

**UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS**

FACULTAD DE MEDICINA HUMANA

UNIDAD DE POSGRADO

**“CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE *Averrhoa*  
*carambola* L. (CARAMBOLA) FRENTE A  
SISTEMAS GENERADORES DE RADICALES  
LIBRES”**

TESIS

Para optar el Grado Académico de Magister en Nutrición con mención en  
Aspectos Biológicos de la Nutrición

AUTOR

Gisela Oliveira Bardales

Lima – Perú

2014

Esta Tesis se ejecutó en el “Laboratorio de Bioquímica Clínica y Nutricional” del Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos con el Financiamiento del Segundo Concurso de Proyectos de Investigación de la Facultad de Medicina - UNMSM.

**Jurado Informante**

<b>Dr. Emilio Teodoro Guija Poma</b>	<b>Presidente</b>
<b>Dra. María Mercedes Soberón Lozano</b>	<b>Miembro</b>
<b>Dra. Luzmila Victoria Troncoso Corzo</b>	<b>Asesora</b>

**Jurado Examinador**

<b>Dr. Emilio Teodoro Guija Poma</b>	<b>Presidente</b>
<b>Dra. María Mercedes Soberón Lozano</b>	<b>Miembro</b>
<b>Dra. Luzmila Victoria Troncoso Corzo</b>	<b>Asesora</b>
<b>Dr. Jorge Arroyo Acevedo</b>	<b>Miembro</b>
<b>Dr. Sergio Gerardo Ronceros Medrano</b>	<b>Miembro</b>

La vida no siempre es como nos  
gustaría, pero hay que darle  
gracias a Dios por los momentos  
buenos y malos, ya que de ellos  
se aprende  
más de lo que esperamos.

## **DEDICATORIAS**

A mi madre, por su inmenso amor.  
y su constante apoyo para seguir  
esforzándome en mis logros  
personales y profesionales.

A mi padre (†), que desde el cielo  
se alegra con mis logros.

A mis hermanos, especialmente  
a Jéssica por su apoyo.  
Entusiasmo y preocupación  
para lograr mi objetivo

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Doctora Luzmila Victoria Troncoso Corzo, por su constante apoyo, por su confianza e invaluable colaboración en el logro de este trabajo. Por su entusiasmo y ejemplo para superar los obstáculos que se puedan presentar en nuestro camino hacia el cumplimiento de nuestros objetivos.

A la Magister Ivonne Bernui Leo por su valioso aporte en esta tesis.

A todas las personas que de una u otra manera me mostraron su apoyo y entusiasmo en la culminación de esta tesis.

## INDICE GENERAL

Lugar de Ejecución y Financiamiento .....	i
Jurado .....	ii
Pensamiento.....	iii
Dedicatorias.....	iv
Agradecimientos .....	v
Indice General .....	vi
Lista de Cuadros .....	vii
Lista de Tablas .....	viii
Lista de Figuras .....	ix
Resumen .....	x
Abstract .....	xi
Capítulo 1.- Introducción.....	1
Capítulo 2.- Marco Teórico .....	6
Capítulo 3.- Metodología .....	17
Capítulo 4.- Resultados y Discusión .....	24
Resultados .....	24
Discusión .....	30
Conclusiones .....	37
Recomendaciones .....	38
Referencias Bibliográficas .....	39

## Lista de Cuadros

	Página
Valor nutricional de la carambola en base a 100 gramos de parte comestible .....	16

## Lista de Tablas

	Página
Tabla 1. Capacidad Antioxidante de Fruto y Hojas de <i>Averrhoa carambola</i> L. (carambola) usando el método DPPH* .....	25
Tabla 2. Capacidad Antioxidante del Fruto y Hoja de <i>Averrhoa carambola</i> L. (carambola) usando el método FRAP .....	26
Tabla 3. Contenido de vitamina C en Fruto y Hoja de <i>Averrhoa carambola</i> L. (carambola) .....	27
Tabla 4. Contenido de Polifenoles en Fruto y Hoja de <i>Averrhoa carambola</i> L. (carambola) .....	28
Tabla 5. Contenido de Flavonoides en Fruto y Hoja de <i>Averrhoa carambola</i> L. (carambola) .....	29

## Lista de Figuras

	Página
Figura 1. Poder reductor del Fruto y Hoja de <i>Averrhoa carambola</i> L. (carambola) frente al Ferricianuro de Potasio .....	26
Figura 2. Correlación de Polifenoles con la Capacidad Antioxidante según método FRAP en el Fruto y Hojas de <i>Averrhoa carambola</i> L. (Carambola).....	29

## RESUMEN

Las frutas y las hojas de las plantas son fuente de una gran diversidad de compuestos con notables propiedades antioxidantes, que son de particular importancia para el ser humano ya que constituyen un elemento protector frente al efecto nocivo de los radicales libres. **Objetivos.**- El objetivo del presente estudio fue evaluar la capacidad antioxidante del extracto acuoso de *Averrhoa carambola* L. (carambola) frente a diversos sistemas generadores de radicales libres. **Metodología.**- El estudio es de tipo analítico, experimental, de tipo cuasi-experimental, transversal y prospectivo. Se prepararon los extractos acuosos del fruto y hoja frescos de *Averrhoa carambola* L. (Carambola), en los que se determinó cuantitativamente los contenidos de polifenoles, flavonoides y vitamina C, así como también se evaluaron sus propiedades mediante reacciones con el radical libre estable DPPH\*, el TPTZ-Fe<sup>+3</sup> y su capacidad para reducir el ferricianuro de potasio. **Resultados.**- El contenido de vitamina C fue más elevado en el fruto, mientras que los polifenoles estuvieron en mayor cantidad en la hoja; en cuanto a los flavonoides, éstos se encontraron en semejante cantidad tanto en fruto como en hoja. Con respecto a la capacidad de reaccionar con el radical libre estable DPPH\*, el IC50 que se obtuvo fue menor en la hoja, lo que indica que tiene una mejor actividad frente al DPPH\*, así como también el efecto antioxidante evaluado con la técnica FRAP mostró un valor más elevado para la hoja. También la hoja mostró tener un mayor poder reductor que el fruto sobre el ferricianuro de potasio. **Conclusión.**- Los resultados muestran que la hoja exhibe una mayor capacidad antioxidante que el fruto de la *Averrhoa carambola* L. (carambola).

**Palabras clave.**- Capacidad antioxidante, Radicales libres, *Averrhoa carambola* L., Frutos, Hojas.

## ABSTRACT

Fruits and leaves of plants are good resources of many diversity compounds which have wonderful antioxidant properties, very important to the man because they have substances that protect them against the injurious effects of free radicals. **Objectives.**- The objective of this study was to evaluate the aqueous extract *Averrhoa carambola* L. (carom) antioxidant capacity against some free radicals producers systems. **Metodology.**- The study is analytical, experimental, quasi-experimental, transverse and prospective type. Aqueous extracts of fresh fruit and leaf of *Averrhoa carambola* L. (carom), were used to determine content of polyphenols, flavonoids and vitamin C and their antioxidant properties were evaluated by reactions with the stable free radical DPPH\*, TPTZ-Fe-III and its reducing capacity of potassium ferricyanide. **Results.**- The content of vitamin C was highest in the fruit, while polyphenols were higher in leaves; however, flavonoids were similar in the fruit and leaves. Regarding the ability to react with the free radical DPPH, the IC50 value was lower in the leaves, indicating that has greater activity for reaction with DPPH, likewise, the antioxidant capacity measured with the FRAP technique yielded values higher than the fruit and their ability to reduce potassium ferricyanide. **Conclusion.**- The results show that the leaves exhibits a higher antioxidant capacity than the fruit of *Averrhoa carambola* L (carom).

**Key words.**- Antioxidant capacity, Free radicals, *Averrhoa carambola* L., Fruits, Leaves.

## **CAPÍTULO 1.- INTRODUCCIÓN**

### **1.1 Situación Problemática**

El oxígeno, combustible necesario para la vida y signo evidente de la evolución en los seres aeróbicos, nos hace pagar un importante precio por ello, la oxidación, con lo cual el oxígeno se transforma en nuestro principal agresor (Marsicano, 2004). Lo cierto es que todos los seres vivos que consumen oxígeno para generar energía, liberan radicales libres (Troncoso, L., 2002).

Los radicales libres son partículas inestables que perdieron un electrón y son altamente reactivas (Halliwell, 1990).

Los radicales libres no son completamente dañinos, ya que nuestro propio organismo los fabrica en cantidades moderadas para luchar contra bacterias y virus. Los radicales libres producidos por el cuerpo para llevar a cabo determinadas funciones son neutralizados fácilmente por nuestro propio sistema antioxidante.

El problema para nuestras células se produce cuando se da un exceso sostenido de radicales libres en nuestro sistema, a través de los años, situación en la cual nuestro sistema antioxidante requiere de los antioxidantes de la dieta.

El incremento de los radicales libres por encima de la cantidad de sustancias antioxidantes, conduce al estrés oxidativo, lo que produce daño celular (Pereira, M., 2012).

La incapacidad de nuestro cuerpo para neutralizar los radicales libres a los que nos exponemos diariamente, nos obliga a recurrir a nutrientes que tengan la propiedad de neutralizarlos (Halliwell, 2006). Podemos decir que un nutriente tiene propiedades antioxidantes cuando es capaz de neutralizar la acción de una molécula inestable, es decir un radical libre, sin perder su propia estabilidad.

El consumo de frutas y verduras, ha sido asociado con la protección contra ciertas enfermedades, tales como enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares e incluso cáncer, dicha actividad que se atribuye a los diferentes antioxidantes contenidos en ellos, como vitamina C, vitamina E, beta-caroteno, también se debe a otros compuestos tales como polifenoles y flavonoides (flavonas, isoflavonas, catequinas) que son componentes que se consumen en la dieta y, que manifiestan una fuerte capacidad antioxidante. Es por esta razón que resulta importante determinar la capacidad antioxidante de las diferentes frutas y vegetales (Wang, Cao & Prior, 1996; Sudha, Sangeetha Priya, Indhu Shree & Vadivu kkarasi, 2011).

Se llevó a cabo el presente estudio, para determinar la capacidad antioxidante de *Averrhoa carambola* L. (carambola) frente a sistemas generadores de radicales libres.

## **1.2 Formulación de Problema**

¿La *Averrhoa carambola* L. (carambola) tiene capacidad antioxidante frente a sistemas generadores de radicales libres?

