

**UNIVERSIDAD NACIONAL
TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS**



**FACULTAD DE INGENIERÍA Y CIENCIAS AGRARIAS
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA AGROINDUSTRIAL**

**TESIS PARA OBTENER
EL TÍTULO PROFESIONAL DE
INGENIERO AGROINDUSTRIAL**

**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE,
ANTIMICROBIANA Y POLIFENOLES TOTALES DE LA
MANZANITA (*Arctostaphylos pungens*) EN TRES
ESTADOS DE MADUREZ**

**Autora: Bach. Magna Isabel Arévalo Ventura
Asesor: Mg. Armstrong Barnard Fernández Jeri
Co Asesor: Mg. Roberto Carlos Mori Zabarburú**

Registro: (.....)

CHACHAPOYAS – PERÚ

2022

AUTORIZACIÓN DE LA PUBLICACIÓN DE LA TESIS EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UNTRM



UNTRM

REGLAMENTO GENERAL
PARA EL OTORGAMIENTO DEL GRADO ACADÉMICO DE BACHILLER, MAESTRO O DOCTOR Y DEL TÍTULO PROFESIONAL

ANEXO 3-H

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN DE LA TESIS EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UNTRM

1. Datos de autor 1

Apellidos y nombres (tener en cuenta las tildes): Arévalo Ventura Magna Isabel
DNI N°: 72259222
Correo electrónico: 7225922242@untrm.edu.pe
Facultad: Ingeniería y Ciencias Agrarias
Escuela Profesional: Ingeniería Agroindustrial

Datos de autor 2

Apellidos y nombres (tener en cuenta las tildes): _____
DNI N°: _____
Correo electrónico: _____
Facultad: _____
Escuela Profesional: _____

2. Título de la tesis para obtener el Título Profesional

Evaluación de la actividad antioxidante, antimicrobiana y polifenoles totales de la manzanita (Aristophylos pungens) en tres estados de madurez.

3. Datos de asesor 1

Apellidos y nombres: Fernández Jeri Armstrong Barnard
DNI, Pasaporte, C.E N°: 09304921
Open Research and Contributor-ORCID (<https://orcid.org/0000-0002-9670-0970>): 0000-0001-9476-1078

Datos de asesor 2

Apellidos y nombres: Mori Zababurú Roberto Carlos
DNI, Pasaporte, C.E N°: 43369387
Open Research and Contributor-ORCID (<https://orcid.org/0000-0002-9670-0970>): 0000-0003-2203-0465



4. Campo del conocimiento según la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos- OCDE (ejemplo: Ciencias médicas, Ciencias de la Salud-Medicina básica-Immunología)

https://catalogos.concytec.gob.pe/vocabulario/ocde_ford.html
2.11.00-Otras Ingenierías, Otras Tecnologías, 2.11.01-Alimentos y Bebidas

5. Originalidad del Trabajo

Con la presentación de esta ficha, el(la) autor(a) o autores(as) señalan expresamente que la obra es original, ya que sus contenidos son producto de su directa contribución intelectual. Se reconoce también que todos los datos y las referencias a materiales ya publicados están debidamente identificados con su respectivo crédito e incluidos en las notas bibliográficas y en las citas que se destacan como tal.

6. Autorización de publicación

El(los) titular(es) de los derechos de autor otorga a la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas (UNTRM), la autorización para la publicación del documento indicado en el punto 2, bajo la *Licencia creative commons* de tipo BY-NC: Licencia que permite distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir de su obra de forma no comercial por lo que la Universidad deberá publicar la obra poniéndola en acceso libre en el repositorio institucional de la UNTRM y a su vez en el Registro Nacional de Trabajos de Investigación-RENATI, dejando constancia que el archivo digital que se está entregando, contiene la versión final del documento sustentado y aprobado por el Jurado Evaluador.

Chachapoyas, 28 / setiembre / 2023

Firma del autor 1

Firma del Asesor 1

Firma del autor 2

Firma del Asesor 2

DEDICATORIA

Dedico este logro primero a Dios, por brindarme la fuerza, la valentía, el apoyo moral para cumplir con esta meta trazada, por ser testigo participe de las dificultades tenidas al transcurso de la investigación presentadas por múltiples situaciones que se nos van de la mano.

A mis padres por su amor incondicional y confianza brindada durante estos años, por ser el pilar fundamental para cumplir mis metas, objetivos trazados. A mi hijo por ser mi motor y motivo para seguir adelante.

Magna Isabel Arévalo Ventura

AGRADECIMIENTO

A Dios, por darme la valentía y fuerza de seguir a delante y permitirme llegar hasta donde estoy y ayudarme a lograr cada una de mis metas trazadas.

A mis padres César Arévalo, Francisca Ventura, por darme el apoyo incondicional e desinteresado, fuerza, su amor, seguridad y confianza de seguir cada sueño forjado por estar siempre ahí a pesar de mis flaquezas y tropiezos por forjarme los buenos valores y darme el más grande regalo que es mi educación año tras año.

A mi hijo Alexis que ha sido mi soporte para seguir adelante, el dueño y señor de cada logro realizado, por ser el protagonista primordial para la culminación de este proyecto

A mi querida FICA que ha aportado a los conocimientos y aprendizajes adquiridos durante más de 5 años académicos, a los trabajadores de cada laboratorio y a mis asesores Mg. Armstrong y Dr. Roberto por la paciencia, la dedicación y por ser partícipes fundamentales en el logro de la ejecución de mi investigación.

**AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL TORIBIO RODRÍGUEZ
DE MENDOZA DE AMAZONAS**

Ph. D. JORGE LUIS MAICELO QUINTANA

Rector

Dr. OSCAR ANDRÉS GAMARRA TORRES

Vicerrector Académico

Dra. MARÍA NELLY LUJÁN ESPINOZA

Vicerrectora de Investigación

Dr. ERICK ALDO AUQUIÑIVIN SILVA

Decano de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias

VISTO BUENO DEL ASESOR DE TESIS



ANEXO 3-L

VISTO BUENO DEL ASESOR DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL

El que suscribe el presente, docente de la UNTRM (X)/Profesional externo (), hace constar que ha asesorado la realización de la Tesis titulada Evaluación de la actividad antioxidante, antimicrobiana y polifenoles totales de la manzanita (Arctostaphylos pungens) en tres estados de madurez; del egresado Magna Isabel Arévalo Ventura de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de esta Casa Superior de Estudios.



El suscrito da el Visto Bueno a la Tesis mencionada, dándole pase para que sea sometida a la revisión por el Jurado Evaluador, comprometiéndose a supervisar el levantamiento de observaciones que formulen en Acta en conjunto, y estar presente en la sustentación.

Chachapoyas, 21 de setiembre de 2022


Firma y nombre completo del Asesor
Armstrong Barnard Fernández Jeri

VISTO BUENO DEL CO-ASESOR DE TESIS



ANEXO 3-L

VISTO BUENO DEL ASESOR DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL

El que suscribe el presente, docente de la UNTRM (X)/Profesional externo (), hace constar que ha asesorado la realización de la Tesis titulada Evaluación de la actividad antioxidante, antimicrobiana y polifenoles totales de la manzanita (Arctostaphylos pungens) en tres estados de madurez; del egresado Magna Isabel Arévalo Ventura de la Facultad de Ingeniería y Ciencias Agrarias Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial de esta Casa Superior de Estudios.

El suscrito da el Visto Bueno a la Tesis mencionada, dándole pase para que sea sometida a la revisión por el Jurado Evaluador, comprometiéndose a supervisar el levantamiento de observaciones que formulen en Acta en conjunto, y estar presente en la sustentación.



Chachapoyas, 21 de setiembre de 2022

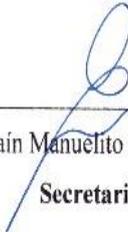
Firma y nombre completo del Asesor
Roberto Carlos Flori Zababurú

JURADO EVALUADOR DE LA TESIS



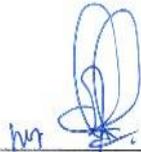
Ing. Ms. Robert Javier Cruzalegui Fernández

Presidente



Dr. Efrain Manuelito Castro Alayo

Secretario



Ing. MsC. Robert Amado Guadalupe Chuqui

Vocal

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE LA TESIS



ANEXO 3-Q

CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE LA TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL

Los suscritos, miembros del Jurado Evaluador de la Tesis titulada:

Evaluación de la actividad antioxidante, antimicrobiana y polifenoles totales de la manzanilla (Arctostaphylos purgens) en tres estados de madurez,
presentada por el estudiante ()/egresado (X) Magda Isabel Arevalo Ventura
de la Escuela Profesional de Ingeniería Agroindustrial
con correo electrónico institucional 7225922242 @ untrm.edu.pe

después de revisar con el software Turnitin el contenido de la citada Tesis, acordamos:

- a) La citada Tesis tiene 22 % de similitud, según el reporte del software Turnitin que se adjunta a la presente, el que es menor (X) / igual () al 25% de similitud que es el máximo permitido en la UNTRM.
- b) La citada Tesis tiene _____ % de similitud, según el reporte del software Turnitin que se adjunta a la presente, el que es mayor al 25% de similitud que es el máximo permitido en la UNTRM, por lo que el aspirante debe revisar su Tesis para corregir la redacción de acuerdo al Informe Turnitin que se adjunta a la presente. Debe presentar al Presidente del Jurado Evaluador su Tesis corregida para nueva revisión con el software Turnitin.



Chachapoyas, 14 de diciembre del 2022


SECRETARIO


PRESIDENTE


VOCAL

OBSERVACIONES:

.....
.....

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE LA TESIS



ANEXO 3-5

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL

En la ciudad de Chachapoyas, el día 27 de diciembre del año 2022, siendo las 11:00 horas, el aspirante: Bach. Magna Isabel Arévalo Ventura, asesorado por Mg. Armstrong Barnard Fernández Jeri defiende en sesión pública presencial () / a distancia () la Tesis titulada: Evaluación de la actividad antioxidante, antimicrobiana y polifenoles totales de la manzanita (Arctostaphylos purgens) en tres estados de madurez, para obtener el Título Profesional de Ingeniera Agroindustrial, a ser otorgado por la Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas; ante el Jurado Evaluador, constituido por:

Presidente: Mg. Robert Javier Cruzalgui Fernández

Secretario: Dr. Efraín Manuelito Castro Alayo

Vocal: Mg. Grobert Amado Guadalupe Chuigui

Procedió el aspirante a hacer la exposición de la Introducción, Material y métodos, Resultados, Discusión y Conclusiones, haciendo especial mención de sus aportaciones originales. Terminada la defensa de la Tesis presentada, los miembros del Jurado Evaluador pasaron a exponer su opinión sobre la misma, formulando cuantas cuestiones y objeciones consideraron oportunas, las cuales fueron contestadas por el aspirante.

