanto soluble en agua, actúa como agente reductor en reacciones de hidroxilación y su principal característica es oxidarse en ácido deshidroascórbico para formar un sistema redox que puede ser la base de sus principales acciones fisiológicas. Las personas carecen de la capacidad de sintetizar el ácido ascórbico, por lo cual es necesario incluirlo en la dieta (Dolores, 2014, p.2). La vitamina C es un polvo blanco al estar expuesto a la luz se descompone gradualmente y en estado seco es estable al ambiente, pero en solución se oxida rápidamente (Azcona, 2013; Criado y Moya, 2009; Dolores, 2014).

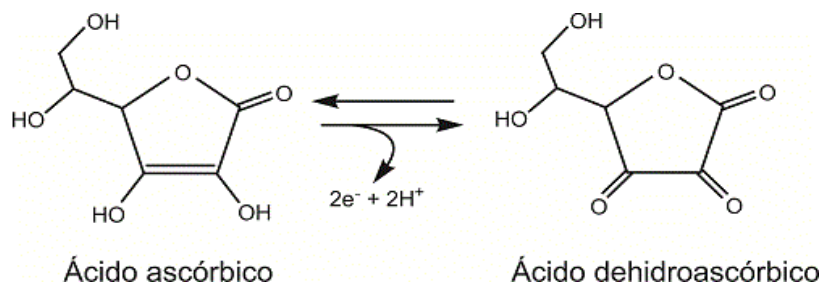


Figura 16: Oxidación del ácido L-ascórbico. **Fuente:** Meléndez.

Debido a su efecto antioxidante y su habilidad de fortalecer los tejidos a través de la formación y mantenimiento del colágeno, el ácido ascórbico es usado para tratar infecciones

virales, bacterianas e infecciones causadas por hongos. La vitamina C actúa de forma sinérgica con la vitamina E y se ha comprobado que se absorbe mejor si se encuentra en una formulación que contenga vitamina E (Criado & Moya, 2009, p.13).

La vitamina C es importante ya que protege el ambiente extracelular neutralizando el radical superóxido, hidroxilo y peroxinitrito, mejorando la apariencia clínica de la piel foto dañada y aumentando la síntesis de fibras de elastina y colágeno; la única manera de obtener grandes cantidades es aplicándola tópicamente, ya que por vía oral los mecanismos de control biológico restringen su absorción y transporte hacia la piel, por ello los polifenoles y otros fitoquímicos han mostrado disminuir el daño en la piel. Los antioxidantes derivados de las plantas son los flavonoides, compuestos polifenólicos de los que se han identificado más de 8 000. Algunos ejemplos aplicadas tópicamente son: Las catequinas provenientes del extracto de té verde estimulan la proliferación de queratinocitos epidérmicos, inhiben la apoptosis inducida por UV y pueden frenar la proliferación de células neoplásicas (Alcalá y Castellanos, 2010, p. 275).

2.1.5 Liofilización:

La liofilización es una técnica de preservación de células, enzimas, vacunas, virus, levaduras, sueros, algas, frutas, vegetales y alimentos en general. El proceso de liofilización en alimentos es el mejor método de deshidratación ya que se encarga de conservar las características organolépticas y nutritivas del alimento (Ramírez, 2006, p.1). La técnica tiene como objetivo reducir las pérdidas de los componentes responsables del aroma y sabor, los cuales se ven afectados en los procesos convencionales de secado, preservar algunos componentes como minerales y vitaminas (Ferreira, Freire y Marques, 2007, p.451-457).

El liofilizado se basa en sublimar el hielo de un producto congelado, consiste en que el agua del producto pasa directamente de estado sólido a vapor sin pasar por el estado líquido, para lo cual se debe trabajar por debajo del punto triple del agua (Alzate, 2008, p.57). El diagrama de las fases del agua puede ser explicado en figura 17, dando importancia a la sublimación que se cumple cuando el agua se encuentra en fase sólida y aplicando baja presión para la fase gaseosa. Las condiciones de operación como la velocidad de congelación, presión de la cámara y la velocidad de calentamiento son factores fundamentales en la calidad de los productos liofilizados, donde también intervienen las características de la materia prima como el grado de madurez (Vargas, 2015, p. 20).

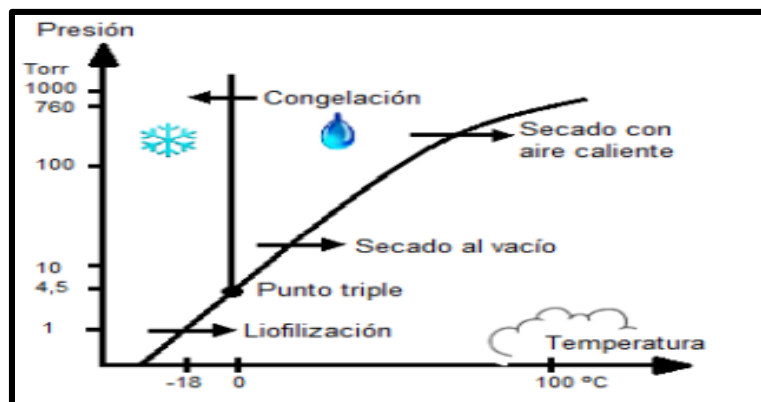


Figura 17: Fases del agua y sistemas de secado. **Fuente:** Vargas, 2015.

➤ **Etapas de liofilizado**

Congelamiento: En este proceso, es necesario congelar la materia prima o alimento es importante que esta no sufra cambios en su estructura es por ello que la congelación tiene que ser rápida y a temperaturas menores a -20°C . El producto es sometido a bajas temperatura para que el agua del producto pase de fase líquida a fase sólida buscando la redistribución del soluto y una concentración relativa de la congelación parcial del agua, con el fin de facilitar la etapa de secado (Alzate, 2008; Vargas, 2015, p. 21).

Secado primario: Después del congelado, el producto se calienta bajo condiciones de presión a vacío (5-10 Pa) y a la temperatura (-50°C a -70°C) para que el producto logre sublimar mientras que el producto está por debajo del punto eutéctico, esto hace referencia al cambio de hielo a vapor sin pasar por el estado líquido; durante esta etapa se remueve aproximadamente el 90% del agua total de la fruta, principalmente el agua libre y alguna parte de agua ligada. La variable más importante es la presión de la cámara, la disminución de la presión en el secado reduce la presión de vapor en la superficie externa del producto y se reduce el tiempo de secado (Alzate, 2008, p.59-60; Vargas, 2015, p. 21-22).

Secado Secundario: La velocidad de sublimación disminuye poco a poco hasta cero, ya que el calor necesario para retirar el agua ligada es más alto que el calor de sublimación. El aroma disminuye sensiblemente cuando la humedad es pequeña, es posible incrementar la temperatura de la calefacción y del producto hasta valores del orden de 50°C, dependiendo del producto (Alzate, 2008, p. 59-60; Vargas, 2015, p. 21, 22).

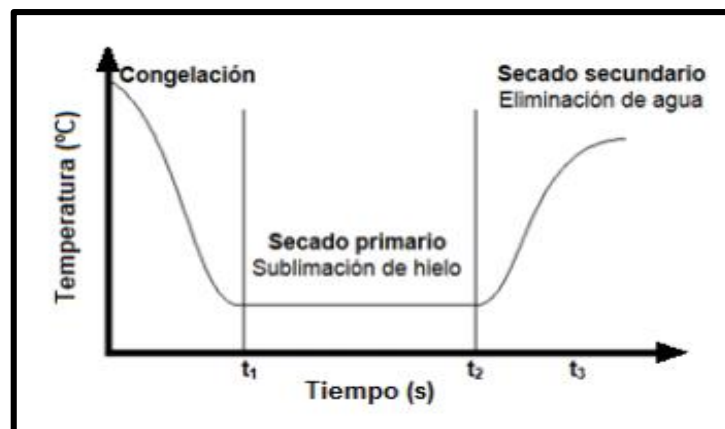


Figura 18: Principales etapas del liofilizado. **Fuente:** Vargas, (2015).

CAPITULO III: METODOLOGÍA

3.1 Tipo de investigación

Investigación de tipo explicativo, experimental y cuantitativo: Se recopiló información sobre el contenido de compuestos presentes en el fruto de *Solanum betaceum Cav.* el cual se utilizó como guía en los ensayos de laboratorio para su caracterización química en cada variedad del fruto con el fin de cuantificar algunos valores y aportar nueva información que pueda servir a investigaciones futuras.

3.2 Ámbito temporal y espacial de la investigación

El presente trabajo de investigación se desarrolló en el Instituto de Investigación de Ciencias Farmacéuticas y Recursos Naturales Juan de Dios Guevara de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos de la ciudad de Lima y en el Laboratorio de Química Analítica de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemática de la Universidad Nacional Federico Villareal de la ciudad de Lima durante los meses de Marzo 2018 a Octubre 2018.

3.3 Variables:

- **Variable Independiente:** Polifenoles, antocianinas y vitamina C del fruto liofilizado de *Solanum betaceum Cav.* (tomate de árbol).
- **Variable Dependiente:** Capacidad antioxidante de la crema a base del fruto liofilizado de *Solanum betaceum Cav.* (tomate de árbol).

3.4 Población y muestra:

- **Población:** Los frutos de *Solanum bataceum Cav.* (Tomate de Árbol) de las variedades rojo, amarillo y rojo-morado, procedentes del distrito de Chinchao y Llata de la región de Huánuco.

- **Muestra:** se utilizó para el análisis una muestra de 900 gramos de fruto de variedad roja, 500 gramos de variedad amarilla y 700 gramos de variedad rojo-morado de *Solanum bataceum Cav.*

3.5 Materiales, reactivos, instrumentos o equipos:

3.5.1 Materiales

- Baguetas
- Beakers de 10 mL, 100mL, 250 mL
- Cámara cromatográfica descendente
- Cuchillo de acero inoxidable
- Espátula
- Fiolas de 5mL,10 mL,25 mL,50 mL,100 mL
- Frasco ámbar de 200 mL
- Micropipeta de 20-500uL
- Micropipeta de 100-1000uL
- Papel filtro de celulosa Whatman
- Tubos de ensayos
- Viales ambar de 10 mL

3.5.2 Reactivos

- Acetato de sodio Merck
- Ácido ascórbico Scharlau
- Ácido oxálico Merck
- Ácido gálico Merck
- Carbonato de sodio (Na_2CO_3) Merck

- Cloruro de potasio(KCl) Merck
- 2,6-diclorofenol indofenol
- 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo(DPPH) ALDRICH
- Reactivo Dragendorff
- Reactivo Folin Ciocalteu Merck
- Reactivo Shinoda
- Reactivo Tricloruro de fierro

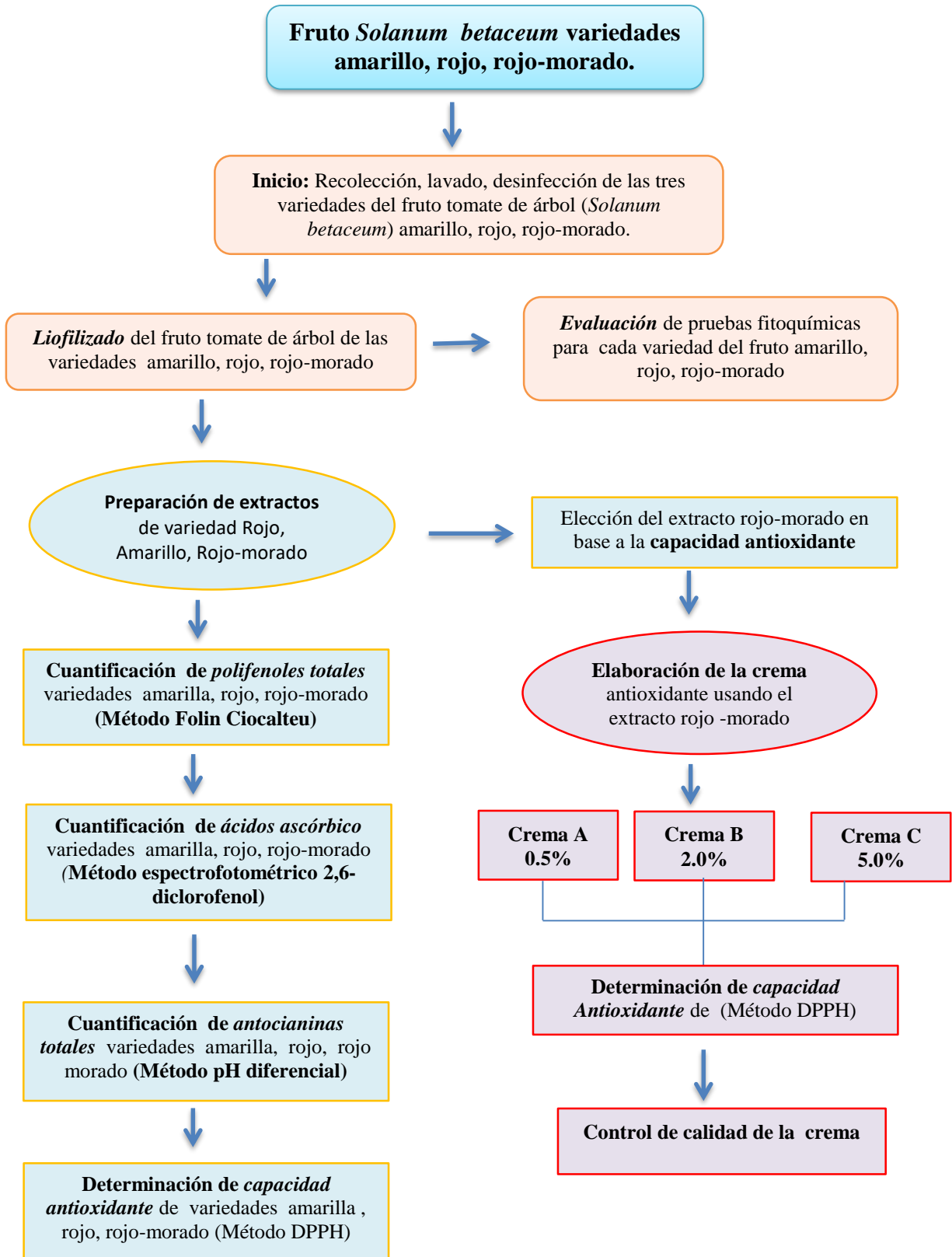
3.5.3 Solventes

- Ácido sulfúrico (H₂SO₄)
- Ácido clorhídrico
- Agua desionizada
- Cloroformo
- Etanol
- Hipoclorito de sodio
- Metanol

3.5.4 Equipos

- Agitador magnético
- Balanza analítica
- Centrifuga
- Espectrofotómetro UV-visible -GÉNESYS 10S
- Liofilizador marca BIOBASE modelo BKFD 10 PT
- Sonicador marca *Numak*, modelo LUZ-30A
- Refrigerado

- Diagrama de la investigación:



3.6 Procedimiento experimental:

3.6.1 Preparación de la muestra:

Lavado del fruto: Los frutos maduros de las tres variedades rojo, amarillo y rojo-morado de *Solanum betaceum* Cav. fueron lavado dos veces; El primer lavado se realizó con agua potable con el fin de eliminar tierra, polvo y otros materiales extraños, el segundo lavado consistió en la desinfección del fruto, el cual se realizó con una solución de hipoclorito de sodio 5% en agua con el propósito de eliminar microorganismos patógenos que pudiera interferir en el análisis, la cantidad con la cual se trabajó con cada variedad fue de 900 gramos de variedad roja, 500 gramos de variedad amarilla y 560 gramos de variedad rojo-morado.

Liofilizado del fruto: Los frutos desinfectados fueron cortados en rodajas pequeñas trasvasados en balones Pírex propios del equipo de liofilizado y llevados al congelador por 24 horas luego se colocó al equipo de liofilizado a temperatura -56°C y a una presión 1-20 Pa por 72 horas hasta que toda el agua fuera extraída.



Figura 19. Trozos del fruto *Solanum betaceum* variedades rojo, amarillo y rojo-morado.

Fuente: propia

Triturado: Las tres variedades del fruto fueron trituradas en una licuadora hasta quedar en polvillo, luego fueron almacenados en frascos ámbar, rotulados y cerrados herméticamente hasta su uso, las cantidades obtenidas del liofilizado de variedad roja fueron 39.21 g, 33.89 g de variedad amarilla y de rojo-morado fueron 46.83 g.