### **1.3 Justificación**

Actualmente existen muchos productos alimenticios consumidos por el hombre que contienen antioxidantes sintéticos, pero al mismo tiempo existen en la naturaleza numerosas especies que podrían brindarnos alternativas de antioxidantes naturales, entre los cuales se encuentran la vitamina C y los compuestos polifenólicos principalmente que, han sido ampliamente estudiados por su efecto para contrarrestar algunas enfermedades degenerativas.

Los antioxidantes son sustancias que inhiben o retardan el proceso oxidativo, cuya actividad podría deberse a sus componentes polifenólicos (Chaulya, Haldar & Mukherjee, 2010).

Los polifenoles constituyen uno de los principales compuestos con actividad antioxidante, presentes en las plantas y alimentos. Los flavonoides, son un tipo de polifenoles que se encuentran ampliamente distribuidos en las plantas y son sustancias que manifiestan una potente actividad antioxidante (Kalpna, Mital, & Sumitra, 2011).

Las plantas contienen diferentes sustancias antioxidantes, por lo cual es relativamente difícil determinar la cantidad en la que se encuentra cada una de ellas en la planta.

A pesar de los adelantos científicos en cuanto al conocimiento de las enfermedades y su tratamiento, aún existen muchas dudas con respecto a su origen (Venereo, 2002). En los últimos años se ha incrementado el predominio de las enfermedades crónicas y enfermedades no transmisibles, entre las cuales, las más frecuentes son las enfermedades cardiovasculares y diversos tipos de cáncer, consideradas como las dos primeras causas de muerte, siendo uno de los principales factores de

riesgo asociado con su desarrollo, la acción de las sustancias oxidantes (Delgado & Martínez, 2009).

El oxígeno, elemento indispensable para la vida, se encuentra generalmente en su forma más estable ( $O_2$ ) pero algunas veces puede ocurrir que, por medio de reacciones bioquímicas de tipo redox, por fagocitosis en una reacción inflamatoria bajo control, por exposición a radiaciones ionizantes, rayos ultravioleta, contaminación del medio ambiente, humo de cigarrillos o drogas, entre otras, se pueden generar radicales libres, denominados también, especies reactivas de oxígeno, siendo uno de sus principales blancos la molécula de ADN. Estos ataques dañan a la célula produciendo pérdida de la homeostasis celular. El conocimiento de los mecanismos del daño producido por las especies reactivas de oxígeno se encuentra estrechamente vinculado con la etiopatogenia de enfermedades de elevada morbilidad y mortalidad como el cáncer (Zorrilla, Eirez, & Izquierdo, 2004).

Todo ello ha generado un incrementado interés por el estudio de los procesos relacionados con las especies reactivas de oxígeno, los que están íntimamente relacionados con el estrés oxidativo y la función que cumplen los antioxidantes (Venereo, 2002; Zorrilla, Eirez, & Izquierdo, 2004).

El estudio acerca de la capacidad antioxidante de las frutas y verduras en general plantea nuevos caminos para futuras investigaciones sobre los posibles beneficios que estas especies estarían aportando a la salud humana.

Para la presente tesis se formuló la siguiente pregunta ¿Cuál es la capacidad antioxidante de la *Averrhoa carambola* L. (carambola) frente a sistemas generadores de radicales libres?

## **1.4 Objetivos**

### **1.4.1 Objetivo General**

**1.4.1.1** Determinar la capacidad antioxidante de *Averrhoa carambola* L. (carambola) frente a sistemas generadores de radicales libres.

### **1.4.2 Objetivos Específicos**

**1.4.2.1** Determinar la capacidad antioxidante del fruto y hoja de *Averrhoa carambola* L. (carambola) frente a sistemas generadores de radicales libres.

**1.4.2.2.** Determinar la concentración de sustancias antioxidantes en el fruto y hoja de *Averrhoa carambola* L. (carambola).

## **CAPÍTULO 2.- MARCO TEÓRICO**

El oxígeno es un elemento necesario para los organismos aerobios, y al mismo tiempo, paradójicamente tóxico para todas las formas de vida. El oxígeno molecular ( $O_2$ ) es una sustancia muy reactiva, debido a lo cual genera rápidamente una serie de compuestos denominados radicales libres (Urbina-Bonilla, 2008).

Aproximadamente el 95% del oxígeno que consumen los organismos aerobios se reduce completamente y forma  $H_2O$ , proceso que ocurre principalmente durante la respiración mitocondrial, y el 5% restante se convierte en especies semirreducidas conocidas como ERO. Las ERO, llamadas también especies reactivas de oxígeno, son sustancias altamente tóxicas que atacan a los componentes de las células (Martínez, 2005).

Otra fuente endógena de generación de radicales libres es la defensa antimicrobiana, los macrófagos y leucocitos polimorfonucleares, los que actúan sobre los microorganismos liberando radicales libres, ayudando de esta manera a su eliminación. Esto ha demostrado que los radicales libres no son completamente dañinos, sino que además tienen funciones fisiológicas importantes para los organismos vivos (García, Saldaña & Saldaña, 2012).

Los radicales libres pueden formarse a partir de reacciones metabólicas dentro de la célula, así como también de manera espontánea si las condiciones del medio son propicias para ello, como por ejemplo por exposición a ciertos compuestos químicos, por el estrés oxidativo producido durante el ejercicio físico muy intenso, por contaminantes del aire, por radiaciones ionizantes, por drogas, bacterias o virus (Zamora, 2007a; Gutiérrez, 2007).

En situaciones patológicas la producción de radicales libres aumenta enormemente, produciéndose lo que se conoce con el nombre de estrés oxidativo, siendo diversos los factores que conducen a esta situación, como por ejemplo, factores químicos como los metales pesados, compuestos xenobióticos, componentes del tabaco, drogas como la adriamicina, factores físicos como las radiaciones ultravioleta, factores orgánicos y metabólicos como una dieta pobre en antioxidantes, diabetes mellitus, ejercicio físico intenso, entre otros (Rodríguez, Menéndez & Trujillo, 2001).

En 1954, Rebeca Gerschman sugirió por primera vez el efecto tóxico del oxígeno al observar que al colocar animales de experimentación en un ambiente de oxígeno puro en condiciones hiperbáricas, esto les producía la muerte. Este efecto se interpretó asumiendo que esto podría ser causado por los radicales libres que se generarían por la reducción univalente del oxígeno, ya que las alteraciones histológicas eran muy similares a aquéllas ocasionadas por las radiaciones electromagnéticas, pero esta explicación no fue aceptada ya que se aceptaba la hipótesis de Warburg, quien afirmaba que en la mitocondria prevalecía la naturaleza tetravalente de las oxidaciones biológicas (Mayor-Oxilia, 2010).

Los radicales libres son especies químicas que pueden estar cargadas o no, que presentan un electrón desapareado en su capa más externa (Avello & Suwalsky, 2006a), lo que los torna altamente inestables y reactivos, por lo cual están ávidos de captar un electrón a partir de una molécula más estable, para alcanzar su estabilidad, convirtiendo a su vez, a esta última, en un radical libre (Rodríguez, Menéndez, 2001; Avello & Suwalsky, 2006b); a consecuencia de su elevada reactividad que es muy cercana a las reacciones controladas por difusión, los radicales libres tienen una vida media muy corta, de escasas millonésimas de segundo (Castilla, Huerta, Carrasco & Rodrigo, 2003).

Entre las especies reactivas del oxígeno o sustancias prooxidantes más comunes y de mayor importancia biológica están el radical hidroxilo ( $\text{HO}^*$ ), el anión superóxido ( $\text{O}_2^-$ ) y el peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ), este último que, a pesar de no tener electrones desapareados, ya que no es propiamente un radical libre, se encuentra estrechamente relacionado con la generación de radicales hidroxilo, el cual reacciona rápidamente con casi todo tipo de moléculas en los seres vivos, tales como lípidos, proteínas y bases del ácido desoxirribonucleico (ADN) (Castilla, Huerta, 2003; Núñez, 2011a; Hidalgo, Fernández, Cabello, Rivas, Fontecilla, Morales, 2006).

Los radicales libres tienen la propiedad de producir deterioro de los alimentos (rancidez) y sobre todo dañan los tejidos in vivo, siendo las probables causantes de varias enfermedades, como por ejemplo psoriasis, enfermedades inflamatorias, cáncer, aterosclerosis y también tienen que ver con el envejecimiento (Spielvogeli, 2008; Sánchez, Martínez & Faure, 2011a).

Diversos estudios han mostrado que el oxígeno que el ser humano incorpora en el proceso de respiración se transforma en anión superóxido en la cadena respiratoria mitocondrial, y se ha calculado que la cantidad de oxígeno que sufre esta transformación va del 2 al 5%. Estos radicales libres que se generan en la respiración aerobia producen daño oxidativo que, ocasiona una pérdida paulatina de los mecanismos homeostáticos, lo que interfiere con los patrones de expresión génica, produciendo pérdida de la capacidad funcional celular, que conlleva al envejecimiento y a la muerte (Céspedes, Rodríguez, Llopiz & Cruz, 2000).

En condiciones fisiológicas en nuestro organismo, la generación de radicales libres se mantiene en equilibrio con las sustancias antioxidantes. Sin embargo, un exceso de radicales libres, o bien una disminución de los sistemas de defensa antioxidante ocasiona ruptura de este equilibrio, produciéndose daño o estrés oxidativo (Elejalde, 2001; Cuerda, Luengo, Valero, Vidal, Burgos, Calvo et al., 2011).

El estrés oxidativo produce daño en las células debido a la oxidación de los lípidos, proteínas, DNA y enzimas, lo que deriva en una reacción en cadena, que genera mayor producción de radicales libres y por lo tanto aumento del daño celular (Mesa-Vanegas, 2010).

Pero, el ser humano está protegido del estrés oxidativo gracias a que su organismo cuenta con un sistema de protección formado por compuestos y enzimas antioxidantes como la superóxidodismutasa, catalasa y peroxidasa, las cuales participan en las transformaciones de dichas especies (Céspedes, Rodríguez, 2000; Zapata, Gerard, Davies & Schwab, 2007). Un antioxidante es toda sustancia que retarda o previene la oxidación de diversas sustancias oxidables (García, Vicente, Rojo & Sánchez, 2001).

