



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

**“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y CITOTÓXICA DEL
EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS FLORES DE *BRASSICA RAPA* (FLOR DE NABO)”**

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

AUTORES

**BACH. YENI GLADIZ CUTI CHULLO
BACH. YENNIFER BEATRIZ PRADO PAREDES**

ASESOR

MG. JORGE ANTONIO CHÁVEZ PÉREZ

LIMA-PERÚ

2019

Dedicatoria

Dedicamos a Dios, por su bendición y guiarnos por el camino correcto en cada momento.

A nuestros padres por su apoyo constante y por los valores que formaron en nosotras y nos dieron fuerzas para seguir adelante, también a nuestros hermanos(as) por sus palabras de motivación, valentía y cariño. A nuestros esposos e hijos Leonardo y Thiago quienes son nuestra motivación y amor incondicional, para poder superarnos cada día.

Agradecimiento

Gracias a las autoridades de la Universidad Interamericana para el Desarrollo por brindarme la oportunidad de formarme profesionalmente y a los docentes de la facultad de Ciencia de la Salud por su conocimiento y enseñanzas que aportaron en mi formación académica. Al Dr. Jorge Antonio Chávez Pérez nuestro asesor, por su apoyo, tiempo y consejos que nos brindó en la presente investigación y al Instituto de Investigación de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad Nacional Agraria La Molina, por permitirnos el uso de sus diferentes laboratorios para el desarrollo de la presente tesis y al Biol. Eder Apumayta Suarez y a la Mg. Sc. Lilyan Teresa Loayza Gutiérrez por su apoyo en el desarrollo experimental en el proceso de realización de nuestra tesis.

Resumen

En la presente investigación se trabajó con la flor de nabo *Brassica rapa* proveniente de la provincia de Espinar de la región Cusco, la muestra fue procesada en el laboratorio de fitoquímica y bioquímica vegetal del IBBM de la Universidad Nacional Agraria La Molina. El propósito de este trabajo de investigación, fue determinar los principales grupos de metabolitos secundarios por tamizaje fitoquímico, solubilidad, citotoxicidad frente a semillas de *Lactuca sativa* y capacidad antioxidante por el método de radical DPPH. Los resultados de solubilidad, en ella se observó una mayor solubilidad en solventes orgánicos, mientras que en solvente de mayor polaridad (agua) se muestra insoluble, en el screening fitoquímico se evidenció la presencia abundante de compuestos fenólicos, flavonoides, triterpenos, esteroides, glicósidos cardiacos, antraquinonas, taninos. La determinación de la capacidad antioxidante, por el método de DPPH, presenta mayor % de inhibición a 1000 µg/ml y que este mismo extracto posee un IC₅₀ de 797,334 µg/ml. Mientras que en el análisis del efecto alelopático sobre las semillas de lechuga *Lactuca sativa* se demostró que el extracto tiene un efecto inhibitor en el desarrollo de la radícula. De acuerdo a los resultados obtenidos se puede evidenciar que las flores de *Brassica rapa* presenta importantes compuestos químicos y actividad antioxidante que podría ser aprovechado en la actividad industrial de diferentes rubros.

Palabras claves: Tamizaje fitoquímico, actividad antioxidante, capacidad citotóxica, *Lactuca sativa* y *Brassica rapa*.

Abstract

In this research we worked with the turnip flower *Brassica rapa* from the province of Espinar of the Cusco region, the sample was processed in the laboratory of plant phytochemistry and biochemistry of iiBBM of the National Agrarian University La Molina. The purpose of this research work was to determine the main groups of secondary metabolites by phytochemical screening, solubility, cytotoxicity versus *Lactuca sativa* seeds and antioxidant capacity by the DPPH radical method. Solubility results, in it observed greater solubility in organic solvents, while in solvent of greater polarity (water) is insoluble, in the phytochemical screening was shown the abundant presence of phenolic compounds, flavonoids, triterpenes, steroids, cardiac glycosides, anthraquinones, tannins. The determination of the antioxidant capacity, by the DPPH method, has a higher % inhibition rate at 1000 g/ml and that this same extract has an IC₅₀ of 797,334 g/ml. While the analysis of the allopathic effect on *Lactuca sativa* lettuce seeds showed that the extract has an inhibitory effect on the development of the radicle. According to the results obtained it can be seen that the flowers of *Brassica rapa* present important chemical compounds and antioxidant activity that could be used in the industrial activity of different areas.

Keywords: Phytochemical screening, antioxidant activity, cytotoxic capacity, *sativa lacquer* and *Brassica rapa*.

Índice general

Dedicatoria	
Agradecimiento	
Resumen	
Abstrac	
Índice general	
Índice de tablas	
Introducción	1
Capítulo I:Planteamiento del problema	2
1.1. Descripción de la realidad problemática	2
1.2.Formulación del problema	3
1.2.1. Problema general	3
1.2.2. Problemas específicos	3
1.3. 3	
1.3.1. Objetivo general	3
1.3.2. Objetivos específicos	3
1.4. Justificación	4
Capítulo II: Fundamentos teóricos	5
2.1. Antecedentes	5
2.1.1. Nacionales	5
2.1.2. Internacionales	6
2.2. Bases teóricas	7
2.3 Marco conceptual	14
2 4. Hipótesis	15
2.4.1. Hipótesis general	15
2.4.2. Hipótesis específica	15
2.5. Operacionalización de las variables e indicadores	15
Capítulo III : Metodología	16
3.1. Tipo y nivel de investigación	16
3.2. Descripción del método y diseño	16
3.3. Población y muestra	16
3.4. Técnica e instrumentos de recolección de datos	16
3.5. Técnicas de procesamiento y análisis de datos	23
Capítulo IV: Presentación y análisis de resultados	24
4.1. Presentación de resultados	24
4.2. Prueba de hipótesis	31
4.3. Discusión de resultados	38
Capítulo V : Conclusiones y recomendaciones	40
5.1. Conclusiones	40
5.2. Recomendaciones	40
Referencias bibliográficas	41
Anexos	44

Anexo A: Matriz de consistencia	44
Anexo B: Instrumentos	45
Anexo C: Data consolidado de resultados	48
Anexo D: Cronograma del programa experimental	55
Anexo E: Testimonios fotográficos	56
Anexo F: Juicio de expertos	62
Anexo G: Constancia de la clasificación Botánica de <i>Brassica rapa</i>	65

Índice de tablas

Tabla 1. Operacionalización de las variables e indicadores. DPPH para las soluciones del extracto.	15		Tabla 2. Diseño de ensayo	21
Tabla 3. Diseño de ensayo DPPH para las soluciones del Trólox.				21
Tabla 4. Solubilidad del extracto etanólico de Brassica rapa "flor de nabo"				24
Tabla 5. Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de Brassica rapa "flor de nabo"				25
Tabla 6. Resultados del ensayo DPPH del extracto etanólico de las flores de Brassica rapa "flor de nabo"				26
Tabla 7. Resultados del ensayo DPPH al estandar trólox				27
Tabla 8. Tabla de resultados del ensayo de citotoxicidad del extracto etanólico de Brassica rapa "flor de nabo"				28
Tabla 9. Test de Shapiro-Wilk				29
Tabla 10. Prueba de Kruskal-Wallis				30
Tabla 11. Comparaciones múltiples por el T3 de Dunnet				30
Tabla 12. Test de Shapiro-Wilk de los IC ₅₀ del ensayo antioxidante				31
Tabla 13. Test de Levene para muestras independientes				32
Tabla 14. Prueba de normalidad por el test de Shapiro-Wilk				33
Tabla 15. Comparaciones múltiples de Dunnet				34