Figura 20. Fruto liofilizado y triturado de *Solanum betaceum* de variedad roja (a) y rojo-morado (b). **Fuente :** propia

3.6.2 Tamizaje fitoquímico de las tres variedades del fruto:

A. Detección de saponinas:

- **Prueba de la Espuma:** En un tubo de ensayo se agregó un poco de muestra pulverizada y 3 mL de agua, seguidamente se agitó por 30 segundos y se dejó reposar, este procedimiento se realizó para cada variedad de la muestra (Lock, 1994).

B. Detección de flavonoides:

- **Prueba de Shinoda:** Se preparó un extracto metanólico a base del fruto liofilizado, en un tubo de ensayo se agregó 3mL del extracto y una pequeña limadura de magnesio metálico seguido de unas gotas de ácido clorhídrico concentrado; se realizó el mismo paso para la identificación de cada variedad del fruto (Lock,1994).

C. Detección de leucocianidinas y catequinas:

- **Rosenheim :** En un tubo de ensayo se agregó 1ml de muestra acuosa, se añadió 0.5mL HCl concentrado luego se hizo hervir por 15 minutos, se dejó enfriar para luego añadirle

0.5 mL de 1-propanol, al final se dejó reposar para la formación de dos fases (Lock, 1994).

D. Detección de fenoles y taninos:

- **Prueba de FeCl₃:** Se adicionó 4 mL del extracto alcohólico del fruto liofilizado en un tubo de ensayos, luego se agregó 6 gotas de una solución de tricloruro de hierro (Lock, 1994).
- **Prueba de gelatina-cloruro de sodio:** Se agregó 2 gotas del reactivo de gelatina en un tubo de ensayos que contenía la muestra del fruto liofilizado.

E. Detección de Alcaloides y Alcaloides esferoidales:

- **Prueba de Dragendorff:** En un tubo de ensayos que contenía extracto alcohólico del fruto liofilizado se le añadió 3 gotas de ácido clorhídrico 2M y 2 mL del reactivo de Dragendorff luego se diluyó hasta un volumen de 10 mL con agua (Lock, 1994).
- **Prueba de Mayer:** Se añadió el extracto alcohólico de fruto en un tubo de ensayos, luego se incorporó dos gotas del reactivo Mayer (Lock, 1994).

F. Detección de esteroides:

- **Prueba de Liebermann – Burchard:** se disolvió un poco de la muestra liofilizada en cloroformo y luego se añadió una gota del reactivo (para el reactivo se usó 1 mL de anhídrido acético y 1 mL de cloroformo), se enfrió la solución luego se añadió una gota de ácido sulfúrico concentrado) (Lock, 1994).

3.6.3 Análisis de las tres variedades (amarillo, rojo, rojo-morado) del fruto liofilizado de *Solanum betaceum Cav.* (Tomate de árbol).

3.6.3.1 Determinación de polifenoles totales

➤ Fundamento del método Folin-Ciocalteu:

Es un método colorimétrico que se utiliza como medida del contenido en compuestos fenólicos totales, el método consiste en utilizar el reactivo de Folin-Ciocalteu, a pH básico (Na_2CO_3) en los compuestos fenólicos haciendo que los fenoles reaccionen y se oxidan, al inicio el reactivo presenta una coloración amarilla pero luego de reaccionar su coloración cambia dependiendo de la concentración de polifenoles, la cuantificación se verifica con espectrofotómetro a 760nm. El reactivo de Folin-Ciocalteu contiene una mezcla de wolframato sódico y molibdato sódico en ácido fosfórico que toma un color amarillo que al ser reducido por lo grupos fenólicos dan lugar a la formación de un complejo de color azul intenso (Fernández, Fuentes y García, 2015, p. 4-5; Quiñonez, 2017, p.37, 38).

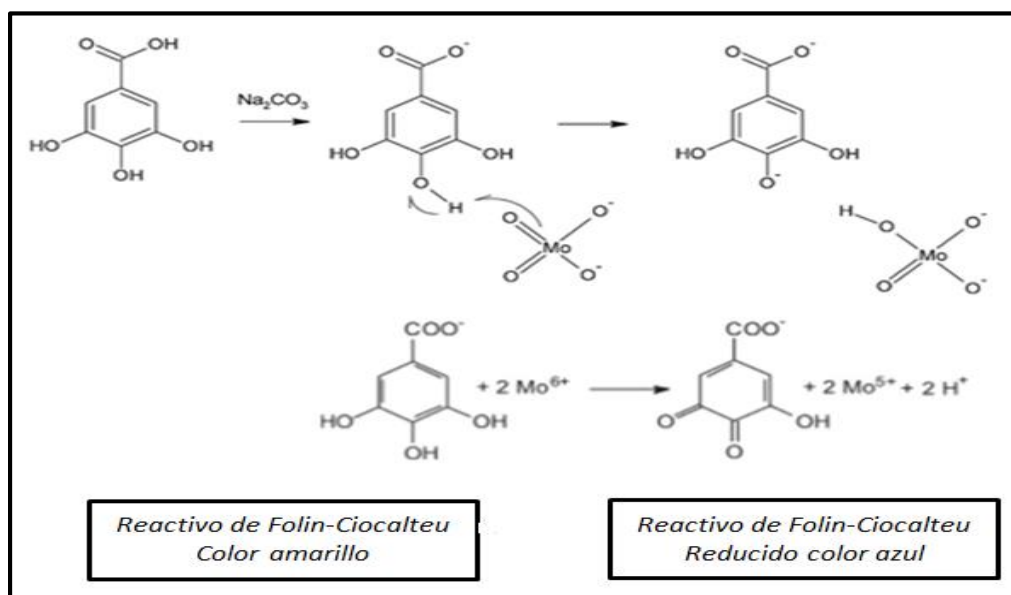


Figura 21: Reacción del ácido gálico con Folin-Ciocalteu. Fuente: Álvarez, et al., 2017

El ácido gálico es un ácido fenólico que se utiliza como estándar para la elaboración de la curva de calibración. El contenido de fenoles totales generalmente, se expresa en mg/L de ácido gálico según (Mora, Ochoa y Pérez, 2016 p.643-644).

➤ **Procedimiento:**

• ***Extracción de polifenoles totales:***

Se preparó un extracto etanólico de cada variedad del fruto *Solanum betaceum Cav.* (tomate de árbol) liofilizado en las siguientes concentraciones: variedad amarilla 10%, variedad roja 10% y variedad rojo-morado 7.5%.

Para el extracto etanólico de la variedad amarilla al 10% se pesaron 4 gramos del fruto liofilizado y se disolvieron en 40 mL de etanol grado reactivo, se dejó macerar por tres días, transcurrido el tiempo se sonicó por 15 minutos y luego se filtró; Se hizo una dilución de 0.85 mL en una fiola de 5mL y se enrasó con etanol, esta última concentración permitió poder leerlo en el espectrofotómetro, se realizó el mismo procedimiento para la variedad roja; sin embargo, para la variedad rojo-morado se trabajó con 3g del fruto liofilizado en 40 mL de etanol para obtener 7.5%.

Tabla 3.

Volúmenes para la disolución de los extractos

Solución madre de muestra problema	Disolución en fiola de 5 mL
Amarilla 10%	0.85 mL
Roja 10%	0.85mL
Roja –morado 7.5%	1.07 mL

• ***Cuantificación de la muestra problema diluida y curva del estándar (ácido gálico):***

Se adicionó 25 µL de muestra problema, 400µL de etanol y 50µL de reactivo Folin-Ciocalteu 1N en un tubo de ensayo, se agitó y se dejó reposar por 2 minutos luego se adicionó 25 µL

de Na_2CO_3 al 20%, se dejó reaccionar por 1 hora y luego se leyó en un espectrofotómetro a 760nm. Se realizó un blanco de reactivo y cada muestra problema se analizó por triplicado. Para la curva de calibración se trabajó con el estándar de ácido gálico; se preparó una solución madre de 0.0125 gramos en 25mL de agua destilada ($C = 500 \mu\text{g/mL}$), luego se realizaron 6 diluciones a de diferentes concentraciones: 30, 80, 150, 250, 350, 500 $\mu\text{g/mL}$, se preparó una solución de Na_2CO_3 al 20% para lo cual se pesó 5 gramos en fiola de 25ml. Se trabajó con 25 μL de cada concentración diferente del estándar, 400 μL de agua destilada y 50 μL de reactivo Folin-Ciocalteu 1N en un tubo de ensayo, se agitó y se dejó reposar por 5 minutos, luego se adicionó 25 μL de Na_2CO_3 al 20%, se dejó reaccionar por 1 hora, finalmente se leyó la absorbancia 760 nm en el espectrofotómetro UV-Visible GENESYS 10S se tuvo en cuenta un blanco del reactivo y cada dilución se leyó por triplicado, al momento de trabajar las muestras se protegió de la luz. El contenido de polifenoles del extracto es expresado en mg ácido gálico/g del fruto liofilizado, se utilizó la ecuación de la recta del estándar para los cálculos.

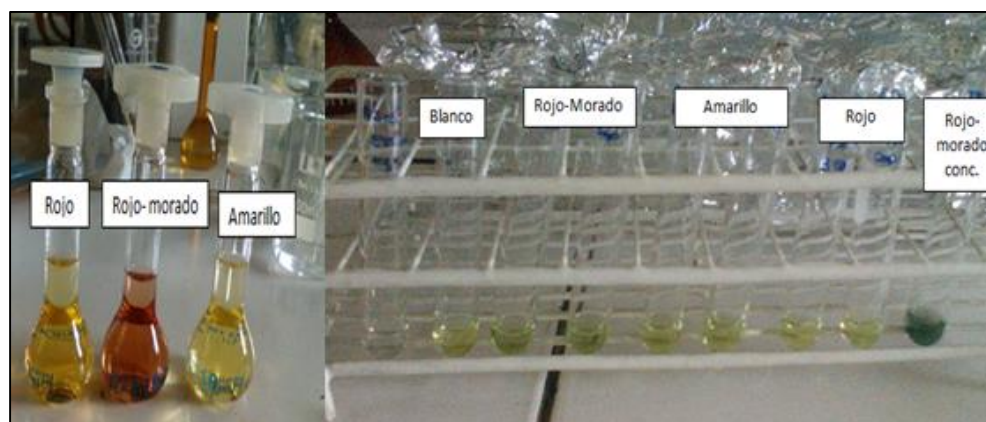


Figura 22. Diluciones de extractos etanólico y reacción del Folin-Ciocalteu de la tres variedades del fruto de *Solanum betaceum* Cav. **Fuente:** propia

3.6.3.2 Cuantificación de vitamina C (ácido ascórbico)

➤ Fundamento del método espectrofotométrico 2,6 - Diclorofenol Indofenol Sal Sódica 2-hidrato

Este método se basa en la oxidación del ácido ascórbico (vitamina C) que reacciona con el indicador 2,6-diclorofenol indofenol de color azul en medio básico y rojo en medio ácido, este indicador se reduce en presencia de un medio ácido a un compuesto incoloro (Hung y Yen, 2002; Chiroque, 2017, p.15). La cuantificación se realiza midiendo a una longitud de onda de 520 nm y se utiliza como estándar la vitamina C, los cálculos son hallados en base a la ecuación de la recta de estándar, teniendo en cuenta que la lectura debe ser inmediata (Arias y Rosales, 2015).

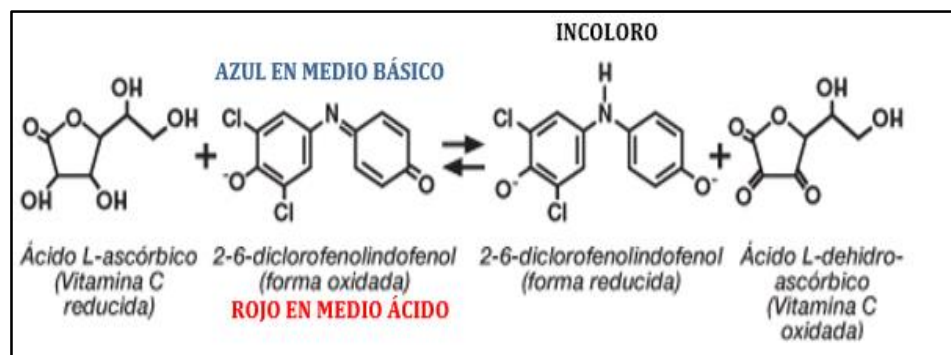


Figura 23: Reacción de óxido reducción del 2,6-diclorofenolindofenol y la vitamina C.

Fuente: Vidal Martin.

“La causa de este cambio de color se debe a que los átomos de hidrógeno de los carbonos unidos por un doble enlace se eliminan transformándose en ácido deshidro-ascórbico (forma oxidada de la vitamina C), actuando el diclorofenol indofenol como dador de electrones (hidrógenos) y dando la forma reducida del colorante” (Chiroque, 2017, p16).

➤ Procedimiento

Se preparó una solución de ácido oxálico 0.4% (se pesó 1 gramo de ácido oxálico en 250 mL con agua destilada) y una solución de 2,6 Diclorofenol al 0.0012% (se pesó 0.003 gramos del

reactivo y 0.003 de bicarbonato de sodio, se diluyeron las dos en una fiola de 250mL). Para la muestra problema de las tres variedades amarillo, rojo y rojo-morado del fruto se pesó de cada una 0.15 gramos y se diluyó en 20 mL de ácido oxálico al 0.4%, se agitó por 5 minutos, se filtró y luego se separó la parte soluble del extracto, finalmente en un tubo de ensayo se adicionó 500µL de la muestra problema diluida en ácido oxálico y seguidamente se añadió 4 mL de reactivo preparado de 2,6 diclorofenol la reacción fue inmediata es por ello que se leyó rápidamente en un espectrofotómetro de UV-VISIBLE GENESYS 10S a una longitud de onda de 520 nm y se anotaron las absorbancias. Se tuvo en cuenta que cada variedad se analizó por triplicado y se consideraron los tubos control de reactivo 2,6 diclorofenol y los tubos blancos de las muestras.

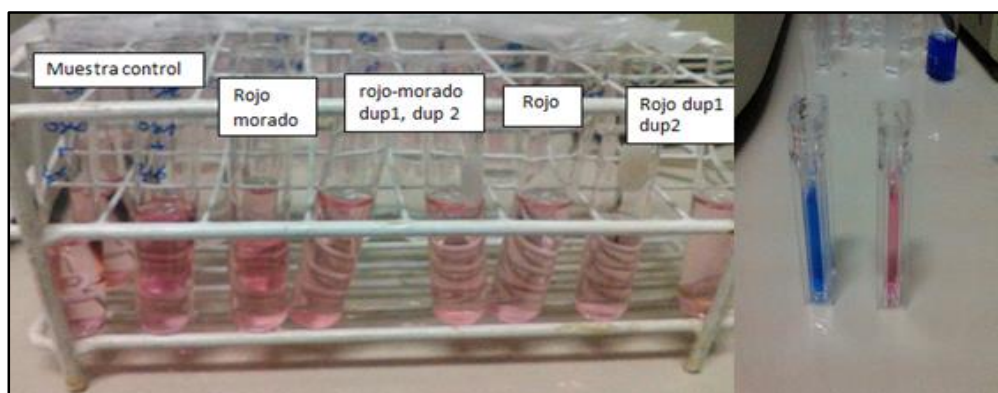


Figura 24. Reacciones de los extractos del fruto de *Solanum betaceum* con el reactivo 2,6-Diclorofenol. **Fuente:** propia.

• **Preparación de la curva estándar (ácido ascórbico):**

Para la cuantificación se desarrolló una curva estándar de ácido ascórbico del cual se pesó 50 mg y se diluyó en una fiola de 50 mL con ácido oxálico 0.4% luego se realizó una dilución de 1mL en fiola de 25 mL enrasándose con ácido oxálico 0.4%, a partir de esta última dilución se prepararon 5 concentraciones diferentes para los puntos de la curva de 4, 8, 15, 20 y 30µg /mL. En cada tubo de ensayo se adicionó 500 µL de cada una de la nuevas

concentraciones del estándar seguidamente se añadió 4mL de reactivo preparado de 2,6 diclorofenol la reacción fue inmediata es por ello que se leyó rápidamente en un espectrofotómetro de UV-VISIBLE GENESYS 10S a una longitud de onda de 520 nm para lo cual se anotaron las absorbancias, se tuvo en cuenta que los valores de las concentraciones de las diluciones del estándar pueden variar dependiendo de la concentración de la muestra problema para obtener un buen resultado. La cuantificación de la muestra se realizó por medio de la ecuación de recta hallada.