Tras la intervención de los miembros del Jurado Evaluador y las oportunas respuestas del aspirante, el Presidente abre un turno de intervenciones para los presentes en el acto de sustentación, para que formulen las cuestiones u objeciones que consideren pertinentes.

Seguidamente, a puerta cerrada, el Jurado Evaluador determinó la calificación global concedida a la sustentación de la Tesis para obtener el Título Profesional, en términos de:

Aprobado () por Unanimidad () / Mayoría ()

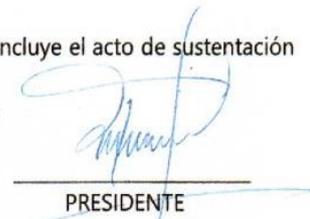
Desaprobado ()

Otorgada la calificación, el Secretario del Jurado Evaluador lee la presente Acta en esta misma sesión pública. A continuación se levanta la sesión.

Siendo las 12:30 horas del mismo día y fecha, el Jurado Evaluador concluye el acto de sustentación de la Tesis para obtener el Título Profesional.


SECRETARIO


VOCAL


PRESIDENTE

OBSERVACIONES:

.....

ÍNDICE GENERAL

AUTORIZACIÓN DE LA PUBLICACIÓN DE LA TESIS EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL DE LA UNTRM	ii
DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTO	iv
AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL TORIBIO RODRÍGUEZ DE MENDOZA DE AMAZONAS	v
VISTO BUENO DEL ASESOR DE TESIS	vi
VISTO BUENO DEL CO-ASESOR DE TESIS.....	vii
JURADO EVALUADOR DE LA TESIS	viii
CONSTANCIA DE ORIGINALIDAD DE LA TESIS	ix
ACTA DE SUSTENTACIÓN DE LA TESIS	x
ÍNDICE GENERAL	xi
ÍNDICE DE TABLAS.....	xiii
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xiv
RESUMEN.....	xvi
ABSTRACT	xvii
I. INTRODUCCIÓN:	18
II. MATERIALES Y MÉTODOS:	21
2.1. Recolección de muestra.....	21
2.2. Propiedades físicas y químicas de la manzanita.....	21
2.3. Preparación del extracto	22
2.4. Actividad antioxidante:	22
2.5. Actividad antimicrobiana:	23
2.6. Determinación del contenido de Polifenoles Totales:.....	24
2.7. Análisis estadístico.....	24

III. RESULTADOS.....	25
3.1. Determinación de la actividad antioxidante (Ensayo DPPH)	25
3.2. Análisis antimicrobiano	27
3.3. Contenido de polifenoles totales	32
IV. DISCUSIÓN	34
V. CONCLUSIONES.....	36
VI. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA	37
ANEXOS.....	40

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Contenido de actividad antioxidante en distintas concentraciones de extracto de <i>A.pungens</i>	25
Tabla 2. Comparaciones múltiples a través de la prueba tukey en el contenido de actividad antioxidante en distintas concentraciones de <i>A.pungens</i>	26
Tabla 3. Efecto antimicrobiano del extracto de <i>A.pungens</i> sobre <i>S.aureus</i> y medidas en halos de inhibición.....	28
Tabla 4. Efecto antimicrobiano del extracto de <i>A.pungens</i> sobre <i>Salmonella</i> y medidas en halos de inhibición	29
Tabla 5. Efecto antimicrobiano del extracto de <i>A.pungens</i> sobre <i>Shiguella</i> y medidas en halos de inhibición.....	30
Tabla 6. Efecto antimicrobiano del extracto de <i>A.pungens</i> sobre <i>E. coli</i> y medidas en halos de inhibición.....	31
Tabla 7. Compuestos de polifenoles totales en estados madurez de <i>A. pungens</i>	32
Tabla 8. Comparaciones múltiples a través de la prueba tukey en el contenido de polifenoles en distintas concentraciones de <i>A. pungens</i>	33
Tabla 8. Análisis de Anova de un factor y comparaciones múltiples en HSD de Tukey de la actividad antioxidante en el SPSS.....	46

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Media de la actividad antioxidantes en diferentes estados de madurez de la <i>A. pungens</i> a concentración de 900 ul .	27
Figura 2. Halos de inhibición donde predomina mayor cantidad de efecto antimicrobiano por efecto del extracto de <i>A. pungens</i> en estado de madurez verde (1.1mm) en diluciones de 100% en <i>S. aureus</i> a 24 horas a 48 horas.	28
Figura 3. Halos de inhibición donde predomina mayor cantidad de efecto antimicrobiano por efecto del extracto de <i>A. pungen</i> en estado de madurez verde (32mm) en diluciones de 100% en <i>Salmonella</i> 24 horas a 48horas.	29
Figura 4. Halos de inhibición donde predomina mayor cantidad de efecto antimicrobiano por efecto del extracto de <i>A. pungens</i> en estado de madurez verde (25mm) en diluciones de 100% en <i>Shiguella</i> en 24 horas y 48 horas.	30
Figura 5. Halos de inhibición donde predomina mayor cantidad de efecto antimicrobiano por efecto del extracto de <i>A. pungens</i> en estado de madurez verde (23mm) en diluciones de 100% en <i>E.coli</i> de 24 horas a 48 horas.	31
Figura 6. Media de los polifenoles totales en diferentes estados de madurez de <i>A. pungens</i>	33
Figura 7. Recolección y empacado de la manzanita.	40
Figura 8. Selección y extracto de la manzanita.	41
Figura 9. Curva de calibración del ácido gálico para la determinación de polifenoles totales por el método Folin – Ciocalteu.	42
Figura 10. Curva de calibración del para la determinación de actividad antioxidantes con el reactivo Trolox.	42
Figura 11. Preparación los extractos para análisis de la actividad antioxidante, polifenoles totales y actividad antimicrobiana en frutos de manzanita.	43
Figura 12. Obtención de los microorganismos	44

Figura 13. Preparación del agar	44
Figura 14. Análisis antimicrobiano del fruto.	45
Figura 15. Media de la actividad antioxidantes en diferentes estados de madurez de la <i>A. pungens</i> a concentración de 100 ul, 300 ul, 600 ul, 900 ul.....	48

RESUMEN

El objetivo de la presente investigación fue evaluar la actividad de antioxidantes, actividad antimicrobiana y polifenoles totales presentes en los diferentes estados de madurez de *A. pungens* “manzanita”, fruto que fue analizado a través de sus 3 estados de madurez verde, pintón y maduro, que fueron realizados considerando el color del fruto. Se realizaron los siguientes análisis: actividad antioxidante obteniendo como resultados de 93.86% a 97.63% de inhibición; actividad antimicrobiana teniendo los siguientes resultados *S.aureus* de 0.9mm a 1.1, *Salmonella* de 16mm a 32mm, *Shiguella* 13 a 25 mm y *E.coli* 21mm a 23mm halos de inhibición respectivamente, y finalmente polifenoles totales 2833.003 a 2910.036 mg GAE/100 g. Demostrando así que el estado de madurez verde predomina frente a los dos estados pintón y maduro, teniendo mayor cantidad de antioxidantes, actividad antimicrobiana y polifenoles totales que aportan múltiples beneficios.

Palabras claves: *A. pungens*, antioxidantes, polifenoles totales, estado de madurez, actividad antimicrobiana, *S.aureus*, *Salmonella*, *Shiguella*, *E.coli*, inhibición.

ABSTRACT

The objective of the present investigation was to evaluate the activity of antioxidants, antimicrobial activity and total polyphenols present in the different stages of maturity of *A. pungens*, “manzanita”, a fruit that was analyzed through its 3 stages of ripeness, green and ripe, that were made considering the color of the fruit. The following analyzes were carried out: antioxidant activity, obtaining results of 93.86% to 97.63% inhibition; antimicrobial activity having the following results *S.aureus* from 0.9 mm to 1.1, *Salmonella* from 16mm to 32mm, *Shiguella* 13 to 25 mm and *E.coli* 21mm to 23mm inhibition halos respectively, and finally total polyphenols 2833.003 to 2910.036 mg GAE/100 g. Thus demonstrating that the state of green maturity predominates over the two states of color and mature, having a greater amount of antioxidants, antimicrobial activity and total polyphenols that provide multiple benefits.

Keywords: *A. pungens*, antioxidants, total polyphenols, maturity stage, antimicrobial activity, *S. aureus*, *Salmonella*, *Shiguella*, *E. coli*, inhibit.

I. INTRODUCCIÓN:

La *A. pungens*. es una planta silvestre que es conocida como pingüica, manzanita, manzanilla o tepesquite; es leñosa, se presenta entre 50 cm a 3 m de altura; tiene bastantes ramas, es de corteza de color café rojizo a rojo-púrpura. Sus flores son de color blanco a rosado, separada en racimos de 5 a 8 flores; puede darse en todo el año, es una buena fuente de alimento. En su maduración la pulpa y cáscara se torna a color amarillo, que tiende ligeramente a café rojizo. Sus frutos tienen un contenido de ácido gálico, y un glucósido, la arbutina, que cuenta con característica diurética y antiinflamatorio (Díaz et al., 2016), los frutos contienen gran cantidad de compuestos fenólicos y capacidad antioxidante (Zamora, 2016 y Toa, 2015) .

El estado de madurez en la recolección del fruto es uno de los indicadores más resaltantes que determinan el proceder y la calidad postcosecha (Forero & Sánchez, 2020). En frutos recolectados inmaduros o en índice de madurez acelerado son más delicados a deterioros fisiológicos en postcosecha por lo cual al recolectar los frutos debemos tener en cuenta el estado de madurez de los frutos de *A. pungens* (Obregón, 2020).

Los frutos de *A. pungens*. se cosechan en los meses de febrero- marzo (Eliyahu et al., 2015) es recomendable recolectar los frutos cuando cuente con los grados °Brix aceptable, los frutos no son comestibles de inmediato después de su cosecha, sino cuando el fruto tiende hacer blando al tacto aportando al mejor análisis de los antioxidantes y polifenoles totales del fruto de acuerdo a los estudiado por López (citado en Matute & Noblecilla, 2019).

