



**FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD
CARRERA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

“DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y CITOTÓXICA DEL
EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DEL FRUTO DE *VACCINIUM CORYMBOSUM*
(ARANDANO) PROVENIENTE DE CAÑETE, LIMA”

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO**

AUTORES

BACH. CINDY TATIANA GARRIAZO RIPAS

BACH. GERALDINE LUZ INGARUCA SALAZAR

ASESOR

MG. JORGE ANTONIO CHÁVEZ PÉREZ

LIMA - PERÚ

2019

Dedicatoria

El presente trabajo investigado lo dedicamos principalmente a Dios, por darnos fuerza y salud, por ser nuestro guía en nuestra vida profesional. Agradecer a nuestros padres por demostrarnos su cariño y amor incondicional sin importar nuestras diferencias de opiniones, a nuestros educadores por las enseñanzas y todo lo aprendido.

Agradecimiento

A dios por tener fe y paciencia y creer en nosotros mismos así poder terminar nuestra tesis

Al Dr. Jorge Chávez por su asesoría, enseñanzas, orientación y paciencia durante el diseño y desarrollo de la tesis.

A la Universidad Interamericana para el desarrollo por ser nuestra casa de estudios por creer en nosotros ayudando y orientando a ser profesionales responsables, por habernos brindado los conocimientos enseñanzas necesaria para afrontar nuestra vida profesional.

Al Instituto de investigación de Bioquímica y Biología Molecular (IIBBM) de la Universidad Nacional Agraria La Molina, por el apoyo de sus laboratorios e instrumentos de análisis para el desarrollo de nuestra tesis.

A los Biólogos Eder Apumayta, Kelly Siaden y Yesenia Quispe del IIBBM, por su apoyo en los análisis fitoquímicos.

A todos nuestros amigos compañeros por su apoyo durante todos estos años de nuestra educación profesional.

Resumen

El presente trabajo tiene como objetivo determinar la actividad antioxidante y citotóxica del extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* (arándano) proveniente de Cañete-Lima. Método y Materiales se realizó en los laboratorios de la Universidad Interamericana para el Desarrollo, con el apoyo del Instituto de investigación de Bioquímica y Biología molecular- (IIBBM) de la Universidad Nacional Agraria la Molina (UNALM); se recolecto 100g del fruto de arándano proveniente de Cañete- Lima, todas son escogidas y seleccionadas, se prosiguió hacer el secado a 40°C, luego se desarrolló el previo estudio preliminar de la marcha fitoquímica con la preparación del extracto hidroalcohólico y el tamizaje fitoquímico para la determinación de metabolitos del fruto de *Vaccinium corymbosum*(arándano). Por separado se realizó una extracción del extracto hidroalcohólico con lo cual se determinó la capacidad antioxidante mediante los métodos de DPPH y ABTS. Para la evaluación de la actividad citotóxica se realizó la técnica de la capacidad inhibitoria por concentraciones de los extractos vegetales. Resultados el extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* (arándano) presenta como estudio preliminar lactonas a, b- insaturadas, triterpenos y/o esteroides, flavonoides, compuestos fenólicos y aminoácidos; en el ensayo de DPPH para determinar la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* (arándano) mostro que la concentración 2.5mg/ml (2.5%) evidencio 54.58% de inhibición de radicales. En el ensayo ABTS para determinar la actividad antioxidante del fruto de *Vaccinium corymbosum* (arándano) evidencio 16418Um (16.418 mM) equivalentes de trolox/100g. En el ensayo para determinar el efecto citostático del extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* (arándano) sobre las semillas de *Lactuca sativa* evidencio que a las concentraciones 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30 mg no se evidencio actividad citotóxica estadísticamente significativamente respecto al control ($p>0.05$).Conclusiones el extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* (arándano) proveniente de Cañete-Lima presenta grupos de compuestos químicos, asimismo presenta actividad antioxidante y presentan efecto citotóxico frente a semillas de lechuga.

Palabras claves: Actividad antioxidante, arándano, métodos ABTS y DPPH, inhibición.

Abstract

The objective of this work is to determine the antioxidant and cytotoxic activity of the hydroalcoholic extract of the fruit of *Vaccinium corymbosum* (cranberry) from Cañete-Lima. Method and Materials made in the laboratories of the Inter-American University for Development, with the support of the Research Institute of Biochemistry and Molecular Biology (IIBBM) of the National Agrarian University of La Molina (UNALM); 100g of the blueberry fruit from Cañete-Lima was collected, all are chosen and selected, drying was continued at 40 ° C, then the preliminary preliminary study of the phytochemical march was carried out with the preparation of the hydroalcoholic extract and the phytochemical screening for the determination of metabolites of the fruit of *Vaccinium corymbosum* (cranberry). Separately, an extraction of the hydroalcoholic extract was carried out, with which the antioxidant capacity was determined using the DPPH and ABTS methods. For the evaluation of cytotoxic activity, the technique of inhibitory capacity by concentration of plant extracts was performed. Results The hydroalcoholic extract of the fruit of *Vaccinium corymbosum* (cranberry) presents as a preliminary study lactone a, b-unsaturated, triterpenes and / or steroids, flavonoids, phenolic compounds and amino acids; in the DPPH test to determine the antioxidant activity of the hydroalcoholic extract of the fruit of *Vaccinium corymbosum* (cranberry) showed that the concentration 2.5mg / ml (2.5%) evidence 54.58% radical inhibition. In the ABTS test to determine the antioxidant activity of the fruit of *Vaccinium corymbosum* (cranberry) evidence 16418Um (16,418 mM) equivalent of trolox / 100g. In the test to determine the cytostatic effect of the hydroalcoholic extract of the fruit of *Vaccinium corymbosum* (cranberry) on the seeds of *Lactuca sativa*, it showed that at the concentrations 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30 mg, no statistically significant cytotoxic activity was observed with respect to control ($p > 0.05$). Conclusions The hydroalcoholic extract of the fruit of *Vaccinium corymbosum* (cranberry) from Cañete-Lima presents groups of chemical compounds, also presents antioxidant activity and has a cytotoxic effect against lettuce seeds.

Keywords: Antioxidant activity, cranberry, ABTS and DPPH methods, inhibition.

Índice general

Dedicatoria	ii
Agradecimiento	iii
Resumen	iv
Abstract	v
Índice general	vi
Índice de tablas	viii
Índice de figuras	x
Introducción	1
Capítulo I: Planteamiento del problema	2
1.1.	21.2.
	31.2.1.
	31.2.2.
	31.3.
	31.3.1.
	31.3.2.
	31.4.
3Capitulo	II:Fundamentos teoricos :6
2.1. Antecedentes	6
2.1.1. Nacionales	6
2.1.2. Internacionales	7
2.2. Bases teóricas	8
2.2.1. Generalidades de <i>Vaccinium corymbosum</i> L.	8
2.2.2. Clasificación taxonómica	8
2.2.3. Propiedades nutritivas	9
2.2.4. Propiedades para la salud	10
2.2.5. Actividad antioxidante	11
2.2.6. Clasificación de los antioxidantes	11
2.2.7. Métodos de evaluación de la actividad antioxidante	12
2.2.8. Actividad citotóxica	12
2.3. Marco conceptual	13
2.4. Hipótesis	15
2.4.1. Hipótesis general	15
2.4.2. Hipótesis específico	15
2.5. Operacionalización de variables e indicadores	16

Capítulo III: Metodología	17
3.1. Tipo y nivel de investigación	17
3.2. Descripción del método y diseño	17
3.2.1. Determinación de la capacidad antioxidante:	23
3.2.2. Técnica de inhibición por concentraciones:	24
3.3. Población y muestra	26
3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	26
3.5. Técnicas de procesamiento y análisis de datos	26
Capítulo IV: Presentación y análisis de resultados	27
4.1. Presentación de resultados	27
4.1.1. Actividad antioxidante	27
4.1.2. Actividad citotóxica	28
4.2. Prueba de hipótesis	33
4.2.1. Hipótesis general	33
4.2.2. Hipótesis específicas	37
4.3. Discusión de resultados	39
4.3.1. Ensayo antioxidante:	40
4.3.2. Ensayo de citotoxicidad:	42
Capítulo V: Conclusiones y recomendaciones	43
5.1. Conclusiones	43
5.2. Recomendaciones	44
Referencias bibliográficas	45
Anexos	48
Anexo A: Matriz de consistencia	48
Anexo B: Instrumento	49
Anexo C: Datos consolidados de resultados	51
Anexo D: Cronograma del programa experimental	56
Anexo E: Testimonios fotográficos	59
Anexo F: Juicio de expertos	67
Anexo G: Constancia de la clasificación taxonómica.	69

Índice de tablas

Tabla 1. Composición nutricional del arándano por 100mg de opción comestible.....	10
---	----

Tabla 2. Operacionalización de variables e indicadores.....	16
Tabla 3. Ficha de resultados de la marcha fitoquímica.....	22
Tabla 4. Preparación de placas	25
Tabla 5. Datos del análisis de DPPH.....	27
Tabla 6. Datos del análisis de ABTS.....	27
Tabla 7. Procesamiento de datos.....	28
Tabla 8. Datos de la prueba de citotoxicidad.....	28
Tabla 9. Datos de 100mg de extracto.....	29
Tabla 10. Datos de diluciones con muestras- raíz.....	29
Tabla 11. Procesamiento de datos de las diluciones- Raíz.....	30
Tabla 12. Tabla resumen- Raíz.....	31
Tabla 13. Datos de diluciones con muestras- hipocótilo.....	31
Tabla 14. Procesamiento de datos de las diluciones- Hipocótilo.....	32
Tabla 15. Tabla resumen- Hipocótilo.....	33
Tabla 16. Porcentaje de inhibición de radicales DPPH.....	33
Tabla 17. Procesamiento de datos- factores.....	34
Tabla 18. Comparaciones múltiples por el test de Dunnett.....	35
Tabla 19. Porcentaje de inhibición del crecimiento de hipocótilo y raíz.....	36
Tabla 20. Análisis antioxidante DPPH- test de ANOVA.....	37
Tabla 21. Análisis antioxidante ABTS-test de ANOVA.....	38
Tabla 22. Comparación de medias por el test de Anova.....	39
Tabla 23. Instrumento de DPPH	49
Tabla 24. Instrumento de ABTS	49
Tabla 25. Instrumento de citotoxicidad.....	50
Tabla 26. Resultados del estudio preliminar de la marcha fitoquímica.....	51
Tabla 27. Resultados del estudio preliminar de solubilidad.....	52
Tabla 28. DPPH.....	52
Tabla 29. ABTS.....	53
Tabla 30. Citotoxicidad.....	53
Tabla 31. Cronograma experimental del estudio preliminar de la marcha fitoquímica	56
Tabla 32. Cronograma experimental del ensayo de solubilidad.....	56
Tabla 33. Cronograma experimental para el método de DPPH.....	57
Tabla 34. Cronograma experimental para el método de ABTS.....	57

Tabla 35. Cronograma experimental de la actividad citotóxica.....	58
---	----

Índice de figuras

Figura 1. Curva de calibración concentraciones (umol Equi. Trolox).....	34
Figura 2. Diarama de cajas y bigotes- Hipocotilo.....	54

Figura 3. Diagrama de cajas y bigotes- Radícula.....	54
Figura 4. Media de radícula.....	55
Figura 5. Media de hipocótilo.....	55
Figura 6. Marcha fitoquímica.....	59
Figura 7. Metabolito de la fracción “A”.....	60
Figura 8. Metabolito de la fracción “B”.....	60
Figura 9. Metabolito de la fracción “C”.....	60
Figura 10. Metabolito de la fracción “D”.....	61
Figura 11. Metabolito de la fracción “E”.....	61
Figura 12. Solubilidad.....	62
Figura 13. Actividad citotóxica del arándano.....	62
Figura 14. Análisis citotóxica.....	63
Figura 15. Capacidad antioxidante (ABTS).....	64
Figura 16. Capacidad antioxidante (DPPH).....	65
Figura 17. Fotografías con el asesor.....	66

Introducción

Los antioxidantes son moléculas capaces de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas, estas reacciones de oxidación pueden producir radicales que reaccionan en cadena dañando células, por lo tanto, los antioxidantes terminan estas reacciones quitando intermedios del radical e inhibiendo otras reacciones de oxidación oxidándose ellos mismos. El estrés oxidativo contribuye a un alto porcentaje de enfermedades como Alzheimer, enfermedad de Parkinson, en muchos de estos casos, no es claro si los oxidantes llegan a desencadenar la enfermedad o si se producen como consecuencia de esta, llegando a provocar síntomas de las enfermedades.

El consumo de antioxidantes es fundamental para mantener una buena salud plena, podemos encontrar antioxidantes en el ajo, arroz integral, olivo, café, coliflor, berenjena, jengibre, perejil, cebolla, cítricos, entre otros alimentos.

El consumo de las frutas debe ser básico en la dieta diaria para poder conseguir un equilibrio de una vida saludable; ya que aporta nutrientes, vitaminas y minerales esenciales para el correcto funcionamiento del organismo. Además de ser muy nutritivas las frutas contienen compuestos bioactivos y que sus consumos frecuentes pueden prevenir diversas enfermedades. El arándano (*Vaccinium corymbosum*) es una planta originaria de Norte América pertenecientes a la familia de las ericáceas, forma parte del grupo de las frutas denominadas comercialmente como Berry, están caracterizadas principalmente como una de las frutas con mayor cantidad de nutrientes con altos contenidos de antioxidantes para ayudar a reducir la oxidación del colesterol malo en las arterias y prevenir a las personas el riesgo de sufrir infartos y enfermedades cardiovasculares.

Por tanto, en este estudio, se trata de caracterizar químicamente y evaluar la actividad antioxidante y citotóxico del extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* proveniente de Cañete- Lima, con el fin de ampliar conocimientos del fruto relacionados con la actividad antioxidante y citotóxico ya que en el futuro servirá como marco referencial para futuras investigaciones en el área de salud

Capítulo I

Planteamiento del problema

1.1. Descripción de la realidad problemática

El uso de las plantas medicinales a lo largo de la historia ha significado la base del conocimiento etnobotánica de los pueblos el cual se ha conservado y transmitido de generación en generación. El Perú posee una antigua experiencia en el uso de las plantas medicinales, empleando entre ellas los tallos, hojas, flores, frutos o semillas con fines medicinales, demostrando su eficiencia y eficacia a través del uso tradicional, el cual ha aumentado gradualmente en la población en general, siendo su aplicación mayor en zonas rurales o de escasos recursos socioeconómicos, en donde los pobladores aprovechan los recursos y la biodiversidad existente en dichas regiones. *Vaccinium corymbosum* (arándano) es un fruto originario de Asia y Europa habiéndose adaptado en el Perú en la zona costera, especialmente en la región La Libertad, en donde se concentra el mayor porcentaje de producción nacional. Otras zonas donde el cultivo funciona bien son Huaral y Cañete, que son provincias ubicadas al norte y sur de la región Lima, pudiendo verse en estado silvestre en márgenes de caminos o torrenteras. Estas frutas son de bajo valor calórico por el escaso aporte de hidratos de carbono, son ricas en vitamina C, en general los arándanos silvestres son buena fuente de fibra para mejorar el tránsito intestinal. Contienen taninos, ácidos orgánicos y sustancia hipoglucemiantes, el fruto seco se utiliza superficialmente en inflamaciones leves de la mucosa bucofaríngea.

Ya que es importante el fruto es necesario conocer sus propiedades funcionales, por lo que se plantea evaluar su actividad antioxidante y caracterizar químicamente

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Problema general

¿Presenta actividad antioxidante y citotóxica el extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* (arándano)?