Tabla 4.

Preparación de tubos de ensayo para el método 2,6-Diclorofenol Indofenol del extracto liofilizado de Solanum betaceum Cav. (Tomate de árbol).

	Tubo control 2,6 diclorofenol	Tubo muestra	Tubo blanco
Ac. Oxálico	500µL	-----	-----
Muestra en Ac. oxálico	-----	500µL	500µL
H₂O	-----	-----	4mL
2,6 diclorofenol	4mL	4mL	-----

3.6.3.3 Determinación de antocianinas monoméricas totales:

➤ **Fundamento método de pH diferencial :**

La determinación de antocianina se introdujo por primera vez por Sondheimer y Kertesz en 1948. El pH diferencial es un método espectrofotométrico que se basa en la transformación estructural de las antocianinas con el cambio de pH (pH 1 coloreadas y pH 4.5 incoloras) fue modificado por Durst y Wrolstad 2005. Los pigmentos de antocianina monoméricas cambian de color reversiblemente; la forma coloreada de oxonio existe en pH 1.0 y la forma hemiacetal incolora predomina en pH 4.5, este método consiste en usar dos sistemas tampón: Cloruro de potasio de pH 1.0 y acetato sódico de pH 4.5 y luego leerlo a una longitud Avis- máx.(Durst,

Wrolstad, 2005, p.1269,1270) que presente una absorbancia menor a 1, preferentemente en el rango de (0.2 a 0.9) y la otra a 700nm, el factor de dilución debe ser el mismo para ambas muestras de pH 1.0 y pH 4.5 (Arévalo, Martínez, Morales, Núñez, Oranday, Rivas y Verde, 2011; Infante, Vásquez y Villacorta, 2016, p. 211).

➤ **Procedimiento:**

Se trabajó con las tres variedades amarillo, rojo, rojo-morado de los frutos liofilizados de *Solanum betaceum cav.*

• **Extracción de antocianinas**

- a. El primero extracto fue de variedad amarilla, se pesó 1.5 gramos y se disolvió en 15 mL de metanol acidificado (HCl a un pH 2), la extracción se realizó bajo agitación magnética, aislada de la luz y del oxígeno del aire durante 20 minutos según Lock, (1994), p.103-104. La extracción se realizó a temperatura ambiente, luego se llevó a sonicar por unos 5 minutos para una extracción más eficiente, se procedió a filtrar, siempre protegiéndolo del oxígeno de ambiente ya que este acelera la oxidación de las antocianinas.
- b. El segundo extracto fue de la variedad roja, se trabajó con 1.5 gramos de fruto liofilizado y se disolvió en 15 mL metanol acidificado (HCl a un pH 2), luego se siguió el mismo procedimiento de la variedad amarilla.
- c. El tercer extracto fue de la variedad rojo-morado, se pesó 0.5 gramos y se disolvió en 20 mL de metanol acidificado (HCl a un pH 2), la extracción se realizó bajo agitación magnética, aislada de la luz y del oxígeno del aire durante 20 minutos, la extracción se realizó a temperatura ambiente, luego se llevó a sonicar por unos 5 minutos para una extracción más eficiente, se procedió a filtrar, siempre protegiéndolo del oxígeno de ambiente ya que este acelera la oxidación de las antocianinas.

- **Cuantificación de las antocianinas en los tres extractos de tomate de árbol**

Se prepararon dos buffer, uno de Cloruro de potasio (KCl 0.025M) para eso se pesó 0.93 gramos de KCl en 500mL de agua destilada, se ajustó a pH 1,0 (+/-0.05) con HCl diluido, el segundo buffer fue acetato de sodio (CH₃COONa 0,4M) se disolvieron 13.6 gramos en 250 mL de agua destilada, se ajustó el pH 4.5 (+/- 0.05) con HCl diluido. Luego se diluyó 1mL de extracto amarillo en fiola de 5mL con buffer de KCl (pH 1), se volvió a diluir 1ml del extracto amarillo en una fiola de 5mL y se enrasó en este caso con otro buffer de acetato de sodio (pH 4.5), finalmente se realizó un barrido para obtener la longitud onda máx. (pico más alto).

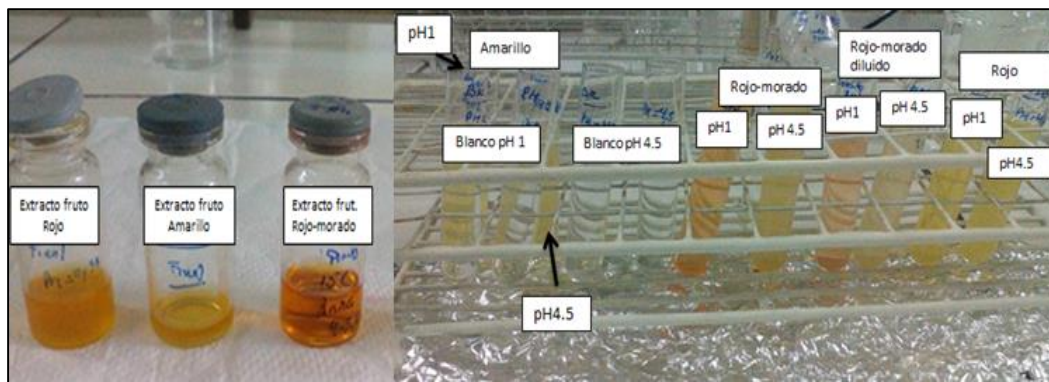


Figura 25. Extractos metanólico acidificados y reacción de pH diferencial en los extractos diluidos con buffer pH1 y pH 4.5 en las tres variedades del fruto liofilizado.

El factor de dilución adecuado para la muestra al disolverla con buffer de cloruro de potasio (pH 1.0) debe ser el que proporcione un valor de absorbancia dentro del rango de 0.2 a 0.9, se tiene en cuenta que se trabajó con un solo factor de dilución para todas las muestras. Posteriormente se midió la absorbancia en un espectrofotómetro UV-Visible frente a un blanco de cada buffer λ máx y 700nm, después de transcurrido 30 minutos se procedió a leer la concentración de antocianinas: mg de cianidina-3-glucósido/g muestra liofilizada (Aliaga, Camavilca y Juliana, 2015, p 32). Para las muestras de los extractos de variedad roja y roja-

morada se realizó el mismo procedimiento que se hizo para variedad amarilla, se colocó 1mL del extracto en fiola de 5mL y se enrasó con cada buffer, para luego leer cada una a las longitudes de λ máx. y 700 nm, el factor de dilución debe ser el mismo para ambas muestras de pH 1.0 y pH 4.5.

Tabla 5.

Valores y diluciones de preparación del extracto para identificar antocianinas monoméricas totales.

Liofilizado de <i>Solanum betaceum</i>	Peso gramos	Vol. metanol acidificado	alícuota	Fiola 5mL
Amarillo	1.5	15mL	1mL	Cloruro de potasio pH 1
				Acetato de sodio pH 4.5
Rojo	1.5	15 mL	1mL	Cloruro de potasio pH 1
				Acetato de sodio pH 4.5
Rojo-morado	0.5	20 mL	1mL	Cloruro de potasio pH 1
				Acetato de sodio pH 4.5

Se calculó la concentración del pigmento de antocianinas monoméricas totales en el fruto liofilizado de *Solanum betaceum Cav.* haciendo uso de la fórmula siguiente:

$$A = (A \text{ máx. nm} - A_{700\text{nm}}) \text{ pH } 1 - (A \text{ máx. nm} - A_{700 \text{ nm}}) \text{ pH } 4,5$$

$$\text{Antocianinas (mg de cianidina-3glucósido/L extracto)} = \frac{A \times PM \times FD \times 1000}{\epsilon \times l}$$

Dónde:

A : Absorbancia , *PM*: Peso molecular, 449.2 g. mol⁻¹ cianidina-3-glucosido, *FD*: Factor de dilución (vol. final/ vol. inicial), *ε*: coeficiente de extinción molar, 26900 L. mol⁻¹ .cm⁻¹, 10³: factor de conversión de gramos a mililitros.

La concentración final es mg antocianinas monoméricas totales / L de extracto) se calcula en base al volumen de extracto y peso de muestra (Infante et al., 2016, p. 210, 211; Martínez S., et al., 2011, p.68).

3.6.3.4 Caracterización de antocianinas por medio de la espectrofotometría de UV/VIS.

- **Extracción:** La extracción de antocianinas se realizó con metanol acidificado a un pH 2 como se explicó en el punto 3.6.3.3 de procedimiento, luego de ello se filtró el extracto y se depositó en viales aislados del oxígeno del ambiente. En este caso se trabajó con las tres variedades del fruto rojo, amarillo y rojo-morado de *Solanum betaceum Cav.* con el objetivo de verificar si las tres muestras presentan antocianinas.

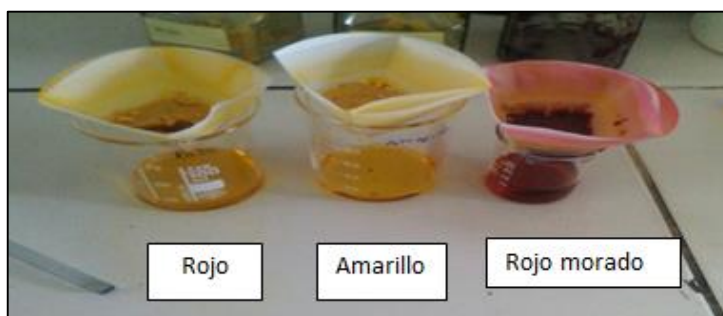


Figura 26. Filtración de los extractos metanólicos acidificados de las tres variedades del fruto *Solanum betaceum Cav.*

- **Purificación de antocianinas:** Se realizó por medio de una cromatografía preparativa descendente en papel por ser una técnica de bajo costo y muy práctico para separar sustancias polares, Lock (1997) p.104-5. Se utilizó papel filtro de celulosa Whatman # 2 de medidas 27 x11 cm, se realizó una línea ligera de separación de 2 cm de separación a la base, luego se procedió a la siembra de la muestra de las tres variedades del extracto rojo, amarillo y rojo-morado de *Solanum betaceum Cav.* en cada pedazo del papel Whatman, el objetivo fue comparar las bandas e identificar antocianinas (Ferreira, Luh, 1972, p.81-83).

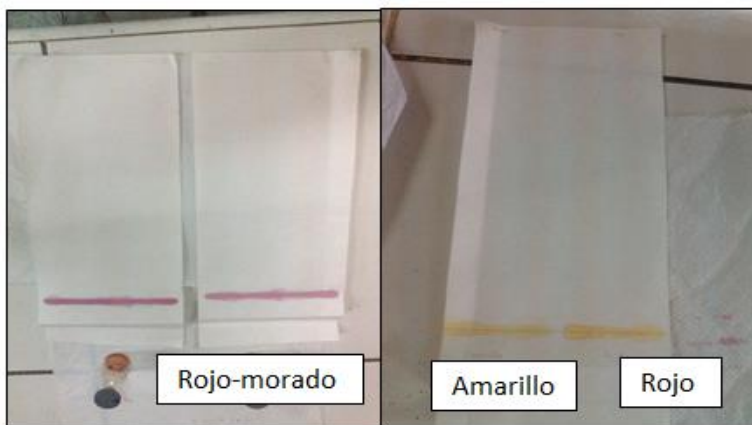


Figura 27. Sembrado de los extracto del fruto liofilizado de *Solanum betaceum Cav.* en papel filtro de celulosa. **Fuente:** propia.

La fase móvil o eluyente polar utilizado fue $n\text{-BuOH} : \text{CH}_3\text{COOH} : \text{H}_2\text{O}$ (4:1:5) (Vargas, Soto y Rodríguez, 2002, p.262-263), Lock (1997) ya que este dio un mejor resultado, la corrida se realizó en una cámara cromatográfica descendente en la cual la fase móvil desciende por gravedad, se trabajó en oscuridad y se esperó de 7 a 8 horas la separación de las bandas, luego del tiempo transcurrido se esperó que las bandas se sequen al ambiente.

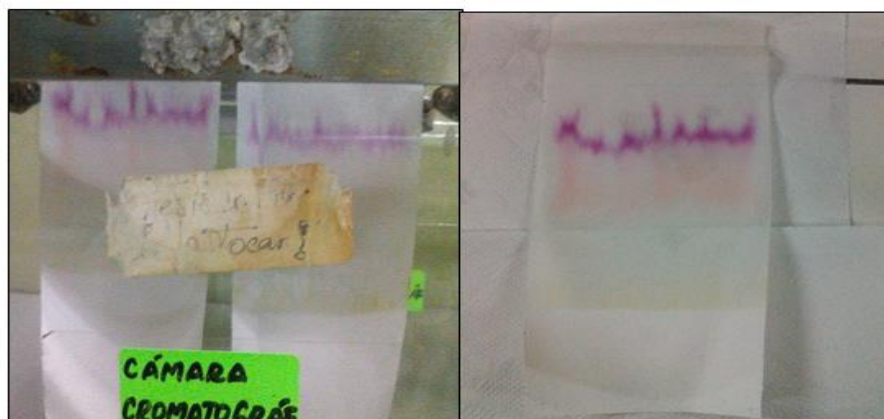


Figura 28. Elución de la muestra en una cámara cromatográfica descendente. **Fuente:** propia.

Finalmente se reveló con vapor de amoníaco y se verificó con una lámpara de luz ultravioleta con la finalidad de ver la coloración formada de las bandas. Se anotó la altura de las bandas

formadas de cada extracto para hallar el Rf y se recortaron las diferentes bandas de una nueva corrida de los tres extractos. Para su identificación se disolvió cada banda recortada en metanol acidificado con el fin de que el pigmento se disuelva en el solvente y luego hacer la lectura en el espectrofotómetro de UV-Visible.



Figura 29. Disolución de las bandas seleccionadas en metanol acidificado.

3.6.3.5 Determinación de actividad antioxidante

➤ **Fundamento del método del 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH) Método de Brand –Williams:**

El 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH) es un radical nitrogenado orgánico y estable, que en disolución metanólica presenta un color violeta intenso. El método fue planteado por Brand-Williams y sirve para determinar la capacidad antioxidante con base en la disminución de color, medida a 517 nm, por acción de un compuesto antioxidante. Cuando la solución de DPPH se mezcla con una sustancia que puede donar un átomo de hidrógeno (antioxidante), esta reduce al radical DPPH con la pérdida del color violeta, el cual es estequiométrico con respecto al número de electrones que capture, tornándola un amarillo pálido (Aguirre et al., 2015 ; Del-Toro ,Gutiérrez ,Lugo y Pérez, 2013, p 19,20 ; Figueroa L., 2017).

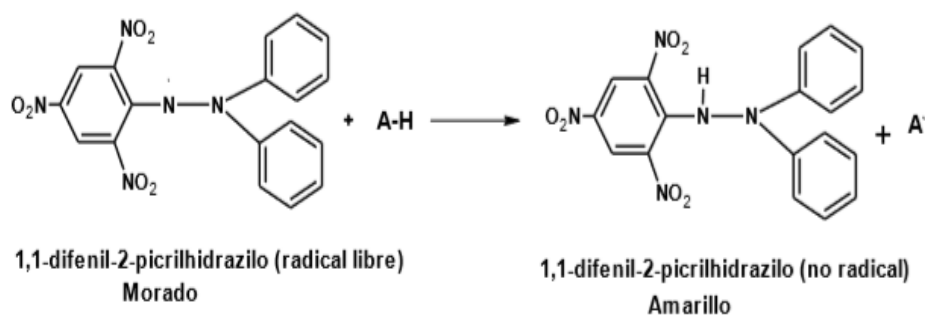


Figura 30: Reducción de la molécula 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo. **Fuente:** Del Rio, T. (2013).

➤ **Preparación del extracto:** Se trabajó con los extractos etanólico del fruto liofilizado de tomate de árbol variedad amarilla 10%, variedad roja 10% y variedad rojo-morado 7.5%. Se preparó un extracto etanólico de la variedad amarilla al 10% para esto se pesó 4 gramos del fruto liofilizado en 40 mL de etanol grado reactivo, se dejó macerar por tres días, transcurrido el tiempo se sonicó durante 15 minutos y luego se filtró; Se diluyo 0.4mL del extracto en una fiola de 10 mL y se enrasó con etanol, esta concentración permitió poder leerlo en el espectrofotómetro, en el caso de la variedad rojo-morado se trabajó 3g fruto en 40 mL de etanol para obtener 7.5%.