Los antioxidantes tienen acción estabilizadora sobre los radicales libres inhibiendo la peroxidación lipídica, proceso que está involucrado en el desarrollo de diversas enfermedades comunes, en las que se incluyen la aterosclerosis y desórdenes neurodegenerativos como la enfermedad de Alzheimer entre otras (Beneficios de la vitamina C en fumadores con enfermedad coronaria, 2000).

Según su modo de acción es posible diferenciar a los antioxidantes denominados primarios, debido a que actúan interrumpiendo la reacción en cadena que producen los radicales libres y, generando como consecuencia de ello un radical libre menos activo, y también es posible observar la existencia de antioxidantes secundarios, que tienen acción preventiva y, actúan atrapando los iones metálicos que producen la descomposición del peróxido de hidrógeno, generando como consecuencia de ello el radical hidroxilo (Pastene, Gómez, Speisky & Núñez-Vergara, 2009).

Los antioxidantes facilitan el uso fisiológico del oxígeno por las mitocondrias de las células, lo cual ayuda a disminuir el estrés oxidativo y por consiguiente ayuda en la prevención de enfermedades crónicas no transmisibles (Zamora, 2007b).

Los antioxidantes naturales han alcanzado una gran importancia por la relación directa que manifiestan con la disminución del riesgo a producir enfermedades coronarias y cáncer, entre otras. Numerosos antioxidantes, presentes en las frutas y verduras, entre los cuales se encuentran la vitamina E ( $\alpha$ -tocoferol), vitamina C (ácido ascórbico),  $\beta$ -caroteno (pro-vitamina A), compuestos fenólicos y flavonoides, se han relacionado a efectos positivos en la salud debido a su efecto antioxidante (Rojas-Barquera & Narváez-Cuenca, 2009a).

También tenemos la glutatión peroxidasa, que parece ser uno de los antioxidantes naturales más importantes, contiene selenio en su estructura, el cual es importante por su efecto sinérgico con la vitamina E (Spielvogeli, 2008).

Entre las funciones de la vitamina E, la más importante es su función antioxidante, la que se basa en su capacidad de protección de las membranas celulares impidiendo su oxidación por acción de los radicales libres, lo que induciría a la aparición de enfermedades cardíacas o posibles cánceres. Esta vitamina junto con las vitaminas A y C conforma el grupo de vitaminas antioxidantes (Sayago, Marín, Aparicio, & Morales, 2007).

El ácido ascórbico o vitamina C es uno de los antioxidantes hidrosolubles que se encuentra en mayor concentración en el plasma de la sangre humana, actúa modificando las moléculas de superóxido y de otras formas reactivas de oxígeno, a los cuales cede un electrón para estabilizarlos, protegiendo de esta manera a los lípidos del daño oxidativo (Chimeneos, 2008a).

El  $\beta$ -caroteno es liposoluble y dentro del organismo se convierte en vitamina A, potente antioxidante presente en vegetales verdes (espinaca, acelga) y amarillos (zanahoria y ajo entre otros). Otros pigmentos carotenoides que proporcionan color rojo, amarillo o anaranjado a algunas plantas son la luteína, zeaxantina y licopeno que se encuentran en el mango, melocotón, tomate, etc. También tenemos los compuestos fenólicos que confieren a las plantas coloraciones roja, azul o amarilla, siendo los más conocidos los polifenoles, que se encuentran en el té verde y las proantocianidinas que están presentes en el vino tinto (Chimeneos, 2008b).

Algunas veces, nuestra defensa endógena antioxidante no es completamente efectiva en su acción contra los radicales libres, por lo cual es recomendable el consumo de una dieta rica en sustancias antioxidantes naturales, las cuales se encuentran generalmente en las frutas y verduras (Avello & Suwalsky, 2006c). Su consumo constituye una de las mejores formas de prevenir la formación de especies reactivas de oxígeno en exceso, (Núñez, 2011b) ya que constituyen una importante alternativa como fuente potencial de antioxidantes, debido a que contienen diversos compuestos químicos muy activos en bajas concentraciones, pero que se pueden complementar o actuar de manera sinérgica (Restrepo, Cortés & Rojano, 2010).

Los compuestos polifenólicos, son los antioxidantes más abundantes de la dieta, cumplen esta acción gracias a su propiedad quelante de metales de transición y su acción atrapadora de radicales libres (Pérez, 2003).

Algunos polifenoles se encuentran sólo en determinados tipos de alimentos (flavanonas en cítricos, isoflavonas en soya), pero hay otros como la quercetina que se puede encontrar en una gran variedad de plantas (frutas, verduras, cereales, leguminosas, té, vino). Los alimentos contienen una mezcla de polifenoles y, el contenido de éstos en una planta depende de algunos factores ambientales como la luz, el grado de madurez o grado de conservación, así como también del clima entre otros factores agronómicos. El té, el vino y el cacao, son alimentos muy ricos en polifenoles, los cuales constituyen una buena fuente de defensa antioxidante (Quiñones, Miguel & Aleixandre, 2012).

Los flavonoides como la catequina y quercetina son capaces de captar directamente especies reactivas de oxígeno (ERO) como el anión superóxido (Luis & Aller, 2008). Los polifenoles tienen muchos efectos

beneficiosos sobre la salud, especialmente sobre el sistema cardiovascular, lo que se debe a sus propiedades antioxidantes. Actúan atenuando la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) (Quiñones, Miguel & Aleixandre, 2012).

La vitamina C, vitamina E, vitamina A, y los  $\beta$ -carotenos constituyen parte muy importante de la defensa antioxidante exógena (Muedas, La Rosa & Robles, 2008a). Las vitaminas C y E protegen contra la aparición de enfermedades cardiovasculares, siendo la vitamina E (tocoferol) el antioxidante liposoluble más importante (Zamora, 2007c, Márquez, Yépez, Sútil-Naranjo & Rincón, 2002).

Existen numerosos estudios que han demostrado que muchas plantas producen sustancias antioxidantes, constituyendo éstas, por lo tanto, una fuente importante de antioxidantes naturales (Sánchez, Martínez & Faure, 2011b). Esto ha hecho que sea cada vez mayor el interés en la búsqueda de antioxidantes de origen natural, que en su mayoría se debe a la presencia de compuestos fenólicos, los cuales son poderosos secuestradores de especies reactivas de oxígeno, además de tener la capacidad de inhibir enzimas generadoras de radicales libres, por cuyo motivo, la búsqueda de poderosos componentes antioxidantes en los alimentos constituye un objetivo de alta prioridad (Doroteo, 2013a).

En un estudio sobre la evaluación del efecto antioxidante de extractos hidroalcohólicos de *Uncaria tomentosa* (uña de gato), *Zea Mays* (maíz morado), *Smallantus sonchifolius* (yacón), *Lepidium meyenii* (maca), *Krameria triandra* (ratania) y *Physallis peruviana* (aguaymanto), se ha observado que los extractos más activos son los de ratania y uña de gato, casi tanto como el antioxidante utilizado como control, que en este trabajo fue la rutina. Igualmente, la capacidad antioxidante total de

ratania y uña de gato fueron mayores que la de los otros extractos (Doroteo, 2013b).

En otro estudio realizado para determinar la capacidad antioxidante total en alimentos convencionales y regionales de Chiapas, México, el cual tuvo como objetivo evaluar la capacidad antioxidante total de 24 alimentos convencionales y nueve propios de la región del estado de Chiapas, dio como resultado que la guayaba, papaya, manzana y naranja fueron las frutas que destacaron por sus mayores valores de capacidad antioxidante total, lo que se sustenta en parte por sus elevados niveles de vitamina C, carotenos y polifenoles, que son fitoquímicos con poder reductor que se encuentran en los alimentos (Gutiérrez, Ledesma, García & Grajales, 2007).

En un trabajo de investigación en el que se evalúa la capacidad antioxidante total de lámina flexible de mango (*Mangifera indica*) y el contenido de polifenoles totales en láminas flexibles de mango, se observó un mayor contenido de estos compuestos en la lámina en comparación con lo que se obtuvo en el fruto, lo cual se atribuyó a un mayor contenido de azúcares (Brix°), ya que la estructura química de los polifenoles presenta uno o más anillos bencénicos con radicales hidroxilos generalmente unidos a azúcares. Los resultados sugieren que el consumo de la lámina flexible de mango constituye una alternativa de consumo de compuestos antioxidantes y nutritivos en la dieta (Hernández-Varela, Moncayo, Fernández & Sulbarán, 2013).

Dentro de la gran variedad de frutas que se consumen en diversas zonas tropicales, como nuestra Amazonía, se encuentra la *Averrhoa carambola* L. (carambola), llamada también fruta estrella, planta perteneciente a la familia de las oxalidáceas, cuyos frutos son bayas de color amarillento,

de sabor dulce ligeramente ácido (Vasconcelos, Araujo, Silva & Conde, 2005; De Souza, Raga & Zucchi, 2000a) que se consume como fruta fresca, en jugos y dulces caseros. La planta es de crecimiento lento, relativamente pequeña y raramente excede los 8 metros, tiene hojas compuestas de color verde claro brillante en la parte superior y opaco en la parte inferior, que forman parte de la farmacopea indígena del Brasil donde se usan como febrífugo, antiescorbútico y antidisentérico (Andrade & Martins, 2007).

Esta planta ampliamente cultivada en la Selva peruana, es originaria de Asia, probablemente Indonesia y Malasia, pero, crece fácilmente en climas tropicales (Vasconcelos, Araujo, Silva & Conde, 2005; De Souza, Raga & Zucchi, 2000b; Vasconcelos, Gondim, Cruz, Mafra & Silva, 2008).

El fruto de la *Averrhoa carambola* L. (carambola) contiene carotenoides y polifenoxidasas, que le conferirían actividad antioxidante, por lo cual tendría la capacidad de neutralizar a los radicales libres, acción que podría ser importante en la prevención de la generación de éstos y, por lo tanto de algunas enfermedades producidas por ellos, como por ejemplo la aterosclerosis (Castillo, Castillo & Huamán, 2013).

Estudios sobre la composición de este fruto han reportado la presencia de vitamina C y compuestos fenólicos, entre otras sustancias con capacidad antioxidante (Carvajal de Pabón, 2011).

En el siguiente cuadro se muestra el valor nutricional de la *Averrhoa carambola* L. (carambola).