1.2.2. Problemas específicos

- ¿Cuál será la actividad antioxidante que presenta el extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* (arándano)?
- ¿Cuál es el análisis citotóxico del extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* (arándano)?

1.3. Objetivos de la investigación

1.3.1. Objetivo general

Determinar la actividad antioxidante y citotóxica del extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* (arándano) proveniente de Cañete, Lima.

1.3.2. Objetivos específicos

- Evaluar la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* (arándano) por los métodos DPPH y ABTS.
- Evaluar el efecto citotóxico del extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* (arándano) frente a semillas de lechuga.

1.4. Justificación

“*Vaccinium corymbosum* (arándano) es natural de Asia y Europa, son pequeños frutos de color oscuro (morado, azulado) han sido utilizados desde años atrás como tratamiento de diferentes patologías, desde una simple gripe hasta problemas reumáticos.

Hoy en día, se han realizado estudios e investigaciones proporcionando a los arándanos diversas propiedades curativas y un buen aporte para nuestra nutrición”. Aldaba, et al (2016).

“La actividad antioxidante tiene como función importante en las enfermedades neurodegenerativas (Alzheimer y Parkinson), cardiovasculares, estrés oxidativo (causando desequilibrio de nuestro organismo, eso hace que afecte y cause un deterioro a nuestras células así aparecen diferentes patologías) y prevención de enfermedades cancerígenas”.

“Entonces, los frutos y plantas dan una buena conveniencia para el estudio y conocimientos de nuevos compuestos naturales con diferentes actividades para una prevención de trastornos en la salud. Si nos centramos desde el punto de vista social son de mucha importancia ya que pueden ser consumidas sin causar daño si no mejoría a una enfermedad y una adecuada salud en especial a personas con bajo recurso socioeconómico”. Arbayza, et al (2014).

“El estudio y la determinación del análisis antioxidante y citotóxico del extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* (arándano) permitirá ampliar la base de conocimientos acerca del potencial de frutas relacionadas con la actividad antioxidante, lo que servirá como marco referencial para futuras investigaciones, en el campo de la salud.”

“Se ha visto que el arándano como una siembra cautivadora para crecer, extender en la zona del norte y sur chico de Lima por las condiciones climáticas, el agua de dichas zonas tiene un buen abastecimiento en la actividad agrícola y los meses de contraestación son Agosto – noviembre”. Castrejón, et al (2008).

Capítulo II

Fundamentos teóricos

2.1. Antecedentes

2.1.1. Nacionales

Price, et al (2017). Realizaron el trabajo de investigación titulado: “Efecto del refrigerado y congelado en el contenido de polifenoles totales, antocianinas y actividad antioxidante de arándanos (*Vaccinium Corymbosum*, Variedad “Biloxi”) cultivados en diferentes microclimas de Perú”. Realizaron las determinaciones de polifenoles totales, antocianinas totales y actividad antioxidante de arándanos (IC50) utilizando los métodos de Folin-Ciocalteu, pH diferencial y Brand-Williams, respectivamente. Además, se determinaron pH y grados Brix, así como la cinética de degradación de antocianinas en el tiempo. Concluyendo que la actividad antioxidante también mostró un incremento (56,7% en refrigeración y 58,6% en congelación).

Alayo (2017). Realizo el trabajo de investigación titulado: “Estudio comparativo de la actividad antioxidante de los frutos de *Prunus serotina* y el *Vaccinium corymbosum*”, con el objetivo de determinar la cantidad necesaria de la muestra para que los antioxidantes tengan efecto frente a la acción de los radicales libres, para la recolección de datos se aplicó una ficha de observación. Se evidencio que el fruto del capulí contiene 23.41ug de antocianina/ml de IC50 del extracto etanólico y su porcentaje de captura del radical de DPPH es de 90,38% mientras que el fruto del arándano contiene 43.39ug de antocianina/ml de IC50 del extracto etanólico y su porcentaje de captura DPPH es de 85.19%. Concluyendo así que el fruto del capulí muestra una ligera ventaja en cuanto a su capacidad antioxidante.

Reyes y Vega (2017). Realizaron el trabajo de investigación titulado: “Características farmacognósticas y cuantificación del contenido de polifenoles totales del fruto de *Vaccinium corymbosum* L. (arándano)”. La especie vegetal fue recolectada de La Región de Cajamarca, se determinó por el método de percepción y fisicoquímico Finalmente se determinó el contenido de fenoles totales mediante el método de Folin Ciocalteu siendo de: 1277,78 mg GAE/100 g de peso seco. Concluyendo la presencia de compuestos fenólicos,

flavonoides, antocianidinas, azúcares reductores y aminoácidos tanto para el extracto etanólico y acuoso.

2.1.2. Internacionales

Torrenegra y Villalobos (2016). Realizaron el estudio de la evaluación de la actividad antioxidante de las pulpas de *Rubus glaucus B*, *Vaccinium floribundum K* y *Beta vulgaris L*. La pulpa se obtuvo a partir del fruto fueron adquiridas en un mercado local de la ciudad de Cartagena, Bolívar, la actividad antioxidante fue determinada mediante la técnica de actividad antiradicalaria por el método DPPH. Concluyendo que la pulpa de *Rubus glaucus B*, variedad Castilla, *Vaccinium floribundum K* y *Beta vulgaris L*, son considerados como promisorios para diseñar productos nutracéuticos por su elevada actividad antioxidante.

Aldaba y Concha (2016). En México realizaron un trabajo de investigación titulado: “Funcionalidad del arándano azul (*Vaccinium corymbosum L.*)”. El objetivo del trabajo fue analizar los fenoles totales y la capacidad antioxidante en esta fruta usando el método del ABTS los resultados fueron expresados en mg de Trolox/100g de muestra. Concluyendo un alto contenido fenólico de las muestras analizadas.

Gaviria, et al (2012). En Colombia realizaron un trabajo titulado: “Cambios en la Actividad Antioxidante en Frutos de Mortiño (*Vaccinium meridionale Sw.*) durante su Desarrollo y Maduración.” En el estudio se evaluó la variación en el contenido de fenoles y antocianinas totales y de la actividad antioxidante por las metodologías de ABTS, DPPH, FRAP y ORAC. El contenido de antocianinas varió desde 4,2 mg eq cianidin-3-glucosido/ 100 g FF hasta 271,9 mg eq cianidin-3-glucosido/ 100 g FF al final de la maduración. Concluyendo que hallaron altos valores en la actividad antioxidante y el contenido de fenoles totales.

Abreu, et al (2008). En Cuba realizaron un estudio titulado: “Fitoquímica del género *Vaccinium ericaceae*”. Usaron el método de consultar las bases de datos: NAPRALERT y Phytochemical and Ethnobotanical Database y la literatura disponible con resultados predominantes en metabolitos, principalmente en el fruto, hallando: benzenoides, flavonoides, fenilpropanoides concluyendo que en este género representa un campo con probabilidades de éxito para la obtención de medicamentos herbarios o suplementos nutricionales

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Generalidades de *Vaccinium corymbosum* L.

“El arándano azul es un arbusto terrestre, de características rizomáticas, es decir que las ramas nacen de manera subterránea. Las hojas presentan un verde brillante, perennes y se presentan de forma alterna, con bordes aserrados o lisos. Se encuentran unidas al tallo por un peciolo corto, las hojas en otoño adquieren colores muy destacados por lo que, además de la consideración de sus frutos son plantas con un hermoso aspecto ornamental, las flores son de forma acampanada, de color rosas, rojas, blanca o purpuras. En tanto que sus frutos comestibles nacen a partir de un ovario inferior por lo que botánicamente se le denomina bayas”. Henostroza, et al (2016).

“Para el cultivo del fruto deben tenerse en cuenta las características del suelo, dado que esta planta cuenta con un sistema de raíces muy finas y fibrosas, la mayor parte de ellas se concentran en menos de los 50cm de profundidad. Esta superficialidad se debe a que no poseen la fuerza necesaria para atravesar suelos compactos. Por ello el terreno debe ser suelto, bien drenado y con un importante contenido de materia orgánica. El terreno deberá estar preparado y con surcos”. Pino (2007).

“En cuanto al clima, los arándanos prefieren los climas moderados, requiriendo una cantidad de horas de frío, que van desde las 400 a las 1200 horas, en temperaturas cercanas a los 7 °C de esta manera pueden cumplir el receso de invierno y cuando rompen la lentecia se vuelven sensibles a las heladas, por lo que requieren de una protección especial ante ellas”. Henostroza (2016).

2.2.2. Clasificación taxonómica

La muestra fue identificada en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (N°181-USM-2019) según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988). *Vaccinium corymbosum* L. “arándano” tiene la siguiente posición taxonómica.

DIVISIÓN: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: DILLENIIDAE

ORDEN: ERICALES

FAMILIA: ERICACEAE

GÉNERO: *Vaccinium*

Especie: *Vaccinium corymbosum L.*

NOMBRE COMUN: arándano

2.2.3. Propiedades nutritivas

“Estas frutas son de bajo valor calórico por su escaso aporte de hidratos de carbono. Son especialmente ricas en vitamina C las grosellas negras y las rojas, que tienen cantidades mayores que algunos cítricos. En general las bayas silvestres son buena fuente de fibra; que mejora el tránsito intestinal, y de potasio, hierro y calcio (estos dos últimos de peor aprovechamiento que los procedentes de alimentos de origen animal), taninos de acción astringente y de diversos ácidos orgánicos. Sin embargo, lo que en realidad caracteriza a estas frutas es su abundancia de pigmentos naturales (antocianos y carotenoides) de acción antioxidante”. Moze, et al (2011).

“En la alimentación humana; este tipo de frutas constituyen una de las fuentes más importantes de antocianos, que les confieren su color característico y que están junto con ácidos orgánicos tales como el ácido oxálico o el ácido málico, responsables también de su labor. La vitamina C tiene acción antioxidante, al igual que los antocianos y carotenoides. Dicha vitamina interviene en la formación de colágeno huesos y dientes, glóbulos rojos y favorece la absorción del hierro de los alimentos y la resistencia a las infecciones. El potasio es necesario para la transmisión y generación del impulso nervioso, para la actividad muscular normal e interviene en el equilibrio de agua dentro y fuera de la célula”. Samad, et al (2016).

Composición por 100g de porción comestible	
Calorías	30.1
Carbohidratos (g)	6.9
Fibra (g)	1.8
K (mg)	88.0
Mg(mg)	0.5
Provit. A (mkg)	12.0

Tabla 1. *Composición nutricional del arándano por 100g de porción comestible.*

K: potasio, Mg: magnesio, Provit. A: provitamina A. Fuente: Tomado de Peñarrieta (2014).

2.2.4. Propiedades para la salud

“Los antocianos y carotenoides son abundantes en la composición de todas estas frutas del bosque. Desde el punto de vista bioquímico se caracterizan por poseer una elevada actividad antioxidante, neutralizan la acción de los radicales libres que son nocivos para el organismo. Estas propiedades pueden dar lugar a efectos fisiológicos muy diversos; efectos antiinflamatorios y acción antibacteriana de los antocianos; entre otros. Estas frutas contienen; además de los antocianos y carotenoides, otros tipos de antioxidantes como la vitamina C. La ingesta dietética de estas sustancias potencia nuestro sistema inmunológico o de defensas del organismo y contribuye a reducir el riesgo enfermedades degenerativas, cardiovasculares e incluso del cáncer. Asimismo, la vitamina C tiene la capacidad de favorecer la absorción del hierro de los alimentos por lo tanto esto hace de que haya mejora en la anemia ferropenia”. Peñarrieta, et al (2014).

“La fibra es un componente muy abundante en estas frutas, por lo que su consumo durante los meses en los que abundan puede resultar un remedio casero para tratar el estreñimiento y la atonía intestinal. Además, los arándanos contienen sustancias que se elimina y acidifica la orina de modo que se evita que se formen cálculos o litiasis renal de fosfato cálcico, no de otro tipo de cálculos”. Kim (2017).

2.2.5. Actividad antioxidante

“Los antioxidantes del origen vegetal son un conjunto de fotoquímicos tales como las antocianinas, carotenoides, flavonoides y vitaminas. Estos tipos de compuestos pueden encontrarse en productos como el tomate, uvas, zanahorias, mango, brócoli, aguacate, melón y muestran un amplio espectro de funciones biológicas cuando son consumidos en la dieta. Los antioxidantes son compuestos que son capaces de prevenir e incluso contrarrestar los daños causados en tejido humano por el efecto normal de oxidación fisiológica”. Hurtado, et al (2015).

“Los antioxidantes son sustancias presentes a bajas concentraciones en los alimentos o en el cuerpo, que retrasa o inhibe notablemente o controla la oxidación del sustrato oxidable. En estudios se han encontrado que adicionar antioxidantes es más efectivo para controlar la oxidación debido a sus propiedades únicas que surgen una amplia gama de estructuras químicas que extienden la vida útil de los productos alimenticios sin ningún efecto adverso sobre sus cualidades sensoriales o nutricionales”. Mesa, et al (2010).

2.2.6. Clasificación de los antioxidantes

“Que los antioxidantes se clasifican de acuerdo a su función como, antioxidantes primarios y antioxidantes secundarios. Los antioxidantes primarios son los que rompen la cadena que reaccionan con los radicales lipídicos y los convierten en productos más estables, son principalmente fenólicos, en estructura: minerales antioxidantes, vitaminas antioxidantes y fitoquímicos (flavonoides, catequinas, carotenoides, β -caroteno, licopeno, diterpeno). Los antioxidantes secundarios son compuestos fenólicos que realizan la función de capturar radicales libres y detener las reacciones en cadena los compuestos incluyen: hidroxí anisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT) y galato de propilo (PG)”. Pérez (2003).

“También pueden dividirse en dos grupos principales: enzimáticos y no enzimáticos. Algunos de ellos son producidos endógenamente, como: enzimas, moléculas de bajo peso molecular y cofactores enzimáticos, mientras que otros antioxidantes no enzimáticos se obtienen de fuentes y cofactores enzimáticos”. Oyola (2016).

2.2.7. Métodos de evaluación de la actividad antioxidante

“En la actualidad existen diversos métodos para determinar la actividad antioxidante, los cuales se basan en su capacidad para captar radicales libres. Entre ellos se pueden mencionar el uso del 2,2-difenil-1-picril hidrazilo (DPPH), ácido 2,2', azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico (ABTS)”. Kuskoski, et al (2005).

“El poder antioxidante de un extracto del fruto se pueden expresar en función del porcentaje de 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo (DPPH), la reducción del reactivo es seguida midiendo la disminución de la absorbancia, para evitar esta situación se considera la capacidad antioxidante de una muestra expresada en IC50 (concentración mínima necesaria para inhibir al 50% el DPPH). Mientras menor sea el valor de IC50 mayor será la capacidad antioxidante”. Shahidi, et al (2018).

2.2.8. Actividad citotóxica

“La definición de citotoxicidad tiene a variar dependiendo de la naturaleza del estudio, si las células mueren o simplemente tienen su metabolismo alterado. Estos ensayos son empleados porque son baratos, fácilmente cuantificables y reproducibles. Muchos experimentos tienen el propósito de determinar la potencial citotoxicidad de los compuestos estudiados porque ellos van a ser usados como fármacos, cosméticos y deben demostrar que nos son tóxicos o porque van a ser usados como agente anti cáncer y la citotoxicidad es crucial para su acción”. Jayo (2015).

2.3. Marco conceptual

- Capacidad antioxidante: “La oxidación y los agentes oxidantes Químicamente la oxidación de un compuesto es la pérdida de electrones, de hidrógenos o la ganancia de oxígeno en una molécula”. Zielinska, et al (2016).
- Antioxidante: “Es una molécula que se reduce al reaccionar con la molécula a la cual oxida. Este par oxido-reductor es necesario químicamente y esencial para entender la biología de las óxido-reducciones en el organismo”. Hurtado, et al (2015).