Tabla 6.

Dilución de la muestra problema a partir de la solución madre para la capacidad antioxidante

<i>Solución madre de muestra problema</i>	<i>Alícuota en fiola de 10 mL</i>	<i>Concentración mg/mL (muestra problema diluida)</i>
Amarilla 10%	0.4 mL	4
Roja 10%	0.4 mL	4
Rojo-morada 7.5%	0.32 mL	2.4

- **Capacidad antioxidante de la variedad amarilla, roja y roja-morada de *Solanum betaceum cav.* y curva estándar:**

Se preparó una solución de DPPH (2 mg en 100mL de metanol), luego se prepararon varias concentraciones a partir del extracto de la variedad amarilla de 1500, 2100 ,3000 y 4000 $\mu\text{g}/\text{mL}$, se tomaron las mismas concentraciones para la variedad roja, sin embargo para la variedad rojo-morado las concentraciones diluidas fueron de 1000, 1400, 2000 y 2400 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Se trabajó con 400 μL de cada concentración de la muestra problema incorporados en un tubo de ensayo para luego adicionarle 800 μL de reactivo preparado DPPH luego se agitó y se dejó reaccionar por 30 minutos en un ambiente oscuro, se tomó en cuenta el blanco del reactivo DPPH para la lectura, transcurrido el tiempo las muestras fueron leídas en el espectrofotómetro UV-Visible GENESYS 10S a una longitud de onda de 517 nm.

Para analizar los resultados se preparó la curva del estándar de ácido ascórbico, disolviendo 0.025 gramos del ácido ascórbico con agua en una fiola de 100 mL (estándar madre), se prepararon 5 puntos de la curva de C₁: 8, C₂: 10, C₃: 30, C₄: 40, C₅: 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ a partir del estándar madre, se trabajó con 400 μL de cada concentración incorporados en cada tubo de ensayo para luego adicionarle 800 μL de reactivo DPPH luego se agitó y se dejó reaccionar por 30 minutos en un ambiente oscuro, cada muestra fue leída en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 517 nm, para luego construir la curva estándar de ácido ascórbico, se tiene en cuenta que para cada concentración se realizó por triplicado el análisis.

Tabla 7.

Preparación de tubos de reacción para el método DPPH del extracto.

	<i>Tubo control DPPH</i>	<i>Tubo muestra</i>	<i>Tubo blanco</i>
<i>Metanol</i>	-----	-----	800µg
<i>Etanol</i>	400µg	-----	-----
<i>Muestra</i>	-----	400µg	400µg
<i>DPPH</i>	800µg	800µg	-----

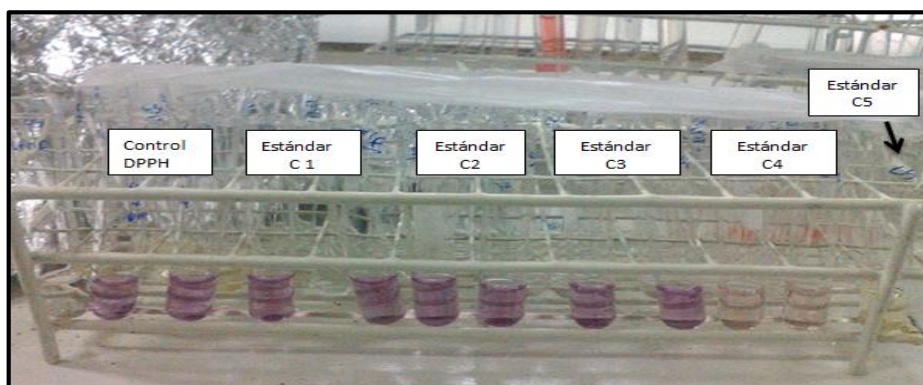


Figura 31. Reacción colorimétrica de las diferentes concentraciones del estándar con el reactivo DPPH para la identificación de antioxidantes.

El cambio de color fue monitoreado espectrofotométricamente y se utilizó para cuantificar la actividad antioxidante que poseen las distintas muestras problema. Los resultados se pueden expresar como coeficiente de inhibición (IC50), % de captación; mg /Equivalentes de Trolox o vitamina C cuando es comparado con estándares (Aguirre et al., 2015, p. 21, 23). Se entiende que IC 50 es la cantidad de muestra que captura radicales DPPH (libres) en un 50%. El % de capacidad antioxidante o porcentaje de inhibición se calculó con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de la capacidad Antioxidante} = \left[\frac{\text{Abs. DPPH} - (\text{Abs. Muestra} - \text{Abs. MBlanco})}{\text{Abs. DPPH}} \right] 100$$

Dónde:

Abs. DPPH: Absorbancia del radical, **Abs Muestra:** Absorbancia de la muestra problema, **Abs MBlanco:** Absorbancia del blanco de muestra.

3.6.4 Formulación de la crema antioxidante:

En este proceso se recopiló información necesaria acerca de la formulación dermocosmética, teniendo en cuenta las características del extracto y un buen solvente para una buena extracción de los metabolitos, es por ello que se realizaron pruebas de solubilidad, teniendo en cuenta la posible oxidación. Se realizó la prueba de los excipientes, llegando así a encontrar la formulación adecuada para que la sustancia activa no se llegue a alterar.

- **Preparación del extracto para la crema antioxidante:**

En esta etapa se trabajó con el fruto liofilizado de la variedad rojo-morada ya que presentó una alta capacidad antioxidante en comparación con las otras variedades como se observa en los resultados. Se incorporó en un recipiente el solvente escogido como se observa los resultados de la tabla 25, la muestra del fruto liofilizado de *Solanum betaceum* de variedad rojo-morada, se mantuvo en agitación por 15 minutos y luego se llevó a sonicar la muestra por unos 5 minutos para una mejor extracción, finalmente se llevó a filtrar el extracto y se protegió del oxígeno del ambiente.

- **Incorporación del extracto:**

A la crema formulada base se le incorporaron diluciones del extracto al 0.5% , 2% y 5% en peso del fruto liofilizado, estas concentraciones fueron determinadas mediante pruebas, además de utilizar como guía la capacidad antioxidante del extracto solo; sin embargo también se trabajó con concentraciones menores las cuales no presentaron capacidad antioxidante en la crema.

- **Preparación de la crema base:**

Tabla 8.

Formulación de la crema

Excipientes	Cantidades
Alcohol cetílico	7.5g
Cera de abeja	0.5g
Propilenglicol	5g
Tween 20	10g
Agua purificada	csp
Extracto de <i>Solanum betaceum Cav.</i>	–

La tabla 8 muestra los excipientes que se utilizaron para la elaboración de la crema, teniendo como guía de referencia la información de Faulí y Trillo (1993); Wilkinson y Moore, (1990); Santa María (2010), la elaboración se realizó en un beaker de 200 mL se añadió alcohol cetílico, cera de abeja y se llevó a baño maria a una temperatura de 70-75 °C (fase oleosa), al mismo tiempo en otro beaker de 200 mL se incorporó propilenglicol, Tween 20 y agua purificada (fase acuosa) simultáneamente se llevaron los dos recipientes a baño maria, fundidas las dos fase se procedió a incorporar la fase acuosa sobre la oleosa en pocas cantidad hasta la incorporación total, se agitó constantemente hasta la formación de una emulsión, se esperó el enfriamiento a temperatura ambiente de la crema base

(Ministerio de salud, 2012, p.141).

Se procedió a incorporar el extracto solubilizado a la crema base, agitándolo constantemente hasta que el extracto se disperse en toda la emulsión, la crema presentó una coloración rosada propia del principio activo del fruto liofilizado de *Solanum betaceum* de la variedad rojomorado. Se repitió el mismo procedimiento para las concentraciones de

0.5%, 2% y 5% del extracto.

3.6.5 Determinación de capacidad antioxidante de la crema formulada de *Solanum betaceum Cav.* de la variedad rojo-morada:

Se verificó la capacidad antioxidante de la crema mediante el método del radical 1,1 difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH).

➤ Procedimiento:

Se preparó la solución de DPPH (2 mg en 100mL de metanol), luego se pesó 5 gramos de la crema y se disolvió en 50 mL de agua purificada luego se centrifugó por 30 minutos, se extrajo del sobrenadante 2mL el cual se diluyó en 10 mL de agua purificada, de esta disolución se trabajó con 400 μ L y se le añadió 800 μ L del reactivo DPPH, se esperó la reacción por 30 minutos y se llevó a leer en un espectrofotómetro de UV- Visible marca GÉNESYS 10S. Se repitieron las lecturas por triplicado para el blanco de DPPH, blanco de la muestra y de la muestra problema.

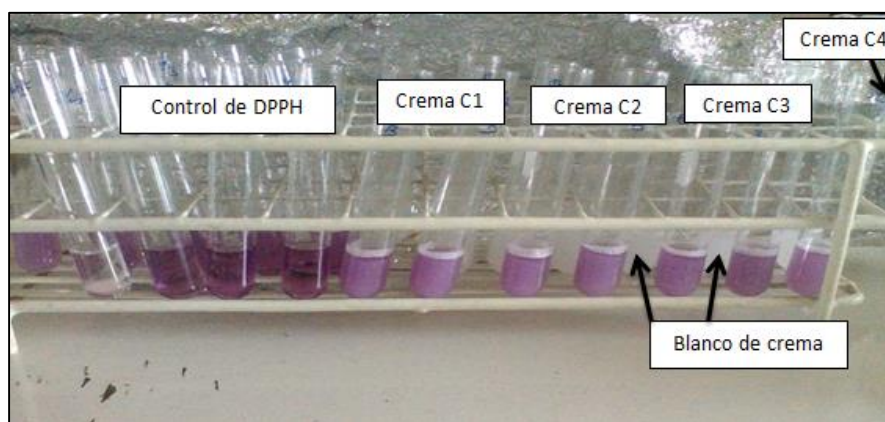


Figura 32. Reacción colorimétrica de las diferentes concentraciones de la crema con el reactivo DPPH para la identificación de antioxidantes. **Fuente:** propia.

Tabla 9.

Preparación de tubos de ensayo para el método DPPH a partir de la crema elaborada a base del fruto liofilizado de Solanum betaceum Cav. (tomate de árbol).

<i>Adiciones</i>	<i>Tubo control DPPH</i>	<i>Tubo muestra problema</i>	<i>Tubo muestra en blanco</i>
<i>Metanol</i>	–	–	800 µL
<i>Agua</i>	400 µL	–	–
<i>Muestra problema</i>	–	400 µL	400 µL
<i>DPPH</i>	800µL	800 µL	–
Se dejó reaccionar por 30 minutos en oscuridad y se leyó 517nm			

Este método se repite para cada una de las cremas de diferentes concentraciones 0.5%; 2% y 5%. Se cuantificó la capacidad antioxidante haciendo uso de la curva estándar de ácido ascórbico con DPPH, calculando a vez el IC 50 de la crema base, la crema conteniendo la muestra en concentraciones de 0.5; 2 y 5%.

Fórmula:

$$\% \text{ de la capacidad Antioxidante} = \frac{[\text{Abs. DPPH} - (\text{Abs. Muestra} - \text{Abs. MBlanco})] 100}{\text{Abs. DPPH}}$$

Dónde:

Abs. DPPH: Absorbancia del radical, *Abs Muestra:* Absorbancia de la muestra problema

Abs MBlanco: Absorbancia del blanco de muestra.

Se entiende que IC 50 es la cantidad de muestra que captura radicales DPPH (libres) en un 50%.

3.6.6 Control de calidad de la crema antioxidante

El control de calidad se realizó analizando los siguientes aspectos para que se cumplan las características físico-químicas y organolépticas del producto final, según la Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria, 2005.

3.6.6.1 Control organoléptico

- ***Determinación del color:***

El producto elaborado debe tener un color agradable para el usuario y esto abarca a los extractos que se utilicen y sus concentraciones. La evaluación se realizó por medio de un examen visual, tomando una pequeña cantidad de muestra en una luna de reloj limpia y seca, se informan los resultados según la Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria (ANVISA) de Brasil (2005).

- ***Determinación del olor:***

En la elaboración de la crema no se agregó ninguna esencia, la evaluación se percibe a través del olfato con una tira de papel secante se introduce a la muestra y se determinó el olor de la crema, se informan los resultados.

- ***Aspecto y textura:***

Se determinó observando con luz blanca a la crema si presenta partículas, grumos, para la textura se aplicó una pequeña cantidad de crema en la piel, se informan resultados.

3.6.6.2 Control físico-químico

- ***Determinación de la extensibilidad:***

Esta evaluación se basa en el aumento de la superficie de la crema al ser sometida progresivamente a presiones crecientes en iguales intervalos de tiempo, la extensibilidad es la capacidad que tiene la crema para ser aplicada y distribuida uniformemente sobre la piel.

Materiales: dos placas de vidrio de 20 x 20 cm y papel milimetrado.

Procedimiento: Se colocó la placa de vidrio (previamente pesada) inferior sobre una hoja de papel milimetrado, se pesó 1g de la crema y se colocó en el punto de intersección de las abscisas y ordenadas, luego se pesó la placa de vidrio superior y se colocó sobre la inferior,

pasado 1 minuto y por efecto de la presión, la crema se habrá extendido de forma aproximadamente circular, finalmente se anotan los valores de los diámetros de la abscisa y ordenada, con estas de determino la extensibilidad o el área del círculo, se trabajó con las pesas 50; 100; 200 gramos, que se colocaron en el centro de la placa.

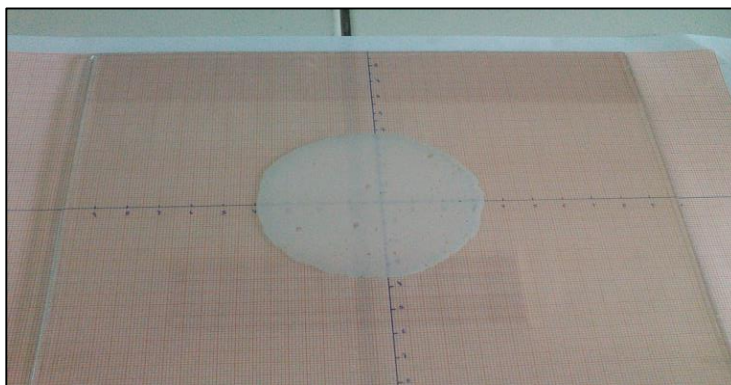


Figura 33. Extensibilidad de la crema antioxidante. **Fuente:** propia

- **Determinación de pH:**

Se inició verificando la limpieza y sensibilidad del electrodo, se utilizó como referencia el tampón de 4 y 7 unidades de pH, se trabajó con 2 gramos de la muestra en 40 mL de agua bidestilada, se introdujo el electrodo de pH en un vaso precipitado que contenía la crema formulada y se anotó el valor obtenido.

3.7 Análisis de datos:

Se realizó el análisis de los datos obtenidos de los valores de la reacción de estándares haciendo uso de la estadística descriptiva básica, media aritmética, regresión y correlación lineal de Microsoft Excel para cuantificar polifenoles, vitamina C, capacidad antioxidante del extracto liofilizado y de la crema, así mismo se emplearon histogramas para la explicación, los resultados obtenidos de las muestras problemas fueron comparados con sus respectivos estándares.

CAPITULO IV. RESULTADOS

4.1. Pruebas fitoquímica:

Tabla 10:

Resultados de la marcha fitoquímica del fruto liofilizado de Solanum betaceum Cav.

(tomate de árbol) de las variedades rojo, amarillo, rojo-morado.