Índice de figuras

Figura 1. <i>Brassica rapa</i> “ <i>flor de nabo</i> ”.	8
Figura 2. <i>Estructura básica del esqueleto flavonólico.</i>	9
Figura 3. <i>Tipos de flavonoides.</i>	10
Figura 4. <i>Respiración celular</i>	12
Figura 5. <i>Curva de calibración 1 del extracto.</i>	26
Figura 6. <i>Curva de calibración 2 y 3 del extracto.</i>	26
Figura 7. <i>Curva de calibración 1 de trolox</i>	27
Figura 8. <i>Curva de calibración 2 y 3 de trolox.</i>	27
Figura 9. <i>Diagrama de barras de los IC₅₀ de la actividad antioxidante</i>	31
Figura 10. <i>Flor de nabo</i>	52
Figura 11. <i>Tamizaje fitoquímico</i>	52
Figura 12. <i>Tamizaje fitoquímico</i>	52
Figura 13. <i>Ensayo de solubilidad</i>	53
Figura 14. <i>Ensayo de la capacidad citotóxica</i>	54
Figura 15. <i>Semillas de lactuca sativa</i>	55
Figura 16. <i>Crecimiento de semillas</i>	55
Figura 17. <i>Actividad antioxidante de trólox</i>	56
Figura 18. <i>Actividad antioxidante por el método de DPPH.</i>	57

Introducción

Las plantas son importantes para todos los seres vivos porque absorben el CO₂ ya que liberan oxígeno que necesitan y son fuente de agentes terapéuticos que se emplean para la fabricación de medicamentos semisintéticos como materia prima. El uso de extractos de las plantas ha aumentado progresivamente.

El Perú tiene una gran biodiversidad de plantas medicinales con fines curativos utilizados de manera tradicional y empírica, que son fuente de recursos naturales para la investigación, y que poseen propiedades terapéuticas frente a diversas patologías, sobresaliendo sus metabolitos secundarios, compuestos fenólicos, que tienen actividad antioxidante y esta a su vez está relacionada a la inflamación y al tratamiento de otras enfermedades. Evans, Hirsch, y Dushenkov (2006). Dentro de estas plantas se encuentra *Brassica rapa* “flor de nabo”.

La actividad antioxidante tiene capacidad para inhibir la degradación oxidativa, de tal forma un antioxidante actúa gracias a su capacidad para evitar o prevenir muchas enfermedades. En la actualidad el estudio de compuestos fenólicos y flavonoides han adquirido gran importancia ya que la mayoría de ellos cuidan el daño producido por los radicales libres. La especie de *Brassica rapa* subsp. *campestris* (L.) Clapham “Flor de nabo” es una planta silvestre que se encuentra en los campos de cultivo de cebada y papa libremente, posee abundante agua y escaso aporte calórico, pero tiene alto contenido de fibra. También proporciona buena cantidad de vitamina C y B. El objetivo de la presente investigación, es determinar a través del screening fitoquímico, los grupos de compuestos fenólicos y flavonoides asociados a la capacidad antioxidante y a la actividad citotóxica de los extractos etanólicos de la parte floral de la especie *Brassica rapa*, con el fin de su aprovechamiento en la prevención y manejo de enfermedades. Por tal motivo se realizó esta investigación con la finalidad de determinar su actividad antioxidante y citotóxica

Capítulo I

Planteamiento del problema

1.1. Descripción de la realidad problemática

El estrés oxidativo es un desequilibrio entre la producción celular de especies reactivas de oxígeno y los mecanismos antioxidantes que las contrarrestan. El cerebro con su alto consumo de oxígeno y un entorno rico en lípidos se considera altamente susceptible al estrés oxidativo o los desequilibrios redox. El estrés oxidativo está implicado en varios trastornos mentales, como depresión, trastornos de ansiedad, esquizofrenia y trastorno bipolar. Salim (2014).

Los antioxidantes son sustancias que pueden detener o prevenir el daño a las células afectadas por los radicales libres, moléculas inestables que el organismo produce como consecuencia a las presiones ambientales y de otros. Es conocido como “carroñeros de RL”. Las fuentes de antioxidantes pueden ser artificiales como naturales. Ciertos alimentos de origen vegetal son ricos en antioxidantes, y fitonutrientes.

Las plantas medicinales son la fuente más rica de sustancias o compuestos empleados en los sistemas tradicionales de medicina, popular, moderna, nutracéuticos, suplementos alimenticios, intermedios farmacéuticos, y entidades químicas para drogas sintéticas. Gonzales y lazarte (2016).

Con el beneficio de que dichas plantas con sus principios activos, presentan mínimos efectos colaterales indeseados durante su uso terapéutico. Escalona, *et al.* (2015).

En el Perú los pueblos indígenas ancestrales son poseedores de un incalculable acervo de conocimientos sobre plantas medicinales, el cual ha sido transmitido a través de varias generaciones, lo que impulsa que el estudio de estas plantas se convierte en una necesidad orientada a salvaguardar y proteger dichos saberes. Mamani (2017), Salaverry y Cabrera (2014).

Brassica rapa se caracteriza por el contenido elevado de macro y micronutrientes, como también por un alto contenido de glucosinolatos. Arias (2009). Teniendo en consideración que las plantas son fuentes de compuestos antioxidantes, el presente trabajo de investigación busca determinar la composición de extracto etanólico de *B. rapa* y evaluar la actividad antioxidante y citotóxica, con la finalidad de aportar en su estudio y posterior actividad farmacológica. Sánchez (2013).

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Problema general

¿Cuál es la actividad antioxidante del extracto etanólico de las flores de *Brassica rapa* subsp. *campestris* (L.) Clapham “flor de nabo”?

1.2.2. Problemas específicos

¿Cuál es la capacidad antioxidante del extracto etanólico de las flores de *Brassica rapa* subsp. *campestris* (L.) Clapham “flor de nabo” en diferentes concentraciones?

¿Cuál es la capacidad antioxidante del extracto etanólico de las flores de *Brassica rapa* subsp. *campestris* (L.) Clapham “flor de nabo” frente a trólox?

¿Cuál es la capacidad citotóxica del extracto etanólico de las flores de *Brassica rapa* subsp. *campestris* (L.) Clapham “flor de nabo” de inhibición del crecimiento en semillas de lechuga?

1.3. Objetivos de la investigación

1.3.1. Objetivo general

Evaluar la actividad antioxidante del extracto etanólico de las flores de *Brassica rapa* subsp. *campestris* (L.) Clapham “flor de nabo”.

1.3.2. Objetivos específicos

Evaluar la actividad antioxidante del extracto etanólico de las flores de *Brassica rapa* subsp. *campestris* (L.) Clapham “flor de nabo” en diferentes concentraciones.

Evaluar la actividad antioxidante del extracto etanólico de las flores de *Brassica rapa* subsp. *campestris* (L.) Clapham “flor de nabo” frente a trólox.

Determinar la actividad citotóxica del extracto etanólico de las flores de *Brassica rapa* subsp. *campestris* (L.) Clapham “flor de nabo” de inhibición del crecimiento en semillas de lechuga.

1.4. Justificación

En la naturaleza, especialmente en los alimentos y las plantas medicinales se distribuyen ampliamente los antioxidantes. Estos antioxidantes de origen natural, conformados especialmente por polifenoles y carotenoides, presentan una variedad de efectos biológicos,

como propiedades antiinflamatorias, antienvjecimiento, antiateroscleróticas y anticancerígenas.