- Radicales libres: “Es un átomo o molécula que tiene uno o más electrones desapareados en sus orbitales externos y es capaz de tener una existencia independiente; sin embargo, es muy reactivo ya que tiende a reducirse, es decir, sustrae un electrón de átomos o moléculas estables, a las cuales oxida, con el fin de alcanzar su propia estabilidad”. Rodríguez (2017).
- Polifenoles: “Son compuestos bio-sintetizados por las plantas (sus frutos, hojas, tallos, raíces, semillas u otras partes). La principal característica estructural de los polifenoles es poseer uno o más grupos hidroxilo (-OH) unidos a uno o más anillos bencénicos. Aunque son primariamente conocidos por sus propiedades antioxidantes, la mayor parte de los polifenoles exhibe, además, otras actividades biológicas potencialmente beneficiosas para la salud”. Villanueva, et al (2010).
- Flavonoides: “Son compuestos fenólicos constituyentes de la parte no energética de la dieta humana. Se encuentran en vegetales, semillas, frutas y en bebidas como vino y cerveza”. Bunaciu, et al (2015).
- Taninos: “Son sustancias polifenólicas presentes en gran número de plantas producto del metabolismo secundario. Su carácter hidrosoluble permite que sea de fácil extracción y de utilidad en diversos usos en la industria química y farmacéutica”. Oyola (2016).
- Fitoconstituyentes: “Son compuestos químicos que ocurren naturalmente en las plantas (Fito significa "planta" en griego). Algunos son responsables del color y otras propiedades organolépticas, como el color morado oscuro de arándanos y el olor a ajo”. Ordaz, et al (2010).
- Citotoxicidad: “Daño celular provocado por la acción de anticuerpos específicos y complemento o por células citotóxicas. Constituye una de las más importantes respuestas efectoras inmunitarias para la defensa contra los agentes infecciosos”. Herrera, et al (2018).
- Antocianinas: “Compuestos azulados o rojizos procedentes del mundo vegetal, un beneficio para nuestra salud. Son pigmentos hidrosolubles que se hallan en las vacuolas de las células vegetales y que otorgan el color rojo, púrpura o azul a las hojas, flores y frutos”. Price (2017).
- Bayas: “Es un término que se emplea para nombrar a un fruto carnoso que dispone de pulpa, en la cual se encuentran las semillas. Por lo general las bayas son comestibles”. Aldaba, et al (2016).

- Fitoquímico: “Son sustancias que se encuentran de forma natural en alimentos vegetales. Estos compuestos son muy importantes porque, además de proporcionar ciertas características a los alimentos que los poseen (como por ejemplo su acción antioxidante), son realmente beneficiosos para la salud”. Abreu, et al (2018).

2.4. Hipótesis

2.4.1. Hipótesis general

El extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* (arándano) presenta actividad antioxidante y citotóxica.

2.4.2. Hipótesis específico

- El extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* (arándano) presenta elevada actividad antioxidante por los métodos DPPH y ABTS.
- El extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* (arándano) presenta un nivel muy alto de toxicidad en el modelo de inhibición de la germinación de las semillas de lechuga.

2.5. Operacionalización de variables e indicadores

Tabla 2.

Operacionalización de variables e indicadores.

VARIABLE INDEPENDIENTE	DEFINICION OPERACIONAL	DIMENSIÓN	INDICADORES
<i>Vaccinium corymbosum</i> “arándano”	Arbusto de porte alto del género <i>Vaccinium</i> , que incluye arbustos silvestres. Su fruto es una falsa baya de color negro-azulado con la epidermis cubierta de secreciones cerosas.	-Estudio preliminar de la marcha fitoquímica. -Estudio preliminar de la prueba de solubilidad.	-Metabolitos secundarios. -Soluble , insoluble
VARIABLE DEPENDIENTE	DEFINICION OPERACIONAL	DIMENSIÓN	INDICADORES
Actividad antioxidante	La actividad es una prueba para determinar la capacidad de inhibición de las especies reactivas del oxígeno (radicales libres).	Capacidad antioxidante (antiradicalaria).	Porcentaje de inhibición
Actividad citotóxica	Inhibición o estimulación del crecimiento de las radículas e hipocótilo de las semillas de lechuga	Semillas de lechuga (<i>Lactuca sativa</i>)	Medida de la longitud del crecimiento de las radículas e hipocótilo de las semillas de lechuga

“Determinación de la actividad antioxidante y citotóxica del fruto de *Vaccinium corymbosum* (arándano) proveniente de Cañete, Lima”. Fuente: Propia de los autores.

Capítulo III

Metodología

3.1. Tipo y nivel de investigación

El presente trabajo de investigación es un estudio Experimental – Prospectivo.

- Experimental: Consiste en la manipulación de una variable experimental no comprobada, en condiciones rigurosamente controladas, con el fin de describir de qué modo o por qué causa se produce una situación o acontecimiento en particular.
- Prospectivo: Es un estudio longitudinal en el tiempo que se diseña y comienza a realizarse en el presente, pero los datos se analizan transcurrido un determinado tiempo, en el futuro.
- Investigación aplicada: Tiene como objetivo de resolver un determinado problema o planteamiento específico, enfocándose en la búsqueda y consolidación del conocimiento para la aplicación.
- Correlacionar: Consiste en determinar si dos variables están correlacionadas o no.

3.2. Descripción del método y diseño

Los ensayos se realizaron en los laboratorios de la Universidad Interamericana para el Desarrollo, con el apoyo del Instituto de investigación de Bioquímica y Biología molecular –IIBBM de la Universidad Nacional Agraria la Molina (UNALM).

Se realizaron estudios preliminares a la planta para el procedimiento y reconocimiento de la actividad antioxidante y citotóxica del fruto de *Vaccinium corymbosum* (arándano).

- Recolección de la muestra:
 - Se recolectó 100g del fruto de arándano proveniente de la provincia de Cañete, Lima.
- Secado de la muestra:
 - Se realizó bandejas de papel craft para la muestra, pesamos la muestra integra.
 - Luego la muestra se cortó en trozos pequeños.
 - Las bandejas fueron pesadas con la muestra antes de iniciar el secado, llevando a la estufa a 40°C.

- La fracción pulverizada fue azada por un tamiz:
 - Preparación del extracto hidroalcohólico:
 - Se pesó 10g de la muestra en polvo homogenizada y se agregó dentro de un frasco de 250ml.
 - Se adicionó 100ml de solución hidroalcohólico al 70% en el frasco que contiene la muestra, cubriendo el frasco con papel aluminio y se dejó macerado en oscuridad por 7 días, agitando la muestra diariamente.
 - Cumpliendo el día de maceración, se filtró el extracto resultante en un embudo con papel filtro, se lavó las paredes del frasco con metanol (10ml) con el fin de recoger la muestra restante.
 - Finalmente se llevó a un volumen de 100ml adicionando solución hidroalcohólico al 70% de este volumen, se reservó 50ml en un matraz cubriendo con papel para film, después se envolvió en papel aluminio y se guardó en refrigeración. Los 50ml restantes se colocaron en un matraz de 250ml para ser secados en la estufa a 40°C.
 - Marcha fitoquímica:
 - Se separó 4ml de los 50ml almacenados en refrigeración.
 - Después se agregó 1ml en 4 tubos de ensayo para las pruebas correspondientes, siempre se comparó el tubo experimental con un tubo control para evidenciar el cambio de coloración.
- Fracción A:
- ❖ Determinación de taninos
 - a. Reactivo de Gelatina:
 - Agregamos 5 gotas de reactivo de gelatina a la muestra sin calentar.
 - Seguidamente agregamos 5 gotas de cloruro de sodio al 5% para hacer más visible la reacción se dejó reposar unos minutos.
 - b. Reactivo de Cloruro férrico:
 - Agregamos 2 gotas del reactivo a un tubo muestra y comparamos con el tubo de control. Observamos una reacción rápida (2 segundos).

❖ Determinación de aminoácidos

a. Reactivo de nihidrina:

- Se agregó 2 gotas de reactivo de nihidrina al 1% y llevamos a baño maría por unos minutos.
- Comparamos con el tubo de control.

❖ Determinación de flavonoides:

a. Reactivo de Shinoda:

- Agregamos una cinta de magnesio puro metálico al tubo con la muestra.
- Luego se agregó 5 gotas del reactivo de shinoda y 5 gotas de HCl puro.

□ Fracción B:

❖ Determinación de esteroides

a. Reactivo de Liebermann:

- Se obtuvo 3 tubos de ensayos, uno para la muestra, otro para la solución, anhídrido acético más cloroformo y otro para ácido sulfúrico concentrado.
- Primero agregamos a la muestra 1ml de la solución que contiene anhídrido acético 0.5ml y cloroformo 0.5ml.
- Posteriormente se agregó por las paredes del tubo de ensayo el ácido sulfúrico concentrado 1ml.

❖ Determinación de quinonas

a. Reactivo de Borntrager:

- Se añadió 5 gotas del reactivo de Borntrager, preparado a partir de 5g de Hidróxido de sodio disueltos en 100ml de agua destilada (5%).

□ Fracción C:

❖ Determinación de cardenolidos

a. Reactivo de Kedde:

- Agregamos 5 gotas de reactivo de Kedde por las paredes y adicionamos unas gotas de KOH 5.7%.

❖ Determinación de esteroides

a. Reactivo de Liebermann:

- Agregamos 5 gotas del reactivo de Liebermann Burchard por las paredes más 10 gotas de ácido acético.

❖ Determinación de alcaloides

a. Reactivo de Scott:

- Con un capilar, se adsorbió la solución acida en el interior y concentrar gota a gota en un papel filtro o de capa fina.
- Colocamos el papel con la solución concentrada en un soporte de un cartón y rociamos con el reactivo de Scott.

□ Fracción D:

- Evaporamos la solución clorofórmica a sequedad con ayuda de la estufa y re suspendemos en 2.5mL de etanol.
- Separamos equitativamente en 6 tubos de ensayo y realizamos los siguientes ensayos:

❖ Determinación de Flavonoides

a. Reactivo de Shinoda:

- Agregamos una cinta de magnesio puro metálico al tubo con la muestra.
- Luego, añadimos 5 gotas del reactivo de shinoda y 5 gotas de HCl puro.

❖ Determinación de Leucoantocianidinas

a. Reactivo de Rosemheim:

- Agregamos 5 gotas de HCl 2N y colocamos a baño maría durante media hora.

❖ Determinación de Cardenolidos

a. Reactivo de Kedde:

- Agregamos 5 gotas de reactivo de Kedde por las paredes y adicionar unas gotas de KOH 5.7%.

❖ Determinación de Esteroides y Triterpenos

a. Reactivo de Liebermann Burchard:

- Agregamos 5 gotas del reactivo de Lieberman-Burchard más unas gotas de ácido acético por las paredes del tubo.
- Luego llevamos a baño maría para visualizar mejor la reacción.

❖ Determinación de Alcaloides

a. Reactivo de Dragendorf:

- Agregar HCl 1% al matraz que contiene los sólidos de la fracción D. mover con ayuda de una bagueta y con un capilar, recogimos esta solución en el interior.
- Concentramos gota a gota de esta solución en un papel filtro o de capa fina.
- Colocamos el papel con la solución concentrada en un soporte de un cartón.
- Rociamos con el reactivo de Dragendorff.

b. Reactivo de Mayer:

- Separamos en un tubo un poco de la solución concentrada y agregar unas gotas del reactivo de Mayer.

□ Fracción E:

❖ Determinación de flavonoides

a. Reactivo de Shinoda

❖ Determinación de Leucoantocianidinas

a. Reactivo de Rosemhein

- Agregamos 5 gotas de HCl 2N y llevamos a baño maría durante media hora.

● Ensayo de solubilidad:

- Realizamos el ensayo tomando 2ml de solución del reactivo y 1 ml de la muestra (*Vaccinium corymbosum*).
- Luego agitamos el tubo de ensayo, observando si hay reacción con cada muestra.
- Si hay una mezcla homogénea hay solubilidad en el extracto

Tabla 3. Resultados de la marcha fitoquímica.

FRACCION	REACCION	RESULTADOS
A	Rvo. Nihidrina	+
	Rvo. Gelatina	-
	Rvo. Tricloruro férrico	+++
	Rvo. Shinoda	+++
B	Rvo. Libermann Burchard	Est. (+) / Trip. (+)
	Rvo. Borntrager	-
C	Rvo. Kedde	+
	Rvo. Libermann Burchard	Est. (++) / Trip. (++)
	Rvo. Mayer	-
	Rvo. Dragendorf	-
	Rvo. Scott	-
D	Rvo. Shinoda	+
	Rvo. Rosenhein	-
	Rvo. Kedde	+++
	Rvo. Libermann	Est. (-) / Trip. (-)
	Rvo. Mayer	-
E	Rvo. Shinoda	+++
	Rvo. Rosenhein	-

Leyenda: (-) ausente, (+) leve, (++) moderado, (+++) abundante.

Metabolitos obtenidos de la marcha fitoquímica (estudio preliminar). Fuente: Propia de los autores.

3.2.1. Determinación de la capacidad antioxidante:

- Método de DPPH

-Se preparó una solución de DPPH a una concentración de 0.118mg/ml en metanol, para los ensayos.

-Se realizaron las diluciones al 1% y al 0.1% a partir del extracto de la solución hidroalcohólica, etanólico y acuoso al 10%,

-Se tomó 1 ml de cada muestra y se le agregó 0.4ml a c/u. como control positivo se usó el ácido gálico.

-Posteriormente se incubaron las muestras por 30 minutos en oscuridad.

-Terminado el tiempo se llevó a leer inmediatamente en el espectrofotómetro a 517nm.

-El blanco reactivo se preparó agregando 1 ml de metanol en 0.4 ml de la solución de DPPH preparada.

- Método de ABTS

Según la metodología de Arnao

-Se preparó el reactivo A con ABTS a una concentración de 7.84 mg/mL en agua destilada,

-Se preparó el reactivo B con persulfato de potasio a una concentración de 1.32 mg/mL en agua destilada.

-Se guardarán los reactivos en frascos ámbar en oscuridad.

-Se preparó la solución madre del radical cromógeno (ABTS²⁺), empleando volúmenes iguales (1:1) de los reactivos A y B.

-La mezcla se dejó reaccionar por 12h en condiciones de oscuridad y temperatura ambiente.

-Seguidamente, se tomó 1 mL de la solución madre de ABTS y se diluirá con 65 mL de metanol (80%).

-Se realizó la lectura de la absorbancia de la solución preparada a una λ de 734 nm, y se corregirá agregando metanol (80%) o solución madre, se volverá a realizar la lectura a 734 nm hasta que la absorbancia este dentro del siguiente rango 1.1.

-La solución diluida se conservará en frasco ámbar.

-Para los ensayos se tomó 150 μ l de la muestra y 500 μ mol/L; se utilizó la solución estándar y metanol como blanco, y se adicionara 2850 μ l del radical ABTS.

-La reacción transcurrió a temperatura ambiente por un tiempo de 30 minutos, a cabo del cual se midió la absorbancia a 734 nm en un espectrofotómetro Spectroquam UV/BIS Pharo 300.

3.2.2. Técnica de inhibición por concentraciones:

Se describe la metodología para la realización de la técnica de la capacidad inhibitoria por concentración de los extractos vegetales que presentaron mejor actividad inhibitoria en las radículas de lechuga en la técnica de actividad inhibitoria de extractos vegetales.

- Preparación del material

- Limpiamos con un paño húmedo el área de trabajo y luego con alcohol de 70°.

- Protegemos la mesa de trabajo con papel toalla.

- Retiramos los extractos vegetales de refrigeración y lo mantenemos a temperatura ambiente.