**Valor nutricional de la carambola en base a 100 gramos de parte comestible**

<b>Componentes</b>					
<b>mayores (g)</b>		<b>Minerales (mg)</b>		<b>Vitaminas (mg)</b>	
Agua	90.00	Calcio	5.00	Caroteno (A)	90.00
Proteína	0.50	Fósforo	18.00	Tiamina (B <sub>1</sub> )	0.04
Grasa	0.30	Hierro	0.40	Riboflavina (B <sub>2</sub> )	0.02
Carbohidrato	9.00			Niacina (B <sub>5</sub> )	0.30
Fibra	0.60			Vitamina C	35.00
Ceniza	0.40				

**Fuente.** Cañizares A., Bonafine O., & Vargas A. (2012). Frutales no tradicionales. Aprovechamiento industrial del tamarindo estrella o carambola. INIA Divulga. Revista de Difusión de Tecnología Agrícola, pecuaria, pesquera y acuícola, 23, 2-9.

Un estudio realizado en Brasil reporta el uso en medicina folclórica de las hojas de *Averrhoa carambola* L. (carambola) como un estimulante del apetito, diurético y antidiarreico, así como también útil para el tratamiento de la diabetes (Ferreira, E. B. et al. 2008).

Todo ello ha generado nuestro interés para el desarrollo de este trabajo.

## **CAPÍTULO 3.- METODOLOGÍA**

### **a) Tipo de Estudio**

Es un estudio de tipo analítico, experimental, de tipo cuasi-experimental transversal y prospectivo.

### **b) Materiales**

El sulfato ferroso hexahidratado (Fe-II) que se usó fue adquirido de la Sigma Chemical Company. El ácido acético, metanol, radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil, reactivo de Folin-Ciocalteu, carbonato de sodio, cloruro férrico hexahidratado (Fe-III), acetato de sodio anhidro, ácido acético glacial, nitrito de sodio, fosfato de potasio monobásico y cloruro de aluminio se adquirieron de la Merck Darmstadt, siendo todos los reactivos usados de grado para análisis.

### **Material Biológico**

El fruto y hojas frescos de *Averrhoa carambola* L. (carambola) se adquirieron en el Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana-IQUITOS (IIAP), se transportaron adecuadamente vía aérea a la ciudad de Lima y se trasladaron rápidamente al Laboratorio de Bioquímica y Nutrición “Leonidas Delgado Butrón y Emilio Guija Poma” del Centro de Investigación de Bioquímica y Nutrición de la Facultad de Medicina de la UNMSM.

### **Preparación de la Muestra**

Se pesó 25 g de *Averrhoa carambola* L. (carambola), luego se cortó en trozos pequeños, y se llevó a una probeta. Posteriormente, se completó con agua destilada hasta 100 mL, y se licuó. Esta solución se filtró usando gasa, y el líquido filtrado se centrifugó a 15 000 g durante 15 minutos. El sobrenadante obtenido se usó para realizar las diferentes determinaciones analíticas (Troncoso & Guija, 2007).

### **c) Métodos**

#### **Determinación de la Capacidad Antioxidante (Método FRAP)**

Para la determinación de la capacidad antioxidante se utilizó el método “Ferric Reducing Antioxidant Power” (FRAP), propuesto por Benzie y Strain, adaptado por Szollosi y Vargas (Szollosi & Vargas, 2002). El reactivo FRAP se preparó mezclando 0.1 mol/L de buffer acetato de sodio (pH 3.6), 10 mmol/L 2,4,6-Tripyridyl-s-Triazine (TPTZ) y 20 mmol/L de cloruro férrico. En un tubo de ensayo se colocó 1 mL de la solución FRAP con 0.050 mL de muestra y 0.950 mL de agua destilada. Luego se agitó y se llevó a baño maría a 37°C durante 15 minutos, al final de los cuales se leyó a 593 nm en un espectrofotómetro marca NV 203 Spectrophotometer.

También, se preparó un blanco que contenía el reactivo FRAP y agua destilada. El ensayo se hizo por triplicado. Las absorbancias de las muestras se ubicaron en una curva estándar de Fe (II), para obtener su concentración, expresando los resultados como mmoles de Fe (II)/100 g de muestra fresca (Chuquimia, Alvarado, Peñarrieta, Bergenstahl & Akeeson, 2008).

**Fundamento del método.-** Este método se basa en la reducción del complejo TPTZ-Fe<sup>3+</sup> a TPTZ-Fe<sup>2+</sup> por acción de los compuestos antioxidantes, dando un color azul que absorbe a 593 nm, cuya intensidad está en relación directa con la capacidad reductora de la muestra analizada (Carvajal de Pabón, 2011).

#### **Determinación de la Capacidad Antioxidante (Método del DPPH\*)**

Para la determinación de la capacidad antioxidante se utilizaron volúmenes de muestra comprendidos entre 0.02 y 0.15 mL a los cuales se añadió metanol, tampón acetato 0.1 M, pH 6.0 y 0.5 mL de solución del radical libre estable DPPH\*, completando un volumen total de 3 mL en cada tubo. Luego se dejó en reposo en la oscuridad durante 30 minutos, a cuyo término se leyó en el espectrofotómetro a 517 nm. Los resultados se expresan como IC<sub>50</sub> (mg/mL). Paralelamente se preparó un tubo blanco y, un tubo control que no contenía muestra.

**Fundamento del método.-** La reacción se basa en que el radical libre estable DPPH\* de un color azul intenso, sustrae un átomo de hidrógeno proveniente de una sustancia donadora de electrones, y como consecuencia de ello se produce una disminución del color del DPPH\* hasta tornarlo pardo claro (Muedas, La Rosa & Robles, 2008b).

#### **Determinación de Vitamina C (Método Folin-Ciocalteu)**

Para la determinación de vitamina C se midió 0.2 mL de reactivo Folin-Ciocalteu al 10%, luego se añadió 0.5 mL de ácido tricloroacético (TCA) al 10% y se agitó para homogenizar. Posteriormente, se añadió 0.05 mL de muestra y 1.25 mL de agua destilada; se dejó en reposo a temperatura ambiente durante 10 minutos y se leyó en el espectrofotómetro a 760 nm. La determinación se realizó por triplicado y con un blanco de muestra. Para realizar los cálculos se preparó una

curva estándar de ácido ascórbico utilizando concentraciones conocidas de esta vitamina, y los resultados se expresan como mg de ácido ascórbico/100 g de muestra fresca.

**Fundamento del método.-** El fundamento de la determinación de vitamina C radica en el poder reductor que ejerce esta vitamina sobre el reactivo Folin-Ciocalteu en medio ácido, tornándolo de color azul, cuya intensidad guarda relación con la concentración de vitamina C.

#### **Determinación de Polifenoles Totales (Método Folin-Ciocalteu)**

La determinación de polifenoles totales se llevó a cabo utilizando el método utilizado por Singleton, Orthofer y Lamuela-Raventos (Singleton, Orthofer & Raventos, 1999). En un tubo de ensayo se colocó 1.0 mL de reactivo Folin-Ciocalteu, 0.05 mL de muestra y se dejó en reposo durante 5 minutos, luego de los cuales se agregó 0.95 mL de solución de carbonato de sodio al 7.5% y se llevó a baño maría a 45<sup>o</sup> durante 15 minutos. Posteriormente se leyó en el espectrofotómetro a 725 nm. Se trabajó por triplicado, usando un blanco que no tenía muestra.

**Fundamento del método.-** El reactivo está compuesto por una mezcla de ácidos fosfowolfrámico y fosfomolibdico en medio básico, los que sufren reducción al oxidar los compuestos fenólicos, originando un complejo wolframio-molibdeno de color azul cuya absorbancia es dependiente de la concentración de los polifenoles de la muestra y se midió en un espectrofotómetro a 725 nm. Los resultados se expresan como mg equivalentes de ácido gálico/100 g de muestra fresca (Kuskoskiet, 2005; Kodama, Goncalvez, Lajolo & Genovese, 2010a; Dewanto, Orthofer & Lamuela-Raventos, 1999).

### **Determinación de Flavonoides**

En un tubo de ensayo se colocó 0.200mL de muestra, 1.300mL de agua destilada y 0.075 mL de  $\text{NaNO}_2$  al 5%. Se dejó en reposo por 5 minutos y luego se añadió 0.125mL de  $\text{AlCl}_3$  al 10% y nuevamente se dejó en reposo por 6 minutos, luego se agregó 0.5 mL de  $\text{NaOH}$  1 M y 0.300 mL de agua destilada. Se leyó a 510 nm en un espectrofotómetro, y con dichas lecturas se obtuvo la concentración de flavonoides, utilizando una curva estándar que se preparó utilizando diferentes concentraciones conocidas de (+)-catequina. Los resultados se expresan como mg equivalentes de (+)-catequina/100 g de muestra fresca (Chuquimia, Alvarado, Peñarrieta, Bergenstahl & Akeeson, 2008; Kodama, Goncalvez, Lajolo & Genovese, 2010b).

**Fundamento del método.-** Los flavonoides reaccionan con  $\text{AlCl}_3$  y  $\text{NaNO}_2$ , formando un complejo flavonoide-aluminio de color rosado tenue en medio alcalino, cuya intensidad está en relación directa a la concentración de flavonoides.

### **Determinación del Poder Reductor**

Para la determinación del poder reductor se utilizaron volúmenes de muestra comprendidos entre 0.020 y 0.100 y se añadió agua destilada, tampón acetato 0.2 M pH 6.6, luego se agregó 1 mL de ferricianuro de potasio 0.1% y se incubó a 50 °C durante 20 minutos. Se agregó 1 mL de TCA al 10% haciendo un volumen de 4 mL en total. De esta mezcla se midió 2 mL, se colocó en otro tubo y se le agregó 0.5 mL de agua destilada y 0.5 mL de solución de  $\text{FeCl}_3$  0.1% y se leyó en un espectrofotómetro a 700 nm.

**Fundamento del método.-** La reacción se basa en el poder reductor de la sustancia antioxidante que transforma el ferricianuro de potasio en

ferrocianuro de potasio, este compuesto reacciona con el  $\text{FeCl}_3$  produciéndose una intensa coloración verde esmeralda, cuya intensidad es dependiente de la concentración de los antioxidantes que se encuentran en la muestra (Oyaizu M. (1986).

#### **d) Análisis Estadístico**

Para realizar el análisis estadístico de los resultados se procedió a utilizar las estadísticas descriptivas de promedios y desviación estándar, con excepción de los polifenoles que se trabajó con la mediana.

Para saber si había diferencia estadísticamente significativa entre los resultados del fruto y la hoja, se comprobó previamente si tenían distribución normal a través de las pruebas de normalidad de Kolmogorov-Smirnov y Shapiro-Wilk, observándose que todos los resultados presentaban normalidad ( $p > 0.05$ ) con excepción de los polifenoles.