Los productos naturales han sido y siguen siendo una gran fuente de especialidades farmacéuticas, desde el año 1981-2014 el 51% de las entidades químicas aprobadas como fármacos provienen directa o indirectamente de fuentes naturales, ya sea porque son moléculas naturales o derivados semisintéticos de las mismas, o porque sus estructuras son miméticas de las naturales y/o contienen un farmacóforo originario de un producto natural. Newman y Cragg (2016).

La medicina tradicional ha sido una fuente de muchos medicamentos importantes como artemisina, galantamina, vinblastina, paclitaxel y muchos otros. Balunas y Kinghorn (2005). Hasta el año 2014 en Estados Unidos ya se comercializaban cuatro extractos estándares como medicamentos aprobados por la *Food and Drug Administration*. Newman y Cragg (2016).

Se sabe que *Brassica rapa* es una especie de cultivo de importancia económica. Se cultiva en todo el mundo como cultivos oleaginosos y vegetales. Pertenece al género *Brassica*, tribu *Brassiceae* de la familia *Brassicaceae*. Vilar (2016).

Su potencial antioxidante ha sido evaluado, descubriéndose que el extracto acuoso de las raíces y partes aéreas poseen una considerable capacidad antioxidante para la eliminación de radicales DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo).

La presente investigación aportará información relevante acerca de las bondades medicinales de las estructuras de la planta que han sido poco estudiadas, lo que afianzará su uso especialmente por las poblaciones más necesitadas, generando además futuras investigaciones en el campo de los medicamentos naturales.

Capítulo II: Fundamentos teóricos

2.1. Antecedentes

2.1.1. Nacionales

Matos, et al. (2010). En Arequipa, investigaron las propiedades antioxidantes en la especie *Corryocactus brevistylus* (sancayo), relacionando dicha actividad con el contenido de fenoles. Los resultados establecieron correlación entre la capacidad antioxidante y el contenido de fenoles.

Aparcana y Villareal (2014). En el Perú, valoraron y compararon el contenido de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu y su capacidad antioxidante en el aguaymanto (extracto etanólico), provenientes de Ancash, Cajamarca, Junín y Huánuco, mediante los métodos de ABTS (ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico) y DPPH (1,1'-difeníl-2-picril-hidrazilo). Los frutos provenientes de Huánuco presentaron una mejor respuesta antioxidante en comparación a los de Ancash, Junín y Cajamarca, concluyéndose por lo tanto que podrían ser beneficiosos para la salud.

Garayar y Chávez (2016). En Ancash, evaluaron en las hojas, tallos y flores de la planta *Loricaria ferruginea* la capacidad antiradicalaria a través del método de DPPH. Se observó una mayor capacidad antioxidante en la fracción de acetato de etilo en donde se evidenció la presencia de flavonoides y catequinas.

Villavicencio (2016). En Pasco, se evaluó el contenido de capsaicinoides (capsaicina y dihidrocapsaicina) fue determinado vía HPLC y el contenido de polifenoles totales por folin-ciocalteau en las variedades rojo y amarillo de *C. pubescens*. Los resultados mostraron que el rocoto amarillo presenta mayor contenido de polifenoles totales y mayor actividad antioxidante.

Figuroa y Molliendo (2017). En Lima, evaluaron la capacidad antioxidante de *Hylocereus undatus* "pitahaya" y sus fitoconstituyentes, usaron el método DPPH (Brand-wiliams W). Se concluyó que la parte comestible de *H. undatus* "pitahaya" presentó capacidad antioxidante, identificando flavonoides, azúcares reductores, compuestos fenólicos, alcaloides y esteroides.

2.1.2. Internacionales

Armesto, *et al.* (2012). En España, investigaron *Brassica spp.* Caracterizada por los componentes bioactivos como vitamina C, compuestos fenólicos, glucosinolatos, carotenoides, etc. Concluyendo que presenta mayor capacidad antioxidante y el contenido en fenoles en hojas y tallo.

Soengas, *et al.* (2012). En España, se estudiaron la actividad antioxidante de seis cultivos de *Brassica* como col rizada, col, nabicol, brócoli, col tronchuda, con métodos de DPPH y FRAP. La col rizada y la coliflor presentaron mayor capacidad antioxidante. La actividad antioxidante de los cultivos de *Brassica* se relacionó con diferencias en la composición fenólica y los contenidos fenólicos totales.

Sotelo, *et al.* (2014). En Estados Unidos, estudiaron métodos de transferencia de electrones, contenido fenólico, antocianina y carotenoide en *B. oleracea*. Fueron detectados 19 QTL (locus de un carácter cuantitativo) para todos los rasgos. Tres regiones *genómicas* determinaron la variación para más de un método. Después del análisis sintético con *A. thaliana*, se proponen varios genes candidatos relacionados con la biosíntesis de fenilpropanoide para los QTL encontrados.

Talreja, *et al.* (2015). En La India., valoraron la eficacia del extracto de *Brassica oleracea* como antioxidante hepatoprotector. Se encontró que la actividad antioxidante en el extracto es de 1.295 equivalentes al extracto de ácido ascórbico/gm y 14.77 equivalente al extracto de ácido ascórbico/gm macerado en frío. El análisis por HPLC ha determinado la presencia de gluconapina y glucobrassicina que son excelentes antioxidantes.

Upadhyay, *et al.* (2016). En Estados Unidos, evaluaron los fitoquímicos en la col que activan y utilizan los medicamentos antioxidantes. Los extractos metanólicos de las especies como *B. oleracea* L. var. Itálica (brócoli), *B. oleracea* L. var. Botrytis (coliflor), *B. oleracea* L. var. Capitata (col verde) y *B. oleracea* L. var. Capitata f. Rubra (col roja), se analizaron su capacidad antioxidante. Determinaron la presencia de flavonoides y compuestos fenólicos confirmando la capacidad antioxidante *in vitro*.

Seong, *et al.* (2016). En China, se evaluó la actividad antioxidante del extracto de las hojas de *Brassica rapa* mediante el ensayo DPPH, FRAP, TEAC y ORAC. Los ácidos fenólicos y los flavonoides se separaron e identificaron mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) y cromatografía líquida/espectrometría de masas (LC/MS). La hoja externa tuvo la actividad antioxidante más fuerte con el contenido máximo de antioxidantes, seguida de las hojas media e interna. El análisis del componente principal

(PCA) reveló que la hoja externa está positivamente relacionada con el contenido de ácido cafeico, ácido p-cumarico, ácido ferúlico y miricetina, mientras que las hojas media e interna están negativamente relacionadas con el contenido de ácido sináptico.

Wang, *et al.* (2016). En China, se investigó la optimización de la extracción, la caracterización y la actividad antioxidante in vitro de los polisacáridos de la raíz de *B. rapa* L. (BRP). Las condiciones óptimas de extracción con un rendimiento de extracción de $21,48 \pm 0,41\%$ para BRP bruto se obtuvieron de la siguiente manera: temperatura de extracción 93°C , tiempo de extracción 4,3 h y relación de disolvente de extracción (agua) a materia prima 75 ml/g. El BRP bruto se purificó. El análisis de composición de monosacáridos indicó que BRP-1-1 estaba compuesto de manosa, ramnosa, glucosa, galactosa y arabinosa, BRP-2-1 estaba compuesto de ramnosa, ácido galacturónico, galactosa y arabinosa, y BRP-2-2 estaba compuesto de ramnosa y ácido galacturónico en una relación molar de 1.27: 54.92. Además, el BRP bruto exhibió una actividad antioxidante relativamente mayor in vitro que las fracciones purificadas; por lo tanto, podría usarse como antioxidante natural en alimentos funcionales o medicamentos.