- Colocamos las placas Petri, pipetores, tips sobre la mesa protegida con el papel toalla.

- Preparamos las placas Petri limpias, colocándole un disco de papel filtro a cada una.

- Preparación de las placas

- Colocamos 6 placas Petri por extracto a evaluar.

- Procedimos de la siguiente forma:

Tabla 4. Preparación de las placas.

Nº de placa	Concentraciones (mg)	Metanol (ul)	Volúmenes (ul)	Extracto
1	0.1	200	20	Extracto diluido 1:10 MeOH
2	0.3	200	60	Extracto diluido 1:10 MeOH
3	1	200	20	Extracto puro
4	3	200	60	Extracto puro
5	10	-	200	Extracto puro
6	30	-	600	Extracto puro

Preparación de placas para analizar la actividad citotóxica del fruto de *Vaccinium corymbosum* (arándano).

Fuente: Propia de los autores

-Etiquetamos la base de las placas con: Nombre científico o Código de muestra, Concentración (según el cuadro de arriba) y Fecha de incubación.

-Adicionamos 200 ul de metanol a las placas 1, 2, 3 y 4, para ayudar a difundir el volumen del extracto en todo el disco del papel filtro.

-Para el control agregamos 100 ul de metanol puro.

-Dejamos por 24 h abierta las placas para que el metanol se volatilice.

-Una vez transcurrido el tiempo agregamos 700 ul de agua destilada en cada placa, incluyendo el control.

-Seleccionamos las semillas de lechuga pregerminadas, que tengan una radícula de 3 mm de largo.

-Colocamos 5 semillas de iguales características en las placas, ayudándose con las pinzas de cerámica.

-Tapamos las placas y colocamos dentro de la bandeja de metal.

-Empapamos con agua destilada el papel toalla de la bandeja y tapamos.

-Colocamos una etiqueta sobre la bandeja donde indique la fecha y hora de inicio y de término de incubación.

-Incubamos por 52 horas o por el tiempo restante a las 72 horas.

3.3. Población y muestra

- Población: Planta: Se recolecto medio kilo de arándano fresco.
- Muestra: Fruto seco: Se obtuvo 300gr de fruto seco.

3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

-Técnica: Observaciones

La planta fue identificada taxonómicamente en el herbario de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, la planta que se caracterizo fue de Cañete, Lima. (Anexo G).

-Instrumento: Ficha de resultados

- Ficha de resultados de DPPH
- Ficha de resultados de ABTS.
- Ficha de resultados de citotoxicidad.

3.5. Técnicas de procesamiento y análisis de datos

Los resultados serán expresados en cuadros y gráficos. Estas serán sometidas al análisis de Varianza (ANOVA) con un nivel de significancia estadística de 0.05. La diferencia significativa que existe entre los tratamientos será evaluado a través de la prueba de Dunnet (programa SPSS versión 22).

Capítulo IV

Presentación y análisis de datos

4.1. Presentación de resultados

4.1.1. Actividad antioxidante

- Prueba de DPPH

Tabla 5.

Datos del análisis de DPPH.

ANALISIS DE DPPH			
	R1	R2	R3
5%	0.175	0.148	0.559
2.5%	0.469	0.441	0.475
1.25%	0.595	0.583	0.59

Resultados obtenidos del análisis de DPPH. Fuente: Propia de los autores.

- Prueba de ABTS

Tabla 6.

Datos del análisis de ABTS.

		60	120	180	240	300
	BLANCO	1	2	3	4	5
R1	1.13	0.824	0.755	0.665	0.442	0.216
R2	1.12	0.863	0.748	0.664	0.443	0.214
R3	1.11	0.901	0.752	0.666	0.443	0.212
PROMEDIO	1.12	0.863	0.752	0.399	0.443	0.214

Resultados de los datos de la curva estándar. Fuente: Propia de los autores

Tabla 7.

Procesamiento de datos.

	Absorbancia	µmol Eq. trolox	BL-MP
1	0.863	60	0.257
2	0.752	120	0.368
3	0.665	180	0.455
4	0.443	240	0.677
5	0.214	300	0.906

Resultados para el procesamiento de datos. Fuente: Propia de los autores.

- Estándar: 1.262
- Absorbancia: 734nm

4.1.2. Actividad citotóxica

Tabla 8. *Datos de la prueba de citotoxicidad*

Control 1		Control 2		Control 3	
Radicula	Hipocotilo	Radicula	Hipocotilo	Radicula	Hipocotilo
12	5	15	7	16	8
14	6	15	5	14	9
8	6	11	4	13	6
8	5	10	7	12	8
9	6	20	7	15	6

Resultados obtenidos de los datos de la prueba de citotoxicidad. Fuente: Propia de los autores

Tabla 9. Datos de 100mg de extracto

Muestra = 100mg		Muestra = 100mg		Muestra = 100mg	
Radicula	Hipocotilo	Radicula	Hipocotilo	Radicula	Hipocotilo
1	1	1	1	1	1
1	1	1	2	2	1
1	1	1	1	1	1
1	1	1	1	1	1
1	1	1	1	1	1

Resultados obtenidos de los datos de 100mg de extracto. Fuente: Propia de los autores.

Tabla 10.

Datos de diluciones con muestras-Radicula. .

Concentración (mg)	0.00		100mg		30mg		10mg	
	Radicula(mm)	Extension(%)	Radicula(mm)	Extension(%)	Radicula(mm)	Extension(%)	Radicula(mm)	Extension(%)
	16	114.3	1	7	7	50.0	12	85.7
	14	100.0	1	7	9	64.3	10	71.4
	13	92.9	1	7	7	50.0	11	78.6
	12	85.7	1	7	12	85.7	11	78.6
	15	107.1	1	7	12	85.7	15	107.1
	0	0.0	0	0	0	0.0	0	0.0
Promedio	14.0	100.0	1.0	7.1	9.4	67.1	11.8	84.3
Error Estándar	0.71	5.05	0.00	0.00	1.12	8.02	0.86	6.14
Desviación Estandar	1.58	11.29	0.00	0.00	2.51	17.93	1.92	13.74

Concentracion (mg)	0.00	3mg		1mg		0.3mg		0.1mg	
	Radicle(mm)	Radicle(mm)	Extension(%)	Radicle(mm)	Extension(%)	Radicle(mm)	Extension(%)	Radicle(mm)	Extension(%)
	16	8	57.1	16	114.3	23	164.3	22	157.1
	14	10	71.4	7	50.0	8	57.1	19	135.7
	13	12	85.7	13	92.9	14	100.0	10	71.4
	12	14	100.0	13	92.9	10	71.4	9	64.3
	15	10	71.4	12	85.7	10	71.4	12	85.7
	0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Promedio	14.0	10.8	77.1	12.2	87.1	13.0	92.9	14.4	102.9
Error Estándar	0.71	1.02	7.28	1.46	10.45	2.68	19.17	2.58	18.43
Desviación Estandar	1.58	2.28	16.29	3.27	23.36	6.00	42.86	5.77	41.22

Resultados obtenidas de las diluciones con las muestras (radícula). Fuente: Propia de los autores.

Tabla 11.

Procesamiento de datos de las diluciones-Radícula.

Sample (DW mg)	100mg	30mg	10mg	3mg	1mg	0.3mg	0.1mg
Extension(%)	7.1	67.1	84.3	77.1	87.1	92.9	102.9
Standard Error	0.00	8.02	6.14	7.28	10.45	19.2	18.4
Sample (DW mg)	100mg	30mg	10mg	3mg	1mg	0.3mg	0.1mg
Inhibition (%)	92.86	32.86	15.71	22.86	12.86	7.14	-2.86
Sample (DW mg)	0.1	0.3	1	3	10	30	100
Inhibition (%)	-1	8	-12	21	45	49	72

Resultados obtenidos del procesamiento de datos de las diluciones (radícula). Fuente: Propia de los autores.

Tabla 12.

Tabla resumen- Radícula.

Concentracion mg Extracto seco	% de Inhibicion
100	93
30	33
10	16
3	23
1	13
0.3	7
0.1	-3

Resultados del % de inhibición (radícula). Fuente: Propia de los autores.

Tabla 13.

Datos de diluciones con muestras – Hipocotilo.

Concentracion (mg)	0.00		100mg		30mg		10mg	
	Hipocotilo(mm)	Extension(% hipocotilo)	Hipocotilo(mm)	Extension(% hipocotilo)	Hipocotilo(mm)	Extension(% hipocotilo)	Hipocotilo(mm)	Extension(% hipocotilo)
	8	108.1	1	14	5	67.6	6	81.1
	9	121.6	1	14	6	81.1	9	121.6
	6	81.1	1	14	6	81.1	8	108.1
	8	108.1	1	14	7	94.6	9	121.6
	6	81.1	1	14	6	81.1	8	108.1
	0	0.0	0	0	0	0.0	0	0.0
Promedio	7.4	100.0	1.0	13.5	6.0	81.1	8.0	108.1
Error Estándar	0.60	8.11	0.00	0.00	0.32	4.27	0.55	7.40
Desviación Estandar	1.34	18.13	0.00	0.00	0.71	9.56	1.22	16.55

Concentracion (mg)	0.00	3mg	1mg	0.3mg	0.1mg				
	Hipocotilo (mm)	Hipocotilo (mm)	Extension(%)	Hipocotilo(mm)	Extension(%)	Hipocotilo (mm)	Extension(%)	Hipocotilo(mm)	Extension(%)
	8	6	81.1	10	135.1	10	135.1	8	108.1
	9	8	108.1	6	81.1	8	108.1	8	108.1
	6	10	135.1	9	121.6	9	121.6	6	81.1
	8	10	135.1	7	94.6	8	108.1	6	81.1
	6	7	94.6	6	81.1	7	94.6	8	108.1
	0	0	0.0	0	0.0	0	0.0	0	0.0
Promedio	7.4	8.2	110.8	7.6	102.7	8.4	113.5	7.2	97.3
Error Estándar	0.60	0.80	10.81	0.81	10.98	0.51	6.89	0.49	6.62
Desviación Estandar	1.34	1.79	24.17	1.82	24.55	1.14	15.41	1.10	14.80

Resultados obtenidos del procesamiento de datos de las diluciones. Fuente: Propia de los autores.

Tabla 14.

Procesamiento de datos de las diluciones- Hipocotilo.

Extension(%)	13.5	81.1	108.1	110.8	102.7	113.5	97.3
Standard Error	0.00	4.27	7.40	10.81	10.98	6.9	6.6
Sample (DW mg)	100mg	30mg	10mg	3mg	1mg	0.3mg	0.1mg
Inhibition (%)	86.49	18.92	-8.11	-10.81	-2.70	-13.51	2.70
Sample (DW mg)	0.1	0.3	1	3	10	30	100
Inhibition (%)	-1	8	-12	21	45	49	72

Resultados obtenidos del procesamiento de datos de las diluciones. Fuente: Propia de los autores.

Tabla 15.

Tabla resumen- *Hipocotilo*.

Concentracion mg Extracto seco	% de Inhibicion
100	86
30	19
10	-8
3	-11
1	-3
0.3	-14
0.1	3

Resultados del % de inhibición. Fuente: Propia de los autores.

4.2. Prueba de hipótesis

4.2.1. Hipótesis general

H₁: El extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* (arándano) presenta actividad antioxidante y citotóxica.

H₀: El extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* (arándano) no presenta actividad antioxidante y citotóxica.

Tabla 16.

Porcentaje de inhibición de radicales DPPH

	2.5 %	Control	Extracto + disolvente	Porcentaje de inhibición
Muestra	0.258	0.72	0.147	84.58 %

Porcentaje de inhibición de radicales de DPPH. Fuente: Propia de los autores.

Con el porcentaje de inhibición de DPPH se obtuvo que este valor es de 84.58% para el extracto hidroalcohólico del fruto seco de *Vaccinium corymbosum* (arándano). Afirmando la hipótesis alterna.

Tabla 17.

Procesamiento de datos- factores.

FORMULA	$y=0.0027x-0.0069$	Factor de dilucion	Valor en 10 g muestra	Valor en 100 g muestra
MP1/5	165.19	10	1652	
MP1/10	326.33	5	1632	
PROMEDIO			1642	1642
			1642 μmol de Eq.trolox/10 g de muestra seca	16418 μmol de Eq.trolox/100 g de muestra seca

Resultados del procesamiento de datos- factores. Fuente: Propia de los autores.

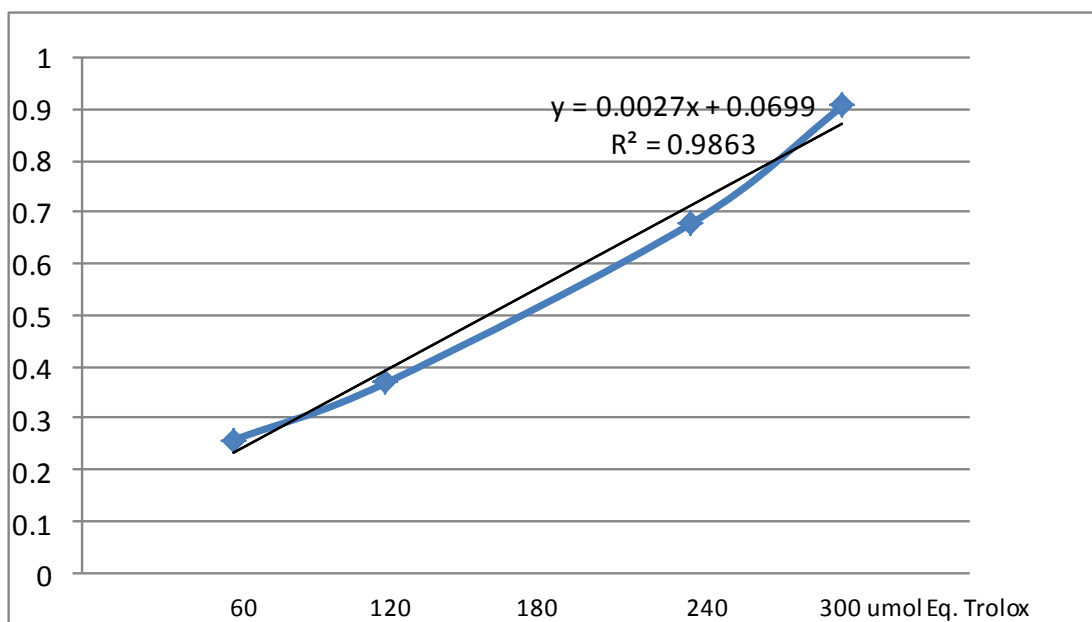


Figura 1. Curva de calibración concentración (umol Equ. Trolox). Fuente: Propia de los autores.

Al evaluar la muestra se obtuvieron los siguientes descriptivos. En ello cabe resaltar que la capacidad antioxidante de la muestra en una dilución 1:5 es de 1652 μmol Equ. Trolox y para la muestra en una dilución 1:10 es de 1632 μmol Equ. Trolox. Afirmando la hipótesis alterna.