Por lo tanto, las pruebas estadísticas que se utilizaron fueron la U de Mann-Whitney para la Capacidad Antioxidante del IC50 (DPPH\*) y la t de Student para la Capacidad Antioxidante del Método FRAP y para las concentraciones de Vitamina C, Polifenoles totales y Flavonoides, con un  $\alpha < 0.001$ .

Para el Poder Reductor se utilizó el Coeficiente de Correlación de Pearson (r) entre concentración del fruto y el Poder Reductor ( $\alpha < 0.001$ ) y entre concentración de la hoja y el Poder Reductor ( $\alpha < 0.01$ ). Además, se utilizó la prueba estadística t de Student para comprobar si había diferencia estadísticamente significativa entre el Poder Reductor de fruto y hoja, a un  $\alpha < 0.001$ .

Todos estos procedimientos se realizaron utilizando el programa estadístico SPSS versión 21.

## **CAPÍTULO 4.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **RESULTADOS**

La determinación de la capacidad antioxidante de fruto y hoja de la *Averrhoa carambola* L. (carambola) se realizó utilizando tres técnicas distintas, el método del radical libre estable DPPH\* y el método FRAP y el poder reductor, así como también se determinó el contenido de vitamina C, polifenoles totales y flavonoides con los extractos acuosos preparados a partir del fruto y hoja de *Averrhoa carambola* L. (carambola). Los resultados obtenidos se han referido a 100 gramos de muestra fresca.

La capacidad antioxidante total del extracto acuoso del fruto y hoja de *Averrhoa carambola* L. (carambola) se determinó utilizando el radical libre estable DPPH\*. Se determinó la actividad antioxidante del extracto acuoso del fruto y hoja de *Averrhoa carambola* L. (carambola) preparando soluciones de concentraciones comprendidas en un rango de 1.6 a 12.5 mg/mL de muestra, observándose que a medida que aumenta la concentración, aumenta también la capacidad antioxidante, es decir, hay una relación directa entre la concentración de la muestra y su capacidad antioxidante, resultado obtenido al realizar esta determinación

utilizando el radical libre estable DPPH\*. El IC50 (Concentración Inhibitoria del extracto que logra atrapar el 50% de los radicales libres DPPH\* de la solución preparada a 0.5 mM), es igual a 3.75 mg/mL para el fruto y 2.91 mg/mL para la hoja de carambola, es decir, la hoja tiene una mejor capacidad antioxidante frente al radical libre estable DPPH\* (Tabla 1), observándose una alta diferencia estadísticamente significativa ( $p = 0.000$ ) con un  $\alpha < 0.001$ .

**Tabla 1. Capacidad Antioxidante del Fruto y Hojas de *Averrhoa carambola* L. (carambola) por el método DPPH\***

Carambola	DPPH* IC50 (mg/mL) <sup>&amp;</sup>	p valor <sup>(&amp;&amp;)</sup>
Fruto	3.75 ± 0.20	0.000
Hoja	2.91 ± 0.01	

(&) Promedio ± D.E.

(&&)  $\alpha < 0.001$

Asimismo, de acuerdo a los resultados obtenidos en la evaluación de la capacidad antioxidante, utilizando la técnica FRAP, se observa que el fruto de *Averrhoa carambola* L. (carambola) muestra un valor FRAP de 1.288 mmoles de Fe<sup>+2</sup>/100 gramos de fruto fresco, mientras que la hoja muestra un valor FRAP igual a 1.618 mmoles de Fe<sup>+2</sup>/100 gramos de hoja fresca (Tabla 2), mostrando una alta diferencia estadísticamente significativa ( $p = 0.000$ ) con un  $\alpha < 0.001$ .

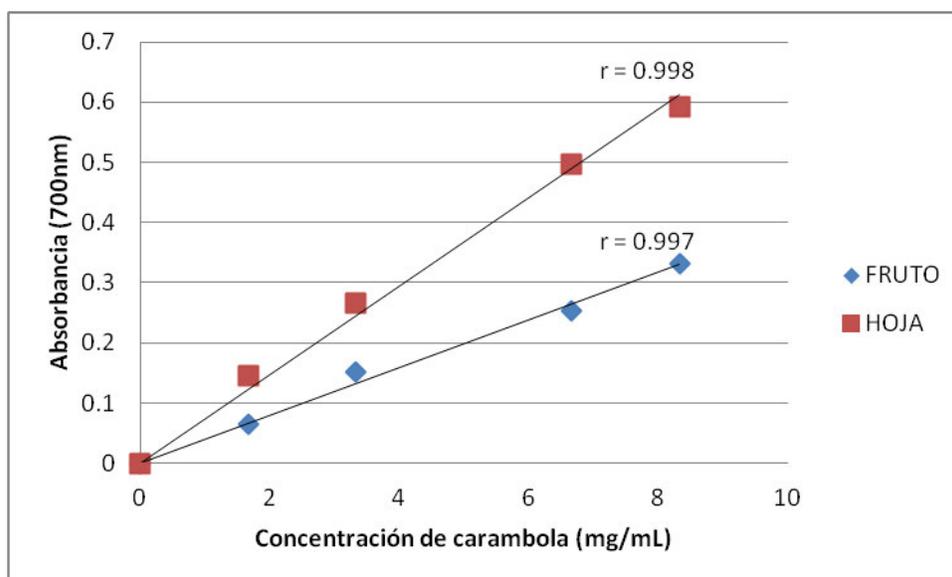
**Tabla 2. Capacidad Antioxidante del Fruto y Hoja de *Averrhoa carambola* L. (carambola) por el método FRAP**

	FRAP	
Carambola	(mmoles de Fe <sup>+2</sup> /100 g de muestra fresca) <sup>&amp;</sup>	p valor <sup>(&amp;&amp;)</sup>
Fruto	1.288 ± 0.03	0.000
Hoja	1.618 ± 0.08	

(&) Promedio ± D.E.

(&&)  $\alpha < 0.001$

Al usar la técnica del Poder Reductor frente al ferricianuro de potasio (Figura 1) para evaluar la capacidad antioxidante, se observó una mayor tendencia reductora de la hoja de la *Averrhoa carambola* L. (carambola), y este poder reductor aumenta a medida que aumenta la concentración de la muestra.



**Figura N°1. Poder reductor del Fruto y Hojas de *Averrhoa carambola* L. (carambola) frente al Ferricianuro de Potasio.**

En cuanto al contenido de vitamina C, el fruto de la carambola reportó un contenido de 62.22 mg/100 gramos de fruto fresco, lo que haría pensar que este componente estaría favoreciendo su acción antioxidante frente a la presencia de radicales libres, lo cual no se daría en la hoja, ya que éstas presentan un menor contenido de vitamina C, igual a 33.62 mg/100 gramos de hoja fresca, como se observa en la Tabla 3, existiendo una alta diferencia estadísticamente significativa ( $p = 0.000$ ) con  $\alpha < 0.001$ .

**Tabla 3. Contenido de vitamina C en Fruto y Hoja de *Averrhoa carambola* L. (carambola).**

Carambola	Vitamina C	
	(mg/100 g de muestra) <sup>&amp;</sup>	p valor <sup>(&amp;&amp;)</sup>
Fruto	62.22 ± 7.49	0.000
Hoja	33.62 ± 1.48	

(&) Promedio ± D. E.

(&&)  $\alpha < 0.001$

La acción antioxidante de los polifenoles es bastante conocida en relación a su capacidad para secuestrar especies reactivas de oxígeno (Pastene, 2009b). La actividad antioxidante de un alimento guarda relación directa con su contenido de compuestos polifenólicos, los cuales actúan neutralizando las especies reactivas de oxígeno (EROS). La evaluación de la capacidad antioxidante de las frutas permite conocer su actividad antioxidante que adquirirá el organismo a través de su consumo.

En relación a la determinación de polifenoles totales mediante el Método Folin-Ciocalteu, el contenido de polifenoles totales en el fruto de

carambola, fue 120.2 mg equivalentes de ácido gálico/100 gramos de fruto fresco, mientras que para la hoja se obtuvo un valor de 239.5 mg equivalentes de ácido gálico/100 gramos de hoja fresca (Tabla 4), observándose una marcada diferencia estadísticamente significativa ( $p = 0.000$ ) con un  $\alpha < 0,001$

**Tabla 4. Contenido de Polifenoles Totales en Fruto y Hoja de *Averrhoa carambola* L. (carambola).**

Carambola	Polifenoles (mg Eq. de Ácido gálico/100 g de muestra)		p valor ( $\alpha < 0.001$ )
	Mediana ( $\alpha < 0.001$ )	P25 – P75 ( $\alpha < 0.001$ )	
Fruto	117.8	114.8 – 131.6	0.000
Hoja	250.6	240.2 – 265.8	

( $\alpha < 0.001$ ) Mediana ( $\alpha < 0.001$ ) Percentil ( $\alpha < 0.001$ )  $\alpha < 0.001$

Con respecto a la determinación de flavonoides, se obtuvo para el fruto un contenido de 5.22 mg Equivalentes de catequina/100 gramos de fruta fresca y para la hoja 5.66 mg Equivalentes de catequina/100 gramos de hoja fresca (Tabla 5), no existiendo diferencia estadísticamente significativa.

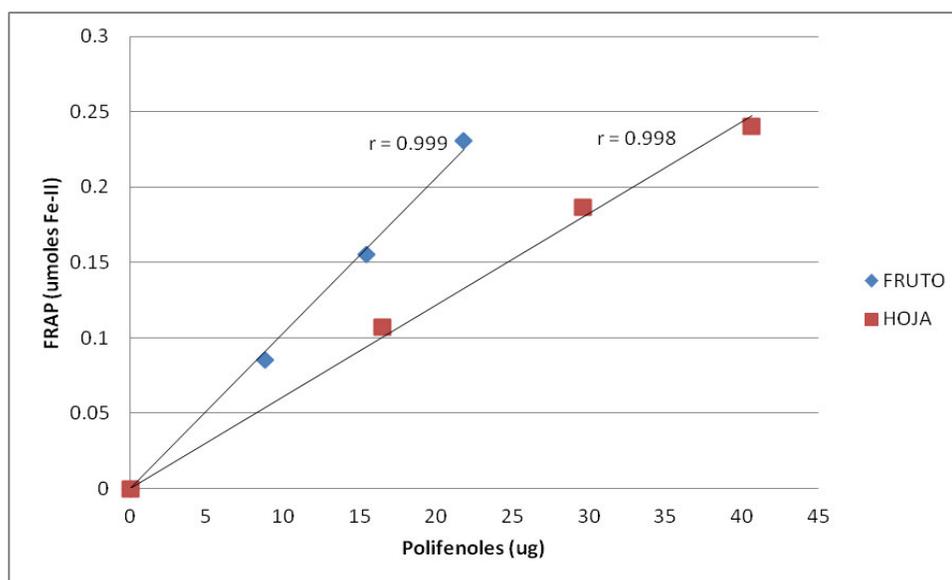
**Tabla 5. Contenido de Flavonoides en Fruto y Hoja de *Averrhoa carambola* L. (carambola).**

Carambola	Flavonoides	
	(mg Eq. de Catequina/100 g de muestra) <sup>&amp;</sup>	p valor <sup>(&amp;&amp;)</sup>
Fruto	5.22 ± 1.18	0.508
Hoja	5.66 ± 1.49	(N.S.)