Mahmud, *et al.* (2019). En la India, Se determinó la actividad antioxidante de *Brassica juncea* L.). La aplicación exógena de EDTA a las plántulas tratadas con Cd reduce las lesiones oxidativas inducidas por Cd al restringir la absorción de Cd, aumentar la concentración de NPT y regular al alza la mayoría de los componentes de sus sistemas de defensa antioxidante y glicoxalasa.

2.2. Bases teóricas

Flor de nabo (*Brassica rapa*)

Las plantas de *B. rapa* son hierbas con una diversidad de hábitos de crecimiento. Las plantas generalmente el tallo es robusto y con una altura que puede sobrepasar 1.5 m, las hojas son de color verde claro, lobuladas o entera y con borde dentado, dispuestas alternativamente, y a menudo son cerosas. Muchas especies son bianuales. Las flores de color amarillo, cuatro pétalos generalmente nacen en racimos y dan frutos secos conocidos como siliques o silicles, dependiendo de su longitud. Arias (2009) y Gómez (2000).

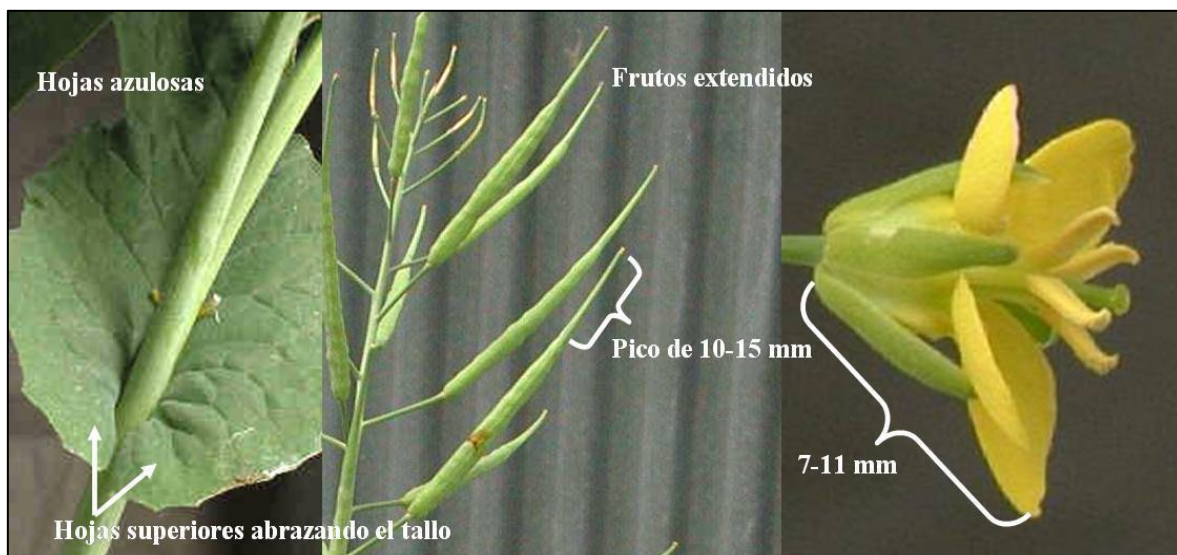


Figura 1. *Brassica rapa* "flor de nabo". Morfología de la planta y sus partes.
Fuente: Conabio (2019)

Clasificación taxonomía

División	:	Magnoliophyta
Clase	:	Magnoliopsida
Orden	:	Capparales
Familia	:	Brassicaceae
Género	:	<i>Brassica</i>
Especie	:	<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>campestris</i> (L.) Clapham
Nombre común: Flor de nabo		

□ Composición química

Principalmente se han determinado compuestos fenólicos como el ácido sináptico, ferúlico, cafeico y p-cumárico; kaempferol y ácidos orgánicos como el aconítico, cítrico, cetoglutárico, málico, shikímico y furámico. Conabio (2000).

Polifenoles

Los Polifenoles son compuestos bio-sintetizados por las plantas (flores, hojas, tallos y frutos). En la naturaleza existen una amplia variedad de compuestos que presentan una estructura molecular caracterizada por la presencia de uno o varios anillos fenólicos. Estos compuestos son denominados polifenoles (PF). Algunos de estos compuestos son indispensables para las funciones fisiológicas vegetales y otros en funciones de defensa ante situaciones de estrés. Quiñones, *et al.* (2012).

Son conocidos por sus propiedades antioxidantes además de otras actividades biológicas beneficiosas para la salud, se ha demostrado que los polifenoles poseen importante estructura química para retener radicales libres, la actividad antioxidante aporta una mayor cantidad, que las vitaminas C y E. Cartaya y Reinaldo (2001).

Los Polifenoles son materia de interés de investigadores y grandes industrias, lo que ha llevado a realizar diversos estudios con el fin de encontrar PF con propiedades farmacológicas de interés dentro de las que se encuentra el carácter antioxidante, importante para combatir las enfermedades por el estrés oxidativo. Adicionalmente a la capacidad antioxidante de estos compuestos, se les atribuye propiedades antiinflamatorias, antialérgicas, antitrombóticas, antimicrobianas, antineoplásicas y anticancerígena. Valencia, *et al.* (2017).

Flavonoides

Son compuestos ampliamente diseminados y se caracterizan por tener dos anillos aromáticos bencénicos unidos por tres átomos de carbono, con estructura $C_6-C_3-C_6$, que pueden o no formar el tercer anillo y de forma universal en las plantas vasculares, en forma de glicósidos. Fernández, *et al.* (2007).

En el género *Brassica* se han identificado quercetina-3-diglucósidos-7-diglucósido, quercetina-7-glucósido, kaempferol-7-glucósido, kaempferol-3-diglucósido y kaempferol-3-diglucósido. cartaya y Reinaldo (2001).

Son denominados estos anillos como A, B y C; los átomos de carbono individuales son referidos por el sistema numérico, el cual emplea números ordinarios para los anillos A y C, y para el anillo B números primos. Cartaya y Reinaldo (2001).

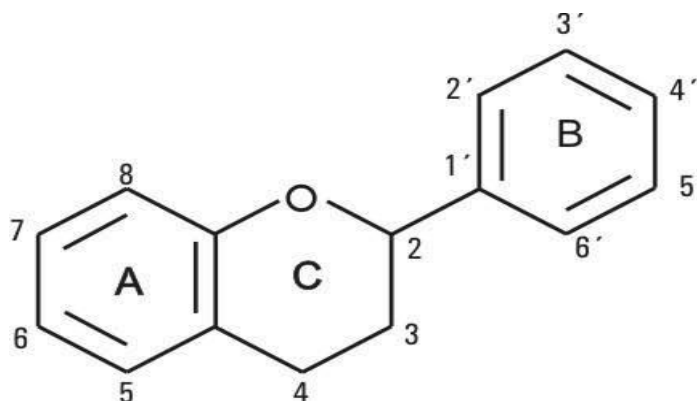


Figura 2. Estructura básica del esqueleto flavonólico. Anillos de átomos de carbono. Fuente: Lock (2016)