La evaluación de la capacidad antioxidante depende de las concentraciones del extracto para obtener mejor resultado, esto se logra cuando los disolventes son aplicados en una concentración de 0.04 g/mL y un tiempo adecuado (30 min) para evitar valores elevados (Kuskoski et al., 2005), los resultados en pulpa de arándano es 40.58 y la manzana 58.82, y en la capacidad antioxidante (% de Inhibición) de las láminas deshidratadas de las pulpas se obtuvo en el primer tratamiento 28.34; en el segundo tratamiento 29.23; tercer tratamiento 34.25; y el cuarto tratamiento 38.34; habiendo una diferencia de la actividad antioxidante en láminas de pulpas.

En la evaluación realizada por Llimpe (2017) ; la actividad antioxidante de *Mesodesma donacium* evaluada a través del radical de DPPH, obtuvo un valor de 569.3637 Umol

TE/g muestra, 550.1427 Umol TE/g muestra y 323.9630 Umol TE/g muestra en los 3 estados de madurez (verde, pintón y maduro) obteniendo como resultado que el estado de madurez en verde contiene mayor capacidad antioxidante.

En los últimos tiempos los frutos nativos fueron estudiados porque tienen propiedades antimicrobianas, para tal efecto, Aguayo et al. (2018) manifiesta que los extractos de *A. pungens*. revelaron una gran proporción de compuestos fenólicos 77 miligramos de ácido gálico equivalentes/ 100 g. Además, hubo diferencias en el potencial antimicrobiano referente a las distintas cepas evaluadas, esto se pudo dar por el diferente efecto que pueden tener los compuestos fenólicos sobre las bacterias, el principal efecto antimicrobiano se tuvo en la cepa de Salmonella, por lo que la *A. pungens*. podría utilizarse como un componente natural antimicrobiano para la Salmonella, que aporta en la conservación de los alimentos manteniendo su inocuidad. De la misma forma, las investigaciones realizadas por Cabezas, (2017) indica que en moras de Castilla almacenado durante 6 días obtuvieron que de 6 ± 1 °C en un periodo de 8-10 días se da la inhibición total de este microorganismo; mientras que Pérez (2018) manifiesta que el extracto con raíz de *T. cubense* inhibición de 16.7 ± 0.6 mm y 16.3 ± 0.6 mm con respecto a e *S. aureus* y *S. maltophilia*.

Según Anticono et al. (2016) en su estudio realizado indican que la mayor proporción de contenido de fenoles solubles totales corresponden a la muestra 10 (arándanos negros desecados) con 2336.9 ± 8.7 mg/100 g). Las muestras 7, 8, 11, 12, 13 son referente a arándanos rojos desecados con concentraciones que oscilan desde 391.7 ± 2.4 mg/100g a 590.7 ± 1.8 mg/100 g. La muestra 9 es otro tipo de arándano rojo (*Vaccinium vitis idaea*) con una mayor concentración de fenoles solubles totales (2201.5 ± 8.6 mg/100 g). De los análisis obtenidos se puede decir que los zumos con más del 50% de fruta tienen mayor cantidad de polifenoles (mg GAE/100 ml).

En el proceso de evaluación de polifenoles la naturaleza química, la metodología empleada y el uso de sustancias influyen en el contenido de polifenoles. Cortez (2018) en la evaluación de polifenoles, en arándano (mg ácido gálico/100 g) fue de 30.79 ± 0.79 y en la manzana es 63.76 ± 0.36 , y referente al contenido de polifenoles en láminas deshidratadas de pulpa de arándano y manzana (mg ácido gálico/100 g) se obtuvo en el primer tratamiento de 110.16 ± 3.33 , en el segundo tratamiento $101,12 \pm 1,29$, tercer tratamiento 149.8 ± 2.54 , y el último tratamiento fue de 156.75 ± 0.75 ; existiendo así una diferencia del contenido de Polifenoles en láminas de las pulpas.

Según Jurado et al. (2016) en la evaluación realizada de los polifenoles fue de 149.3 ± 1.62 ; 144.4 ± 0.97 ; 127.9 ± 0.79 y 106 ± 0.48 mg/Eq. AG/100 g frutos, con respecto a los lugares de Huánuco, Junín, Ancash y Cajamarca, de forma respectiva, encontrando así que el extracto etanólico con mayor proporción es la de Huánuco. Los extractos etanólicos de *Physalis peruviana L.* de los lugares que se mencionan en lo anterior fueron, evaluados a través del DPPH, expresando un porcentaje de captación de radicales libres de DPPH de 100 ± 1.72 ; 93.26 ± 0.61 ; 86.86 ± 0.28 y $82.51 \pm 1.72\%$; asimismo, expresaron un IC50 de 1.86×10^{-4} ; 2.24 y 2.36 mg/ml, de forma respectiva; obteniendo así mejor capacidad antioxidante en el extracto etanólico proveniente de Huánuco. Los niveles de fenoles totales hojas de *Arctostaphylos uva-ursi* se diferenciaron entre 103.3 ± 4.8 y 206.4 ± 6.5 mg EAG/g (Toa, 2015).

En base a lo antes mencionado, se vio la necesidad de desarrollar la investigación, el cual tuvo como objetivo evaluar la actividad antioxidante, polifenoles totales y capacidad antimicrobiana en los 3 distintos estados de madurez de manzanita *A. pungens*.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Recolección de muestra

Muestra: Los frutos de *A. pungens* fueron recolectados en la zona de Puma Urco (6°15'31''S y 77°52'10'' W) Chachapoyas – Amazonas que está ubicado a 2475 msnm; se recolectaron de forma manual y al azar, en diferentes fechas teniendo en cuenta los distintos estados de madurez. Las *A.pungens* sanas se introdujeron en bolsa de polietileno para evitar posibles alteraciones en la materia prima. Luego se trasladó al laboratorio de Ingeniería Agroindustrial y seguidamente se refrigeró por un corto lapso de tiempo para no alterar su propiedad y finalmente se realizó su estudio.

2.2. Propiedades físicas y químicas de la manzanita

2.2.1. Estado de madurez

Para la clasificación de la muestra de *A. pungens* se realizó bajo los 3 estados de madurez en el fruto (verde, pintón, maduro) según lo propuesto por Forero & Sánchez (2020) en el cual el estado uno fue un fruto 100% rojo en el segundo estado un 50% y en el tercero completamente verde, para hacer la calibración se tomaron 30 muestras en los 3 estados y se empezó la medición .

Se siguió el método de Buitrago et al. (2015), para lo cual, se tomó frutos para identificar el color, con un calibrador manual se midió 5 frutos recolectados en la primera semana, luego para determinar los sólidos totales se pesó 30 g de frutos, por cada periodo de recolección, se empleó 6 g del extracto de la muestra ya triturada se midió el pH con ayuda de un pH-metro (HI 98127), los grados Brix con un refractómetro (modelo PCE-018). Para la acidez titulable se siguió lo propuesto por Moreno & Deaquiz (2015), con algunas modificaciones, en primer lugar, se verifico que el volumen de NaOH este correcto, se tomó 6 g de jugo del fruto, se añadió 3 gotas de fenolftaleína, se empezó a la titulación y empleamos la fórmula donde A = Volumen de NaOH empleado, B = Normalidad (0.097), C = peso del ácido predominante en el fruto, D = peso de la muestra.

$$\text{Acidez (\%)} = (A*B*C) *D) *100 \quad \text{Ec.1}$$

Para determinar el índice de madurez nos ayudamos con la relación entre solidos solubles totales y acidez total titulable.

2.3. Preparación del extracto

El extracto de *A. pungens* se preparó de acuerdo a la metodología con modificaciones de Fu et al. (2011). Se pesó 8 g de *A. pungens* de los 3 estados de madurez, con ayuda de un mortero y pilón se realizó la trituration después se pasó a filtrar en un vaso de precipitación a través de papel filtro; seguidamente se pesó 1g del extracto para posteriormente colocar en un tubo de ensayo y se agregó 9 ml de etanol al 80% se homogenizó por 3 minutos, dejando en reposo por 24 horas. La muestra se centrifugó a 5000 r.p.m. durante 30 minutos, el sobrenadante se puso en un recipiente oscuro para su respectiva evaluación de actividad antioxidante, antimicrobiana y polifenoles totales.

2.4. Actividad antioxidante:

La actividad antioxidante total se evaluó empleando el método químico DPPH, el cual permitió atrapar los radicales libres en la muestra, se siguió el estudio basado en la metodología modificada de Jurado et al., (2016), para lo cual se preparó 100 ml de solución metanólica al 90% y se agregó 0,0045 g del radical DPPH, en 60 tubos de ensayos a distintas concentraciones de solución, la muestra blanca fue de 0.1 ml de agua ultra pura y 3.5 ml de metanol. Después se preparó la solución metanólica (solución A) de nuestro extracto para su análisis en una concentración de 300 µg/ml se agregó a cada una de las muestras (0.5 ml de solución A) y 1.5 ml de solución DPPH, teniendo una concentración de 100 µg/ml, se dejó reposar en un lugar oscuro aproximadamente 25 min, para luego medir la absorbancia a 515 nm en un espectrofotómetro. Para calcular el porcentaje de inhibición se empleó la ecuación 2.

$$\% \text{ inhibición} = \left[1 - \frac{Abm}{Ab} \right] * 100 \quad \text{Ec. 2}$$

Donde:

Ab: Absorbancia control

Abm: Absorbancia de la muestra.

2.5. Actividad antimicrobiana:

Preparación de los extractos para concentración inhibitoria mínima

Los extractos de los diferentes estados de madurez de la manzanita se desarrolló de acuerdo a la metodología planteada por Coklar & Akbulut (2017), el fruto fue desinfectado y triturado con ayuda de un mortero del cual obtuvimos el bagazo y la pulpa de la manzanita se filtró la muestra a través de un papel filtro. Se homogenizó con ayuda de un homogeneizador eléctrico por un tiempo de 2 minutos. Se centrifugó a 5000rpm durante 12 minutos después retiró el residuo, el sobrante se colocó en un recipiente ámbar y se almacenó a 4° C hasta su análisis.