(&) Promedio ± D.E.

(&&)  $\alpha < 0.001$

En el presente trabajo, también se observó una alta correlación directa entre el contenido de polifenoles y la capacidad antioxidante, usando el método FRAP (Figura 2), observándose, que el fruto con aproximadamente la mitad de polifenoles que la hoja presenta una similar capacidad antioxidante.



**Figura N°2. Correlación de Polifenoles con la Capacidad Antioxidante según método FRAP en el Fruto y Hojas de *Averrhoa carambola* L. (carambola)**

## DISCUSIÓN

Numerosos estudios epidemiológicos muestran que, cada vez es más evidente la existencia de una relación inversa entre el consumo de alimentos que contienen sustancias antioxidantes y el riesgo de que se produzcan diversas enfermedades crónicas no transmisibles en el ser humano (Rodríguez, Menéndez & Trujillo, 2001).

Asimismo, se ha observado una disminución del daño producido por los radicales libres cuando se han usado dietas que contienen sustancias antioxidantes. A pesar de estas evidencias, aún es necesario ahondar en los estudios en cuanto a la capacidad antioxidante de los alimentos, especialmente frutas y verduras, ya que se siguen descubriendo nuevos compuestos antioxidantes con elevada acción protectora y su acción en el organismo humano aún se continúa investigando ya que los radicales libres no solamente afectan a las proteínas, lípidos y ADN, sino que afectan las vías de señalización celular, hecho que constituye una de las estrategias para prevenir o diseñar nuevos medicamentos, y ello sería de gran utilidad debido a que permitiría reducir los efectos nocivos de los radicales libres (Pastene, 2009a).

El ensayo FRAP mide la capacidad de reducir el complejo amarillo férrico-TPTZ a un complejo azul ferroso-TPTZ. Un estudio realizado para

determinar la capacidad antioxidante de frutas y verduras cultivados en Chile (Araya, Clavijo & Herrera, 2007), presentó valores, para el kiwi (0.504 mmoles Fe-II/100 g de muestra), manzana fuji (0.458 mmoles Fe-II/100 g de muestra), manzana roja (0.671 mmoles Fe-II/100 g de muestra) y pera (0.485 mmoles Fe-II/100 g de muestra), que son mucho menores a los obtenidos para el fruto (1.288 mmoles de Fe-II/100 g de fruto fresco) y la hoja (1.618 mmoles de Fe-II/100 g de hoja fresca) de *Averrhoa carambola* L. (carambola).

Asimismo, en un estudio realizado con el propósito de establecer la contribución de la vitamina C a la capacidad antioxidante total de frutas y verduras utilizando la técnica FRAP, se observó que la fresa tiene el valor más elevado (1.59 mmoles Fe-II/100 g de fruta fresca), semejante a lo obtenido en el presente estudio en fruto (1.288 mmoles Fe-II/100 g de fruta fresca) y hoja (1.618 mmoles Fe-II/100 g de hoja fresca) de *Averrhoa carambola* L. (carambola), correspondiéndole valores menores al limón (1.04 mmoles Fe-II/100 g de fruta fresca), naranja (0.94 mmoles Fe-II/100 g de fruta fresca), uva (0.80 mmoles Fe-II/100 g de fruta fresca), manzana verde (0.63 mmoles Fe-II/100 g de fruta fresca), mandarina (0.54 mmoles Fe-II/100 g de fruta fresca), mango (0.51 mmoles Fe-II/100 g de fruta fresca), plátano (0.42 mmoles Fe-II/100 g de fruta fresca), piña (0.35 mmoles Fe-II/100 g de fruta fresca) y pera china (0.15 mmoles Fe-II/100 g de fruta fresca) que tiene el valor de FRAP más bajo (Szeto, 2002).

La capacidad antioxidante de la hoja (1.618 mmoles Fe-II/100 g de hoja fresca) evaluada en el método FRAP es mayor que la encontrada en el fruto (1.288 mmoles Fe-II/100 g de fruta fresca) de *Averrhoa carambola* L. (carambola).

En un estudio donde se evalúa la capacidad antioxidante de diversos genotipos de mora por el método FRAP se obtuvo valores mucho mayores que con el fruto y la hoja de carambola, como podemos observar con el *Rubus cyri* Juz (0.0714 mmoles Fe-II/g de fruta), *Rubus georgicus* Focke (0.0963 mmoles Fe-II/g de fruta), *Rubus insularis* F. Aresch (0.0971 mmoles Fe-II/g de fruta) y *Rubus ursinus* (Cham & Schitdl) G4-19 (0.0935 mmoles Fe-II/g de fruta) y *Rubus ursinus* G4 bulk (0.0798 mmoles Fe-II/g de fruta), del mismo modo sucede con la frambuesa *Rubus niveus* Thumb, pero, los valores del fruto y hoja de la carambola son semejantes a la frambuesa *Rubus innominatus* S. Moore.

La vitamina C es un nutriente esencial para los humanos. Una deficiencia en su ingesta causa una enfermedad llamada escorbuto. Esta vitamina se encuentra en forma natural en diversas frutas y verduras (Davey M., 2000). Se ha relacionado el contenido de vitamina C de las frutas y verduras con efectos positivos en la salud, debido a su acción antioxidante y, por lo tanto su ingesta puede contribuir a una adecuada actividad antioxidante en el organismo humano (Rojas-Barquera & Narváez-Cuenca, 2009b). La cantidad de la vitamina C en las frutas y verduras se modifica ampliamente, presentando el camu camu el valor más elevado, sobrepasando los 2000 mg/100 g de fruta fresca (Andrade, Aragao, Galeazzi & Ferreira, 1995), en contraste, la acerola (1,300 mg/100 g de fruta fresca) y la rosa canina (1,000 mg/100 g de fruta fresca) presentan contenido mucho más bajo que el camu camu (Davey, Montagu, Inzé, Sanmartin, Kanellis, Smirnoff, Benzie, Strain, Favell y Fletcher, 2000). En lo que respecta al contenido de vitamina C de la *Averrhoa carambola* L. (carambola), el fruto presenta casi el doble (62.22 mg/100 g de fruto fresco) que lo encontrado en la hoja (33.62 mg/100 g de hoja fresca).

Se debe mencionar, que el fruto de la carambola tiene valores de vitamina C semejantes al kiwi (60 mg/100 g), fresa (60 mg/100 g), naranja (50 mg/100 g), y limón (50 mg/100 g), mientras que la hoja tiene valores mayores que, la piña (12-25 mg/100 g), el plátano (10-30 mg/100 g), la mora (15 mg/100 g), las manzanas (2-10 mg/100 g), y la granada (6 mg/100 g).

Al evaluar la capacidad antioxidante de la *Averrhoa carambola* L. (carambola) con la técnica del DPPH\* encontramos que la hoja presenta un menor IC50 (2.91 mg/mL) que el fruto (3.75 mg/mL), lo que demuestra que la hoja tiene una mayor capacidad antioxidante, esto podría explicarse por la mayor concentración de polifenoles que tiene la hoja (239.5 mg equivalentes de ácido gálico/100 g de hoja fresca) con respecto al fruto (120.2 mg equivalentes de ácido gálico/100 g de fruta fresca), como se ha observado en otros trabajos donde el efecto antioxidante es ejercido, principalmente, por los polifenoles, como se puede observar para el *Abdean blackberry* (2,167 mg equivalentes de ácido gálico/100 g de fruta).

Los valores de polifenoles pueden verse modificados dependiendo de los métodos utilizados para la extracción como lo señalan en algunas publicaciones (Garzón, 2009), al parecer el mejor solvente utilizado para la extracción de polifenoles es el metanol, por su polaridad y su capacidad de solubilización para dichos compuestos (Sobhy, Mohsen & Anmar, 2009). Por otro lado, la concentración de polifenoles también va a ser afectada por los suelos de donde proceden y la estación del año en que se producen (Connor, Luby, Tong, Finn & Hancock, 2005).

En una publicación (Reddy, 2010) donde investigan sobre la actividad antioxidante, muestran que los polifenoles se encuentran en valores

altos, semejantes a los hallados en la hoja de la carambola (239.5 mg equivalentes de ácido gálico/100 g de hoja), como el mango (307 mg equivalentes de ácido gálico/100 g de muestra), manzana (232 mg equivalentes de ácido gálico/100 g de muestra) y granada (219 mg equivalentes de ácido gálico/100 g de muestra), pero otros como la naranja (70 mg equivalentes de ácido gálico/100 g de muestra), papaya (62 mg equivalentes de ácido gálico/100 g de muestra), piña (48 mg equivalentes de ácido gálico/100 g de muestra) y plátano (43 mg equivalentes de ácido gálico/100 g de muestra) se encuentran en valores menores a los del fruto de la carambola (120.02 mg equivalentes de ácido gálico/100 g de muestra) y hoja (239.5 mg equivalentes de ácido gálico/100 g de muestra) de carambola.

En otro estudio (Wolfe, 2003) sobre capacidad antioxidante en cáscara de diversas variedades de manzana muestran en sus resultados que el contenido de polifenoles en pulpa y pulpa + cáscara de las variedades Rome beauty, Idared, Cortland y Golden delicious son semejantes (entre 90-110 y entre 20-180 mg equivalentes de ácido gálico/100 g de muestra respectivamente) al encontrado en el fruto (120.2 mg equivalentes de ácido gálico/100 g de fruto) de la carambola, mientras que la hoja de la carambola (239.5 mg equivalentes de ácido gálico/100 de hoja) muestra contenidos menores que los encontrados en las cáscaras de dichas variedades de manzanas (entre 300 y 600 mg equivalentes de ácido gálico/100 g de muestra).