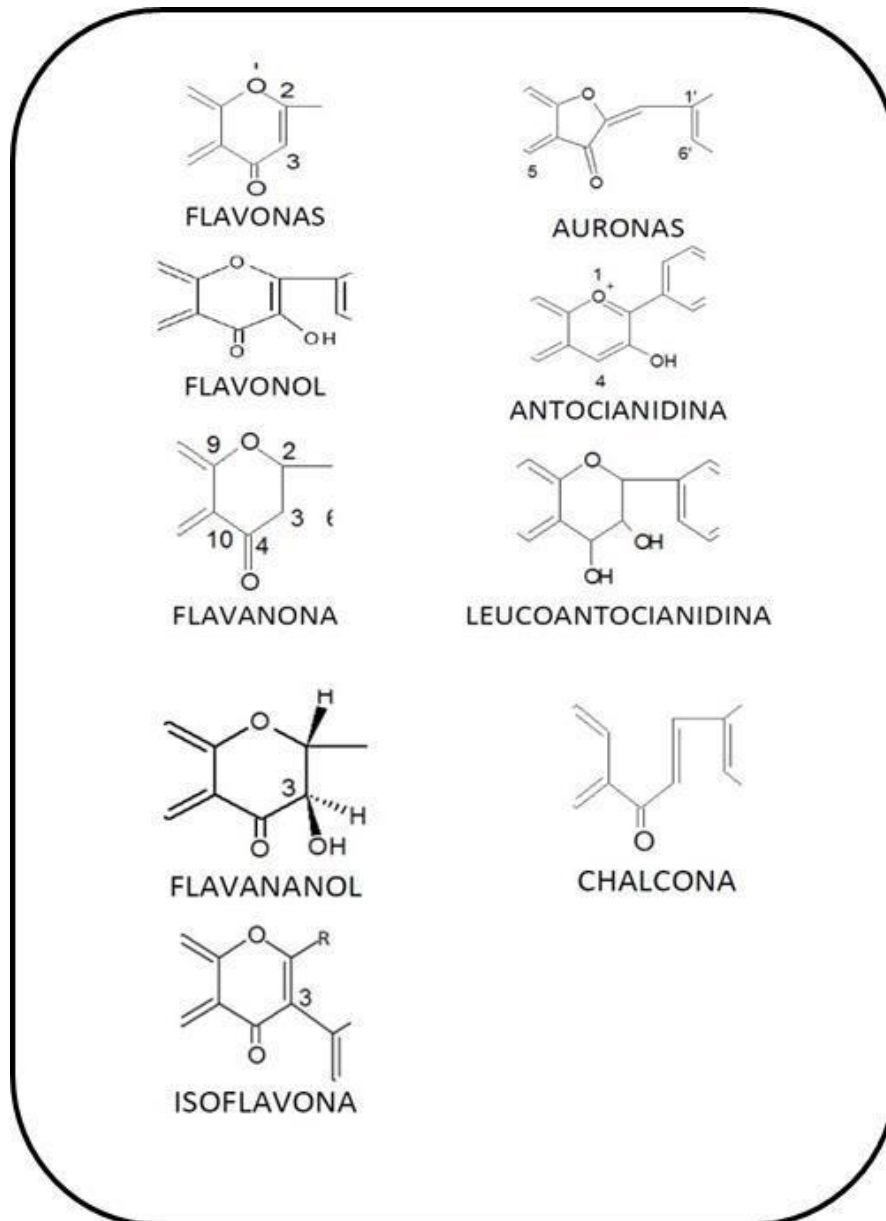
Clasificación:

Los flavonoides de acuerdo con

son clasificados la sustitución del anillo C. Es importante la posición del anillo B y el estado de oxidación del anillo heterocíclico (Figura 4).

Los diferentes tipos de flavonoides están en relación a una ruta biosintética, que incorpora precursores de las rutas del acetato malonato y del shiquimato.

Generalmente el azúcar que está presente en los flavonoides es la glucosa, también lo podemos encontrar como ramnosa, xilosa y galactosa. Lock (2016).



flavonoides. Estructura central y subgrupos de los flavonoides.
Fuente: Cartaya y Reynaldo (2001)

Figura 3.
Tipos de

Funciones y propiedades:

Las funciones de los flavonoides se pueden resumir en tres grupos: papel de señal química, defensa y efecto sobre las enzimas.

Los flavonoides ejercen funciones importantes en las plantas principalmente como pigmentos de colores amarillos en pétalos de flores para atraer a diversos insectos polinizadores, también implicados en la filtración de los rayos UV, microorganismos (bacterias y hongos) protegiendo las plantas. A nivel celular cumplen funciones de reguladores del ciclo celular. Cartaya y Reinaldo (2001).

Aplicaciones terapéuticas de los flavonoides

El uso terapéutico de los flavonoides ha sido usado empíricamente en el tratamiento de enfermedades, ya que esta práctica es antigua que la ciencia de estos compuestos químicos. Son conocidos los efectos farmacológicos con el descubrimiento de nuevos flavonoides de origen vegetal.

Dependiendo de su estructura química los flavonoides poseen variedades de propiedad terapéutica como las que mencionamos. Lock (2016).

- Acción antiinflamatoria (taxifolina y bavaquinina)
- Acción antialérgica (baicaleina y sales derivados de la cromona)
- Antihepatotóxico (la silimarina)
- Antiesclerótica y antiedematosa (rutina)
- Contra la arterosclerosis
- Contra la diabetes mellitus (quercetina)
- Expectorante
- Contra la úlcera al estómago y el duodeno
- Antimicrobiana (derivados de catequina)
- Acción diurética

Capacidad antioxidante

Es la capacidad de una sustancia para inhibir la degradación oxidativa, de tal forma que un antioxidante actúa principalmente a nivel de los orbitales desapareados transfiriendo electrones que permiten restaurar a los electrones perdidos, produciendo en la molécula la pérdida de su poder pro oxidante razón por la cual se les conoce como antioxidante. Pallardó (2017).

Usos terapéuticos

Principalmente se le asocian beneficios como diurético, expectorante, purificador de la sangre, emoliente, antipirético, alcalinizante, laxante leve, anticanceroso y en la eliminación de toxinas. Medlineplus (2019).

Antioxidantes

Es una molécula lo suficientemente estable como para donar un electrón a un RL y neutralizarlo, disminuyendo así su capacidad de dañar (a nivel celular). Algunos como el ubiquinol el glutatión y el ácido úrico, se producen durante el metabolismo normal en el organismo. Pallardó (2017).

Son sustancias presentes en el cuerpo o en los alimentos a bajas concentraciones, que controlan o inhiben la oxidación, siendo que los principales entre los micronutrientes (vitaminas) son la vitamina E (α -tocoferol), la vitamina C (ácido ascórbico) y el caroteno B; los cuales el organismo no los puede fabricar, por lo tanto deben ser suministrados con la dieta (Figura 6). Shahidi y Ambigaipalan (2018).