Reactivo	Metabolito secundario	Observación variedad del fruto			Resultado		
		Rojo - morado	Rojo	Amari llo	Rojo- morado	Rojo	Amarillo
<i>Espuma</i>	Saponinas	Espuma ligera menor a 5mm			+	+	+
<i>Shinoda</i>	Flavonoides	Color magenta	Anaranjado		+++	+++	+++
<i>Rosenheim</i>	Antocianidi- na	Rojo	-		+++	-	-
<i>Tricloruro férrico</i>	Fenoles y Taninos	Color verde negro	Color verdosa		+++	+++	+++
<i>Gelatina</i>	Taninos	Precipitado blanquecino			+++	+++	+++
<i>Dragendorff</i>	Alcaloides	Precipitado anaranjado			++	++	++
<i>Prueba de Mayer</i>	Alcaloides	Precipitado blanco			++	++	++
<i>Lieberman- Burchard</i>	Esteroles	Color azul			+	+	+

Nota: No se evidencia presencia (-); Presencia mínima (+); Presencia Moderada (++); Presencia abundante (+++). Los resultados se observan en el anexo 4

4.2. Polifenoles totales presentes en Solanum betaceum Cav.

4.2.1. Curva de polifenoles totales

Para la cuantificación de compuestos polifenólicos totales en los extractos se elaboró una curva de calibración teniendo en cuenta la oxidación de los polifenólicos en presencia del reactivo Folin-Ciocalteu utilizando como estándar ácido gálico a diferentes concentraciones

Tabla 11.

Resultados de las absorbancias de los puntos de concentración del estándar de ácido gálico.

Concentración de ácido gálico($\mu\text{g/mL}$)	Absorbancia 760nm
30	0.118
80	0.278
150	0.564
250	0.853
350	1.200
500	1.813

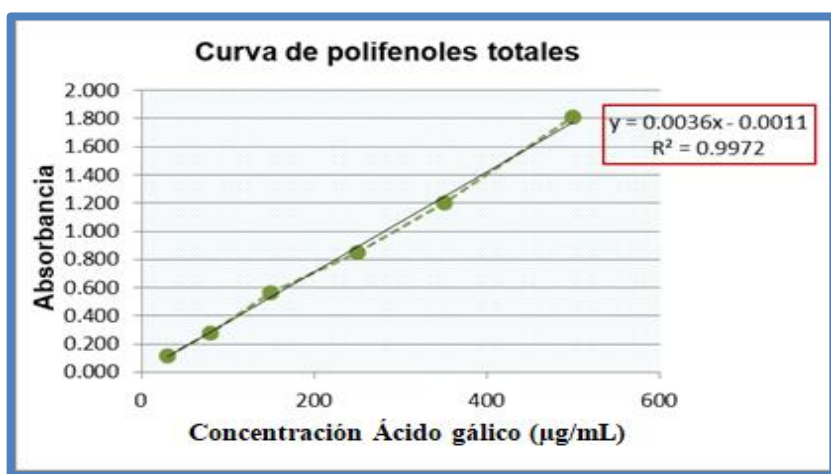


Figura 34. Curva de calibración de polifenoles totales utilizando como estándar ácido gálico. Los resultados de la tabla 11 indican los valores de las absorbancias obtenidas de las concentración del ácido gálico (estándar), a partir de estas se construyó la recta de calibrado (curva de polifenoles totales), obteniendo una ecuación de la recta $y = 0.0036 x - 0.0011$ con un coeficiente de correlación de $R^2 = 0.9972$

1.2.2 Resultado de polifenoles totales del fruto *Solanum betaceum Cav.* en las variedades rojo, amarillo y rojo-morado.

Tabla 12.

*Resultados de la concentración de polifenoles totales presentes en la dilución de los extractos etanólico en las tres variedades de *Solanum betaceum Cav.**

<i>Muestra 2^{da} disolución</i>	<i>Absorbancias</i>	<i>Promedio Absorbancia</i>	<i>Concentración de polifenoles $\mu\text{g/mL}$ en muestra diluidas</i>
<i>Amarilla diluida</i>	0.200	0.200	55.861
	0.200		
	0.200		
<i>Roja diluida</i>	0.252	0.254	70.861
	0.253		
	0.257		
<i>Rojo-morada diluida</i>	0.392	0.393	109.472
	0.393		
	0.394		

Tabla 13.

*Resultado final del contenido de polifenoles totales de los frutos liofilizados de *Solanum betaceum Cav.* de las variedades amarillo, rojo y rojo-morado.*

<i>Muestra inicial</i>	<i>Concentración de polifenoles en el extracto inicial</i>		<i>Polifenoles totales (mg de ácido gálico/ 1g de muestra)</i>
	<i>$\mu\text{g/mL}$</i>	<i>mg/mL</i>	
<i>Amarilla 10%</i>	328.594	0.3286	3.286
<i>Roja 10%</i>	416.829	0.4168	4.168
<i>Rojo-morado 7.5%</i>	511.551	0.5115	6.821

Los resultados de polifenoles totales se halló remplazando los datos de absorbancia de las muestras problema en la variable “y” de la ecuación de la curva de calibrado, para mayor comprensión del cálculo revisar el anexo 16. La cuantificación de polifenoles totales presentes en la segunda dilución del extracto etanólico de la muestra problema de cada variedad del fruto, fue mayor en la variedad rojo-morado con $109.472 > 70.861$ variedad roja > 55.861 de la variedad amarilla de concentración de polifenoles como se indica en la tabla

12. Los resultados finales de polifenoles totales presentes en 1 gramo de fruto liofilizado de tomate de árbol de variedad rojo-morado es equivalente a 6.821 mg de polifenoles (ácido gálico) > 4.168 para el fruto rojo > 3.286 para fruto amarillo, como indica la tabla 13.

4.3. Cuantificación de vitamina C (ácido ascórbico)

4.3.1. Curva de calibración para vitamina C:

La tabla 14 indica los valores de absorbancias del estándar con el fin de elaborar una curva de calibrado que permita cuantificar el valor de vitamina C presente en cada variedad del fruto liofilizado de *Solanum betaceum*.

Tabla 14.

Resultados de absorbancia final del estándar de ácido ascórbico.

Concentraciones del Ácido ascórbico $\mu\text{g/mL}$	Absorbancia 520nm	Absorbancia (Ac.Oxálico – Ac. Ascórbico)
4	0.211	0.101
8	0.189	0.123
15	0.162	0.150
20	0.138	0.174
30	0.096	0.216
<i>Ac. oxalico + 2,6-Diclorofenol</i>	0.312	-----

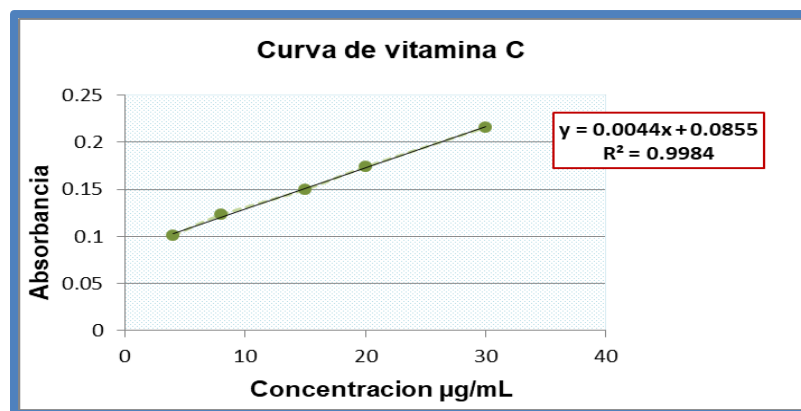


Figura 35. Curva de Calibración del estándar de ácido ascórbico.

La curva de calibrado de ácido ascórbico presenta una ecuación de la recta: $y = 0.0044x - 0.0855$ con un coeficiente de correlación de $R^2 = 0.9984$

4.3.2 Vitamina C presente en el fruto *Solanum betaceum Cav.* en las variedades rojo, amarillo y rojo-morado.

Tabla 15.

Resultados de vitamina C presentes 1 gramo de muestra del fruto liofilizado de Solanum betaceum Cav. (tomate de árbol) en cada variedad del fruto.

<i>Muestra (liofilizado)</i>	<i>Diluido en 20mL</i>	<i>Absorbancia 520nm</i>	<i>Absorbancia final (ac. oxalico - muestra)</i>	<i>Concentración (mg de vitamina C /1g muestra)</i>
<i>Amarilla</i>	0.15 g	0.200	0.112	0.62
<i>Rojo</i>	0.15 g	0.182	0.130	0.65
<i>Rojo-morado</i>	0.15 g	0.130	0.182	0.81

La concentración se determinó utilizando la ecuación de la recta del estándar de ácido ascórbico, se reemplaza la absorbancia final en la variable “y” encontrando la concentración real en la muestra. El fruto de variedad rojo-morada presento mayor resultado ya que 1 g de esta muestra equivale a 0.81 mg de vitamina C, el segundo fue variedad rojo con 0.65mg y el de menor cantidad fue la variedad amarilla con 0.62 mg vitamina C/ 1g muestra.

4.4. Antocianinas monoméricas totales:

Tabla 16.

Antocianinas monoméricas totales expresados en mg de antocianinas cianidina-3-glucosido / gramo del fruto liofilizado de Solanum betaceum Cav.

<i>Extracto</i>	<i>Cloruro de potasio pH 1</i>		<i>Acetato de sodio pH4.5</i>		<i>Absorban</i>	<i>mg de antocianinas (cianidina-3-glucósido)/1g de muestra</i>
	<i>520nm</i>	<i>700nm</i>	<i>520nm</i>	<i>700nm</i>		
<i>amarilla</i>	0.489	0.201	0.839	0.642	0.091	0.076
<i>Rojo</i>	0.592	0.282	0.969	0.742	0.083	0.069
<i>Rojo-morado</i>	0.469	0.154	0.759	0.522	0.078	0.261

Para mayor comprensión de los cálculos revisar el anexo 16. La unidad se expresa como antocianinas monoméricas totales (mg de cianidina-3-glucósido en 1 gramo de muestra liofilizada) como se tiene en conocimiento que la muestra es desconocida se opta por utilizar el peso molecular y la Absortividad de la Cianidina-3-glucósido, ya que se encuentra incluido por el método de pH diferencial. Los resultados finales se basaron en la reacción que las antocianinas experimentaron por el cambio del pH y esto se verifica en la variación de su absorbancia, indicando que la mayor cantidad de antocianinas monoméricas la presenta el fruto de variación rojo-morado con un valor de 0.261 mg de antocianinas en 1g muestra > fruto amarillo 0.076 mg> rojo 0.069 mg antocianinas en 1 g de cada muestra con esto demuestra que los frutos de variedad amarilla y roja presentan valores parecidos y poco considerables.

- **Cambios del color al variar pH del fruto Rojo – Morado de *Solanum betaceum Cav.*(tomate de árbol):**

El extracto metanólico del fruto liofilizado rojo-morado presentó diferentes coloraciones al agregar ácidos y base a pH diferentes. Al diluir la alícuota del extracto metanólico (acidificado) de la variedad rojo-morado con buffer de KCl (pH1), la coloración inicial rojo-naranja cambio a una tonalidad coral pero al diluir el mismo extracto con buffer de acetato de sodio (pH 4.5) el color cambió a una tonalidad amarilla cobalto, mientras que al realizar las mismas diluciones al extracto de variedad rojo y amarillo la coloración inicial para ambos fue de amarillo-naranja que luego cambio a un amarillo claro para buffer de acetato de sodio y buffer de KCl.

4.4.2. Separación y caracterización de antocianinas mediante espectrofotometría UV-Visible.

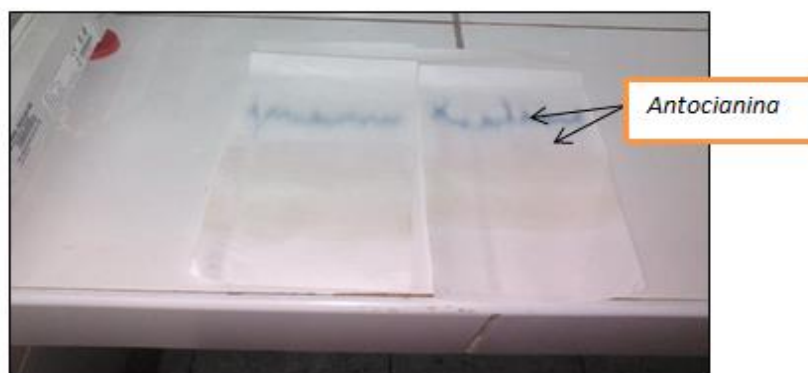


Figura 36. Elución del extracto metanólico del fruto de variedad rojo-morado revelado con vapores de amoniaco. **Fuente:** propia

Luego del desarrollo de la Cromatografía en papel descendente, de los tres extractos de variedades rojo-morado, rojo y amarillo, los resultados de las bandas de los extractos de variedad rojo y amarillo no presentaron coloración a la luz visible; sin embargo, la elución del extracto rojo-morado presentó dos bandas coloreadas a luz visible, una de coloración morado intensa y la otra coloración rosado intenso.

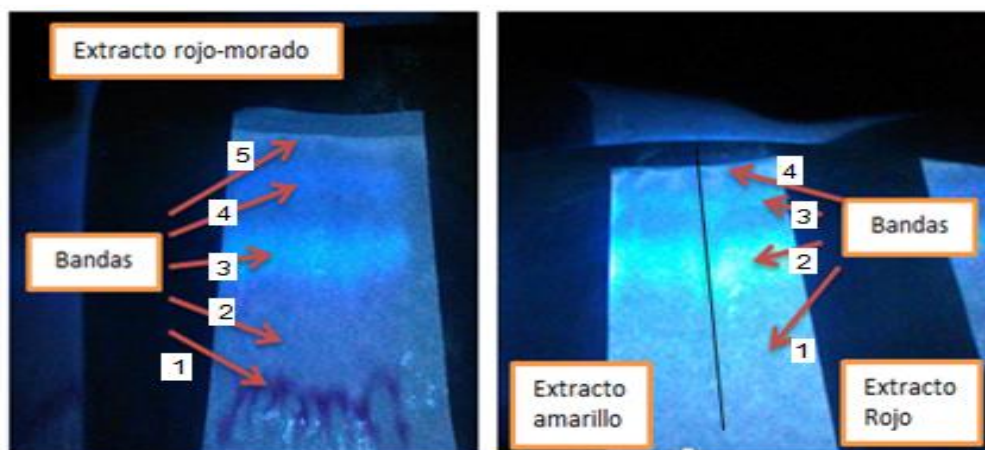


Figura 37. Bandas encontradas en los extractos del fruto liofilizado de variedad rojo-morado, amarillo y rojo a 365nm. **Fuente:** propia

La separación de las bandas realizadas por cromatografía de papel se visualizaron mejor con ayuda de una lámpara de luz ultravioleta (365nm), teniendo en cuenta que la luz pudiera afectar a nuestras bandas, ya que las antocianinas son inestables cuando se exponen a la luz UV o a la luz visible, siendo algunas más afectadas que otras, ejemplo antocianinas que tiene OH en C5 son más rápidas en su descomposición, (Lock, 1997, p.103).

Encontrándose para el extracto rojo –morado 5 bandas: 1era púrpura (no fluorescente), 2da magenta (no fluorescente), 3era rosada transparente (no fluorescente), 4ta violeta eléctrico (fluorescente), 5ta verde limón (fluorescente), el extracto rojo y amarillo presentaron 4 bandas del mismo color: 1era banda verde muy claro(fluorescente), 2da banda celeste estándar (fluorescente), 3era banda celeste (fluorescente), 4ta banda verde limón. Se midieron las alturas de las bandas y se hallaron los valores de Rf para identificarlos con los valores de algunos estándares de antocianinas, finalmente se recortaron las bandas y se disolvieron para para luego hacer las lecturas de las soluciones obtenidas en un espectrofotómetro de UV-Visible.

- **Espectros de antocianinas:**

El análisis espectrofotométrico UV se usa para identificar y cuantificar antocianinas, teniendo en cuenta que el espectro de absorción de antocianinas depende del pH. Las antocianinas en metanol (HCl 0.1%) se caracterizan por presentar dos máximos de absorbancia una en región visible Banda I (465 y 560 nm) y otro más pequeño Banda II (270-280 nm), (Lock ,1994; Aguilera, 2011, p. 126-129).