Tabla18.
Comparaciones múltiples por el test de Dunnet

Variable dependiente	(I) Grupo	(J) Grupo	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
						Límite inferior	Límite superior
Hipocótilo	Ext 100	Control	-5,33333*	,66348	,000	-7,1855	-3,4812
	Ext 30	Control	-,33333	,66348	,998	-2,1855	1,5188
	Ext 10	Control	1,66667	,66348	,097	-,1855	3,5188
	Ext 3	Control	1,86667*	,66348	,047	,0145	3,7188
	Ext 1	Control	1,26667	,66348	,330	-,5855	3,1188
	Ext 0.3	Control	2,06667*	,66348	,022	,2145	3,9188
	Ext 0.1	Control	,86667	,66348	,740	-,9855	2,7188
Radícula	Ext 100	Control	-11,80000*	1,83994	,000	-16,9363	-6,6637
	Ext 30	Control	-3,40000	1,83994	,366	-8,5363	1,7363
	Ext 10	Control	-1,00000	1,83994	,997	-6,1363	4,1363
	Ext 3	Control	-2,00000	1,83994	,870	-7,1363	3,1363
	Ext 1	Control	-,60000	1,83994	1,000	-5,7363	4,5363
	Ext 0.3	Control	,20000	1,83994	1,000	-4,9363	5,3363
	Ext 0.1	Control	1,60000	1,83994	,953	-3,5363	6,7363

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

Resultados del análisis de test de Dunnet. Fuente: propia de los autores.

$$\%Inhibición = \frac{\text{Control} - \text{Experimental}}{\text{Control}} \times 100$$

Tabla 19.

Porcentaje de inhibición del crecimiento de hipocótilo y radícula

	Hipocótilo	Radícula	Porcentaje de inhibición	
			Hipocótilo	Radícula
Control	6.3	12.8	-	-
Ext 100	1	1	84.1269841	92.1875
Ext 30	6	9.4	4.76190476	26.5625
Ext 10	7.4	10.2	-17.4603175	20.3125
Ext 3	8.2	10.8	-30.1587302	15.625
Ext 1	7.6	12.2	-20.6349206	4.6875
Ext 0.3	8.4	13	-33.3333333	-1.5625
Ext 0.1	7.2	14.4	-14.2857143	-12.5

Resultados del porcentaje de inhibición del crecimiento de Hipocotilo y radícula. Fuente: propia de los autores.

Se muestra que solo el enfrentamiento entre extracto 100 mg y el grupo control tienen un p-valor menor a 0.05 en hipocótilo y radícula. Por esto se puede deducir que solo el extracto a 100 mg presenta una diferencia estadísticamente significativa en la longitud de hipocótilo y radícula respecto al control. Los demás enfrentamientos muestran p-valores mayores a 0.05. Por lo tanto, las concentraciones 0.1, 0.3, 1, 3, 10 y 30 mg no presentan diferencias estadísticamente significativas en las longitudes de las radículas e hipocótilos de las semillas de lechuga. Afirmando la hipótesis nula.

De acuerdo a los resultados obtenidos en la contrastación de la hipótesis general se puede decir lo siguiente:

El extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* (arándano) presenta actividad antioxidante y citotóxica, afirmando la hipótesis alterna.

4.2.2. Hipótesis específicos

Hipótesis específica 1

H₁: El extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* (arándano) presenta elevada actividad antioxidante por los métodos DPPH y ABTS.

H₀: El extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* (arándano) no presenta elevada actividad antioxidante por los métodos DPPH y ABTS.

- Método DPPH

ANOVA

Tabla 20.

Análisis antioxidante DPPH-Test de ANOVA.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,807	3	,269	3,980	,052
Intra-grupos	,541	8	,068		
Total	1,348	11			

Resultados del test de ANOVA. Fuente: propia de los autores.

El cociente F ha resultado en este ejemplo 3,980 que, en una F con 3 y 8 grados de libertad, deja a su derecha una cola de probabilidad 0,052 (nivel crítico o p-valor del contraste ANOVA).

Resulta por tanto un contraste significativo a niveles de significación habituales (0,05) y se rechaza la hipótesis (nula).

- Método ABTS

ANOVA

Tabla 21.

Análisis antioxidante ABTS -Test de ANOVA.

	Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	Sig.
Inter-grupos	,807	4	,202	672,880	,000
Intra-grupos	,003	10	,000		
Total	,810	14			

Resultados del test de ANOVA. Fuente: propia de los autores.

El cociente F ha resultado en este ejemplo 672,880 que, en una F con 4 y 10 grados de libertad, deja a su derecha una cola de probabilidad 0,000 (nivel crítico o p-valor del contraste ANOVA).

Resulta por tanto un contraste significativo a niveles de significación habituales (0,05) y se rechaza la hipótesis (nula).

Entonces podemos afirmar que: El extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* (arándano) presenta elevada actividad antioxidante por los métodos DPPH y ABTS.

Hipótesis específica 2

H₁: El extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* (arándano) presenta un nivel muy alto de toxicidad en el modelo de inhibición de la germinación de las semillas de lechuga.

H₀: El extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* (arándano) no presenta un nivel muy alto de toxicidad en el modelo de inhibición de la germinación de las semillas de lechuga.

Tabla 22.

Comparación de medias por el test de ANOVA

ANOVA						
		Suma de cuadrados	gl	Media cuadrática	F	p-valor
Hipocótilo	Entre grupos	205,087	7	29,298	17,748	,000
	Dentro de grupos	69,333	42	1,651		
	Total	274,420	49			
Radícula	Entre grupos	649,300	7	92,757	7,306	,000
	Dentro de grupos	533,200	42	12,695		
	Total	1182,500	49			

Resultados del test de ANOVA. Fuente: Propia de los autores.

Se muestra un p-valor menor a 0.05 en los hipocótilos y radículas. Por esto, se puede deducir que los resultados en el ensayo de citotoxicidad presentan diferencias estadísticamente significativas. Afirmando la hipótesis nula.

4.3. Discusión de resultados

- Estudio preliminar del tamizaje Fitoquímico:

El tamizaje fitoquímico realizado al extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* mostró la presencia de lactonas α , β -insaturadas, triterpenos y/o esteroides, flavonoides, compuestos fenólicos y aminoácidos. Los compuestos fenólicos, como las antocianinas, son los metabolitos secundarios más comunes en el género *Vaccinium* y los flavonoides son considerados marcadores quimiotaxonómicos en las hojas y frutos. Otros autores que estudiaron los frutos de especies del género *Vaccinium* y la especie *Vaccinium corymbosum* publicaron la presencia de antocianinas, flavonoides en las mismas. A partir de los frutos provenientes de diferentes localidades de Francia y Canadá se obtuvieron clones de

Vaccinium corymbosum, *Vaccinium angustifolium*, *Vaccinium myrtillus* y *Vaccinium myrtilloides* que evidenciaron altas concentraciones de antocianinas y el resultado más relevante fue 0.82 – 2.5 mg de antocianinas por cada gramo del fruto *Vaccinium corymbosum*. También se evidenciaron un alto porcentaje de flavonoides y antocianinas en frutos de *Vaccinium corymbosum* y *Vaccinium myrtillus* provenientes de siete localidades diferentes de Eslovenia mediante técnicas cromatográficas acopladas a espectrometría de masas, siendo los glicósidos de la malvidina y delfinidina las antocianinas más abundantes y la rutina el flavonoide más abundante en *Vaccinium corymbosum*. En cuatro clones obtenidos del fruto de *Vaccinium corymbosum* del sur de Chile se publicaron la alta concentración de antocianinas en el mismo mediante técnicas de espectroscopia sobre una reacción con el oxidante 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH). El fruto de *Vaccinium corymbosum* proveniente de Corea evidenció presencia de antocianinas, flavonoides y fenil propanoides mediante técnicas cromatográficas acopladas a espectrometría de masas además se aisló y determinó la estructura de un flavonoide unido a un azúcar. Además de estos estudios también se aislaron e identificaron ésteres del ácido hidroxicinámico, un compuesto fenólico, y un triterpenos tipo urbano a partir del fruto de *Vaccinium macrocarponn* proveniente de Estados Unidos.

- Estudio preliminar del ensayo de solubilidad:

El ensayo de solubilidad mostró que el extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* es soluble en disolventes polares como etanol, metanol y agua. Los constituyentes mayoritarios del fruto de *Vaccinium corymbosum* son solubles en agua independientemente del origen de la especie vegetal. La solubilidad en etanol y agua del extracto del zumo de *Vaccinium corymbosum* es un criterio de calidad, ya que los sólidos solubles en agua del mismo son los responsables del sabor.

4.3.1. Ensayo antioxidante:

- **El ensayo DPPH** para determinar la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico del fruto seco de *Vaccinium corymbosum* (arándano) mostró que la concentración 2.5 mg/ml (2.5%) evidencio 84.58% de inhibición de radicales DPPH. Por otro lado, otro autor evidenció que el extracto acuoso y etanólico del

fruto seco de *Vaccinium corymbosum* tiene un IC₅₀ de 1.80 ± 0.03 mg/ml y 2.05 ± 0.06 mg/ml frente a IC₅₀ de 0.1 y 0.5 mg/ml presentados por el butilhidroxitolueno y ácido ascórbico respectivamente. Esto es evidencia que el disolvente extractor es un factor que influye en la actividad antioxidante de los extractos de los frutos secos de *Vaccinium corymbosum*, ya que los compuestos fenólicos polihidroxilados, compuestos orgánicos antioxidantes, son más soluble en etanol que en agua, salvo que se encuentren glicosilados. Se determinó el efecto antioxidante del fruto de *Vaccinium corymbosum* proveniente de Lima y Ancash mediante espectroscopia UV-VIS con el reactivo DPPH y mostraron IC₅₀ de 0.041 mg/ml por los frutos provenientes de Ancash pero 0.041 y 0.047 mg/ml luego de almacenados 7 días a 4°C y -18 °C y 0.075 mg/ml por los frutos provenientes de Lima, pero 0.071 y 0.064 mg/ml luego de almacenados 7 días a 4 C° y -18 °C, respectivamente. La significativa diferencia de IC₅₀ entre la presente tesis y el trabajo recientemente citado puede ser debido a la diferencia de procedencia, tratamiento y condiciones de almacenamiento ya que son factores determinantes en el rendimiento de extracción, de calidad de fruto y concentración de compuestos fenólicos.

- **El ensayo ABTS** para determinar la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico del fruto seco de *Vaccinium corymbosum* (arándano) evidenció 16418 uM (16.418 mM) equivalentes de trolox/100 g de fruto seco (mM/g de FS). Otro autor evidenció que la actividad antioxidante equivalente en trolox por gramo de droga seca (mM/g de FS) conseguido de las variedades Reka, Puru, Bluecrop y Berkeley del fruto *Vaccinium corymbosum* en suelo de Berlín-Alemania fue de 2.95, 2.75, 2.70 y 2.95 mM/g de FS en su primera fase de maduración. Esto muestra que una misma especie puede evidenciar diferencia cuantitativa pero no cualitativa en variedades de droga a pesar de crecer en las mismas condiciones. Otro autor diferente evaluó el efecto del secado de aire caliente por convección (HACD), el secado al vacío por microondas (MWVD) y su combinación (HACD + MWVD) sobre la cinética de secado y la capacidad antioxidante del fruto *Vaccinium corymbosum* proveniente de Polonia fresco y seco. Obteniéndose 13.02 mM/100 g de FS en frutos frescos frente a 6.37 ± 0.08 mM/100 g de FS con HACD a 90 °C, mayor actividad antioxidante en frutos secos. Esto evidencia que el proceso de tratamiento y condición física del fruto influye significativamente en la actividad antioxidante del fruto de *Vaccinium corymbosum*

por esto la diferencia obtenida entre el antecedente y el resultado de la presente tesis puede ser debido al proceso de tratamiento.

4.3.2. Ensayo de citotoxicidad:

- El ensayo para determinar el efecto citostático del extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* (arándano) sobre las semillas de *Lactuca sativa* evidenció que a las concentraciones 0.1, 0.3, 1, 3, 10 y 30 mg no se evidenció actividad citotóxica estadísticamente significativa respecto al control ($p > 0.05$) pero si se evidenció efecto citotoxico en el extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* a la concentración de 100 mg ($p < 0.05$) con un 84.13% y 92.19% de inhibición el crecimiento del hipocótilo y radícula de las semillas de *Lactuca sativa*. Otro autor evidenció el efecto citotoxico del extracto hidroalcohólico de *Lessonia trabeculata* sobre las semillas de *Lactuca sativa* con un 54.04 % y 7.89 % de inhibición en el hipocótilo y radícula de las semillas. La actividad biológica del extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* puede ser debido a su alta concentración de compuestos fenólicos, principalmente las antocianinas. Ya que los compuestos fenólicos tienen una alta afinidad para reaccionar con los radicales libres (especies químicas altamente oxidantes).

Capítulo V

Conclusiones y recomendaciones

5.1. Conclusiones

- El extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* (arándano) presenta actividad antioxidante y citotóxica.
- El extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* (arándano) presenta actividad antioxidante por los métodos de DPPH y ABTS.
- El extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* (arándano) presenta efecto citotóxico en la concentración de 100mg con un 84.13% y 92.19% de inhibición en el crecimiento del hipocótilo y radícula de las semillas de lechuga.
- El extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* (arándano) presenta lactonas, triterpenos y/o esteroides, flavonoides, compuestos fenólicos y aminoácidos.
- El extracto hidroalcohólico del fruto de *Vaccinium corymbosum* (arándano) presenta solubilidad en los disolventes etanol, metanol y agua.

5.2. Recomendaciones

- Se debe de utilizar otras variedades del arándano para la determinación de antioxidantes y otros estudios adicionales por otros métodos como ABTS, DPPH entre otros para corroborar datos y mejorar investigaciones futuras.
- Se recomienda consumir cualquier variedad de Vaccinium (arándano) en diferentes preparaciones para así tener beneficios para la salud.
- Por último, se recomienda dar más énfasis a la producción del arándano, ya que esto va a generar gran demanda en la población, trayendo consigo un aporte económico a la agricultura de nuestro país.

Referencias bibliográficas

- Abreu, O., Cuéllar, A., Prieto, S. (2008). *Fitoquímica del género Vaccinium (Ericaceae)*. Revista Cubana de Plantas Medicinales, 13(3). Recuperado de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962008000300003&lng=es&tlng=es.
- Alayo, D. (2017). *Estudio comparativo de la actividad antioxidante de los frutos de Prunus serotina y el Vaccinium corymbosum*. Recuperado de <http://repositorio.ucv.edu.pe/handle/UCV/11395>
- Aldaba, J., Concha, V., Enciso V., Carranza J. (2016). *Funcionalidad del arándano azul (Vaccinium corymbosum L.)*. Revista Cubana de Plantas Medicinales, 21(4), 1-8. Recuperado de: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962016000400009&lng=es&tlng=es.
- Arbayza, J., Ruiz, S. et al. (2014). *Capacidad antioxidante del zumo y de los extractos hidroalcohólico y acuoso obtenidos de Punica granatum y su relación con el contenido de polifenoles*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 2014. Disponible en: <http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/farmabioq/article/view/758>
- Bunaciu, A. A., Danet, A. F., Fleschin, S., & Aboul-Enein, H. Y. (2015). *Recent Applications for in Vitro Antioxidant Activity Assay*. Critical Reviews in Analytical Chemistry, 46(5), 389 - 399. doi:10.1080/10408347.2015.1101369
- Castrejón, A., Eichholz, I., Rohn, S., Kroh, L. (2008). *Phenolic profile and antioxidant activity of highbush blueberry (Vaccinium corymbosum L.) during fruit maturation and ripening*. Food Chem [Internet]. 2008; 109(3):564–72. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.01.007>
- Gaviria, C., Hernández J., Lobo, M., Medina, C., Rojano, B. (2012). *Cambios en la Actividad Antioxidante en Frutos de Mortiño (Vaccinium meridionale Sw.) durante su Desarrollo y Maduración*, Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín, 65(1), 87-6495. Recuperado de: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0304-28472012000100019&lng=en&tlng=es.
- Harborne, JB., Williams CA. A. *Chemotaxonomic survey of flavonoids and simple phenols in leaves of the Ericaceae*. Bot J Linn Soc [Internet]. 1973; 66(1):37–54. Disponible en: <https://doi.org/10.1111/j.1095-8339.1973.tb02159.x>
- Henostroza, EA., Humán, LD. (2016). *Características fisicoquímicas del zumo del fruto maduro de Vaccinium corymbosum arándano morado procedente del distrito de Virú noviembre 2016* [Internet]. Universidad nacional de Trujillo; 2018. Disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/10607>
- Herrera, S., et al. (2018). *Nutritional composition, in vitro antioxidant activity and Artemia salina L. Lethality of pulp and seed of Tamarindus indica L. extracts*. Malays J Nutr. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=38002>