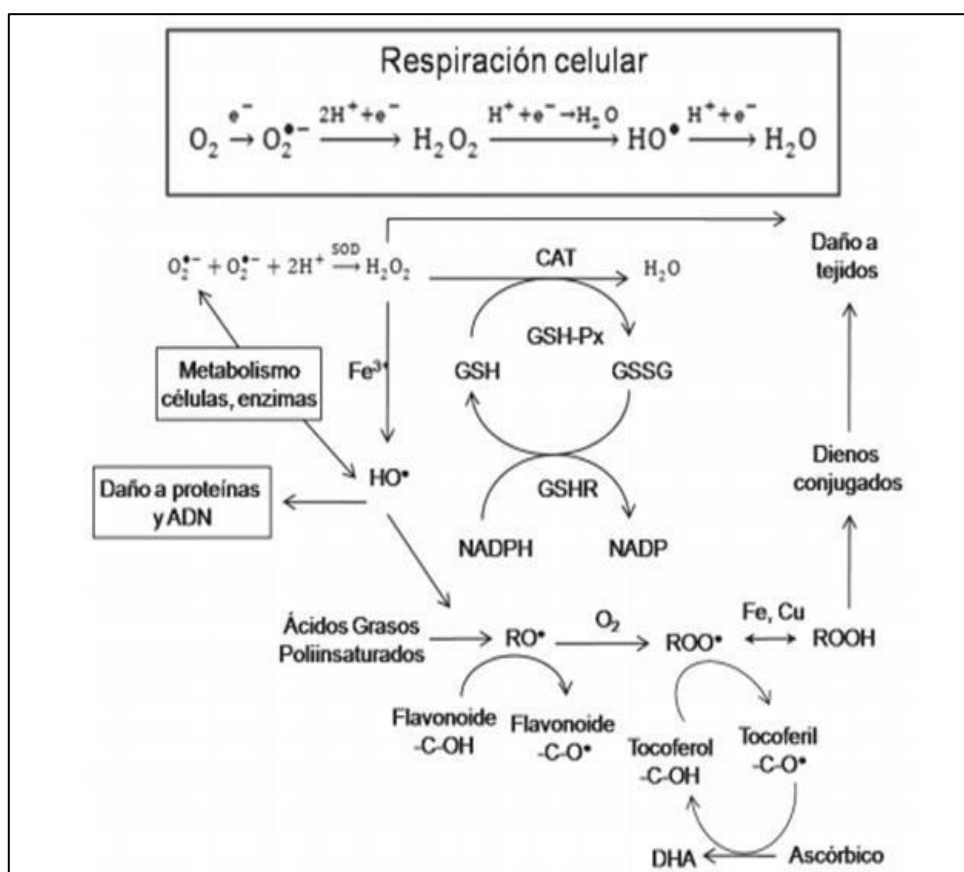


Figura 4. *Respiración celular*. Resumen de las vías de producción de RL y los principales sistemas oxidantes.
Fuente: Cartaya y Reynaldo (2001)

El cuerpo también produce algunos antioxidantes, conocidos como antioxidantes endógenos. Los antioxidantes que previenen del exterior del cuerpo se denominan exógenos. Londoño (2012). Por otra parte, su uso como suplementos – en altas dosis – mayormente puede estar relacionado con problemas para la salud. El beta-caroteno puede elevar el riesgo de cáncer de pulmón. Medicalnewtoday (2018).

El consumo de antioxidantes está asociado con la prevención de enfermedades degenerativas ocasionados por el estrés oxidativo como: Aterosclerosis, Parkinson,

Alzhéimer o Cáncer, ya que son responsables del mecanismo de defensa del organismo frente a patologías. Moharram y Youssef (2014).

Pueden clasificarse como antioxidantes primarios y secundarios, los primarios son los que al reaccionar rompen la cadena con los radicales lipídicos, que los convierte en productos más estables; y los secundarios cumplen la función de retener los radicales libres. Moharram y Youssef (2014).

Los antioxidantes alimentarios se dividen en varias clases como los polifenoles, los ácido fenólicos y los flavonoides que es el grupo más grande. La otra clase de antioxidante dietético integra carotenoides, vitaminas y minerales. Bunaciu, *et al.* (2015).

Radicales libres y estrés oxidativo

Cuando se presenta un desequilibrio entre los radicales libres (RL) y los antioxidantes, acontece el estrés oxidativo (EO). Estos RL oxígeno con un número desigual de electrones, lo que les permite reaccionar con gran facilidad con otras moléculas, proceso denominado oxidación, que pueden ser beneficiosos o perjudiciales. Gonzales y Sabana (2015). Esta oxidación ocurre en las células siendo un proceso normal e indispensable. Cuando los RL cumplen una correcta función, estos pueden ayudar a combatir patógenos conducentes a infecciones. Elejalde (2001).

Los RL son derivados del metabolismo esencial, tanto en el organismo como provenientes de fuentes externas por ejemplo por exposición (rayos X, ozono, cigarrillos, químicos industriales y contaminación ambiental). Su formación se produce continuamente a nivel celular producto de reacciones enzimáticas y no enzimáticas. Las enzimáticas incluyen la fagocitosis, síntesis de prostaglandinas y el sistema del citocromo P-450. Las no enzimáticas son producto de reacciones del oxígeno con compuestos orgánicos, y también por reacciones ionizantes. Viada, *et al.* (2017).

Es de esperarse que las reacciones de los RL generen cambios adversos progresivos, acumulables con el paso del tiempo en todo el cuerpo. Lo que se considera común. Sin embargo, a este patrón esperado se le superpone la genética y las diferencias ambientales, estos factores modulan el daño por RL, ocasionando alteraciones en la relación estructura-función a nivel celular asociada a fisiopatología primaria con la consecuente aparición de enfermedades características a determinadas edades por factores genéticos. Corrales y Muñoz (2012).

Recientemente se ha visto que el EO afecta a los sistemas de control epigenético y que las enzimas de regulación de este sistema, también pueden regular el EO. Resaltándose que leucemias, diabetes tipo II y gran número de enfermedades denominadas como raras, (síndrome del X frágil o el síndrome de Rett), son debidas a alteraciones epigenéticas. Venéreo (2002).

2.3. Marco conceptual

- Capacidad antioxidante: es la actividad biológica responsable para inhibir la degradación oxidativa previniendo ciertas enfermedades.
- Tamizaje fitoquímico: es una de las etapas iniciales de la investigación fitoquímica, permite identificar cualitativamente los compuestos químicos presentes en la planta.
- Antioxidante: Son sustancias cuya acción inhiben la oxidación de los radicales libres que al disminuir pueden provocar daño celular, envejecimiento y algún tipo de cáncer.
- DPPH: Es una abreviatura para el compuesto químico 2,2-difenil-1-picrilhidracilo, es un polvo cristalino de color oscuro conformado por moléculas de radicales libres que se decolora ante la reacción de un radical oxidante.
- Flavonoides: Son pigmentos casi universales en los vegetales, mayormente hidrosolubles, y son responsables de la coloración de las flores, frutos y a veces de las hojas.
- Polifenoles: Con compuestos bio-sintetizados por las plantas, formado por un grupo hidroxilo unido a uno o varios anillos bencénicos, que no solo se caracteriza por ser antioxidantes.
- Actividad Citotóxica: Es la acción de compuestos en estructuras y fisiología que es vital para la célula, lo que ocasiona alteraciones en el metabolismo o estructurales.

2 4. Hipótesis

2.4.1. Hipótesis general

El extracto etanólico de las flores de *Brassica rapa* subsp. *campestris* (L.) Clapham “flor de nabo” presenta actividad antioxidante.

2.4.2. Hipótesis específica

El extracto etanólico de las flores de *Brassica rapa* subsp. *campestris* (L.) Clapham “flor de nabo” presenta actividad antioxidante en diferentes concentraciones.

El extracto etanólico de las flores de *Brassica rapa* subsp. *campestris* (L.) Clapham “flor de nabo” presenta mejor actividad antioxidante que trólox.

El extracto etanólico de las flores de *Brassica rapa* subsp. *campestris* (L.) Clapham “flor de nabo” presenta actividad citotóxica de inhibición del crecimiento en semillas de lechuga.