Para la obtención de los microorganismos, se realizó mediante la obtención de vísceras de pollo, pescado en deterioro, heces de gallina que fueron llevados al laboratorio para ser incorporados al caldo nutritivo individualmente por 24 horas, después a través de un hisopo esterilizado se realizó la siembra en sus respectivas placas y agares, luego fueron sembradas en tubos con TSI y LIA para ver el tipo de microorganismos presentes en las placas, después se realizó la siembra pero por estría y finalmente la cosecha de dichos microorganismos que fueron guardados en tubos de ensayos esterilizados envuelto con algodón y parafilm y finalmente se refrigeró para su posterior análisis.

El análisis de la actividad antimicrobiana del extracto de manzanita se siguió la siguiente metodología de difusión en agar (Kirby Bauer) con algunas modificaciones por medio del método de la capacidad mínima inhibitoria (Rojas et al., 2005): Se prepararon medios de cultivos (Agar Mannitol Salt, Agar S.S, Agar MacConkey), con la ayuda de una campana de Durham ya esterilizado a través de un mechero se obtuvieron los pocillos con diámetros de 5mm. Después se pasó a realizar la siembra mediante el método por difusión con la ayuda de un hisopo debidamente esterilizado para cada microorganismo (*S. aureus*, *Salmonella*, *Shiguella* y *E. coli*) considerando el tipo de medio de cultivo para su proliferación, luego se agregó 100 µL de las diluciones de los extractos de la manzanita en agua destilada desde el 100%, 50% y 10% en los pocillos, la evaluación se realizó a las 24 horas de estar en la estufa para finalmente ser realizado la medición de los diámetros de inhibición.

2.6. Determinación del contenido de Polifenoles Totales:

Se empleó el método de Folin- Ciocalteu, en donde se tomó 6 ml del reactivo a un volumen en un matraz de 100 ml con agua destilada para obtener una concentración del 7.5%.

Después se mezcló 0.05ml el extracto de manzanita con 0.5 ml de agua ultra pura, 2.5 ml del reactivo Folin- Ciocalteu ya diluido, seguidamente se añadió 2.5 ml de Na₂CO₃ al 10% (p / v). Luego se incubó en una estufa a 55 ° C durante 10 min. La Absorbancia se leyó a 760 nm en espectrofotómetro. El resultado se expresó en mg de equivalente al ácido gálico (GAE)/100 g de peso fresco. Para el contenido de polifenoles se tuvo en consideración la curva de ácido gálico, el cual se empleó una dilución patrón de ácido gálico en donde se siguió los pasos de (García et al., 2015), en primer lugar, se diluyó ácido gálico en una concentración 100 mg / l (disolución pura), de lo diluido se prepararon 10 ml de disolución diluida de concentraciones de ácido gálico entre 0 y 16 ppm, estos procedimientos fueron realizados para los tres índices de madurez. Según Farinha (citado en Matute & Noblecilla, 2019) con algunas modificaciones.

2.7. Análisis estadístico

Para el análisis de datos, los resultados obtenidos de la actividad antioxidante, antimicrobiana y polifenoles totales serán sometidos al análisis de varianza (ANOVA) se empleó el análisis estadístico SPSS y regresión múltiple, para analizar las posibles variabilidades se realizará a través de una prueba de comparación de medias “Tukey”. Estos resultados son representados en media ± desviación estándar. Los distintos ensayos han sido realizados por triplicado y cuadruplicado.

III. RESULTADOS

3.1. Determinación de la actividad antioxidante (Ensayo DPPH)

Se tuvo en cuenta la ecuación descrita en el método anterior para determinar el porcentaje de inhibición del extracto de manzanita, en los 3 estados de madurez, en la tabla (1) podemos observar los porcentajes de actividad antioxidante por el método DPPH en los frutos, con 4 distintas concentraciones (100 μL , 300 μL , 600 μL , 900 μL) y 3 repeticiones, el índice de madurez del fruto que contuvo un porcentaje de inhibición de antioxidantes es el verde (97.625 ± 2.375), seguido del pintón(95.632 ± 4.362) y finalmente el maduro(93.861 ± 6.139).

Tabla 1.

Contenido de actividad antioxidante en distintas concentraciones de extracto de A. pungens.

<i>Actividad antioxidante (%Inhibición)</i>				
Estado de Madurez	Extracto de A. <i>pungens</i> 100 μL	Extracto de A. <i>pungens</i> 300 μL	Extracto de A. <i>pungens</i> 600 μL	Extracto de A. <i>pungens</i> 900 μL
Verde	35.7578 \pm 4.733	53.724 \pm 1.269	83.057 \pm 0,308	97.625 \pm 2.375
Pintón	27.273 \pm 13.887	46.586 \pm 1.635	81.920 \pm 0.460	95.632 \pm 4.368
Maduro	23.030 \pm 25.083	37.036 \pm 2.066	78.369 \pm 1.163	93.861 \pm 6.139

Los resultados están expresados en media \pm desviación estándar del análisis.

Tabla 2.

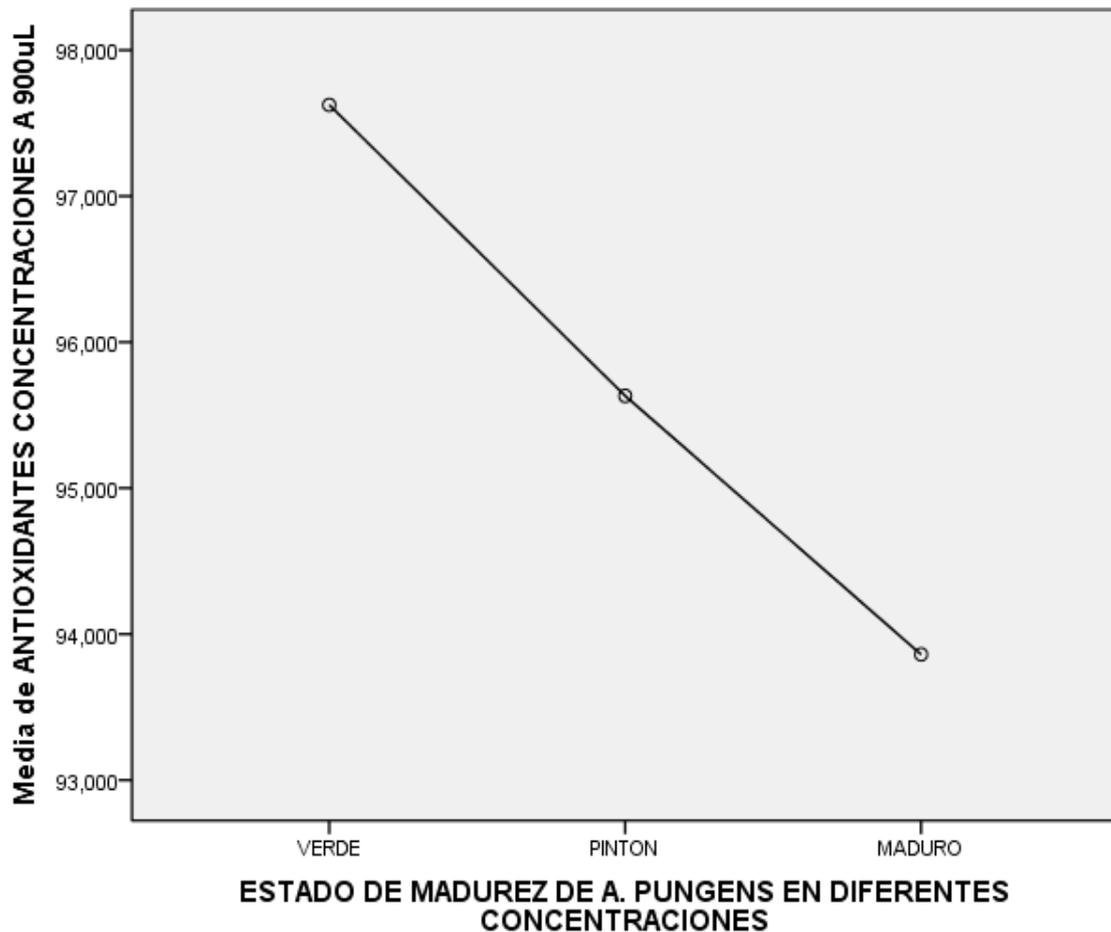
Comparaciones múltiples a través de la prueba tukey en el contenido de actividad antioxidante en distintas concentraciones de A. pungens.

Comparaciones múltiples					
HSD DE TUKEY					
Variable dependiente	(I) Índice de madurez de la manzanita en diferentes concentraciones	(J) Índice de madurez de la manzanita en diferentes concentraciones	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.
Antioxidantes concentraciones a 100ul	VERDE	PINTÓN	8.484848	16.832054	.872
		MADURO	12.727273	16.832054	.741
	PINTÓN	VERDE	-8.484848	16.832054	.872
		MADURO	4.242424	16.832054	.966
	MADURO	VERDE	-12.727273	16.832054	.741
		PINTÓN	-4.242424	16.832054	.966
Antioxidantes concentraciones a 300ul	VERDE	PINTÓN	7.137410	2.388226	.055
		MADURO	16.687705*	2.388226	.001
	PINTÓN	VERDE	-7.137410	2.388226	.055
		MADURO	9.550296*	2.388226	.017
	MADURO	VERDE	-16.687705*	2.388226	.001
		PINTÓN	-9.550296*	2.388226	.017
Antioxidantes concentraciones a 600ul	VERDE	PINTÓN	1.137410	1.051833	.558
		MADURO	4.687705*	1.051833	.010
	PINTÓN	VERDE	-1.137410	1.051833	.558
		MADURO	3.550296*	1.051833	.034
	MADURO	VERDE	-4.687705*	1.051833	.010
		PINTÓN	-3.550296*	1.051833	.034
Antioxidantes concentraciones a 900ul	VERDE	PINTÓN	1.992754	6.450401	.949
		MADURO	3.764090	6.450401	.834
	PINTÓN	VERDE	-1.992754	6.450401	.949
		MADURO	1.771337	6.450401	.960
	MADURO	VERDE	-3.764090	6.450401	.834
		PINTÓN	-1.771337	6.450401	.960

*. *La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.*

Figura 1.

Media de la actividad antioxidantes en diferentes estados de madurez de la *A. pungens* a concentración de 900 ul.



3.2. Análisis antimicrobiano

Los análisis antimicrobianos se realizaron mediante los métodos descritos anteriormente. Los resultados obtenidos de los extractos de manzanita en los tres índices de madurez demuestran que, si tuvo efecto inhibitorio contra los distintos microorganismos *S. aureus*, Lactosa Negativa (*Salmonella*, *Shigella*) y Lactosa Positiva (*E.coli*), predominando el extracto verde , seguido del pintón y finalmente el maduro como se observa en la Tabla (3,4,5,6).