- Hurtado, P., Jurado, B., Ramos, E., Calixto, M. (2015). *Evaluación de la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico estandarizado de hojas de Juglans Neotropica Diels (nogal peruano)*. Revista de la Sociedad Química del Perú, 81(3), 283-291. Recuperado en 17 de octubre de 2019, de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2015000300010&lng=es&tlng=es.
- Jayo, J. (2015). *Determinación de la actividad citotóxica y citostática del extracto etanólico obtenido de la raíz de Grindelia tarapacana Phil "Escobita"*. Disponible en: <http://repositorio.unica.edu.pe/bitstream/handle/UNICA/2303/500.110.0000074.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Kim, J. (2017). *Comparison of flavonoid characteristics between blueberry (Vaccinium corybosum) and black raspberry (Rubus coreanus) cultivates in Korea using UPLC-DAD-QTOF/MS*. Korean J environmental Agric [Internet]. 2017; 36(2):87–96. Disponible en: <https://doi.org/10.5338/KJEA.2017.36.2.14>
- Kuskoski E., et Al (2005). *Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos*. Cienc. Tecnol. Aliment. Campinas. (2005); 25(4):7266732.
- Mesa, A., Gaviria, C., Cardona, F., Sáez, J., Benjamín A. (2010). *Actividad antioxidante y contenido de fenoles totales de algunas especies del género Calophyllum*. Revista Cubana de Plantas Medicinales, 15(2), 13-26. Recuperado en 17 de octubre de 2019, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962010000200003&lng=es&tlng=es.
- Moze, S., Polak, T., Gasperlin, L., Koron, D., Vanzo, A., Poklar Ulrih, N., et al. (2011). *Phenolics in slovenian bilberries (Vaccinium myrtillus L.) and blueberries (Vaccinium corymbosum L.)*. J Agric Food Chem [Internet]; 59(13):6998–7004. Disponible en: <https://doi.org/10.1021/jf200765n>
- Ordaz, G., D'Armas, H., Yáñez, D., Hernández, J., & Camacho, A. (2010). *Metabolitos secundarios, letalidad y actividad antimicrobiana de los extractos de tres corales y tres moluscos marinos de Sucre, Venezuela*. Revista de Biología Tropical, 58(2), 677-688. Retrieved October 17, 2019, from http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-77442010000200012&lng=en&tlng=es.
- Oyola., L. (2016). *Composición fitoquímica y actividad antioxidante del fruto de Melocactus peruvianus*. Universidad Cesar Vallejo (2016). Disponible en: http://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/UCV/630/oyola_al.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Peñarrieta, J., Tejada, L., Mollinedo, P., Vila J., Bravo J. (2014). *Phenolic compounds in foods*. Rev Boliv química [Internet]. 2014; 31(2):61–81. Disponible en: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0250-54602014000200006&lng=es&nrm=iso
- Pérez, G. (2003). *Los flavonoides: antioxidantes o prooxidantes*. Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas, 22(1) Recuperado en 17 de octubre de 2019, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002003000100007&lng=es&tlng=es.

- Pino, CM. (2007). *Descripción del desarrollo vegetativo y de las características físicas y químicas de los frutos de cuatro clones de arándano alto (Vaccinium corymbosum L.)* [Internet]. Universidad Austral de Chile; Disponible en: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2007/fap657d/doc/fap657d.pdf>
- Price, D., Luque, E., Meza Davey, B. (2017). *Efecto del refrigerado y congelado en el contenido de polifenoles totales, antocianinas y actividad antioxidante de arándanos (Vaccinium Corymbosum, Variedad "Biloxi") cultivados en diferentes microclimas de Perú.* [Internet]. Universidad Peruana de Ciencias Aplicadas (UPC); 2017. Available from: <http://hdl.handle.net/10757/621099>.
- Reyes, F., Vega, K. (2017). *Características farmacognósticas y cuantificación del contenido de polifenoles totales del fruto de Vaccinium corymbosum L. (arándano).* Recuperado de: <http://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/9429>
- Rodriguez, J. (2017). *Determinación de polifenoles, actividad antioxidante, antielastasa, anticologenasa y elaboración de una fórmula dermocosmética a partir del extracto hidroalcohólico de Eisenia cokeri M.A. Howe* Disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/7149/Rodriguez_lj.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Shahidi, F., & Ambigaipalan, P. (2018). *Antioxidants in oxidation control.* En R. Apak, E. Capanog, & F. Shahidi, *Measurement of Antioxidant Activity & Capacity: Recent Trends and Applications* (First ed., pág. 354). NJ. USA. John Wiley & Sons Ltd.
- Samad, N., Debnath, T., Ye, M., Hasnat, A., Lim, B. (2014). *In vitro antioxidant and antiinflammatory activities of Korean blueberry Vaccinium corymbosum l extract.* Asian Pac J Trop Biomed [Internet]. 2014; 4(10):807–15. Disponible en: <https://doi.org/10.12980/APJTB.4.2014C1008>
- Torrenegra, M., Villalobos, O., Castellar, E. (2016). Evaluación de la actividad antioxidante de las pulpas de Rubus glaucus B, Vaccinium floribundum K y Beta vulgaris L. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*; 21(4). Recuperado desde: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962016000400009
- Villanueva, J., Tiburcio, L., Condenzo, E. (2010). *Antocianinas, ácido ascórbico, polifenoles totales y actividad antioxidante en la cáscara de camu-camu (Myrciaria dubi (H. B. K.) McVaugh).* *Ciência e Tecnol. Alim.* (2010); 30:151-160.
- Zielinska, M., Michalska, A. (2016). *Microwave-assisted drying of blueberry (Vaccinium corymbosum L.) fruits: Drying kinetics, polyphenols, anthocyanins, antioxidant capacity, colour and texture.* *Food Chem* [Internet]. 2016; 212:671–80. Disponible <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.06.003>

Anexos

Anexo A: Matriz de consistencia

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPOTESIS GENERAL	OPERACIONALIZACION DE VARIABLES				METODOLOGIA
			VARIABLE INDEPENDIENTE	DEFINICION OPERACIONAL	DIMENSION	INDICADORES	
¿Presenta actividad antioxidantes y citotóxicas el extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Vaccinium corymbosum</i> (arándano)?	Determinar la actividad antioxidante y citotóxica del extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Vaccinium corymbosum</i> (arándano) proveniente de Cajete, Lima.	El extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Vaccinium corymbosum</i> (arándano) presenta actividad antioxidante y citotóxica.	<i>Vaccinium corymbosum</i> "arándano"	Arbusto de porte alto del género <i>Vaccinium</i> , que incluye arbustos silvestres. Su fruto es una falsa baya de color negro-azulado con la epidermis cubierta de secreciones cerosas.	-Estudio preliminar de la marcha fitoquímica. -Estudio preliminar de la prueba de solubilidad.	Taninos: Leve = (+) Flavonoides: Moderado = (++) Esteroides: Abundante = (+++) Triterpenos: Abundante = (+++) Cardenolidos: Leve = (+) Alcaloides: Ausente = (-) Aminoácidos: Leve = (+) Leucoantocianidinas: Ausente = (-) Quinolinas: Ausente = (-)	Estudio Experimental - Prospectivo. Descripción del método de diseño Los ensayos serán realizados en los laboratorios de la Universidad Interamericana para el Desarrollo, con el apoyo del Instituto de Investigación de Bioquímica y Biología molecular -IIBBM de la Universidad Nacional Agraria la Molina (UNALM). Se realizarán estudios preliminares a la planta para el procedimiento y reconocimiento de la actividad antioxidante y citotóxica del fruto de <i>Vaccinium corymbosum</i> (arándano). Recolección de la muestra, secado de la muestra, preparación de la extracción hidroalcohólica, marcha fitoquímica, y ensayo de solubilidad. <u>Preparación de la actividad antioxidante:</u> -Método de DPPH Se preparará una solución de DPPH. Se realizará las diluciones al 1% y al 0.1% posteriormente se incubaron las muestras por 30 minutos en oscuridad. Terminado el tiempo se llevará a leer inmediatamente en el espectrofotómetro a 517nm. -Método de ABTS Según la metodología de Arnao

PROBLEMAS ESPECÍFICOS	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	HIPOTESIS ESPECÍFICAS	V2 VARIABLE INDEPENDIENTE				METODOLOGIA
			VARIABLE INDEPENDIENTE	DEFINICION OPERACIONAL	DIMENSION	INDICADORES	
<ul style="list-style-type: none"> ¿Cuál será la actividad antioxidante que presenta el extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Vaccinium corymbosum</i> (arándano)? ¿Cuál es el análisis citotóxico del extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Vaccinium corymbosum</i> (arándano)? 	<ul style="list-style-type: none"> Evaluar la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Vaccinium corymbosum</i> (arándano) por los métodos DPPH y ABTS. Evaluar el efecto citotóxico del extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Vaccinium corymbosum</i> (arándano) frente a semillas de lechuga. 	<ul style="list-style-type: none"> El extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Vaccinium corymbosum</i> (arándano) presenta elevada actividad antioxidante por los métodos DPPH y ABTS. El extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Vaccinium corymbosum</i> (arándano) presenta un nivel muy alto de toxicidad en el modelo de inhibición de la germinación de las semillas de lechuga. 	Actividad Antioxidante	La actividad es una prueba para determinar la capacidad de inhibición de las especies reactivas del oxígeno (radicales libres)	Capacidad antioxidante (antiradicalaria).	Porcentaje de inhibición	<p>Según la metodología de Arnao Se preparará el reactivo A con ABTS. Se preparará el reactivo B con persulfato de potasio. La mezcla se dejó reaccionar por 12h en condiciones de oscuridad y temperatura ambiente. <u>Preparación de la actividad citotóxica</u> Se describe la metodología para la realización de la técnica de la capacidad inhibitoria por concentración de los extractos vegetales que presentaron mejor actividad inhibitoria en las radículas de lechuga en la técnica de actividad inhibitoria de extractos vegetales.</p> <p>Población y Muestra Población: Planta Muestra: Fruto seco</p> <p>Técnica e instrumento de recolección de datos Técnica: Observaciones Instrumento: Ficha de resultados, datos.</p> <p>Técnicas de procesamiento y análisis de datos Los resultados serán expresados en cuadros y gráficos. Estas serán sometidas al Análisis de Varianza (ANOVA) con un nivel de significación estadística de 0.05. La diferencia significativa que existe entre los tratamientos será evaluado a través de la prueba de Tukey (programa SPSS versión 21).</p>
			Actividad citotóxica	Inhibición o estimulación del crecimiento de las radículas e hipocótilos de las semillas de lechuga	Semillas de lechuga	Medida de la longitud del crecimiento de las radículas e hipocótilos de las semillas de lechuga	

Anexo B: Instrumento

Actividad Antioxidante:

- DPPH

Tabla 23.

Instrumento de DPPH

ANALISIS DE DPPH			
	R1	R2	R3
R10%			
5%			
2.5%			
1.25%			

Ficha donde se indicara las muestras utilizadas. Fuente: Propia de los autores.

- ABTS

Tabla 24.

Instrumento de ABTS.

	Absorbancia	Umol Eq. Trolox	BL-MP
1			
2			
3			
4			
5			

Ficha donde se indicara las muestras utilizadas. Fuente: propia de los autores

Actividad Citotóxica:

Tabla 25.

Instrumento de citotoxicidad.

Concentración mg Extracto seco	% de inhibición

Ficha donde se indicara las muestras utilizadas. Fuente: propia de los autores

Anexo C: Data consolidado de resultados

- Estudio preliminar de la Marcha fitoquímica.

Tabla 26.

Resultados del estudio preliminar de la marcha fitoquímica

FRACCIÓN	METABOLITO SECUNDARIO	REACTIVO	RESULTADO
A	Aminoácidos	Rvo. Nihidrina	+
	Taninos	Rvo. Gelatina	-
	Taninos	Rvo. Tricloruro férrico	+++
	Flavonoides	Rvo. Shinoda	+++
B	Esteroides	Rvo. Libermann	Est. (+)/ Trip. (+)
	Quinonas	Rvo. Borntrager	-
C	Cardenolidos	Rvo. Kedde	+
	Esteroides	Rvo. Libermann	Est. (++)/ Trip. (++)
	Alcaloides	Rvo. Mayer	-
	Alcaloides	Rvo. Dragendorf	-
		Rvo, Scott	-
D	Flavonoides	Rvo. Shinoda	+
	Leucoantocianidinas	Rvo. Rosenhein	-
	Cardenolidos	Rvo. Kedde	+++
	Esteroides	Rvo. Libermann	Est. (-)/ Trip. (-)
	Alcaloides	Rvo. Mayer	-
E	Flavonoides	Rvo. Shinoda	+++
	Leucoantocianidinas	Rvo. Rosenhein	-

Leyenda: (-) ausente, (+) leve, (++) moderado, (+++) abundante.

Metabolitos encontrados en el estudio preliminar de la marcha fitoquímica. Fuente: Propia de los autores.

- Estudio preliminar de la prueba de solubilidad.

Tabla 27.

Resultados de datos de solubilidad

Solvente	Solubilidad
Hexano	No soluble
Cloroformo	No soluble
Diclorometano	No soluble
Etanol	Soluble
Metanol	Soluble
Agua	Soluble

Datos del análisis del ensayo de solubilidad. Fuente: Propia de los autores.

- Actividad antioxidante
 - Prueba DPPH

Tabla 28.

DPPH

	R1	R2	R3
R10%	0.464	1.253	1.279
5%	0.175	0.148	X
2.5%	0.469	0.441	0.475
1.25%	0.595	0.583	0.59

Datos del análisis del ensayo por el método de DPPH. Fuente: Propia de los autores

- Prueba ABTS

Tabla 29.

ABTS

	Absorbancia	µmol Eq. trolox	BL-MP
1	0.863	60	0.257
2	0.752	120	0.368
3	0.665	180	0.455
4	0.443	240	0.677
5	0.214	300	0.906

Datos del análisis de ensayo por el método de ABTS. Fuente: Propia de los autores.

- Actividad citotóxica.

Tabla 30.

Citotoxicidad

Concentracion mg Extracto seco	% de Inhibicion
100	93
30	33
10	16
3	23
1	13
0.3	7
0.1	-3

Datos del análisis de citotoxicidad. Fuente: Propia de los autores.