2.5. Operacionalización de las variables e indicadores

Tabla 1. *Operacionalización de las variables e indicadores.*

Variable independiente	Defnición operacional	Dimensión	Indicadores
<i>Brassica rapa</i> subsp. <i>Campestris</i> (L.) Clapham "flor de nabo"	Planta silvestre, anual, ramificado, erecta de la familia Brassicaceae.	Extracto de flores secas pulverizadas.	concentración masa / volumen expresado en g / ml.
Variable dependiente	Definición operacional	Dimensión	Indicadores
Actividad antioxidante	Inhibición de las especies reactivas del oxígeno (radicales libres)	Capacidad antioxidante (antiradicalaria) DPPH	(%) inhibición
Actividad citotóxica	Inhibición del crecimiento de las radículas e hipocotilos de las semillas de lechuga	Capacidad citotóxica	(%) inhibición

Variables, definición operacional, dimensión e indicadores.

Fuente: Elaboración propia.

Capítulo III

Metodología

3.1. Tipo y nivel de investigación

- Investigación experimental: está enmarcada en condiciones controladas de laboratorio de base prospectiva ya que se generaron datos como resultado de los análisis que se realizaron.
- Aplicada: busca resolver los problemas al estrés oxidativo mediante la actividad antioxidante.
- Transversal: se realizaron en concordancia a un cronograma preestablecido, en un solo corte.

3.2. Descripción del método y diseño

La investigación corresponde al diseño experimental, transversal y prospectivo.

Las pruebas se llevaron a cabo en los diferentes laboratorios del Instituto de Investigación de Bioquímica y Biología Molecular de la Universidad Nacional Agraria La Molina, con el asesoramiento de investigadores en bioquímica vegetal especializados en la extracción y cuantificación de metabolitos secundarios.

3.3. Población y muestra

Población: Conformado por las Flores de *Brassica rapa* subsp. *campestris* (L.) Clapham “flor de nabo”.

Muestra: Extracto etanólico de las flores de *Brassica rapa* subsp. *campestris* (L.) Clapham “flor de nabo”.

3.4. Técnica e instrumentos de recolección de datos

Para la recolección de la información se usó una ficha pre-elaborada en donde se anotaron los resultados de los análisis, toma de datos con instrumentos analíticos de medición de manera sistemática y confiable, respecto a los resultados de los experimentos realizados durante el proceso de investigación.

✓ Tamizaje fitoquímico

Fundamento: Es un método cualitativo que nos permite identificar los grupos de metabolitos secundarios presentes en los extractos de las plantas, a través de la observación y diferenciación de precipitados, turbidez o virajes de color. Dentro de los principales grupos de metabolitos secundarios encontramos a los flavonoides, taninos, alcaloides,

saponinas, esteroides, antraquinonas, cardiotónicos, compuestos fenólicos, entre otros. Las fracciones y reacciones se analizaron según la metodología propuesta por Lock (2016).

Recolección de la Muestra:

Las flores de la especie *Brassica rapa* subsp. *campestris* (L.) “flor de nabo” se recolectaron en el distrito de Espinar, provincia de Espinar, departamento del Cusco, a una altitud de 3800 msnm. El lugar de colecta de la planta se caracteriza por contar con campos de cultivo de avena, papa, cebada entre otras variedades de cultivo. La colecta se realizó en estado de floración en el horario de 7.00 a 8.00 am durante los meses de febrero, marzo y abril del 2019.

Secado de la muestra:

Las flores de *B. rapa* fueron seleccionadas y secadas a temperatura ambiente bajo sombra por un aproximado de 04 días, luego se completó el secado en estufa de convección a 40°C durante 48 horas y hasta obtener un peso constante. Posteriormente las flores se pulverizaron en licuadora hasta la formación de harina de flores, las cuales se guardaron en frascos ámbar con tapa hermética, a temperatura y humedad controlada y en oscuridad, para su mejor conservación.

Obtención del extracto etanólico:

Se pesaron 10 gramos de la muestra pulverizada y se colocó dentro de un frasco color ámbar de 250ml. Se agregó 100ml de etanol al 96% al frasco que contenía la muestra, cubriendo el frasco con papel aluminio, para luego dejar macerando por 07 días, agitando la muestra cada día. Cumpliendo los días de maceración, se filtró el extracto resultante con ayuda de un embudo y papel filtro Whatman N° 04, se lavó las paredes del frasco con etanol (10-20ml) para arrastrar la muestra sobrante. Seguidamente se llevó a un volumen final de 100ml añadiendo etanol. De este volumen, se reservaron 50ml en un frasco ámbar cubriendo con papel aluminio y se almacenó en refrigeración. Se reservaron 5 ml del extracto crudo (Fracción A) para las pruebas de gelatina. FeCl_3 , ninhidrina y Shinoda y los 45ml restantes se transfirieron a un matraz de 250ml y se llevó a la estufa de vacío a 40°C para su secado.

Método

Fracción A: Se practicaron las siguientes reacciones:

- Reacción con Gelatina (Determinación de taninos):

De la fracción a ensayar se coloca en un tubo de ensayo 5 gotas de reactivo de gelatina y se agrega 5 gotas de NaCl al 5%. Dejar dejó reposando por unos minutos. Si se observa la aparición de una precipitación y/o turbidez, el resultado es positivo.

- **Reacción de FeCl₃ (Determinación de taninos):**

De la fracción a ensayar se colocó en un tubo de ensayo 2 gotas del reactivo y compararlo con el control, seguidamente observar la reacción en 2 segundos. Resulta positivo la aparición de verde oscuro, que añadiendo más gotas del reactivo no cambia.

- **Reacción de Ninhidrina (Determinación de aminoácidos):**

A la muestra a ensayar añadir 2 gotas del reactivo de ninhidrina al 1%, luego llevar a baño maría por unos minutos. Resulta positiva la coloración azul violeta.

- **Reacción de Shinoda (Determinación de flavonoides):**

De la fracción a ensayar se añadió una lima de Mg metálico, luego se agregó 5 gotas del reactivo de Shinoda y 5 gotas de HCl concentrado. La coloración naranja con formación de espuma el resultado es positivo.

Fracción Insoluble y solución ácida:

La fracción etanólica del extracto crudo fue secada a 40 °C hasta evaporar todo el etanol, después se resuspendió la muestra con 15ml de HCl al 1 %. y se llevó a estufa a 50 °C por un tiempo de 90 minutos. Cumplido el tiempo se filtró la muestra. El proceso se repite nuevamente. El filtrado pertenece a la solución ácida y lo restante que quedó en el papel filtro es la solución insoluble.

Fracción Insoluble:

Con agua destilada se lavó el papel filtro y se secó en la estufa a 45 °C por 48 horas, conservándose en un desecador hasta su uso. En un beacker colocar el papel de filtro con la solución insoluble y adicionar 10 ml cloroformo, para disolver los solutos adheridos., agitando constantemente. Finalmente se calienta en la plancha, evitando la evaporación.

Con ayuda de un embudo y papel Whatman se filtró la solución y se extrajo los residuos de agua con sales de sulfato sódico. Se adicionó 5 ml con cloroformo como volumen final.

Esta es la fracción B.

Fracción B: Se realizaron las siguientes reacciones:

- **Reacción de Liebermann-Burchard (Determinación de esteroides y/o triterpenos):**

Se mezclaron 1 ml de anhídrido acético y 1 ml de cloroformo. Luego se agrega 2 ml de la fracción a ensayar posteriormente por las paredes del tubo se deslizaron gotas de H_2SO_4 previamente enfriado a 0 °C. La coloración del anillo verde petróleo resulta positiva para esteroides.