Tabla 3.

Efecto antimicrobiano del extracto de A. pungens sobre S. aureus y medidas en halos de inhibición.

Halos de Inhibición en <i>S.aureus</i> con extracto de <i>A. pungens</i> en diluciones de 10%,50%,100%			
Índice de madurez	Diluciones	Halos de inhibición (mm)	Pocillo (mm)
Verde	10%	0.2 mm	0.5 mm
	50%	0.5 mm	0.5 mm
	100%	1.1 mm	0.5 mm
Pintón	10%	0 mm	0.5 mm
	50%	0.3 mm	0.5 mm
	100%	1 mm	0.5 mm
Maduro	10%	0 mm	0.5 mm
	50%	0.2 mm	0.5 mm
	100%	0.9 mm	0.5 mm

Figura 2.

Halos de inhibición donde predomina mayor cantidad de efecto antimicrobiano por efecto del extracto de A. pungens en estado de madurez verde (1.1mm) en diluciones de 100% en S. aureus a 24 horas a 48 horas.

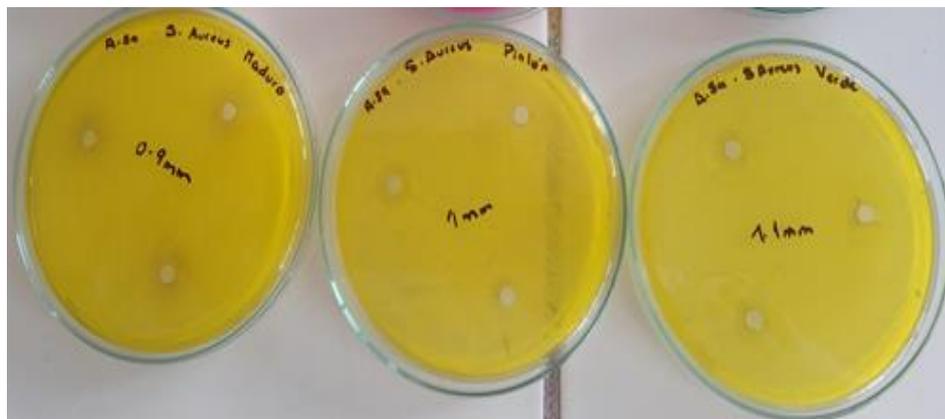


Tabla 4.

Efecto antimicrobiano del extracto de A. pungens sobre Salmonella y medidas en halos de inhibición.

Halos de Inhibición en <i>Salmonella</i> con extracto de <i>A. pungens</i> en diluciones de 10%,50%,100%			
Índice de madurez	Diluciones	Halos de inhibición (mm)	Pocillo (mm)
Verde	10%	18 mm	0.5 mm
	50%	28 mm	0.5 mm
	100%	32 mm	0.5 mm
Pintón	10%	13 mm	0.5 mm
	50%	20 mm	0.5 mm
	100%	27 mm	0.5 mm
Maduro	10%	1 mm	0.5 mm
	50%	3 mm	0.5 mm
	100%	16 mm	0.5 mm

Figura 3.

Halos de inhibición donde predomina mayor cantidad de efecto antimicrobiano por efecto del extracto de A. pungens en estado de madurez verde (32mm) en diluciones de 100% en Salmonella 24 horas a 48 horas.



Tabla 5.

Efecto antimicrobiano del extracto de A. pungens sobre Shiguella y medidas en halos de inhibición.

Halos de Inhibición en <i>Shiguella</i> con extracto de manzanita en diluciones de 10%,50%,100%			
Índice de madurez	Diluciones	Halos de inhibición (mm)	Pocillo (mm)
Verde	10%	15 mm	0.5 mm
	50%	13 mm	0.5 mm
	100%	25 mm	0.5 mm
Pintón	10%	10 mm	0.5 mm
	50%	12 mm	0.5 mm
	100%	23 mm	0.5 mm
Maduro	10%	2 mm	0.5 mm
	50%	11 mm	0.5 mm
	100%	21 mm	0.5 mm

Figura 4.

Halos de inhibición donde predomina mayor cantidad de efecto antimicrobiano por efecto del extracto de A. pungens en estado de madurez verde (25mm) en diluciones de 100% en Shiguella en 24 horas y 48 horas.

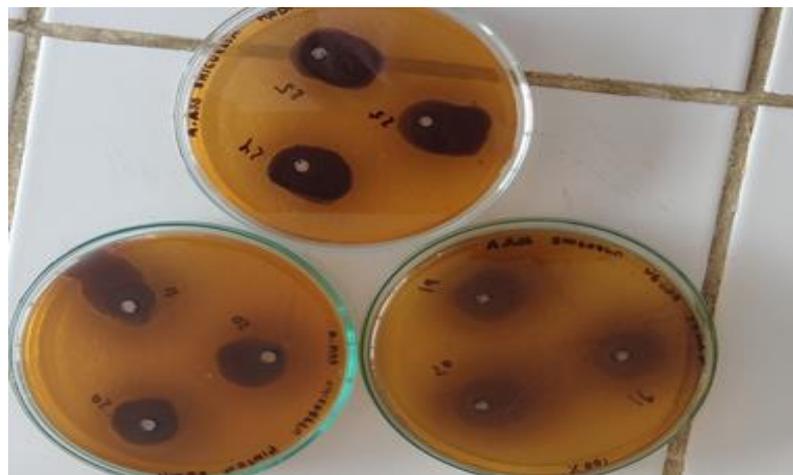


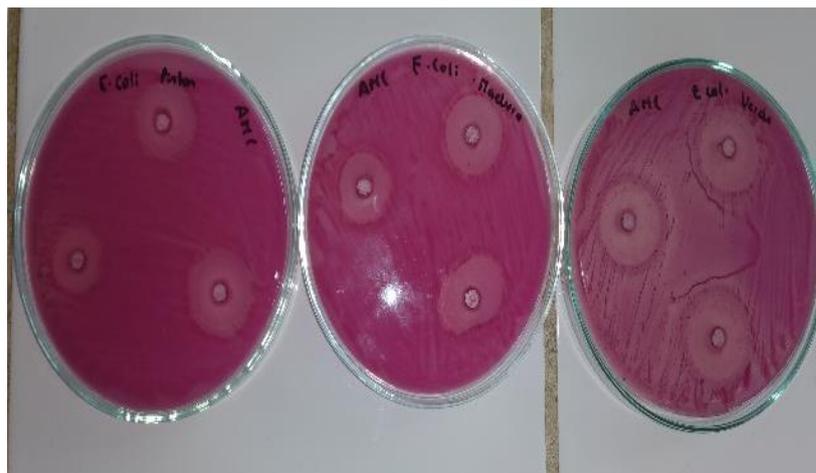
Tabla 6.

Efecto antimicrobiano del extracto de A. pungens sobre E.coli y medidas en halos de inhibición.

Halos de Inhibición en <i>E.coli</i> con extracto de manzanita en diluciones de 10%,50%,100%			
Indice de madurez	Diluciones	Halos de inhibición (mm)	Pocillo (mm)
Verde	10%	13 mm	0.5 mm
	50%	18 mm	0.5 mm
	100%	23 mm	0.5 mm
Pintón	10%	12 mm	0.5 mm
	50%	17 mm	0.5 mm
	100%	22 mm	0.5 mm
Maduro	10%	10 mm	0.5 mm
	50%	15 mm	0.5 mm
	100%	21mm	0.5 mm

Figura 5.

Halos de inhibición donde predomina mayor cantidad de efecto antimicrobiano por efecto del extracto de A. pungens en estado de madurez verde (23mm) en diluciones de 100% en E.coli de 24 horas a 48 horas.



3.3. Contenido de polifenoles totales

Para el extracto adquirido en los distintos estados de madurez (verde, pintón y maduro) se empleó una dilución de 1:10. La curva de calibración nos ayudó a obtener la ecuación de la recta ($y = 0.0009x + 0.0941$; $R^2 = 0.9973$), fueron preparados con concentraciones de ácido gálico formuladas en mg de ácido gálico (GAE).

El contenido de polifenoles totales con mayor concentración, fue del estado de madurez verde con 2910.036 ± 3.291 mg/100g. A comparación de los estados de madurez pintón de 2872.630 ± 5.821 mg/100g y 2833.003 ± 8.820 mg/100g, ubicándose el estado maduro con menor cantidad de contenido de compuestos fenólicos como se visualiza en la tabla (7,8).

Tabla 7.

Compuestos de polifenoles totales en estados de madurez de A. pungens.

Comparaciones múltiples						
HSD de Tukey						
(I) Índice de madurez	(J) Índice de madurez	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
VERDE	PINTÓN	36.277500*	5.243712	.000	21.63703	50.91797
	MADURO	78.497500*	5.243712	.000	63.85703	93.13797
PINTON	VERDE	-36.277500*	5.243712	.000	-50.91797	-21.63703
	MADURO	42.220000*	5.243712	.000	27.57953	56.86047
MADURO	VERDE	-78.497500*	5.243712	.000	-93.13797	-63.85703
	PINTÓN	-42.220000*	5.243712	.000	-56.86047	-27.57953

Los resultados están expresados en media \pm desviación estándar del análisis.

Tabla 8.