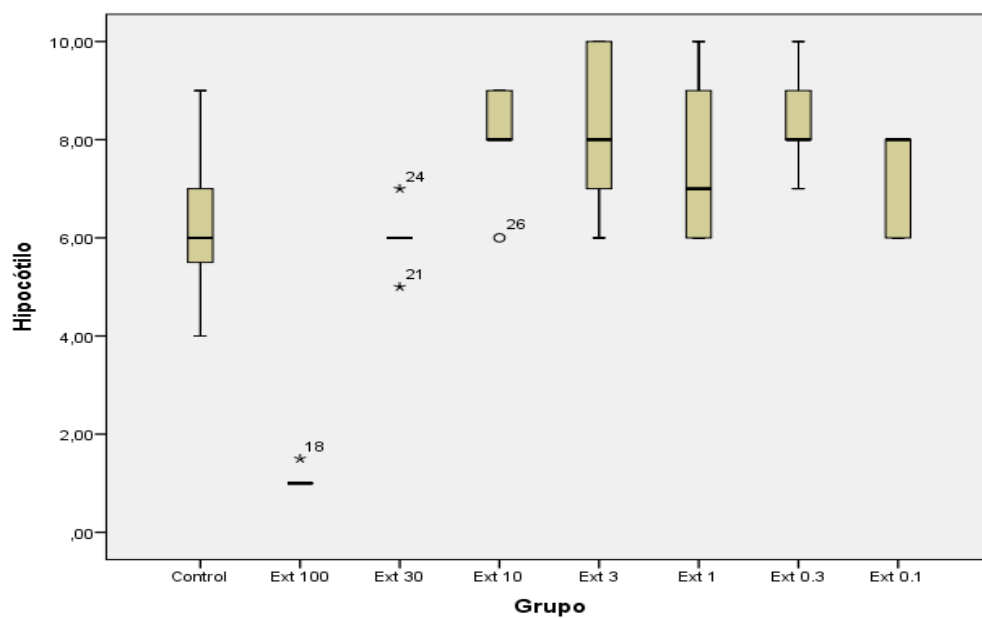


Figura 2. Diagrama de cajas y bigotes- Hipocotilo. Datos obtenidos del hipocótilo. Fuente: propia de los autores.

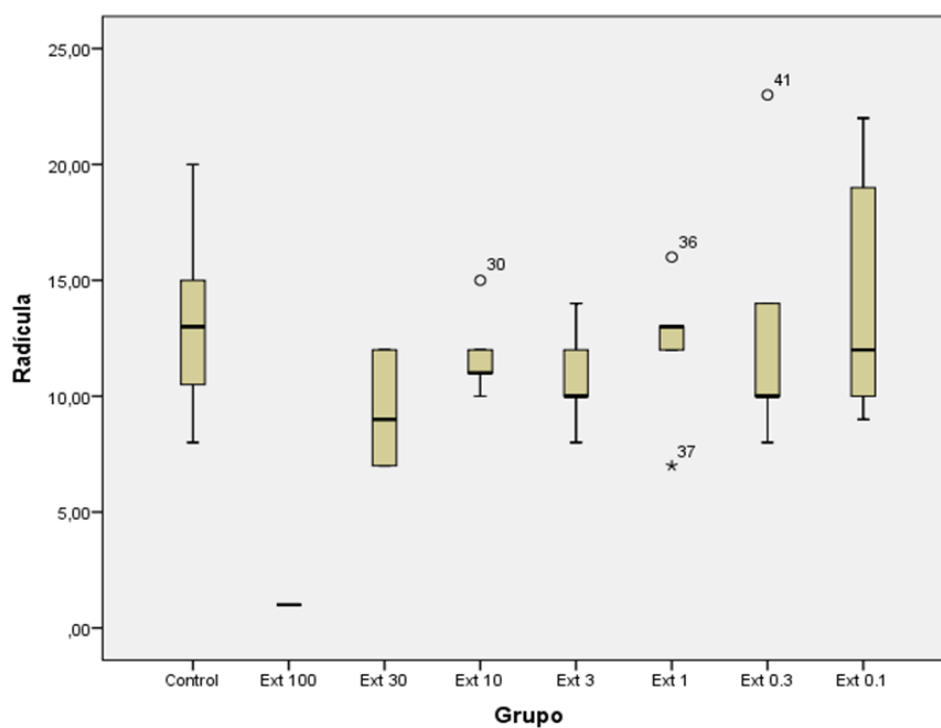


Figura 3. Diagrama de cajas y bigotes – Radícula. Datos obtenidos de la radícula. Fuente: propia de los autores.

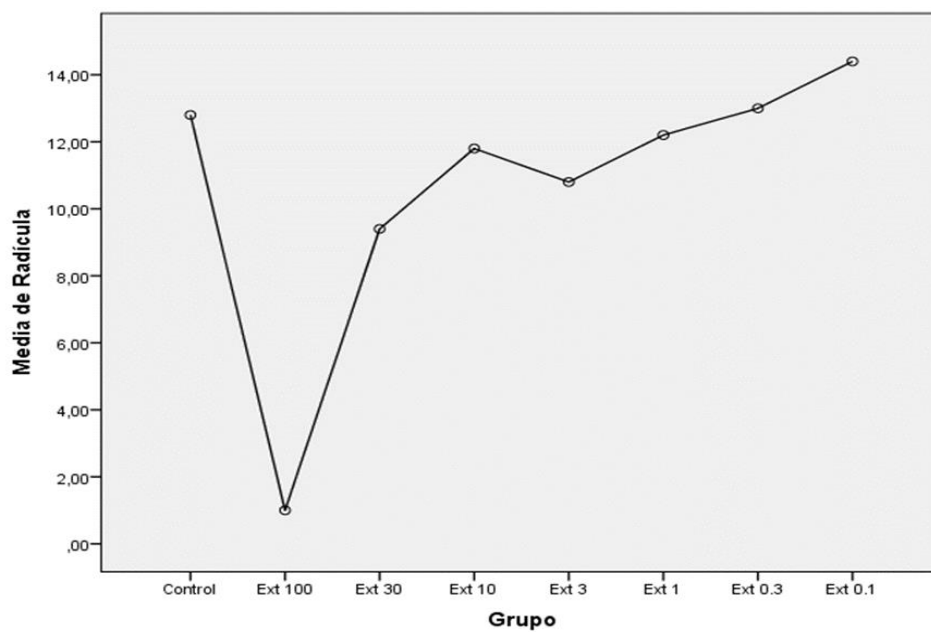


Figura 4. Media de radícula. Gráfica de la media de radícula obtenida. Fuente: propia de los autores.

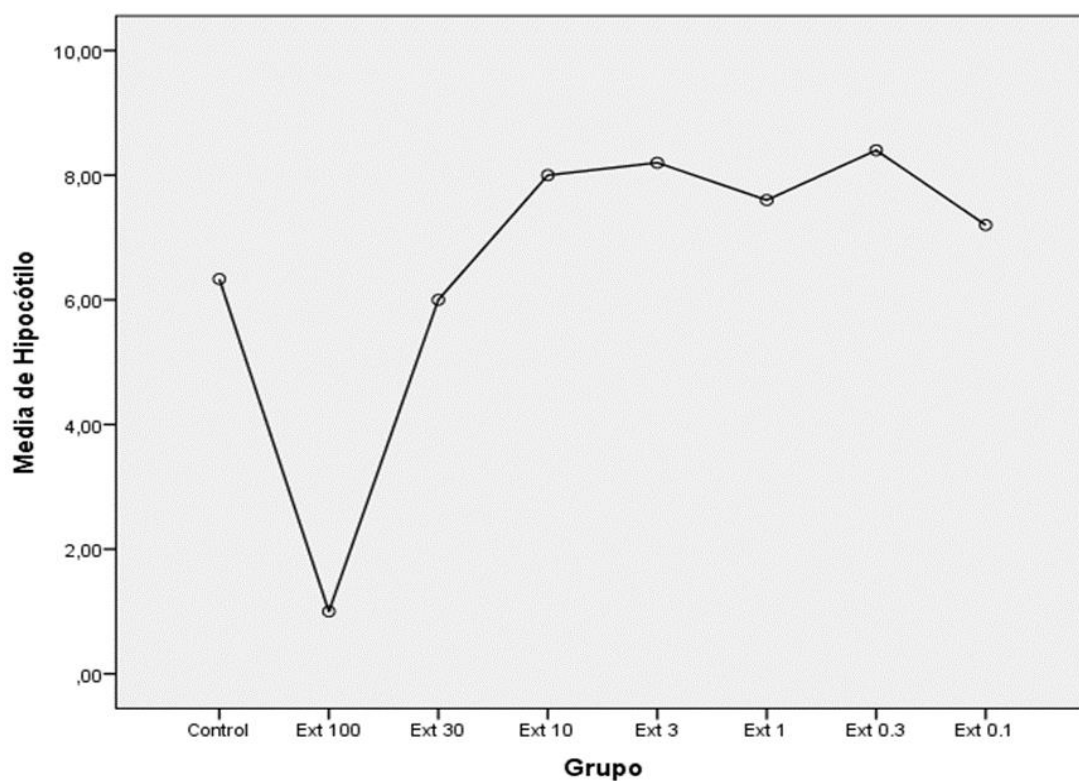


Figura 5. Media de hipocótilo. Gráfica de la media de hipocótilo. Fuente: propia de los autores.

Anexo D: Cronograma del programa experimental

- Estudio preliminar : Marcha fitoquímica:

Tabla 31.

Cronograma experimental del estudio preliminar de la marcha fitoquímica.

Días	Procedimiento
Día 1.	-Preparamos el área de trabajo. -Se preparó los materiales a utilizar (tubos de ensayo, reactivos.). -Se procedió hacer la recolección de fruto. -Se realizó el secado a 40°C
Día 2.	-Se realizó el macerado.
Día 3.	-Se realizó el extracto de la solución hidroalcohólica, para identificar los metabolitos
Día 4.	-Se realizó la sequedad y filtramos para hacer las fases (solución insoluble-solución acida). - Separamos la fase acida para realizar las fase clorofórmica y la fase acuosa.
Día 5.1	De la fase clorofórmica realizamos la fracción C para identificar metabolitos.
Día 6.	De la fase acuosa realizamos la fracción D y E para identificar metabolitos

Cronograma experimental del estudio preliminar de la marcha fitoquímica. Fuente: Propia de los autores.

- Estudio preliminar: Prueba de solubilidad:

Tabla 32.

Cronograma experimental del estudio preliminar del ensayo de solubilidad.

Días	Procedimiento
Día 1.	-Preparamos el área de trabajo. -Se preparó los materiales a utilizar (tubos de ensayo, reactivos.). -Se procedió a realizar la mezcla del solvente con la muestra.

Cronograma experimental del estudio preliminar del ensayo de solubilidad. Fuente: propia de los autores.

- Capacidad Antioxidante:

-Método de DPPH

Tabla 33.

Cronograma experimental por el método de DPPH.

Días	Procedimiento
Día 1.	<ul style="list-style-type: none"> -Preparamos el área de trabajo. -Se preparó los materiales a utilizar (tubos de ensayo, reactivos.). -Preparamos la solución de DPPH en metanol. -Se realizó las diluciones al 1% y al 0.1% a partir del extracto de la solución hidroalcohólica, etanólico y acuoso al 10%. -Luego cogimos 1ml de cada muestra y se le agrego 0.4ml a cada uno. -Se usó ácido gálico como control positivo. -Luego dejamos por 30 minutos en oscuridad las muestras. -El blanco reactivo se preparó agregando 1ml de metanol en 0.4ml de la solución de DPPH. -Terminado el tiempo se procedió a la lectura en el espectrofotómetro.

Cronograma experimental del ensayo por el método de DPPH. Fuente: Propia de los autores.

-Método de ABTS

Tabla 34.

Cronograma experimental por el método de ABTS.

Días	Procedimiento
Día 1.	<ul style="list-style-type: none"> -Limpiamos el área de trabajo. -Preparamos el material a utilizar. -Preparamos el reactivo A en agua destilada. -Preparamos el reactivo B con persulfato de potasio en agua destilada. -Ambos reactivos lo guardamos en un frasco ámbar en oscuridad. -La solución madre del radical cromógeno se preparó empleando volúmenes iguales de los reactivos A y B. -La mezcla se dejó por 12 horas en condiciones de oscuridad y a temperatura ambiente.
Día 2.	<ul style="list-style-type: none"> -Ya transcurrido el tiempo se procedió a la lectura en el espectrofotómetro.

Cronograma experimental del ensayo por el método de ABTS. Fuente: Propia de los autores.

Tabla 35.

Cronograma experimental de la actividad citotóxica.

Días	Procedimiento
Día 1.	<ul style="list-style-type: none"> -Limpiamos el área de trabajo -Preparamos el material a utilizar (placa Petri, pipetores, tips, papel filtro) -Colocamos 6 placas Petri para utilizar (3 control- 3 muestra) -Etiquetamos las placas Petri. -Colocamos un disco de papel filtro a cada placa Petri. -Agregamos 1ml de metanol puro en cada placa Petri. -Dejamos por 24 horas abiertas las placas para que el metanol se volatilice. -Seleccionamos las semillas de lechuga. -Llevamos las semillas de lechuga en la incubadora por 20 horas a 20.5°C.
Día 2.	<ul style="list-style-type: none"> -Transcurrido el tiempo de las 24 horas agregamos 700 ul de agua destilada en cada placa incluyendo el de control. -Seleccionamos las semillas de lechuga pregerminadas que tengan una radícula. -Colocamos 5 semillas de lechuga en las placas con ayuda de la pinza de cerámica. -Tapamos las placas y colocamos dentro de la bandeja de metal. -Empapamos con agua destilada el papel toalla de la bandeja y lo tapamos. -Lo dejamos incubar por 52 horas.
Día 3.	<p>Transcurrido el tiempo se precedió a realizar la medición de radícula e hipocótilo de la lechuga.</p> <p>Colocamos los datos en el formato a utilizar.</p>

Cronograma experimental en el desarrollo de capacidad citotóxica. Fuente: Propia de los autores.

Anexo E: Testimonios fotográficos



Figura 6. Marcha fitoquímica. Estudio preliminar para la elaboración de la marcha fitoquímica. Fuente: propia de los autores.

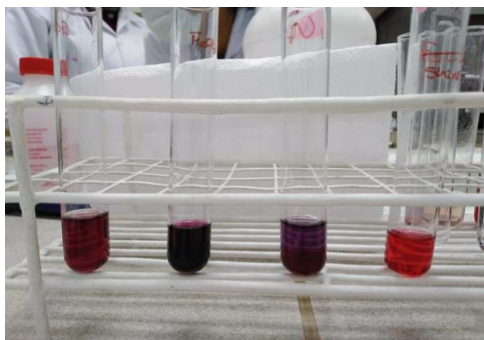


Figura 7. Metabolitos de la fracción "A" Resultados de la marcha fitoquímica. Fuente: propia de los autores.

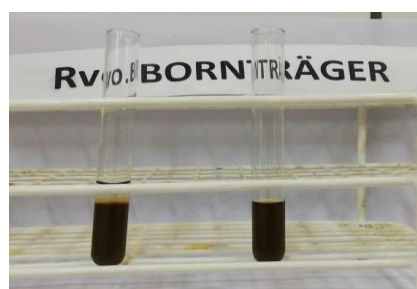


Figura 8. Metabolitos de la fracción "B". Resultados de la marcha fitoquímica. Fuente: propia de los autores.



Figura 9. Metabolitos de la fracción "C". Resultados de la marcha fitoquímica. Fuente: Propia de los autores.



Figura 10. Metabolitos de la fracción “D”. Resultados de la marcha fitoquímica. Fuente: propia de los autores



Figura 11. Metabolitos de la fracción “E”. Resultados de la marcha fitoquímica. Fuente: propia de los autores.