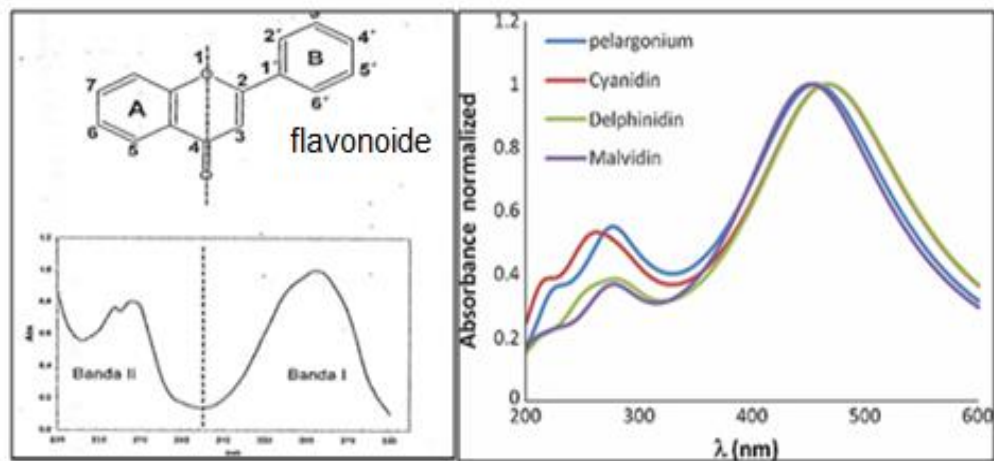


Figura 38. Estructura de un flavonoide y el espectro de las bandas II y I de los estándares de antocianinas. **Fuente:** Medina, (2012).

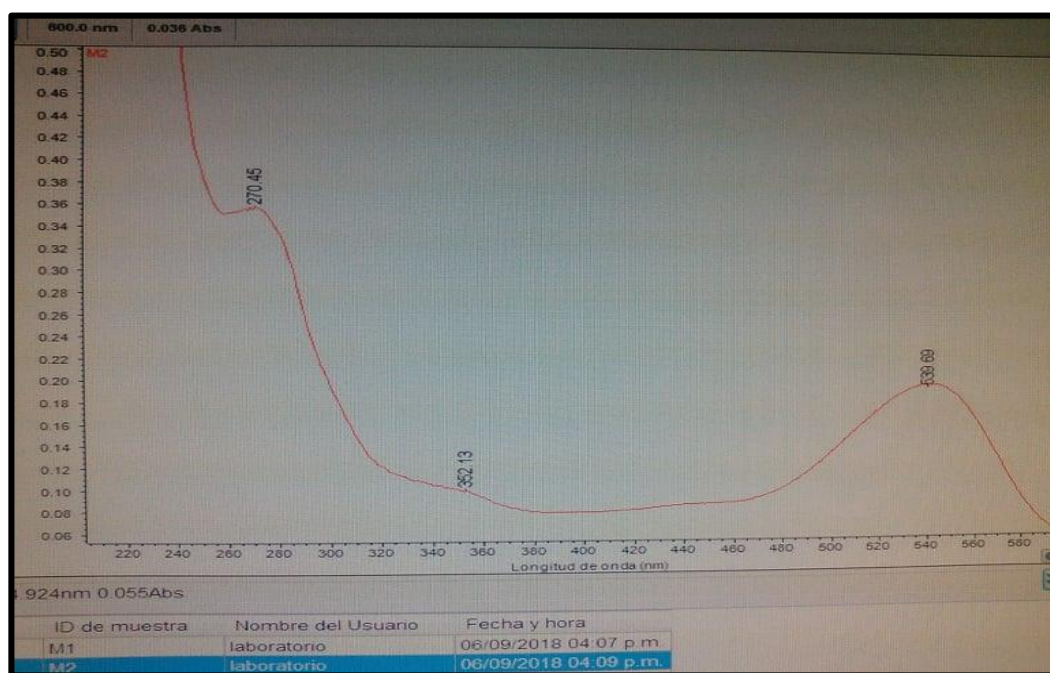


Figura 39. Espectro de absorción con pico característico entre 465 a 560nm equivalente a la segunda elución del extracto metanólico de variedad rojo-morado.

Fuente: propia

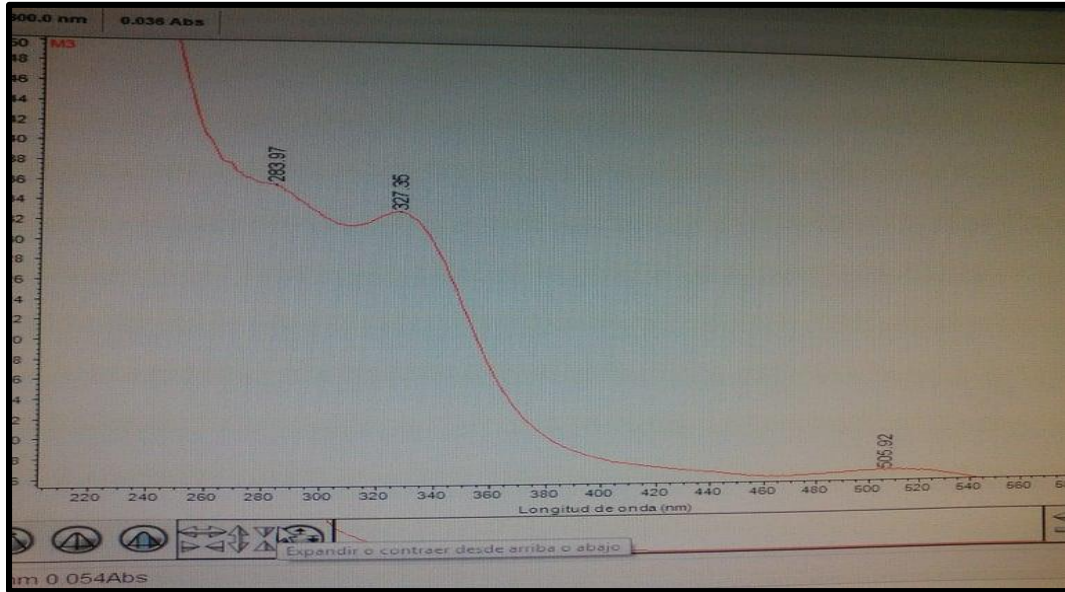


Figura 40. Espectro de absorción de la tercera elución del extracto metanólico de variedad rojo morado. *Fuente:* propia

Los únicos espectros que presentaron bandas I y II entre (465 - 560 nm) y entre (270- 280 nm), características de los estándares de antocianina fueron del extracto metanólico de variedad del fruto rojo-morado, los espectros UV de las eluciones cromatográfica del extracto rojo y amarillo presentaron señales en longitudes de onda entre 200-430 nm.

Tabla 17.

Valores de Rf del estándar de antocianinas.

<i>Estándares Antocianinas</i>	Rf butanol- acético-H₂O	λ máx. metanol HCl	Color en papel (no fluorescencia)
Pelargonidina (Pg) -3glucoside	0.44	Aprox. 505	Rojo
Pelargonidina (Pg)	0.31	520	Rojo
Cianidina (Cy) -3glucoside	0.38	523	Magenta
Cianidina (Cy) -3:5diglucoside	0.28	(520-526)	Magenta
Peonidina (Pn) -3glucoside	0.41	(520-526)	Magenta
Peonidina (Pn) -3:5diglucoside.	0.31	(520-526)	Magenta
Delfinidina (Dp) -3glucoside	0.26	(532-537)	Purpura
Malvidina (Mv) -3glucoside	0.38	(530-550)	Purpura
Malvidina (Mv) -3:5diglucoside	0.31	(530-550)	Purpura

Fuente: Harborne (1962), p 171-172,175-176.

Tabla 18.

Resultados de los Rf de las bandas de los extractos de *Solanum betaceum* utilizando como fase móvil n-butanol: ácido acético: agua (4:1:5)

<i>Bandas o eluciones</i>	<i>Rf de los extractos del fruto Solanum betaceum</i>				
	<i>Rf Extracto Rojo-morado</i>	<i>λ máx. 500-560nm</i>	<i>Luz visible</i>	<i>Extracto Rojo</i>	<i>Extracto Amarillo</i>
Banda 1	0.31	539.69	purpura	-----	-----
Banda 2	0.41	magenta	0.62	0.59
Banda 3	0.51	505.92	Rojo transparente	0.86	0.81
Banda 4	0.86	No banda	-----	-----	-----

Nota: Los demás espectros se encuentra en el anexo 14 y15.

La tabla 18 indica que el fruto *Solanum betaceum* de variedad rojo y amarilla no presentan antocianinas ya que en los espectros no se encontró una banda entre 465-560nm, la cual es característica de las antocianinas, sin embargo, el extracto de variedad rojo-morado sí presento bandas entre 465-560nm de longitud de onda, adicional a esto se podría afirmar que las antocianinas encontradas son tres: Pelargonidina-3glucósido ya que esta elución presentó una coloración rojiza transparente y se encontró un pico 505.92 nm que es característico de

esta sustancia, Peonidina-3glucósido ya que la banda presentó un color magenta en el papel y un Rf 0.41 y Malvidina ya que presentó un Rf de 0.31, un pico 539.69nm y una coloración púrpura en el papel.

4.5 Capacidad antioxidante para extracto etanólico a partir fruto liofilizado de

Solanum betaceum cav:

4.5.1. Curva de capacidad antioxidante del ácido ascórbico

Los resultados de la tabla 19 indican los valores de las absorbancias de las diferentes concentración del ácido ascórbico (estándar para cuantificar las muestras problema por el método DPPH) permitieron hallar la capacidad antioxidante del estándar utilizando la fórmula explicada junto a la tabla 7.

Tabla 19.

Resultados del % de capacidad antioxidante del estándar de ácido ascórbico.

<i>Concentración de Ácido ascórbico (µg/mL)</i>	<i>Absorbancia 517 nm</i>	<i>% capacidad antioxidante</i>
8	0.438	6.41
10	0.417	10.90
30	0.232	50.34
40	0.133	71.50
50	0.050	89.32
Control DPPH	0.468	-----

Nota: en este caso no se realizó blanco del estándar ya que este no presentó coloración.

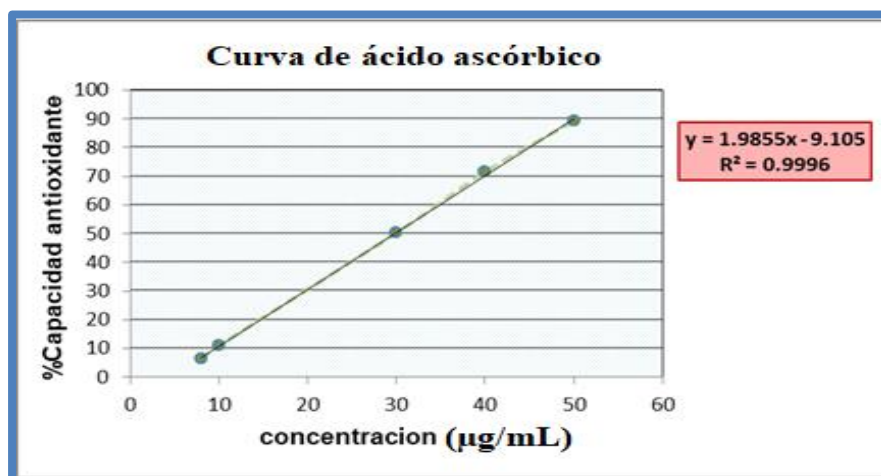


Figura 41. Curva del porcentaje de capacidad antioxidante del estándar de ácido ascórbico.

Finalmente se obtuvo la ecuación de la recta: $y = 1.9855x - 9.105$ con un coeficiente de correlación de $R^2 = 0.9996$, obtenida de la curva de ácido ascórbico. Esta ecuación nos permitió hallar IC50 de ácido ascórbico que fue de 29.77 (µg/mL) de ácido ascórbico.

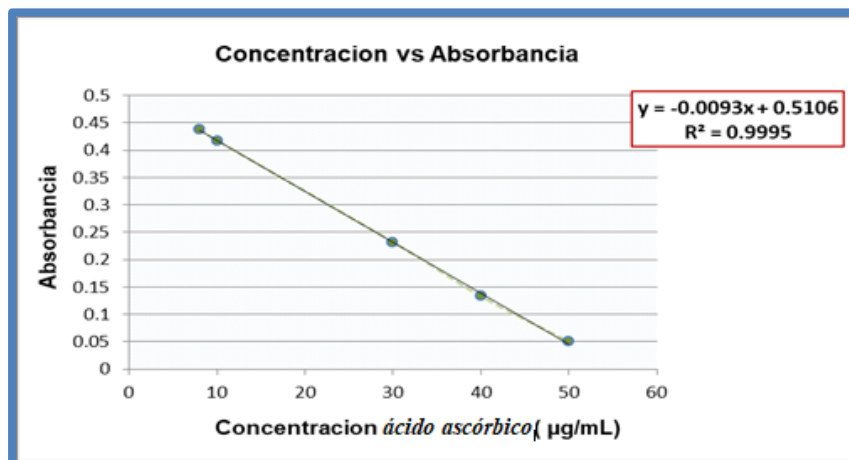


Figura 42. Curva de calibración del ácido ascórbico

La curva de calibración de ácido ascórbico presentó una ecuación de la recta: $Y = -0.0093X + 0.5106$ con un coeficiente de correlación de $R^2 = 0.9995$ el cual se empleará para calcular las concentraciones de las muestras.

4.5.2 Capacidad antioxidante de los frutos *Solanum betaceum* Cav. de variedades rojo, amarillo y rojo-morado.

- *Fruto amarillo*

Tabla 20.

Capacidad antioxidante y IC₅₀ del fruto liofilizado amarillo de *Solanum betaceum* Cav. (tomate de árbol).

Concentración (µg/mL) extracto amarillo	Absorbancia 517nm (muestra-blanco muestra)	% capacidad antioxidante (% de inhibición)
1500	0.254	39.67 +/- 0.23
2100	0.204	51.43 +/- 0.59
3000	0.144	65.83 +/- 0.24
4000	0.076	81.95 +/- 0.00
IC 50 = 2069.89 (µg/mL)		

Para calcular el porcentaje de capacidad antioxidante del fruto amarillo primero se utilizó la fórmula ya establecida de DPPH empleando la absorbancia de cada concentración del extracto amarillo, luego se calculó el IC₅₀ a partir de la ecuación de la recta de la curva de concentración vs % capacidad antioxidante del fruto liofilizado amarillo como se observa

figura 43 encontrando: $y = 0.01674x + 15.35$, se reemplaza en la variable “y” el valor de 50 para poder encontrar la concentración al 50 %. El IC50 hallado fue de $IC_{50}, x = (50 - 15.35) / 0.01674 = 2069.89$ ($\mu\text{g/mL}$), esto se entiende que para capturar el 50% de radicales libres de DPPH es necesario $2069.89 \mu\text{g/mL}$, así un menor valor del IC50 indicaría una mayor capacidad antioxidante ya que requiere menor cantidad de muestra para capturar más radicales libres.

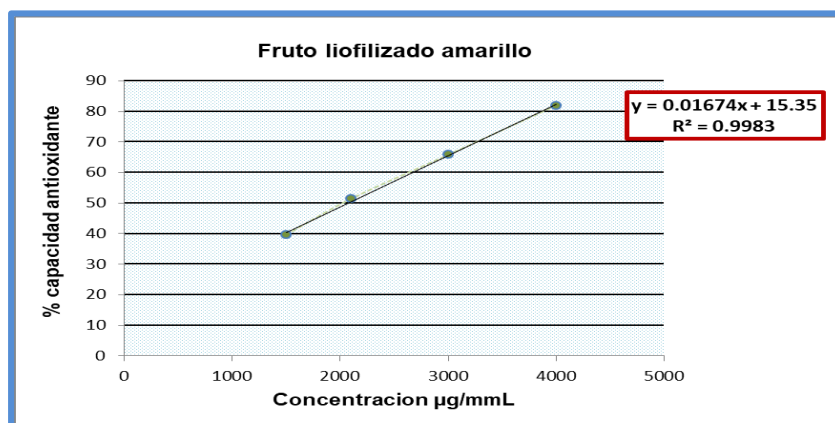


Figura 43: Porcentaje de captación de radicales libres del fruto liofilizado de variedad amarilla.

- **Fruto rojo**

Tabla 21.

Resultados de capacidad antioxidante y IC50 del fruto liofilizado rojo de Solanum betaceum Cav. (tomate de árbol).