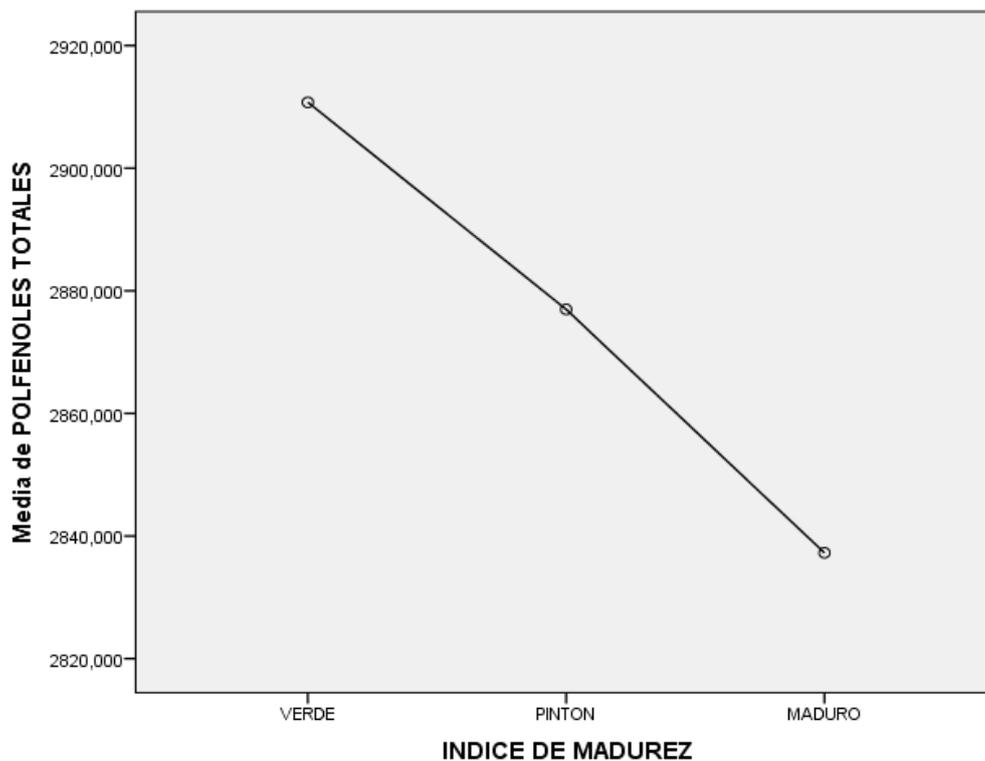
Comparaciones múltiples a través de la prueba tukey en el contenido de polifenoles en distintas concentraciones de A. pungens.

POLIFENOLES TOTALES								
	N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%		Mínimo	Máximo
					Límite inferior	Límite superior		
VERDE	4	2910.750	3.95697	1.97848	2904.454	2917.046	2906.220	2915.560
PINTON	4	2874.473	7.02130	3.51065	2863.300	2885.645	2867.780	2881.890
MADURO	4	2832.253	10.00114	5.00057	2816.338	2848.167	2820.670	2844.110
Total	12	2872.492	34.16829	9.86354	2850.782	2894.201	2820.670	2915.560

*. *La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.*

Figura 6.

Media de los polifenoles totales en diferentes estados de madurez de A. pungens



IV. DISCUSIÓN

Actividad antioxidante

La muestra con mayor cantidad de actividad antioxidante fue el estado de madurez verde con 97.62%, seguido del pintón 95.63% y el maduro con 93.86%. A diferencia de lo descrito por Jurado et al., (2016) que nos indica que presenta mayor actividad antioxidante con un 100% (Huánuco), 93.26% (Junín), 86.86% (Ancash) y 82.51% (Cajamarca) respectivamente indicando que solo el valor de Huánuco es superior a nuestro fruto. En la *Mesodesma donacium* presentó valores de 569.3637 Umol TE/g muestra, 550.1427 Umol TE/g muestra y 323.9630 Umol TE/g muestra en estado verde, pintón y maduro respectivamente observando que el verde presenta mayor capacidad antioxidante (Llimpe, 2017). En el estudio de la capacidad antioxidante en la pulpa de arándano y manzana en láminas deshidratadas se encontraron respectivamente 40.58% y 58.82% de inhibición respectivamente (Cortez, 2018). En el estudio reciente en la familia ericaceae en el fruto de olchoc se encontró un efecto antioxidante del 41.61% al 36.37% (Zaldaña, 2022), por lo que podemos decir que la manzanita contiene mayor actividad antioxidante. La actividad antioxidante expresada en % de inhibición de radical libre DPPH para 3 repeticiones de la muestra de noni con cáscara y sin cáscara tuvo valores de 76.77% y 81.54% (Barra, 2019). Los reportes encontrados en la pingüica son de 6214 $\mu\text{mol ET}/100\text{ g}$, indicando que cuenta con alto contenido de antioxidantes (Navarro et al., 2022) respaldando los resultados obtenidos en los tres índices de madurez de nuestro fruto.

Actividad antimicrobiana

En el potencial antimicrobiano entre las distintas bacterias en las cepas evaluadas, el mayor efecto antimicrobiano se obtuvo en la cepa de *Salmonella*, *Shiguella*, *E. faecalis*, *S. aureus*, *E. coli*, *Listeria* con 9.13mm, 7mm, 7.2mm, 6.7mm, 7.5mm, respectivamente obteniendo que el mayor efecto se encontró en la cepa de salmonella (Aguayo et al., 2018). En la *Ananas comosus* la actividad antimicrobiana moderada es contra la bacteria Gram-negativa *Pseudomona aeruginosa*, frente a las demás bacterias Gram-negativas (*Escherichia coli*, *Salmonella spp*), la bacteria Grampositiva (*Staphylococcus aureus*) y contra la levadura *Cándida albicans* su efecto es nulo (Poveda et al., 2015). Los halos de inhibición obtenidos en los 4 extractos de *H. sabdariffa* mencionan que el con mayor efecto inhibitorio es el extracto acetónico que presenta halos 21.84mm para *S.typhimurium*, 23.42mm *E.coli*, 24.72 para *S.aureus* y 24.42 *L.monocytogenes*,

seguidamente del extracto metanólico, etanólico e acuoso (Rosas, 2019). En el estudio de la actividad antimicrobiana la muestra que obtuvo mejor zona de inhibición contra *S. aureus* y *S. maltophilia* fue el de raíz de *T. cubense* con un halo de inhibición de 16.7 ± 0.6 mm y 16.3 ± 0.6 mm respectivamente, y para *P. aeruginosa* la muestra con mayor actividad fue la del tallo de *A. xalapensis* con 17.2 ± 1.0 mm (Pérez, 2018). En el extracto de aceite de butanol solo fue efectivo contra *estafilococo aureus* con zona de inhibición de 7mm, en el extracto oleoso de acetato de etilo mostró la máxima zona de inhibición de 7 mm frente a *Pseudomonas aeruginosa* y con *Proteo vulgar* 6.25 zona de inhibición. El fármaco antibiótico ampicilina ha mostrado mayor significación de inhibición frente a todas las cepas bacterianas analizadas; *E. coli*, *P. vulgaris*, *P. aeruginosa* y *S. aureus* 5 mm, 11 mm, 10 mm y 9 mm respectivamente (Arshad et al., 2021). En el extracto de manzanita en los 3 estados de madurez el que mayor halos de inhibición contiene frente a los distintos microorganismos *S.aureus*, *Salmonella*, *Shiguella*, *E.coli* que oscila entre 1.1mm, 32mm, 25mm, 23mm respectivamente resaltando el estado de madurez verde.

Polifenoles Totales

Los polifenoles totales del extracto de manzanita, en los 3 estados de madurez oscilan entre $2910.75 \pm 3,957$ y 2832.253 ± 10.785 GAE/100 g, respectivamente (tabla 6), estos resultados argumentan que en el estado 1 existe mayor cantidad de polifenoles que los otros estados. En el muestreo realizado en las hojas de gayuba se obtuvieron contenidos representativos mayores en polifenoles totales (171.9 ± 19.4 y 167.2 ± 10.2 mg EAG/g PS, respectivamente) con respecto de las otras poblaciones (146.4 ± 6.9 mg EAG/g PS) en diferentes meses del año (Ribalta, 2016) . En la fruta Salak los resultados indicaron que cuenta con un valor de 209.77 mg EAG/100 g polifenoles totales a comparación del fruto Kiwi que contiene 210.80 mg EAG/100 g (Matute & Noblecilla, 2019). Los CFT de *C. bracteata*, en los 5 estados de madurez oscilan entre 2901.46 ± 1.28 y 2896.73 ± 1.70 GAE/100 g, respectivamente, corroborando a que los valores obtenidos son similares ya que ambos frutos son de la misma familia (Zaldaña, 2022). El contenido total de fenólicos fue de 323.4 mg EAG/100 g en el fruto de pingüica (Navarro et al., 2022). Los distintos resultados obtenidos por múltiples autores en distintos frutos indican que los polifenoles presentes en la familia *ericaceae* es superior frente a las otras familias.

V. CONCLUSIONES

La capacidad antioxidante en los 3 estados de madurez de *A. pungens* analizados por el método de DPPH, tienen valores con un alto contenido de antioxidantes predominante en el estado verde, luego en pintón y finalmente en maduro obteniendo así un porcentaje de inhibición desde 97.63% al 93.86% respectivamente.

Se determinó en la actividad antimicrobiana que el fruto de *A. pungens* cuenta con halos de inhibición que evitan el crecimiento de los microorganismos *S.aureus* de 0.9mm a 1.1, *Salmonella* de 16mm a 32mm, *Shiguella* 13 a 25 mm y *E.coli* 21mm a 23mm donde se encontró que el estado verde es el que predomina frente a los otros dos estados de madurez, y que existe mayores halos de inhibición en la *Salmonella* de 24 horas a 48 horas, también se analizó a los 5 días de dejar las placas a medio ambiente, donde en la siembra de Agar S.S todavía existiendo los halos de inhibición que dificultaron el crecimiento de los microorganismos siendo de utilidad para la conservación de alimentos para su vida útil.

Los polifenoles totales en el fruto de *A. pungens* en los 3 estados de madurez oscilan entre 2910.036 ± 3.291 y 2833.003 ± 8.820 GAE/100 g, donde se encontró mayor cantidad en el estado verde a comparación de los otros estados de madurez; por lo que el estado de madurez (verde) de *A.pungens* hay mayor presencia de compuestos antioxidantes y con mayor capacidad inhibitoria de crecimiento de *S. aureus*, *Salmonella*, *Shieguella* y *E. coli*.