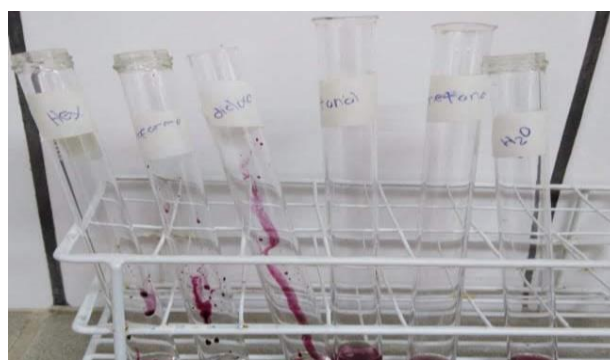


Figura 12. Solubilidad. Resultados del ensayo de solubilidad. Fuente: Propia de los autores

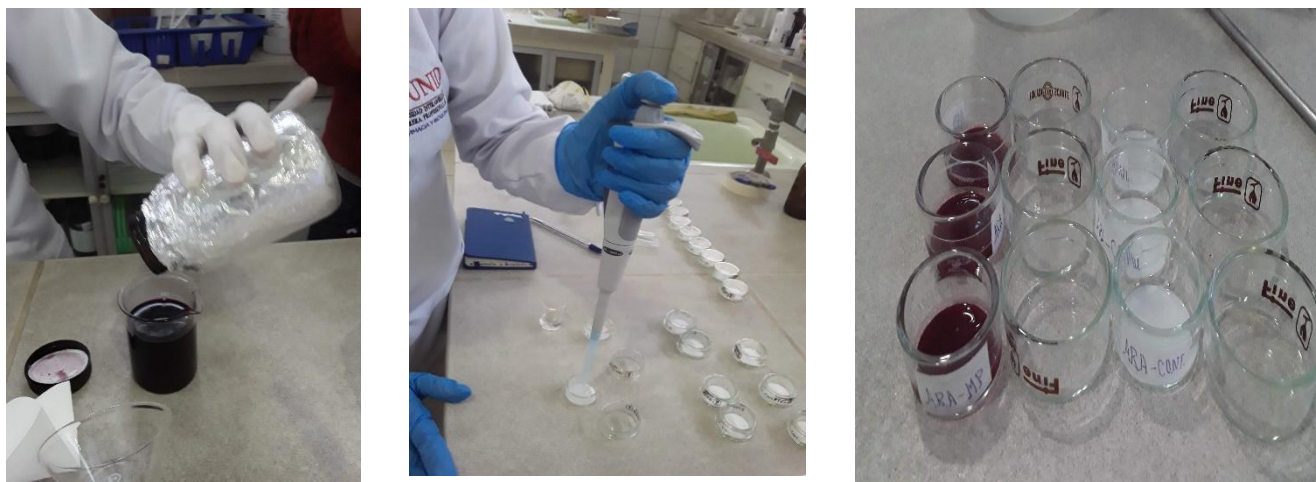


Figura 13. Actividad citotóxica del arándano. Sembrado de semillas. Fuente: propia de los autores



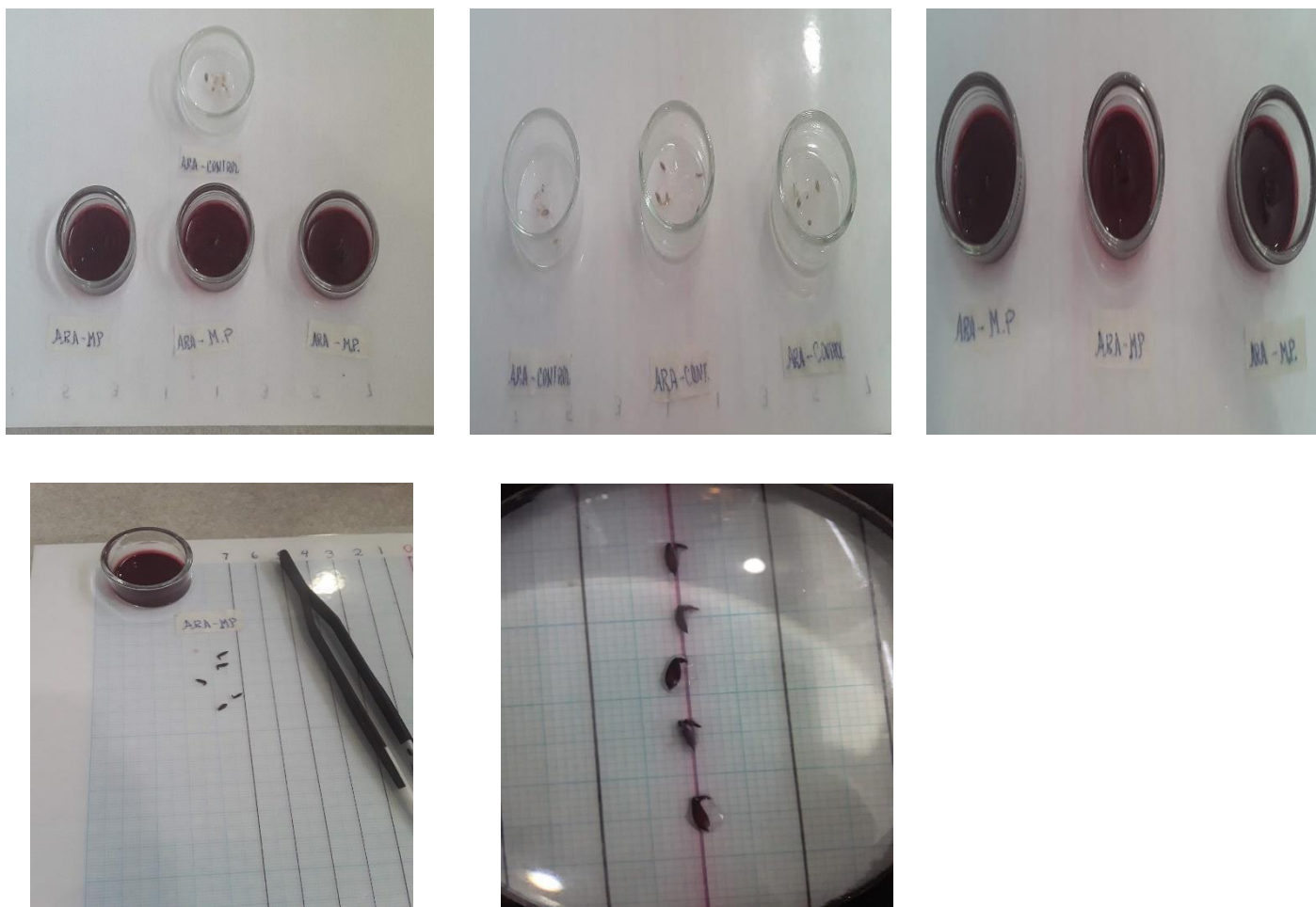


Figura 14. Análisis citotóxico. Lectura del ensayo de citotoxicidad. Fuente: propia de los autores.

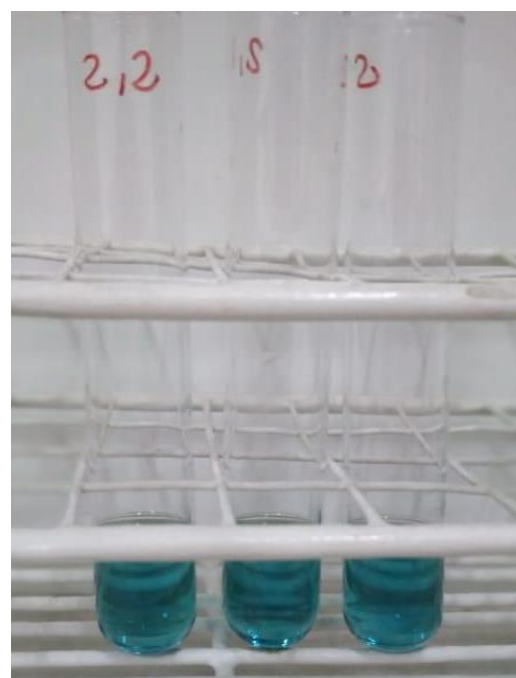
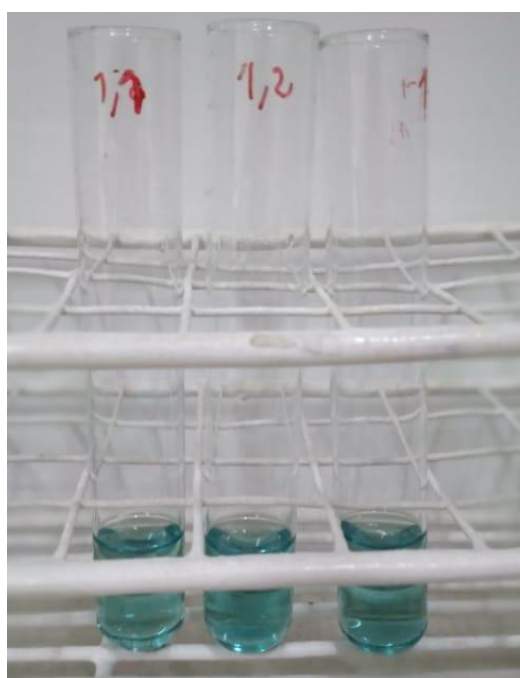




Figura 15. Capacidad antioxidante (ABTS). Procedimiento del análisis de ABTS. Fuente: Propia de los autores





Figura 16. Capacidad antioxidante (DPPH). Procedimiento del análisis de DPPH. Fuente: Propia de los autores





Figura 17. Fotografías con el asesor. Instalaciones del IIBBM. Fuente: propia de los autores

Anexo F: Juicio de expertos

FICHA DE VALIDACIÓN DEL INSTRUMENTO POR JUICIO DE EXPERTOS

I. DATOS GENERALES

- 1.1 Apellidos y nombres del experto: ROQUE MARROQUIN MARIA SUSANA
- 1.2 Grado académico: MAESTRO
- 1.3 Cargo e institución donde labora: DOCENTE ASESOR - UNID
- 1.4 Título de la Investigación: DETERMINACION DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y CITOTOXICA DEL
- 1.5 Autor del instrumento: UNID EXTRACTO HIDROALCOHOLICO DEL FRUTO DE VACCINIUM CORYMBOSUM
- 1.6 Nombre del instrumento: JUICIO EXPERTOS UNID

INDICADORES	CRITERIOS CUALITATIVOS/CUANTITATIVOS	Deficiente 0-20%	Regular 21-40%	Bueno 41-60%	Muy Bueno 61-80%	Excelente 81-100%
CLARIDAD	Está formulado con lenguaje apropiado.				✓	
OBJETIVIDAD	Está expresado en conductas observables.				✓	
ACTUALIDAD	Adecuado al alcance de ciencia y tecnología.				✓	
ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.				✓	
SUFICIENCIA	Comprende los aspectos de cantidad y calidad.			✓		
INTENCIONALIDAD	Adecuado para valorar aspectos del estudio.				✓	
CONSISTENCIA	Basados en aspectos Teóricos-Científicos y del tema de estudio				✓	
COHERENCIA	Entre los índices, indicadores, dimensiones y variables.				✓	
METODOLOGIA	La estrategia responde al propósito del estudio.				✓	
CONVENIENCIA	Genera nuevas pautas en la investigación y construcción de teorías.				✓	
SUB TOTAL						
TOTAL						

VALORACION CUANTITATIVA (Total x 0.20) : 78%

VALORACION CUALITATIVA : MUY BUENO

OPINIÓN DE APLICABILIDAD: APLICA

Lugar y fecha: LIMA, 18.02.2022

DNI: 07590373


Firma y Posfirma del experto
SUSANA ROQUE
DNI: 07590373

FICHA DE VALIDACION DEL INSTRUMENTO POR JUICIO DE EXPERTOS

II. DATOS GENERALES

- 2.1 Apellidos y nombres del experto: SAM ZAVALA SILVANA YANIRE
 2.2 Grado académico: DOCTORA
 2.3 Cargo e institución donde labora: DECANA - UNIV. INTERAMERICANA (UNID)
 2.4 Título de la Investigación: "Determinación de la actividad antioxidante y citotóxica del extracto hidroalcohólico"
 2.5 Autor del instrumento: Geraldine Ingarua - Cindy Garza
 2.6 Nombre del instrumento: Ficha de recolección de datos del extracto hidroalcohólico del fruto de Vaccinium corymbosum para comprobar determinando actividad antioxidante y citotóxica

INDICADORES	CRITERIOS CUALITATIVOS/CUANTITATIVOS	Deficiente 0-20%	Regular 21-40%	Bueno 41-60%	Muy Bueno 61-80%	Excelente 81-100%
11. CLARIDAD	Está formulado con lenguaje apropiado.				80%	
12. OBJETIVIDAD	Está expresado en conductas observables.					82%
13. ACTUALIDAD	Adecuado al alcance de ciencia y tecnología.					85%
14. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.					86%
15. SUFICIENCIA	Comprende los aspectos de cantidad y calidad.					83%
16. INTENCIONALIDAD	Adecuado para valorar aspectos del estudio.				80%	
17. CONSISTENCIA	Basados en aspectos Teóricos-Científicos y del tema de estudio.					84
18. COHERENCIA	Entre los índices, indicadores, dimensiones y variables.					86
19. METODOLOGIA	La estrategia responde al propósito del estudio.				80%	
20. CONVENIENCIA	Genera nuevas pautas en la investigación y construcción de teorías.					86
SUB TOTAL						
TOTAL						

VALORACION CUANTITATIVA (Total x 0.20): 83%

VALORACION CUALITATIVA: Excelente

OPINIÓN DE APLICABILIDAD: Aplicable

Lugar y fecha: 25/02/2020

[Firma]
Firma y Posfirma del experto

FICHA DE VALIDACION DEL INSTRUMENTO POR JUICIO DE EXPERTOS

III. DATOS GENERALES

- 3.1 Apellidos y nombres del experto: CHAVEZ PÉREZ, JOSÉ ANTONIO
- 3.2 Grado académico: MAESTRO EN BIOTECNIA
- 3.3 Cargo e institución donde labora: PROFESOR PRINCIPAL UNIVERSIDAD AGROARIA
- 3.4 Título de la Investigación: Determinación de la actividad antitumoral y citotóxica del extracto hidroalcohólico
- 3.5 Autor del instrumento: Gonzalo Pires Cindy; Ingaruca Salazar Geraldine
- 3.6 Nombre del instrumento: Ficha de recolección de datos del extracto hidroalcohólico

INDICADORES	CRITERIOS CUALITATIVOS/CUANTITATIVOS	Deficiente 0-20%	Regular 21-40%	Bueno 41-60%	Muy Bueno 61-80%	Excelente 81-100%
21. CLARIDAD	Está formulado con lenguaje apropiado.					✓
22. OBJETIVIDAD	Está expresado en conductas observables.					✓
23. ACTUALIDAD	Adecuado al alcance de ciencia y tecnología.					✓
24. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.					✓
25. SUFICIENCIA	Comprende los aspectos de cantidad y calidad.					✓
26. INTENCIONALIDAD	Adecuado para valorar aspectos del estudio.					✓
27. CONSISTENCIA	Basados en aspectos Teóricos-Científicos y del tema de estudio.					✓
28. COHERENCIA	Entre los índices, indicadores, dimensiones y variables.					✓
29. METODOLOGIA	La estrategia responde al propósito del estudio.					✓
30. CONVENIENCIA	Genera nuevas pautas en la investigación y construcción de teorías.					✓
SUB TOTAL						100%
TOTAL						

VALORACION CUANTITATIVA (Total x 0.20): 20

VALORACION CUALITATIVA: Excelente

OPINIÓN DE APLICABILIDAD: Aplicable

Lugar y fecha: LIMA, 25/02/2020



Firma y Posfirma del experto

DNI: 06 654755
JOSÉ CHAVEZ PÉREZ

Anexo G: Constancia de la clasificación taxonómica.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año de la lucha contra la corrupción y la impunidad"

CONSTANCIA N°181-USM-2019

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (plántula con fruto) recibida de **Cindy Garriazo Ripas y Geraldine Ingaruca Salazar**, alumnas de la Universidad Interamericana para el Desarrollo ha sido estudiada y clasificada como: ***Vaccinium corymbosum* L.** y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUBCLASE: DILLENIIDAE

ORDEN: ERICALES

FAMILIA: ERICACEAE

GENERO: *Vaccinium*

ESPECIE: *Vaccinium corymbosum* L.

Nombre vulgar: "arándano"
Determinado por Mag. Asunción Cano Echevarría.

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 12 de junio de 2019



Mag. ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRÍA
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ACE/ddb