Concentración ($\mu\text{g/mL}$) muestra rojo	Absorbancia 517nm (muestra-blanco muestra)	% capacidad antioxidante
1500	0.189	54.35 +/- 0.00
2100	0.142	65.78 +/- 0.24
3000	0.079	80.88 +/- 0.14
4000	0.020	95.18 +/- 0.24
IC 50 = 1172.60 ($\mu\text{g/mL}$)		

Se realizó el cálculo del porcentaje de capacidad antioxidante de fruto rojo utilizando la fórmula de DPPH y reemplazando las absorbancia de cada concentración de la tabla 21, a

partir de esta se construye la curva fruto liofilizado rojo encontrando la ecuación de la recta de: $y = 0.01628x + 30.91$, finalmente se determina el IC50.

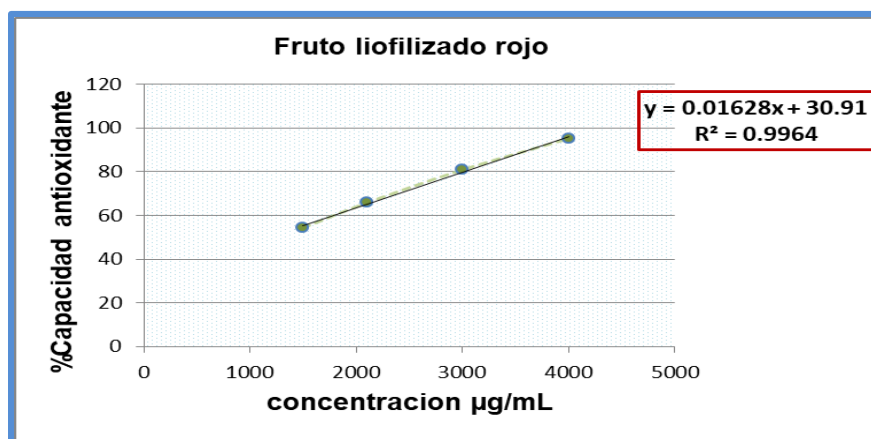


Figura 44. Concentración del extracto rojo vs porcentaje de capacidad antioxidante

Se calculó IC50 para lo cual la ecuación de la recta obtenida fue: $Y = 0.01628 X + 30.91$, se reemplazó el valor de “y” por 50 y se halló la concentración “X”.

- **Fruto rojo-morado**

Tabla 22.

Resultados de capacidad antioxidante y IC50 del fruto liofilizado rojo – morado de Solanum betaceum Cav. (Tomate de árbol).

Concentración (µg/mL) muestra rojo --morado	Absorbancia 517nm (muestra-blanco muestra)	% capacidad antioxidante
1000	0.237	46.16 +/- 0.69
1400	0.174	60.06 +/- 0.52
2000	0.079	82.15 +/- 0.13
2400	0.029	93.16 +/- 0.60
IC50= 1101.82 (µg/mL)		

Se realizó el cálculo del porcentaje de capacidad antioxidante del fruto utilizando los datos de absorbancia de la tabla 22 y reemplazando en fórmula establecida de DPPH, se encuentra la ecuación de la recta a partir de la curva de fruto rojo-morado de *Solanum betaceum Cav*, encontrando una ecuación de $y = 0.03408x + 12.45$ (figura 45), se reemplazó en “Y” el valor

de 50 y se despejo “X” = 1101.82.

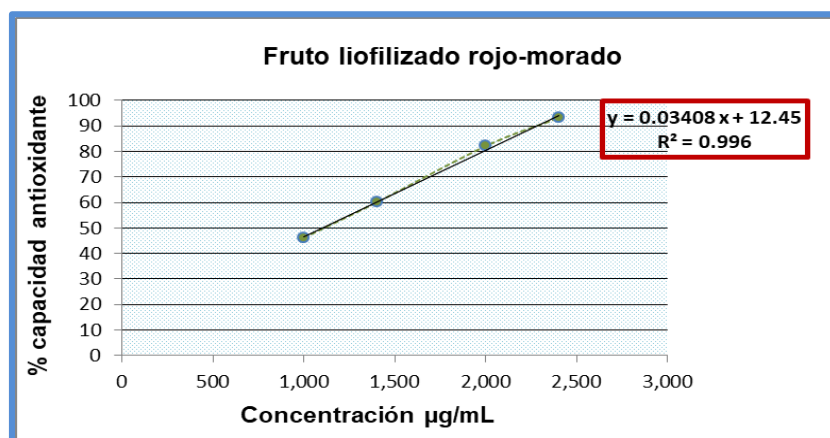


Figura 45: Concentración del extracto rojo-morado vs porcentaje de capacidad antioxidante.

Tabla 23.

Resultados de la capacidad antioxidante en mg ácido ascórbico/g fruto liofilizado *Solanum betaceum Cav.*

<i>Muestras</i>	<i>IC50 del extracto etanolico</i>	<i>Capacidad antioxidante (mg ácido ascórbico/1g fruto liofilizado Solanum betaceum Cav.</i>
<i>Amarilla</i>	2.07 mg/mL	15.70
<i>Rojo</i>	1.17 mg/mL	18.87
<i>Rojo-morado</i>	1.10 mg/mL	23.25
<i>Ácido. Ascórbico (estándar)</i>	0.030 mg / mL	—

Se determinó la capacidad antioxidante en unidades de ácido ascórbico (AA) para esto se trabajó con la ecuación de la recta de curva de estándar de concentración vs absorbancia de: $Y = -0.0093X + 0.5106$ con un coeficiente de correlación de $R^2 = 0.9995$, observándose los resultados de cada variedad del fruto, la tabla 23 indica que en esta investigación se encontró una mayor capacidad antioxidante en el fruto rojo-morado con 23.25 mg ácido ascórbico/g muestra, en segundo lugar se encuentra el fruto rojo con 18.87mg ácido ascórbico/g muestra y en último lugar fruto amarillo con 15.70mg ácido ascórbico/g muestra, se sabe que la

capacidad antioxidante abarca a todos los antioxidantes presentes en cada fruto ejemplos vitaminas A, E, C, polifenoles, antocianina, carotenoide, flavonoides, etc.

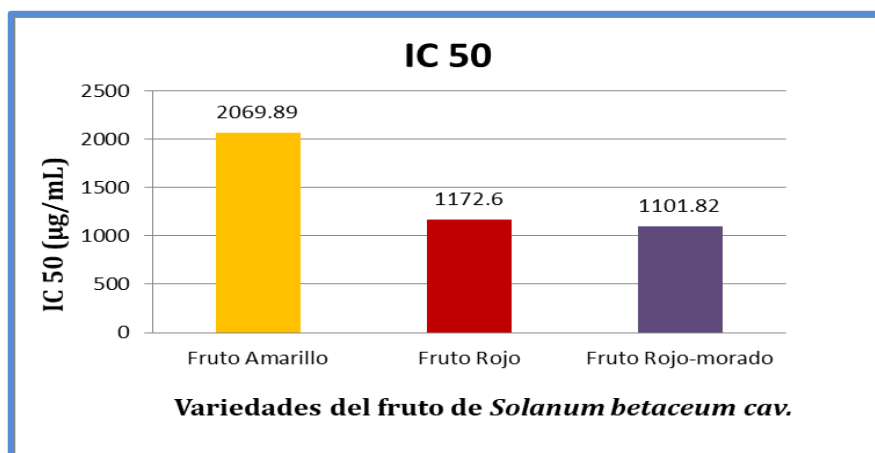


Figura 46. Comparación del IC 50 del estándar de ácido ascórbico y las tres variedades del fruto.

La figura 46 indica que el mejor IC50 lo tiene el fruto rojo-morado ya que este presentó la menor concentración entre las tres variedades del fruto con un valor de 1101.82µg/1mL = 1.10mg/ mL como se indica en la tabla 23 y en la figura 46, el IC50 es la cantidad de muestra que se utilizará para capturar 50 % de los radicales libres es por ello que el fruto rojo- morado tiene mayor poder de captura por requerir menor concentración >2^{do} fruto rojo >fruto amarillo, en este caso se necesitará mayor concentración del fruto amarillo para que pueda capturar radicales libres de DPPH en un 50 %, se observa también que el estándar de ácido ascórbico presenta alto poder antioxidante ya que solo necesitó muy poca concentración de 29.77µg/mL, es por ello que se usa como estándar.

Tabla 24.

Resultados de los análisis de compuestos de antioxidante del fruto de Solanum betaceum Cav. de las variedades rojo, amarillo y rojo-morado del fruto completo liofilizado.

Frutos de Solanum betaceum Cav.	Polifenoles totales (mg de ácido gálico/ 1g de muestra liofilizada)	Vitamina C (mg ácido ascórbico /1g muestra liofilizada)	Antocianinas totales (mg de cianidina-3 glucósido/1g muestra liofilizada)	Capacidad antioxidante (mg ácido ascórbico /1g muestra liofilizada)
Variedad rojo-morado	6.821	0.81	0.261	23.25
Variedad rojo	4.168	0.65	0.069	18.87
Variedad amarillo	3.286	0.62	0.076	15.70

Como se observa en la tabla 24 el que presenta mayor capacidad antioxidante entre las tres variedades es el fruto rojo-morado es por ello que se eligió a este para la elaboración de la crema.

4.6 Preparación de la crema antioxidante

4.6.1 Resultados de solubilidad del fruto liofilizado de Solanum betaceum Cav.

Los resultados de solubilidad que se probaron con el fruto liofilizado de *Solanum betaceum* Cav. variedad rojo-morado a fin de encontrar el mejor solvente se observa en la figura 47 y la tabla 25.

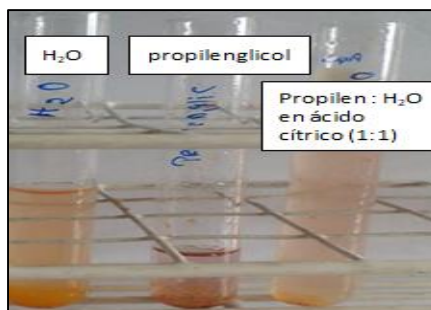


Figura 47. Solubilidad del liofilizado de fruto rojo-morado de *Solanum betaceum* Cav. en diferentes disolventes. **Fuente:** propia

Tabla 25.

Resultados de solubilidad del fruto liofilizado rojo-morado de Solanum betaceum Cav. (tomate de árbol).

	<i>agua</i>	<i>propilenglicol</i>	<i>Propilenglicol :agua (1:1)</i>	<i>Propilenglicol :agua(1:1)ácido cítrico</i>
<i>Liofilizado de variedad rojo-morado.</i>	+	++	+++	+++++

Nota: (+) poco soluble, (++) soluble, (+++) muy soluble, (+++++) muy soluble y evita la oxidación.

Como se observa en la tabla 25, el mejor sistema de solventes fue Propilenglicol-agua (1:1) con adición de ácido cítrico, ya que este evita que el extracto llegue a oxidarse. Se realizaron varias pruebas para incorporar el extracto, siendo la mejor, la adición del extracto posterior a la de la crema base.

4.6.2 Formulación de la crema base:

Se incorporó el extracto de variedad rojo-morado en tres concentraciones de 0.5%, 2%, 5%.

Tabla 26.

Formulación de crema para tres concentraciones distintas.

<i>Excipientes</i>	<i>Crema base</i>	<i>Crema A (0.5%)</i>	<i>Crema B (2%)</i>	<i>Crema C (5%)</i>
<i>Alcohol cetílico</i>	7.5 g	7.5 g	7.5 g	7.5 g
<i>Cera de abeja</i>	0.5 g	0.5 g	0.5 g	0.5 g
<i>Propilenglicol</i>	5 g	5 g	5 g	5 g
<i>Tween 20</i>	10 g	10 g	10 g	10 g
<i>Extracto del fruto</i>	-----	0.037g	0.15g	0.37g
<i>Agua destilada</i>	csp	csp	csp	csp

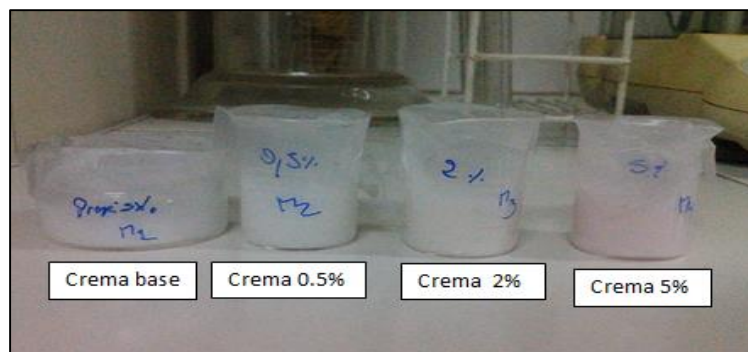


Figura 48. Crema a base del fruto liofilizado de tomate de árbol de variedad rojo-morado a diferentes concentraciones. *Fuente:* propia

4.6.3 Determinación de la capacidad antioxidante de la crema a base del fruto liofilizado de *Solanum betaceum Cav. de variedad rojo-morado.*

Tabla 27.

Capacidad antioxidante de la crema base a diferentes concentraciones.

Crema Base	
Concentración mg/mL	% de capacidad antioxidante
0.5	4.250 +/- 0.00
2	5.473 +/- 0.162
5	6.703 +/- 0.167
10	9.350 +/- 0.00
IC50 = 88.39 mg/mL	

Tabla 28.

Capacidad antioxidante de la crema a una concentración del 0.5 %

Crema A (extracto al 0.5%)	
Concentración mg/mL	% Capacidad antioxidante
0.5	5.693 +/- 0.179
2	11.490 +/- 0.62
5	17.183 +/- 0.358
10	26.710 +/- 0.310
20	43.480 +/- 0.620
IC50 =23.04 mg/mL	

Tabla 29.*Capacidad antioxidante de la crema a una concentración del 2 %*

Crema B (extracto al 2%)	
Concentración mg/mL	% de Capacidad antioxidante
0.5	6.893 +/- 0.162
2	18.410 +/- 0.00
5	28.137 +/- 0.167
10	44.097 +/- 0.162
20	73.370 +/- 0.00
IC50 =12.36 mg/mL	

Tabla 30.*Capacidad antioxidante de la crema a una concentración del 5 %*

Crema C (extracto al 5%)	
Concentración mg/mL	% de Capacidad antioxidante
0.5	7.967 +/- 0.179
2	19.977 +/- 0.185
5	34.263 +/- 0.179
10	54.35 +/- 0.00
20	87.683 +/- 0.179
IC50 =9.81mg/mL	

Los resultados de la tabla 27, 28, 29 y 30 indican que al agregarle el extracto del fruto de variedad rojo-morado el % de capacidad antioxidante aumenta a medida que aumente la concentración del extracto, estos resultados demuestran que la crema presenta capacidad antioxidante, entre las tres cremas la que presentó mejores resultados fue la crema C ya que indicó un IC50 de 9.81 mg/mL, entendiéndose que la crema C actuaría capturando 50% de radicales libres (DPPH*) cuando presente una concentración 9.81mg/mL del extracto de fruto rojo-morado, a diferencia de crema A y B ya que necesitaría una concentración mayor del extracto.

4.6.4 Control de calidad de la crema antioxidante

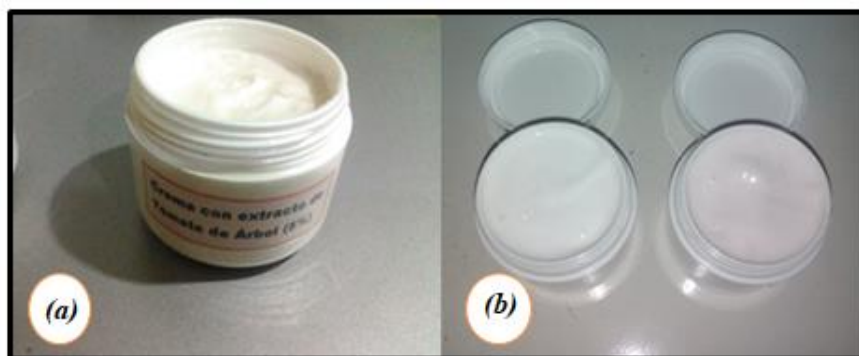


Figura 49. (a) Crema antioxidante de fruto liofilizado de *Solanum betaceum* de variedad rojo-morado al 5%, (b) crema base y crema con extracto del fruto.

Fuente: propia

Tabla 31.

Características organolépticas de la crema

<i>Ensayo</i>	<i>Método organoléptico</i>	<i>Resultado</i>
Color	Visual	rosa brumoso
Olor	Olfato	agradable
Aspecto y textura	Visual y táctil	Homogénea, untuoso al tacto, libre de grumos.

Tabla 32.