VI. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

- Aguayo, J., Navarro, R. O., Jara, M. E. Á., Jáuregui, J. M., & Rochín, J. J. (2018). *Compuestos Fenólicos y Potencial Antimicrobiano de Pingüica (Arctostaphylos pungens)*. 3, 3.
- Anticona, M. L., Frígola, A., & Esteve, M. J. (2016). Determinación de polifenoles totales en arándanos y productos derivados. *UCV-SCIENTIA*, 8(1). <https://doi.org/10.18050/RevUcv-Scientia.v8n1a1>
- Arshad, M., Ruby, T., Shahzad, I., Alvi, Q., Aziz, M., Sahar, S., Amjad, R., Waheed, A., Muhammad, S., Shaheen, A., & Ahmed, S. (2021). An antimicrobial activity of oil extracted from *Saara hardwickii*. , 84, 7.
- Barra, J. (2019). Actividad antioxidante, polifenoles totales y vitamina C del zumo de noni (*Morinda Citrifolia L.*) obtenido por prensado neumático provenientes de la Provincia de Satipo. Universidad Peruana Los Andes.
- Cabezas, M. S. M. (2017). Actividad antimicrobiana de Recubrimientos de Quitosano y ϵ -Polilisina en moras inoculadas con *Escherichia coli*, *Salmonella enterica* y *Botrytis cinerea*. Universidad Técnica de Ambato facultad de ciencia e ingeniería en alimentos carrera de ingeniería bioquímica.
- Coklar, H., & Akbulut, M. (2017). Anthocyanins and phenolic compounds of *Mahonia aquifolium* berries and their contributions to antioxidant activity. *Journal of Functional Foods*, 35, 166-174. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.05.037>
- Cortez, ricardo. (2018a). PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE: INGENIERO AGROINDUSTRIAL. 146.
- Cortez, R. E. (2018b). Polifenoles Totales, Vitamina C y Actividad Antioxidante de láminas deshidratadas de pulpa de Arándano(*Vaccinium corymbosum E.*) y Manzana(*Malus domestica*), utilizando Goma Xantana.
- Díaz, V., Sosa, J., & Pérez, D. R. (2016). Vegetation patch dynamics and tree diversity in a diverse conifer and oak forest in central Mexico. *Botanical Sciences*, 94(2), 229. <https://doi.org/10.17129/botsci.284>

- Eliyahu, D., McCall, A. C., Lauck, M., Trakhtenbrot, A., & Bronstein, J. L. (2015). Minute pollinators: The role of thrips (Thysanoptera) as pollinators of pointleaf manzanita, *Arctostaphylos pungens* (Ericaceae). *Journal of Pollination Ecology*, 16. <https://doi.org/10.26786/1920-7603> (2015)10
- Forero, N. M. C., & Sánchez, C. M. S. (2020). Near-Infrared Spectroscopy as a classification tool for agraz (*Vaccinium meridionale* Swartz). *DYNA*, 87(213), 17-21. <https://doi.org/10.15446/dyna.v87n213.82284>
- Fu, L., Xu, B.-T., Xu, X.-R., Gan, R.-Y., Zhang, Y., Xia, E.-Q., & Li, H.-B. (2011). Antioxidant capacities and total phenolic contents of 62 fruits. *Food Chemistry*, 129(2), 345-350. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.04.079>
- Jurado, B., Aparcana Ataurima, I. M., Villarreal Inca, L. S., Ramos Llica, E., Hurtado Manrique, P. E., Acosta Alfaro, K. M. del C., & Calixto Cotos, M. R. (2016). Evaluación del contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante de los extractos etanólicos de los frutos de Aguaymanto (*Physalis peruviana* L.) de diferentes lugares del Perú. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 82(3), 272-
- Kuskoski, E. M., Asuero, A. G., Troncoso, A. M., Mancini-Filho, J., & Fett, R. (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, 25(4), 726-732. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612005000400016>
- Llimpe, P. (2017). Estudio del contenido de antocianinas y capacidad antioxidante del fruto de macha macha (*Vaccinium floribundum* kunth) durante la maduración. Universidad Nacional de Huancavelica.
- Matute, J., & Noblecilla, C. (2019a). Estudio comparativo de polifenoles totales y capacidad antioxidante de Kiwi (*Actinidia deliciosa*) y Salak (*Salacca zalacca*). Universidad de Guayaquil.
- Matute, J., & Noblecilla, C. (2019b). Estudio comparativo de polifenoles totales y capacidad antioxidante de kiwi (*Actinidia deliciosa*) y salak (*Salacca zalacca*).
- Navarro, R., Tovar, X., Mora, S., Rochin, J., & Aguayo, J. (2022). Compuestos fenólicos, minerales, capacidad antioxidante y antihipertensiva de pingüica (*Arctostaphylos pungens*). *Acta Universitaria*, 32, 1-15. <https://doi.org/10.15174/au.2022.3231>

- Obregón, A. (2020). “Componentes de frutos nativos como fuente potencial de nutrientes en el requerimiento nutricional óptimo de grupos vulnerables”.
- Pérez, O. (2018). Efecto antioxidante y citoprotector de extractos de plantas con actividad antimicrobiana. Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Pérez, O. A. N. (2018). Efecto antioxidante y citoprotector de extractos de plantas con actividad antimicrobiana. Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Poveda, C., Rámirez, M., & Reyes, I. (2015). Estudio de la actividad antimicrobiana de la pulpa de Ananas comosus. 86.
- Ribalta, M. (2016). Variabilidad en el contenido de fenoles totales y arbutina en poblaciones naturales de gayuba (*Arctostaphylos uva-ursi*). Universidad de Zaragoza.
- Rojas, J. J., García, A. M., & López, A. J. (2005). Evaluación de dos metodologías para determinar la actividad antimicrobiana de plantas medicinales. 2005, 4. <http://www.blacpma.cl>
- Rosas, R. (2019). Evaluación de la actividad antimicrobiana de Extractos de Jamaica y su aplicación en frijoles preparados. Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo.
- Toa, S. A. (2015). Determinación de compuestos antioxidantes en poblaciones naturales de gayuba (*Arctostaphylos uva-ursi* L. Sprengel) de la provincia de Huesca. 51.
- Zaldaña, J. (2022). Evaluación de compuestos bioactivos en frutos de olchoc (*Cavendishia bracteata*) en diferentes etapas de maduración. 43.
- Zamora, A. (2016). Cuantificación espectrofotométrica de compuestos fenólicos y actividad antioxidante en distintos berries nativos del Cono Sur de América. 42, 7.

ANEXOS

Figura 7. *Recolección y empaclado de la manzanita.*



Figura 8. Selección y extracto de la manzanita.

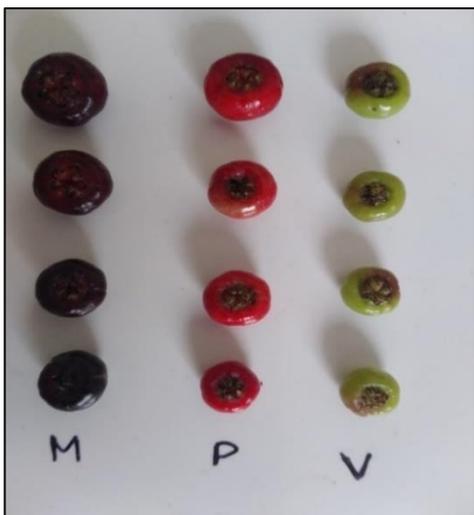
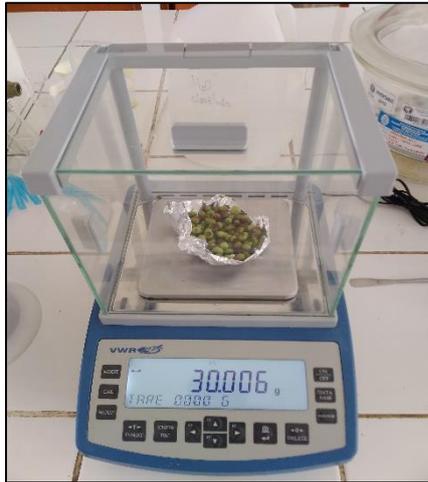


Figura 9. Curva de calibración del ácido gálico para la determinación de polifenoles totales por el método Folin – Ciocalteu.

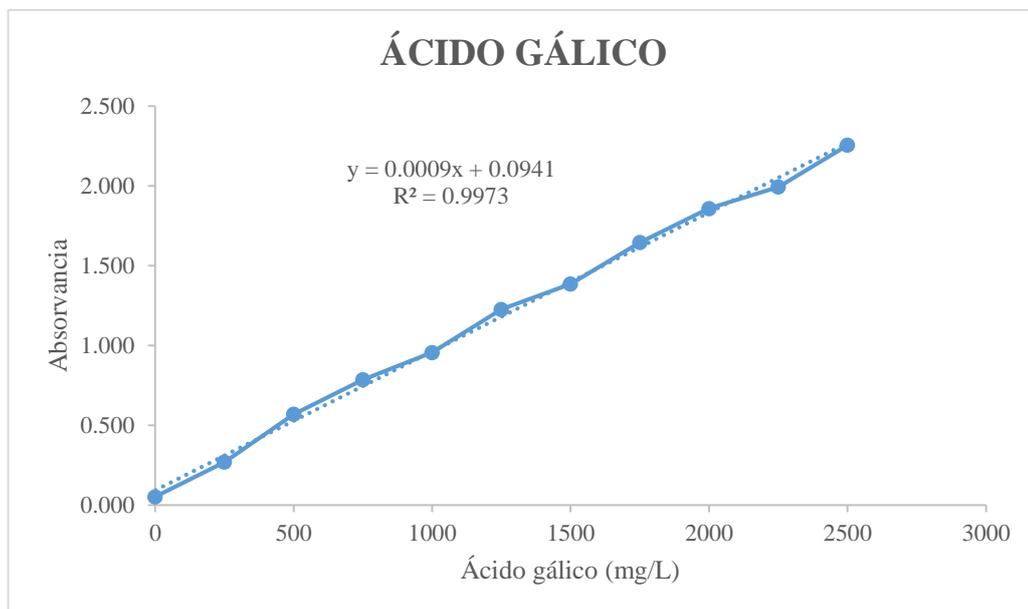


Figura 10. Curva de calibración del para la determinación de actividad antioxidantes con el reactivo Trolox.