En diversas publicaciones mencionan que la capacidad antioxidante de los alimentos de origen vegetal se debe principalmente a la alta concentración de polifenoles, flavonoides o vitamina C, y en el presente trabajo, se observó una alta correlación directa entre el contenido de polifenoles y la capacidad antioxidante usando el reactivo FRAP,

evidenciándose que, al parecer, el fruto muestra una mayor actividad de los polifenoles ya que con la mitad de éstos logra similar capacidad antioxidante que la hoja de la *Averrhoa carambola* L. (carambola).

Asimismo, se observó que el contenido de flavonoides en fruto (5.222 mg equivalentes de catequina/100 g de fruto) y hoja (5.663 mg equivalentes de catequina/100 g de hoja) de la carambola son mucho menores que el contenido de pulpa (40 y 50 mg equivalentes de catequina/100 g de muestra), pulpa + cáscara (50 y 90 mg equivalentes de catequina/100 g de muestra) y cáscara (150 y 300 mg equivalentes de catequina/100 g de muestra) de manzana de las variedades Rome beauty, Idared, Cortland y Golden delicious mostradas por Wolff, 2003.

La frambuesa tiene un alto contenido de compuestos fenólicos, observándose en las variedades Heritage, Kiwigold, Goldie y Anne valores entre 359 - 512 mg equivalentes de ácido gálico/100 g de fruta; pero específicamente, con respecto a su contenido de flavonoides dichos valores se encuentran entre 63 - 103 mg equivalentes de catequina/100 g de fruta (Bickers y Athar, 2006), que son mayores que los encontrados en el fruto (5.222 mg equivalentes de catequina/100 g de fruto) y en la hoja (5.663 mg equivalentes de catequina/100 g de hoja) de la carambola.

En cuanto al poder reductor de *Averrhoa carambola* L. (carambola) se obtuvo un mayor poder reductor con la hoja a las diferentes concentraciones utilizadas, que estuvo comprendida entre 0.833 mg/mL y 4.177 mg/mL, el mismo que guarda una relación directa con la concentración, es decir, a mayor concentración de la muestra mayor poder reductor.

El poder reductor de un alimento guarda estrecha relación con su capacidad antioxidante, ya que evidencia la eficiencia que tendrían los componentes de una muestra biológica para ceder electrones o átomos de hidrógeno a un radical libre y, de esta manera, evitar su propagación y por consiguiente el daño potencial que ocasionaría a una célula. El comportamiento anteriormente descrito se ha observado en cuatro variedades de *Flammulina velutipes*, hongos que se diferencian por tener colores diferentes, habiendo mostrado una mayor capacidad reductora en la muestra III conocida como variedad Fxuexin (Zhang, Jin, Ly, Fan, Pan & Fan, 2013). Asimismo, la *Caryota urens* L., exhibe una capacidad reductora similar a la observada con los hongos anteriormente descritos (Ananth, Sivasudha, Rameshkumar, Jeyadevi & Aseervatham, 2013).

## CONCLUSIONES

1. La hoja de la *Averrhoa carambola* L. (carambola) tiene una mayor capacidad antioxidante que el fruto, demostrado por el método FRAP, corroborado por un mayor poder reductor y un menor valor IC50 (DPPH\*).
2. La vitamina C en el fruto, se encuentra en mayor concentración que en la hoja de *Averrhoa carambola* L. (carambola), mientras que la concentración de polifenoles totales fue mayor en la hoja, pero, siendo los del fruto los más eficientes. Por otro lado, los flavonoides presentan una concentración semejante en fruto y hoja.
3. La *Averrhoa carambola* L. (carambola) tiene una buena capacidad antioxidante frente a sistemas generadores de radicales libres.

## RECOMENDACIONES

1. Incentivar un mayor consumo del fruto de *Averrhoa carambola* L. (carambola).
2. Promover la formulación de productos utilizando el fruto y la hoja de *Averrhoa carambola* L. (carambola).
3. Seguir realizando más estudios sobre la actividad antioxidante del fruto y hoja de *Averrhoa carambola* L. (carambola).

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Ananth, D., Sivasudha, T., Rameshkumar, A., Jeyadevi, R. & Aseervatham, S. (2013). Comparative Study on antioxidant activity of four varieties of *Flammulina velutipes* with different colour. *International Journal of Food Science & Technology*, 48:1057-1064.

Andrade, A., & Martins, G. (2007). Aspectos morfológicos de folhas na diferenciacao de variedades de carambola. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 29(2), 386-388.

Andrade, J., Aragao C., Galeazzi, M., Ferreira, S. (1995). Changes in the concentration of total vitamin C during maturation and ripening of camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh) fruits cultivated in the upland of Brazilian central Amazon. *Acta Horticulturae* 370: 177-180.

Araya, H., Clavijo, C. & Herrera, C. (2006). Antioxidant capacity of fruits and vegetables cultivated in Chile. *Archivos Lationamericanos de Nutrición*, 56(4), 361-365).

Avello, M., & Suwalsky, M. (2006). Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea (Concepción)*, (494), 161-172.

Beneficios de la vitamina C en fumadores con enfermedad coronaria. (2000). *Revista Panamericana de Salud Pública*, 8(5), 357-357.

Bickers, D., & Athar M. (2006). Oxidative stress in the Pathogenesis of Skin Disease. *Journal of Investigative Dermatology*, 126, 2565-2575.

Cao, G., Wang, H., & Prior, R. (1996). Total Antioxidant Capacity of Fruits. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 44(3), 701-705.

Carvajal de Pabón, L. (2011). Algunas especies de Passiflora y su capacidad antioxidante. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 16(4), 354-363.

Castilla, R., Huerta, P., Carrasco, R., & Rodrigo, R. (2003). Estrés oxidativo y daño renal. *CIMEL*, 8 (1), 44-53.

Castillo, K., Castillo, H., & Huamán, J. (2013). Efecto de la *Averrhoa carambola* L. o "carambola" vs. gemfibrozilo sobre el perfil lipídico en *Rattus rattus* var. *albinus*. *Acta Médica Peruana*, 30(3), 136-141.

Céspedes, E., Rodríguez, K., Llopiz, N., & Cruz, N. (2000). Un acercamiento a la teoría de los radicales libres y el estrés oxidativo en el envejecimiento. *Revista Cubana de Investigación Biomédica*, 19(3), 186-190.

Connor A., Finn C., & Alspach P. (2005). Genotypic and Environmental Variation in Antioxidant Activity and Total Phenolic Content among

Blackberry and Hybridberry Cultivars. *Journal of American Society of Horticultural Science*, 130(4), 527-533.

Chand, N., Chaulya, Kanti, P., Mukherjee, A. (2010). In vitro free radical scavenging activity of methanol extract of rhizome of *Cyperus tegetum* Roxb. (Cyperaceae). *International Journal of Current Pharmaceutical Research*, 2(3), 39-43.

Chimeneos, E. (2008). Aspectos prácticos en la prevención del cáncer oral. *Avances en Odontoestomatología*, 24(1), 61-67.

Chuquimia, F., Alvarado, J., Peñarrieta, J., Bergenstahl, B., & Akeeson, B. (2008). Determinación de la capacidad antioxidante y la cuantificación de compuestos fenólicos y flavonoides de cuatro especies vegetales de la región andina de Bolivia. *Revista Boliviana de Química. Bolivia*, 25(1), 75-83.

Cuerda, C., Luengo, M., Valero, A., Vidal, A., Burgos, R., Calvo, L., et al. (2011). Antioxidantes y diabetes mellitus: revisión de la evidencia. *Nutrición Hospitalaria*, 26 (1), 68-78.

Davey, M. (2000). Plant L-ascorbic acid: Chemistry, function, metabolism, bioavailability and effects of processing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 825-860.

De Souza, M., Raga, A., & Zucchi, A. (2000). Incidencia de *Anastrepha obliqua* (Macquart) y *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae) en carambola (*Averrhoa carambola* L.) en ocho localidades del estado de Sao Paulo, Brasil. *Anales de la Sociedad de Entomología. Brasil*, 29(2), 367-371.

Delgado, L., & Martínez, G. (2009). El estrés oxidativo en la enfermedad cardiovascular: evidencias para un tratamiento más integral. *Revista Cubana de Farmacia*, 43(1).

Dewanto, V., Orthofer, R., & Lamuela-Raventos, R. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods of Enzymology*, 299(1), 152-178.

Doroteo, V., Díaz C., Terry. C., & Rojas. R. (2013). Compuestos fenólicos y actividad antioxidante in vitro de 6 plantas peruanas. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 79(1), 13-20.

Elejalde, J. (2001). Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. *Anales de Medicina Interna*, 18(6), 326-335.

Enfermedades producidas por radicales libres. (1997). *Revista Panamericana de Salud Pública*, 1(5), 399-400.

Ferreira, E. B. (2008). Hypoglycemic effect of hidroalcoholic extracts of leaves of *Averrhoa carambola* L. (Oxalidaceae). *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 18(3), 339-343.

García, B., Saldaña, A., & Saldaña, L. (2013). El estrés oxidativo y los antioxidantes en la prevención del cáncer. *Revista Habanera de Ciencias Médicas*, 12 (2), 187-196.

García, M., Vicente, L., Rojo, M. & Sánchez, E. (2001). Plantas con propiedades antioxidantes. *Revista Cubana de Investigación Biomédica*, 20(3), 231-235.

Garzón G., Riedl K., & Schwartz S. (2009). Determinacion of Anthocyanins, Total Phenolic Content, and Antioxidant Activity in Andes Berry (*Rubus glaucus* Benth). *Journal of Food Sciencie: Food Chemistry*, 74(3), 227-232.

Guerra, E. (2001). Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. *Análisis de Medicina Interna*, 18(6), 326-335.

Guija, H., Troncoso L. & Guija. E. (2005). Propiedades prooxidantes del camu camu (*Myrciaria dubia*). *Anales de la Facultad de Medicina. Universidad Nacional Mayor de San Marcos*, 66(4), 261-268.

Gutiérrez, T., Hoyos, O., Páez, M. (2007) Determinación del contenido de ácido ascórbico en uchuva (*Physalis peruviana* L.), por cromatografía líquida de alta resolución (CLAR). *Facultad de Ciencias Agropecuarias*, 5(1), 70-79.