Control físico químicos de la crema.

Resultados de extensibilidad de la crema			
Peso	Área de la superficie (cm²)		
	0.5%	2%	5%
<i>Placa de vidrio :121,6 g</i>	57	52	48
50 g	75	68	63
100 g	85	78	75
200 g	92	87	85
Resultados del pH de la crema			
pH	6.4	6.0	6.1

El análisis organoléptico de las tres cremas elaboradas presentaron propiedades organolépticas deseables, en realidad no existe ninguna norma o especificación oficial que indique las características físicas de la crema, según la Agencia Nacional de Vigilancia Sanitaria (ANVISA) de Brasil (2005), los análisis se realizaron directamente con los sentidos. Los resultados de pH de las cremas se encuentran en un rango especificado de pH 5,0 a pH7 esto indica que el pH de la crema es ácido, favoreciendo así la estabilidad de los flavonoides y de otros antioxidantes, del mismo modo presenta un pH similar a la piel, la extensibilidad de la crema es adecuada ya que al aumentar los pesos en cada placa el área aumenta constantemente para las tres cremas como observa tabla 32.

CAPITULO V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Esta investigación tuvo como objetivos la cuantificación de los antioxidantes conocidos como polifenoles, vitamina C y antocianinas con el fin de evaluar la capacidad antioxidante presente en las variedades rojo, amarillo y rojo-morado del fruto *Solanum betaceum Cav.* (tomate de árbol) para finalmente elegir la mejor variedad del fruto que presente mayor capacidad antioxidante y elaborar con este una crema antioxidante, para lo cual se analizaron los frutos que fueron recolectados en el distrito de Chinchao y LLata ubicadas en la región de Huánuco, empleando métodos espectrofométricos y cromatográfico.

Los métodos empleados fueron adecuados para el análisis de esta investigación ya que son empleados frecuentemente en artículos científicos y principalmente se encuentran validados por AOAC (Association of Official Analytical Chemists) internacional, a estos se suman los instrumentos empleados como micropipetas, espectrofotómetro UV-Visible, pH metro, los cuales se encontraron calibrados y fueron verificados; así mismo para el análisis de cuantificación de los antioxidantes y la elaboración de la crema se realizaron varias pruebas pilotos por cada método con el fin de brindar los mejores resultados, en adición se revisó y se cruzó información acerca del tema y temas parecidos para el desarrollo de esta investigación, por tal motivo se consideran válidos los resultados obtenidos.

El estudio fitoquímico de los extractos etanólicos de *Solanum betaceum Cav.* (tomate de árbol) de las variedades rojo, amarilla y rojo-morado mostrados en la tabla 10 indican una presencia mínima de saponinas para las 3 variedades, presencia de antocianidinas únicamente en el fruto rojo-morado, sin embargo, las tres variedades presentan presencia moderada de alcaloides y abundantes flavonoides, fenoles, taninos, estos fueron comparados

con la investigación de Morales y Romero (2009) p.79 quienes confirman los resultados ya que indican ligera presencia de saponinas y positivos para flavonoides, taninos y alcaloides sin especificar la variedad), según Huaynates (2017) p.67-68 el fruto rojo de Cajamarca presentó taninos, flavonoides, leuco antocianidinas, los alcaloides dieron positivo, sin embargo indica que los esteroides dan negativo, lo cual contradice a nuestros resultados que tuvieron una presencia mínima de esteroides en las tres variedades y que fue semejante a lo investigado por Alvarado, et al.(2003) p.68 quien indica positivo para alcaloides esteroidales, esto pudo haber marcado negativo quizá porque no se trabajó con el fruto maduro o por el desarrollo del fruto en otra área geográfica.

En cuanto a los polifenoles totales cuantificados en esta investigación en la cual se trabajó con el fruto liofilizado completo de tomate de árbol (semilla, cáscara y pulpa) de la región de Huánuco la variedad que presentó mayor cantidad fue variedad rojo-morado (6.821)> rojo (4.168) > amarillo con 3.286 mg AG/g muestra, sin embargo otras investigaciones realizadas con este fruto peruano fue de Carrasco y Encina (2008) quienes estudiaron a la variedad amarilla de la región Junín encontrando 1.30 mg AG/g muestra (pulpa y semillas), Muñoz et al.(2007) y (2009) trabajaron con este fruto peruano e indicaron que los polifenoles totales se encuentran en mayor cantidad en la cáscara del fruto > semilla > pulpa, los resultados de Vasco et al.(2009) p.282 quienes estudiaron el fruto de Ecuador coinciden en un valor próximo con respecto a esta investigación indicando niveles altos de polifenoles para la variedad amarilla: cáscara (3.87)> semilla(0.94)> pulpa (0.78) mg AG/1g muestra y para el fruto rojo-morado cáscara (6.20) > semilla (1.52) > pulpa (1.13) mg AG/1g muestra, no se llegó a encontrar información de la cuantificación de polifenoles del fruto completo de las variedades, sin embargo, Torres (2012) estudió el fruto rojo de Venezuela (pulpa y semilla) encontrando 1.39 mg AG/1g muestra, por consiguiente esto demuestra que los frutos que

presenten mayor cantidad de polifenoles totales tienen el siguiente orden: variedad rojo-morado >variedad roja> variedad amarilla, pero no hay una comparación exacta de los valores de polifenoles de cada variedad investigada.

Los resultados de vitamina C en esta investigación indican un alto contenido para el fruto rojo-morado de 0.81> fruto rojo 0.65 > 0.62 fruto amarillo mg AA/1g muestra, los cuales se compararon con los resultados de Prieto (2016) p.41 donde se analizaron las pulpa y la semilla indica que el fruto rojo tiene 0.42 y variedad amarilla 0.33 mg de AA en 1 gramo de muestra, sin embargo, Huayana (2017) trabajo con fruto de Apurímac encontrando 0.56 mg AA/g en la pulpa y semilla del fruto rojo esto demuestra que la variedad roja presenta mayor vitamina C que la variedad amarilla. Se encontraron investigaciones que estudiaron al fruto por separado, Carrasco y Encina (2008) analizaron la semilla del fruto amarillo de la región Junín encontrando 0.161mg AA/g muestra; Vasco et al. (2009) encontró en los frutos de Ecuador de variedad amarilla 0.17 y en la variedad rojo-púrpura 0.16 mg AA/g muestra, estos últimos valores son menores ya que solo se estudió la pulpa del fruto, al igual que Torres (2012) estudió la pulpa de variedad amarilla de Venezuela encontrando 0.233mg AA/g muestra, Kerkhofs et al. (2005) estudio al fruto completo de variedad roja de Nueva Zelanda encontrando 0.34mgAA/g muestra, p.10.

El método de pH diferencial dio como resultado en esta investigación un mayor valor de antocianinas para el fruto rojo-morado (0.261 mg/g muestra) comparado con el fruto amarillo (0.076 mg/g muestra) y el fruto rojo (0.069 mg cianidina-3-o –glucosido /1g muestra) estos resultados fueron menores al compararlo con los estudios de Vasco et al. (2009) quienes estudio el fruto completo y encontró en el fruto de Ecuador de variedad rojo-morado 0.38 mg de cianidin-3-o –glucósido/1g muestra y no encontraron antocianinas en la variedad amarilla, Prieto (2016) en su investigación indicó que la variedad amarilla no

presenta antocianinas, sin embargo, el fruto rojo presenta 0.085mg de cianidina-3-glucósido /g muestra. Los valores cuantificados de antocianinas monoméricas en esta investigación para los frutos rojo y amarillo no se consideraran ya que al momento de preparar la disolución con buffer de KCl a pH=1 estos tomaron la misma coloración amarilla a diferencia del extracto rojo–morado que cambio de coloración, según Vásquez (2016) las antocianinas se caracterizan por la variación de su color debido al cambio de su estructura química cuando se le varia el pH, los valores de antocianinas del variedad amarilla y rojo fueron descartados ya que los resultados de los espectros de UV–Visible tanto para el fruto amarillo y el rojo no presentaron la banda I o un pico en (465 a 560 nm) que son características de las antocianinas según Lock (1994), según Carrasco (2008) y Vasco (2009) mencionan que la variedad amarilla y rojo del tomate de árbol presentan alta cantidad β -caroteno tomando un color amarillo o naranja, quizás esto pudo haber interferido al momento de leer la muestra dando un valor que no le corresponde además de lo mencionado ya por Prieto (2016) y Vasco et al. (2009), esto podría corroborarse con la prueba de Rosenheim la cual dio positiva para antocianidinas en el fruto rojo-morado tomando una coloración roja muy fuerte y resultado negativa con los frutos rojo y amarillo, según Bobbio y Rodríguez (1983) quienes estudiaron las antocianinas del tomate de árbol de Brasil identificando a las antocianinas Malvidina-3 glucósido, Peonidina-3 glucósido y Pelargonidina-3 glucósido los cuales no presentaron fluorescencia bajo luz ultravioleta pag.191-193.

Los resultados de esta investigación en la cuantificación de antioxidantes comparados con otras literaturas variaron y algunos coincidieron, sin embargo no hay un valor exacto para cada variedad del fruto *Solanum betaceum*, esto pudo haber sido por varios factores que influyen como el estado de maduración del fruto, el clima, hábitat, el tipo de solvente

empleado para la maceración, el métodos utilizado para la cuantificación etc., Bárcenas y Preciado (2012) p.49; Torres (2018); Ávila (2016).

La capacidad antioxidante de un fruto depende de la actividad antioxidante de sus diferentes compuestos bioactivos como compuestos fenólicos, carotenos, antocianinas, ácido ascórbico, flavonoides, etc., esto quiere decir que cada uno aporta su potencial antioxidante según Carrasco y Encina (2008), los resultados de la tabla 24 muestran que entre los antioxidantes cuantificados el que presenta mayor aporte son los polifenoles totales en las tres variedades de fruto *Solanum betaceum Cav.* (Tomate de árbol) encontrando la capacidad antioxidante mayor en el fruto rojo-morado con un valor de 23.25 > rojo 18.87 > amarillo 15.70 de mg AA/1g muestra liofilizada, esto es corroborado con los resultados de Kerkhofs et al. (2005) que dieron a la variedad roja 16.59 y a la variedad amarilla 10.02 μ mol AA/100; Vasco (2009) p.282 estudió los frutos del Ecuador por partes encontrando para fruto amarillo: pulpa (2.3 +/- 0.1), cáscara(22.4+/- 4), semilla (3.8+/- 0.6) μ mol Trolox/1g muestra y para el fruto rojo-morado: pulpa (3+/- 0.4), cascara(40+/- 3), semilla (9.3 +/- 0.4) μ mol Trolox /g muestra, esto hace entender que la cáscara presenta mayor capacidad antioxidante.

El IC50 mide la efectividad de la muestra para inhibir o capturar los radicales libres, esto quiere decir que a menor valor IC50 (para poder actuar en un 50 por ciento) es mayor la capacidad antioxidante, los resultados muestran que el mejor valor de las tres variedades del fruto lo presenta el fruto rojo-morado con 1101.82 μ g/ 1mL, es por ello que fue seleccionado para ser utilizado en la elaboración de la crema antioxidante.

Se elaboró la crema incorporando tres concentraciones diferentes del extracto disuelto en Propilenglicol-agua (1:1), 0.5% (crema A), 2% (crema B) y 5% (crema C), de cada crema se prepararon cinco concentraciones distintas con el fin de comparar su porcentaje de capacidad antioxidante por el método DPPH, se observó que a medida que aumenta la concentración

del extracto en la crema, los valores de capacidad antioxidante aumentaron , la crema C (5%) fue la que presento la mayor capacidad antioxidante. También se determinó el IC 50 en las tres cremas elaboradas encontrando un mejor resultado en la crema C con un IC50 de 9.81mg/mL, esto indica que la crema capturar el 50 % de radicales libres empleando una baja concentración, indicando que la crema presenta capacidad antioxidante ya que muestra valores repetitivo haciendo uso del método de DPPH.

Zapata, L. M. (2014) menciona que las antocianinas son más estables cuando predomina el catión flavilio tomando un color rojo que se da cuando se encuentra en un pH 1(muy acido), sin embargo pierden su estabilidad cuando reaccionan con el oxígeno de forma directa o indirecta; esto fue un problema que presento en la elaboración de la crema antioxidante ya que luego de incorporar el extracto a la crema base esta tomo una coloración marrón, por ello se realizó una prueba incorporando vitamina C ya que esta funciona como conservante, sin embargo, el resultado fue el oscurecimiento de la crema, esto pudo deberse a reacciones de óxido-reducción las cuales dependieron del pH o por reacciones de hidrolisis que pudieron haber causado los excipientes de la crema llevando a una pérdida de electrones y al mismo tiempo oxidando a la vitamina C y a las antocianinas del extracto conduciendo a la inestabilidad de la crema Montero (2014), sin embargo, al emplear el ácido cítrico el cual actúa también como un conservante, se obtuvo buenos resultados, la crema tomo la coloración rosada rojiza debido al coloración inicial del extracto, la importancia de este se debió a que funciona como un amortiguador de pH, teniendo otras propiedades buenas para la piel como eliminación de células muertas etc.

Tabla de resumen del resultado de las hipótesis

Hipótesis general	Resultado	Fuente
H₁	Se acepta	Existen elementos que lo confirman
Hipótesis específica	Resultado	Fuente
H₁	Se acepta	Existen elementos que lo confirman
H₂	Se acepta	Existen elementos que lo confirman
H₃	Se rechaza parcialmente	No existen elementos que lo confirman totalmente
H₄	Se acepta	Existen elementos que lo confirman
H₅	Se acepta	Existen elementos que lo confirman

CAPITULO VI. CONCLUSIONES

- Mediante el método Folin-Ciocalteu, el contenido de compuestos polifenólicos presentes en la tres variedades del fruto liofilizado de *Solanum betaceum Cav.*(tomate de árbol) son: para la variedad rojo-morada (6.821mg AG/g muestra liofilizada), para la variedad rojo (4.168 mg AG/ g muestra liofilizada) y para la variedad amarilla (3.286 mg AG/g muestra liofilizada).
- El contenido de vitamina C (ácido ascórbico) encontrado fue para la variedad rojo-morado (0.81mgAA/g muestra), variedad rojo (0.65 mg AA/g muestra liofilizada) y variedad amarilla (0.62 mg AA/g muestra).
- El contenido de antocianinas totales en el fruto liofilizado de *Solanum betaceum Cav.* en las tres variedades fue para el fruto rojo-morado 0.261 mg cianidina-3-glucósido/g muestra liofilizada, mientras que los frutos de variedad roja y amarilla no presentaron antocianinas ya que fueron corroborados por espectros UV –Visible, por la prueba de Rosenheim y por las literaturas revisadas.
- Se determinó la capacidad antioxidante en las tres variedades del fruto liofilizado recolectados de región de Huánuco haciendo uso del método DPPH, encontrando un mayor valor en el fruto rojo-morado con 23.25 mg AA/g muestra, así mismo el fruto rojo con 18.87 y el fruta amarillo con 15.70 mg AA/g muestra, estos resultados fueron importantes para la elección del fruto con el cual se elaboró la crema, el fruto elegido para la elaboración de la crema fue de variedad rojo-morado, los resultados de la prueba fitoquímica para las tres variedades indicaron presencia de metabolitos secundarios como flavonoides, alcaloides, taninos, polifenos, antocianidinas, estos confirman la presencia de antioxidantes en estos fruto .

- La determinación de la capacidad antioxidante de la crema elaborada a base del extracto liofilizado rojo-morado se realizó por medio del método DPPH, obteniéndose buenos resultados, ya que las tres concentraciones elaboradas de la crema a base del extracto de 0.5%, 2% y 5% dieron un IC50 a una concentración de 23.04mg / mL, 12.36 mg / mL y 9.81mg/mL, encontrando así una mejor capacidad antioxidante para la crema al 5%.

VII. RECOMENDACIONES

- Realizar la extracción de antocianinas del fruto rojo-morado a diferentes temperaturas con el fin de encontrar la mejor extracción en esta variedad del fruto y así determinar los tipos de antocianidinas presentes.
- Medir la actividad antioxidante mediante pruebas in vivo para confirmar su potencial antioxidante en la piel del con el fin de dar a conocer la variedad rojo-morado con un buen potencial antioxidante.
- Aislar los compuestos bioactivos responsables de su actividad antioxidante en las tres variedades trabajadas en esta investigación.