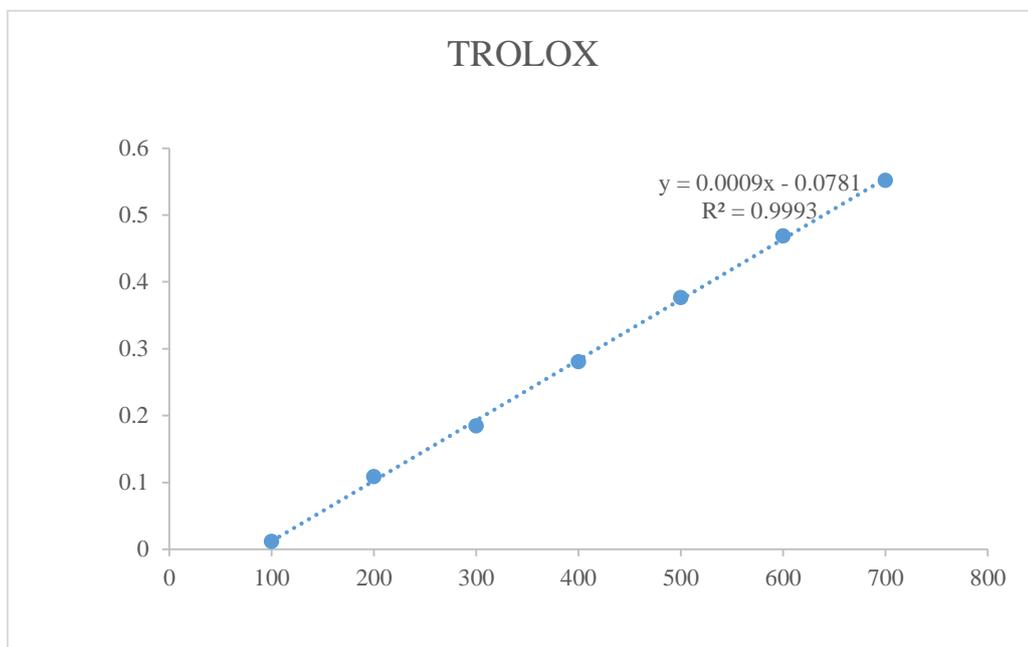


Figura 11. Preparación de los extractos para análisis de la actividad antioxidante, polifenoles totales y actividad antimicrobiana en frutos de manzanita.

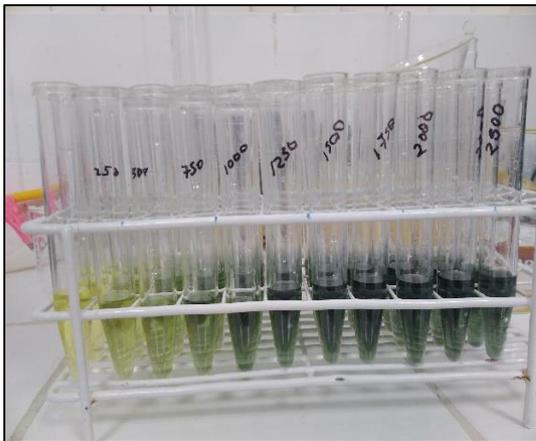
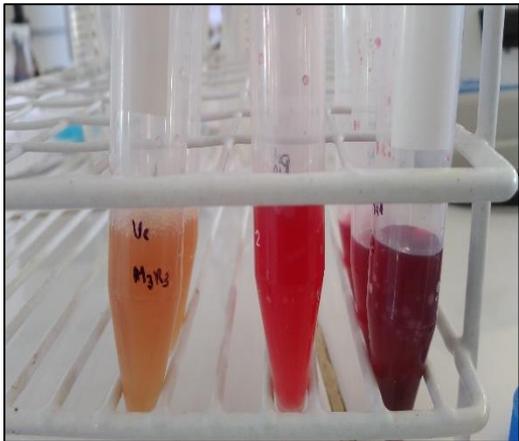
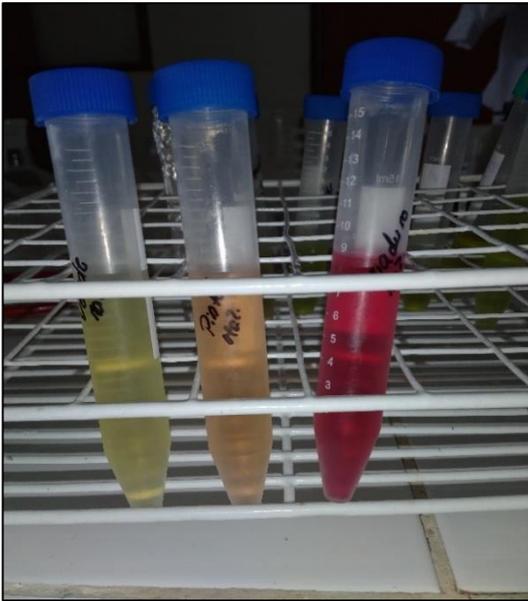


Figura 12. *Obtención de los microorganismos*



Figura 13. *Preparación del agar*

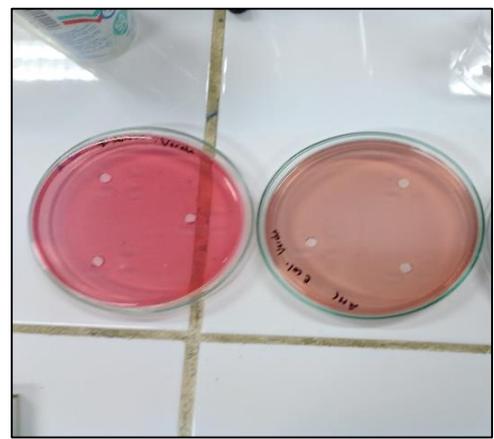
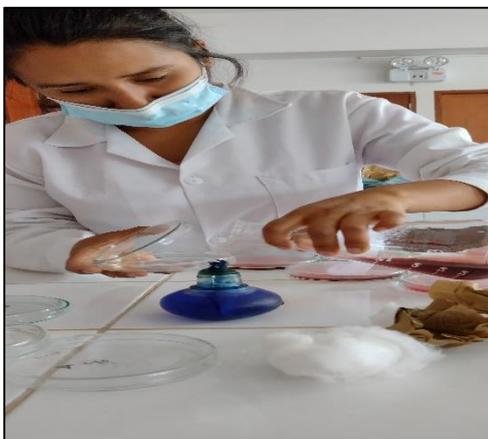


Figura 14. *Análisis antimicrobiano del fruto.*



Tabla 9. Análisis de Anova de un factor y comparaciones múltiples en HSD de Tukey de la actividad antioxidante en el SPSS

ANOVA DE UN FACTOR									
		N	Media	Desviación típica	Error típico	Intervalo de confianza para la media al 95%			
						Límite inferior	Límite superior	Mínimo	Máximo
Antioxidantes concentraciones a 100ul	VERDE	3	35.75758	8.1986	4.7335	15.3910	56.1241	27.273	43.636
	PINTÓN	3	27.27273	24.0522	13.8865	-32.4765	87.0219	0.000	45.455
	MADURO	3	23.03030	25.0839	14.4822	-39.2815	85.3421	-5.455	41.818
	Total	9	28.68687	18.7144	6.2381	14.3017	43.0721	-5.455	45.455
Antioxidantes concentraciones a 300ul	VERDE	3	53.72387	2.1987	1.2695	48.2618	59.1859	51.574	55.968
	PINTÓN	3	46.58646	2.8320	1.6351	39.5512	53.6217	44.051	49.643
	MADURO	3	37.03616	3.5792	2.0665	28.1448	45.9275	33.515	40.671
	Total	9	45.78216	7.6808	2.5603	39.8781	51.6862	33.515	55.968
Antioxidantes concentraciones a 600ul	VERDE	3	83.05720	.5332	.3078	81.7327	84.3817	82.574	83.629
	PINTÓN	3	81.91979	.7971	.4602	79.9396	83.8999	81.065	82.643
	MADURO	3	78.36949	2.0147	1.1632	73.3648	83.3742	76.923	80.671
	Total	9	81.11549	2.3935	.7978	79.2757	82.9553	76.923	83.629
Antioxidantes concentraciones a 900ul	VERDE	3	97.62480	4.1139	2.3752	87.4051	107.8445	92.874	100.000
	PINTÓN	3	95.63205	7.5655	4.3679	76.8383	114.4258	86.896	100.000
	MADURO	3	93.86071	10.6336	6.1393	67.4455	120.2759	81.582	100.000
	Total	9	95.70585	7.0334	2.3445	90.2995	101.1122	81.582	100.000

Comparaciones múltiples

HSD de Tukey

Variable dependiente	(I) Índice de madurez de la manzanita en diferentes concentraciones	(J) Índice de madurez de la manzanita en diferentes concentraciones	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
						Límite inferior	Límite superior
Antioxidantes concentraciones a 100ul	VERDE	PINTÓN	8.484848	16.832054	.872	-43.16051	60.13021
		MADURO	12.727273	16.832054	.741	-38.91809	64.37264
	PINTÓN	VERDE	-8.484848	16.832054	.872	-60.13021	43.16051
		MADURO	4.242424	16.832054	.966	-47.40294	55.88779
	MADURO	VERDE	-1.727273	16.832054	.741	-64.37264	38.91809
		PINTÓN	-4.242424	16.832054	.966	-55.88779	47.40294
Antioxidantes concentraciones a 300ul	VERDE	PINTÓN	7.137410	2.388226	.055	-.19032	14.46514
		MADURO	16.687705*	2.388226	.001	9.35997	24.01544
	PINTÓN	VERDE	-7.137410	2.388226	.055	-14.46514	.19032
		MADURO	9.550296*	2.388226	.017	2.22256	16.87803
	MADURO	VERDE	-16.687705*	2.388226	.001	-24.01544	-9.35997
		PINTÓN	-9.550296*	2.388226	.017	-16.87803	-2.22256
Antioxidantes concentraciones a 600ul	VERDE	PINTÓN	1.137410	1.051833	.558	-2.08990	4.36472
		MADURO	4.687705*	1.051833	.010	1.46039	7.91502
	PINTÓN	VERDE	-1.137410	1.051833	.558	-4.36472	2.08990
		MADURO	3.550296*	1.051833	.034	.32298	6.77761
	MADURO	VERDE	-4.687705*	1.051833	.010	-7.91502	-1.46039
		PINTÓN	-3.550296*	1.051833	.034	-6.77761	-.32298
Antioxidantes concentraciones a 900ul	VERDE	PINTÓN	1.992754	6.450401	.949	-17.79885	21.78436
		MADURO	3.764090	6.450401	.834	-16.02751	23.55569
	PINTÓN	VERDE	-1.992754	6.450401	.949	-21.78436	17.79885
		MADURO	1.771337	6.450401	.960	-18.02027	21.56294
	MADURO	VERDE	-3.764090	6.450401	.834	-23.55569	16.02751
		PINTÓN	-1.771337	6.450401	.960	-21.56294	18.02027

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

Figura 15. *Media de la actividad antioxidantes en diferentes estados de madurez de la A. pungens a concentración de 100 ul, 300 ul, 600 ul, 900 ul.*