Gutiérrez, A., Ledesma, L., García, I., & Grajales, O. (2007). Capacidad antioxidante total en alimentos convencionales y regionales de Chiapas, México. *Revista Cubana de Salud Pública*, 33(1).

Gutiérrez, J. (2006). ¿Qué sabe usted acerca de... radicales libres? *Revista mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 37(4), 69-73.

Halliwell, B. (1992). Free radicals, antioxidants and human disease: where are we now? *Journal of Laboratory Clinical Medical*, 119 (6), 598-620.

Hernández-Varela, J., Moncayo, A., Fernández, V., & Sulbarán, B. (2013). Actividad antioxidante de lámina flexible de mango (*Mangifera indica*). *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 79(2), 175-177.

Hidalgo, M., Fernández, E., Cabello, A., Rivas, C., Fontecilla, F., Morales, L. et al. (2006). Evaluación de la respuesta oxidante en *Chiton granosus* Fremby 1928 (Mollusca: Polyplacophora) a contaminantes oxidativos. *Revista de biología marina y oceanografía*, 41(2), 155-165.

Jagota, S.K., & Dani, H.M. (1982). A new colorimetric technique for the estimation of vitamin C using Folin phenol reagent. *Analysis Biochemistry*, 127 (1), 178-182.

Kalpna, R., Mital, K., & Sumitra, Ch. (2011) Vegetable and fruit peels as a novel source of antioxidants. *Journal of Medicinal Plants Research*, 5(1), 61-71).

Kodama, D., Goncalvez, A., Lajolo, F., & Genovese, M. (2010). Flavonoids, total phenolics and antioxidant capacity: comparison between commercial Green tea preparations. *Ciencia y Tecnología de Alimentos. Brasil*, 30(4), 1077-1082.

Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., Troncoso A. M., Mancini-Filho J. & Roseane F. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Food Science and Technology (Campinas)*, 25 (4), 726-732.

Luis, D., & Aller, R. (2008). Papel de los flavonoides del té en la protección cardiovascular. *Anales de Medicina Interna (Madrid)*, 25(3), 105-107.

Márquez, M., Yépez, E., Sútil-Naranjo, R., & Rincón, M. (2002). Aspectos básicos y determinación de las vitaminas antioxidantes E y A. *Investigación clínica*, 43(3), 191-204.

Marsicano, I. J. (1994). Los radicales libres. *GEN Revista de la Sociedad Venezolana de Gastroenterología*, 48 (1), 39-44.

Martínez, G. (2005). Especies reactivas del oxígeno y balance redox, parte I: aspectos básicos y principales especies reactivas del oxígeno. *Revista Cubana de Farmacia*, 39(3).

Mayor-Oxilia, R. (2010). Estrés oxidativo y sistema de defensa antioxidante. *Revista del Instituto de Medicina Tropical*, 5(2), 23-29.

Mesa-Vanegas, A., Gaviria, C., Cardona, F., Sáez-Vega, J., Trujillo, S., Rojano, B. (2010). Actividad antioxidante y contenido de fenoles totales de algunas especies del género *Calophyllum*. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 15(2), 13-26.

Moyer, A., Hummer, E., Finn, E., Frei, B., & Wrolstad, E. (2002). Anthocyanins phenolics and antioxidant capacity in diverse small fruits: *Vaccinium*, *Rubus* and *Ribes*. *Journal Agricultural Food Chemistry*. 50:519-525.

Muedas, G., La Rosa, A., & Robles, J. (2008). Evaluación electroquímica de la actividad antioxidante del extracto alcohólico de la *Bauhinia guianensis* var. *Kuntiana* Aubl. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 74(4), 233-246.

Muñoz, A. (2007). Evaluación de la capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en recursos vegetales promisorios. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, Lima, 73(3), 142-149.

Núñez, A. (2011). Terapia antioxidante, estrés oxidativo y productos antioxidantes: retos y oportunidades. *Revista Cubana de Salud Pública*, 37(5), 644-660.

Oyaizu M. (1986). Studies on products of browning reactions: antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Journal of Nutrition*, 44: 307-315.

Pastene, E. (2009). Estado actual de la búsqueda de plantas con actividad antioxidante. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 8(6), 449-455.

Pastene, E., Gómez, M., Speisky, H., & Núñez-Vergara, L. (2009). Un sistema para la detección de antioxidantes volátiles comúnmente emitidos desde especias y hierbas medicinales. *Química Nova*, 32 (2), 482-487.

Pereira, M., Steffens, R., Jablonski, A., Hertz, P., Ríos, A., Vizzotto, M., & Flores, A. (2012). Characterization and Antioxidant Potential of Brazilian Fruits from the Myrtaceae Family. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 3061-3067.

Pérez, G. (2003). Los flavonoides: antioxidantes o prooxidantes. *Revista Cubana de Investigación Biomédica*, 22(1), 48-57.

Quiñones, M., Miguel, M., & Aleixandre, A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*, 27(1), 76-89.

Reátegui, O., Guija, E., Soldevilla, P., Castillo, J., & Pérez-Reyes, S. (2008). Determinación de la capacidad antioxidante de néctares de frutas. *Científica Perú*, 5(2), 19-26.

Reddy, K., Sreeramulu, D., & Raghumath, M. (2010) Antioxidant activity of fresh and dry fruits commonly consumed in India. *Food Research International*, 43:285-288.

Restrepo, A., Cortés, M., & Rojano, B. (2010). Potenciación de la capacidad antioxidante de fresa (*Fragaria ananassa* Duch.) por incorporación de vitamina E utilizando la técnica de impregnación a vacío. *Vitae. Revista de la Facultad de Química Farmacéutica*. Universidad de Antioquia. Medellín, Colombia, 17(2), 135-140.

Rodríguez, M., Menéndez, R., & Trujillo, Y. (2001). Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidativo. *Revista Cubana de Medicina Militar*, 30 (1), 15-20.

Rojas-Barquera, D., & Narvárez-Cuenca, C. (2009). Determinación de vitamina C, compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante de frutas de guayaba (*Psidiumguajava* L.) cultivadas en Colombia. *Química Nova*, 32(9), 2336-2340.

Sánchez, J., Martínez, G., & Faure, R. (2011). Efecto protector de los polifenoles de *Rhizophora mangle* L. sobre el daño oxidativo a proteínas y ADN. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 16 (1), 1-12.

Sayago, A., Marín, M., Aparicio, R., & Morales, M. (2007). Vitamina E y aceites vegetales. *Grasas y aceites*, 58(1), 74-86.

Sebal, H., Souli, A., Chehimi, L., Rtibi, K., Amri, M., El-Benna, J., & Sakly M. (2013). In vitro and in vivo antioxidant properties of Tunisian carob (*Ceratonia siliqua* L.). *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(2), 85-90.

Singleton, V., Orthofer, R., & Lamuela-Raventos, R. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods of enzymology*, 299 (1), 152-178.

Sohby M., Ammar A., (2009). Total phenolic contents and antioxidant activity of corn tassel extracts. *Food Chemistry*, 112, 595-598.

Spielvogeli, H. (2008). El lado oscuro del oxígeno. *SCIENTIFICA*, 6(1), 57-61.

Szeto Y., Tomlinson B., & Benzie I. (2002). Total antioxidant and ascorbic acid content of fresh fruits and vegetables: implications for dietary planning and food preservation. *British Journal of Nutrition*, 87, 53-59.

Szollosi, R. & Varga, I. (2002). Total antioxidant power in some species of Labiatae (Adaptation of FRAP method). *Acta Biologica Szegadiensis*, 46 (3-4), 125-127.

Sudha, G., Sangeetha, M., Indhu, R. & Vadivukkarasi, S. (2011). In vitro free radical scavenging activity of raw pepino fruit (*Solanum muricatum* Aiton). *International Journal of Current Pharmaceutical Research*, 3(2), 137-140.

Troncoso, L. & Guija, E. (2007). Efecto antioxidante y hepatoprotector del *Petroselinum sativum* L. (perejil) en ratas, con intoxicación hepática inducida por paracetamol. *Anales de la Facultad de Medicina*, 68 (4), 333-343.

Urbina-Bonilla, A. (2008). Nuevo papel de los radicales libres de oxígeno en el ejercicio ¿otra paradoja? *Colombia Médica*, 38(3), 266-275.

Vasconcelos, C., Araujo, M., Silva, B., & Conde-García, E. (2005). Negative inotropic and chronotropic effects on the guinea pig atrium of extracts obtained from *Averrhoa carambola* L. leaves. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 38(7), 1113-1122.

Vasconcelos, L., Gondim, S., Cruz, S., Mafra, A., Silva, A., & Conde-Garcia, A. (2008). Aqueous leaf extract of *Averrhoa carambola* L. (Oxalidaceae) reduces both the inotropic effect of BAY K 8644 on the guinea pig atrium and the calcium current on GH3 cells. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 18(4), 539-543.

Venereo, J. (2002). Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista Cubana de Medicina Militar*, 31 (2), 126-133.

Wang, H., Cao, G., & Prior, Ronald, (1996). Total Antioxidant Capacity of Fruits. *Journal Agricultural Food Chemistry*, 44(3), 701-705.

Wolfe, K., Wu, X., & Liu, H. (2003). Antioxidant activity of Apple peels. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 51:609-614.

Zamora, D. (2007). Antioxidantes: micronutrientes en lucha por la salud. *Revista chilena de Nutrición*, 34(1), 17-26.

Zapata, K., Cortés, F., & Rojano, B. (2013). Polifenoles y actividad antioxidante del fruto de guayaba agria (*Psidiumaraca*). *Información Tecnológica*, 24(5), 103-112.

Zapata, L., Gerard, L., Davies, C., Schvab, M. (2007). Estudio de los componentes antioxidantes y actividad antioxidante en tomates. *Ciencia Docencia y Tecnología*, 18(35), 175-193.

Zhang, Z., Jin, Q., Ly, G., Fan, L., Pan, H. & Fan, L. (2013). Chemical constituents, in vitro antioxidant and antimicrobial potential of *Caryota urens* L. *Free Radicals and Antioxidants*. 3:107-112.

Zorrilla, A., Eirez, M., & Izquierdo, M. (2004). Papel de los radicales libres sobre el ADN: carcinogénesis y terapia antioxidante. *Revista Cubana de Investigación Biomédica*, 23 (1), 51-57.