- **Reacción de Borntranger (Determinación de antraquinonas):**

De las fracciones a ensayar se colocó 5 gotas en un tubo de ensayo y se agregó 5 ml de NaOH al 5 %, se agita y se espera la separación de las fases. La formación del anillo de color rojizo en la interfase, evidencia la presencia de antraquinonas.

De las fracciones Tratamiento de la solución ácida:

Medir el pH de la solución ácida, se agregó amoníaco para alcalinizar la solución a un pH 9. La solución alcalina se llevó a una pera de decantación agregando cloroformo 25 ml. Agitándose y dejar reposar hasta que forme las fases. El extracto alcalinizado en la fase superior y la clorofórmica es inferior. Repetir el primer paso reemplazando el cloroformo por el triclorometano. Conservando las fases en cada envase correspondiente.

Tratamiento de la Fase Clorofórmica:

La fase clorofórmica se agregó a la pera con 15 ml de agua destilada, agitándose y dejando reposar hasta formar una capa intermedia.

Se decantó la pera conservando la fase acuosa para añadir al matraz de fase acuosa, lavando con 15 ml de agua siguiendo el proceso anterior. Con sulfato de sodio anhidro se secó la fase clorofórmica y se filtró.

Fracción C:

Fracción Clorofórmica:

- **Reacción de Kedde (Determinación de cardenólidos):**

En un tubo de ensayo se agregó 5 ml del reactivo Kedde y unas gotas de KOH 5,7 %. La presencia del anillo rosado en la interfase y rosado claro en la fase superior.

- **Liebermann-Burchard (Determinación de esteroides):**

Por las paredes del tubo de ensayo agregar 5 gotas del reactivo de Liebermann-Burchard más 10 gotas de ácido acético. La formación del anillo de color verde, reacción positiva.

- **Reactivo de Mayer (Determinación de alcaloides):**

En un tubo de ensayo adicionar 1 ml de solución concentrada y se agregó unas gotas de reactivo Mayer. La formación de turbidez lechosa la reacción es positiva.

- **Dragendorff (Determinación de alcaloides):**

En el matraz que contiene los sólidos de la fracción D añadir HCl 1%. Con una bagueta se agitó y con un capilar, recoger esta solución en el interior. De esta solución se concentró gota a gota en un papel filtro colocándolo en un soporte de cartón, agregar el reactivo Dragendorff. La formación de un anillo marrón alrededor de la concentración de la muestra, indica positivo.

Tratamiento de la Fase Acuosa:

Saturar con sulfato de sodio anhídrido, filtrar y pasar a una pera de decantación realizando las extracciones con una solución de triclorometano/etanol.

Después de las dos extracciones separar las fases. Fase Clorofórmica se almacenó en un matraz y la fase acuosa será la fracción E.

Fracción E:

- Reactivo de Shinoda (Determinación de flavonoides):

Como se indicó líneas arriba.

- Rosenheim (Determinación de leucoantocianidinas):

Añadir 5 gotas de HCl 2N y llevar a baño maría por un tiempo de media hora. La coloración verde intenso indica reacción positiva.

Obtención de la fracción clorofórmica:

La solución clorofórmica devolverlo del matraz a la pera de decantación. Con sulfato sódico se lavó con 10 ml y se agitó, seguidamente se separó las fases.

La fase acuosa se elimina y la orgánica se llevó a un matraz, para secar la solución orgánica con sulfato sódico. Se filtró y se conservó en un matraz. Se obtiene la Fracción D.

Fracción D:

- Reactivo de Shinoda (Determinación de flavonoides)
- Reacción de Rosenheim (Determinación de Leucoantocianidinas)
- Reacción de Kedde (Determinación de cardenólidos)
- Reacción de Liebermann-Buchard (Determinación de esteroides y triterpenos)
- Reactivo de Mayer (Determinación de alcaloides)
- Dragendorff (Determinación de alcaloides):

Los procedimientos de cada una de estas reacciones son los mismos empleados en las otras fracciones.

✓ **Actividad antioxidante por el método de DPPH**

Fundamento

La capacidad antioxidante se analizó por el método espectrofotométrico visible, en donde se mide la disminución de la concentración, que contiene un radical libre DPPH, como una solución patrón del reactivo 2,2-difenil-1-picrilhidrazil, para la determinación de compuestos antioxidantes se utilizó la técnica analítica DPPH que fue propuesto por. Blois y Col. (1958).

Metodología

Se preparó una solución de DPPH a una concentración de 0.3 µg/ml en etanol. Se prepararon soluciones del extracto a 50, 100, 250, 500 y 1000 µg/ml. También se preparó trólox a las concentraciones de 250, 500, 750 y 1000 µg/ml.

El ensayo se ejecutó según el diseño esquematizado en las siguientes tablas.

Tabla 2. *Diseño de ensayo DPPH para las soluciones del extracto.*

	Volumen					Volumen
	Grupos experimentales					Control
Orden	1	2	3	4	5	6
Sol. DPPH	0.8 ml	0.8 ml	0.8 ml	0.8 ml	0.8 ml	0.8 ml
Etanol						2 ml
Sol. De extractos						
50	2 ml					
100		2 ml				
250			2 ml			
500				2 ml		
1000					2 ml	
Volumen total	2.8 ml	2.8 ml	2.8 ml	2.8 ml	2.8 ml	2.8 ml

Solución del extracto a concentraciones de 50, 100, 250, 500 y 1000 µg/ml.

Fuente: Elaboración propia

Tabla 3. Diseño de ensayo DPPH para las soluciones del Trólox.

	Volumen (ml) Grupo estándar				Volumen (ml) Control
	1	2	3	4	5
Orden	1	2	3	4	5
Sol. DPPH	0.8 ml	0.8 ml	0.8 ml	0.8 ml	0.8 ml
Metanol 80 %					2 ml
Sol. de Trólox					
250	2 ml				
500		2 ml			
750			2 ml		
1000				2 ml	
Volumen total	2.8 ml	2.8 ml	2.8 ml	2.8 ml	2.8 ml

Solución de trólox a concentraciones de 250, 500, 750 y 1000 µg/ml.

Fuente: Elaboración propia

Luego, las muestras fueron incubadas en ausencia de la luz durante 30 minutos. Inmediatamente fueron leídas las absorbancias a 517 nm.

El cálculo de inhibición se realizó con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de inhibición} = \left(\frac{Ac - (Am - Abm)}{Ac} \right) \times 10$$

Ac = Absorbancia del blanco reactivo (DPPH + metanol)

Am = Absorbancia de la muestra + DPPH

Abm = Absorbancia del blanco muestra (muestra + metanol)

✓ Capacidad citotóxica del extracto de *Brassica rapa* sobre el desarrollo de las semillas de *Lactuca sativa* (lechuga)

Fundamento

El objetivo del ensayo fue determinar la inhibición parcial o total del crecimiento de hipocótilos y radículas de semillas de *Lactuca sativa* (lechuga), se calculó el porcentaje de inhibición midiendo la longitud de la raíz con la muestra analizada con respecto a la longitud de la raíz muestra control. Ticona, *et al.* (1998) y POE. Implementado del IIBBM de la Universidad Nacional Agraria.

▪ Materiales:

-Pinzas con punta de cerámica

- Semillas germinadas (20 hrs.)
- Extracto
- Micropipeta de 100, 1000 y 5000 ul.
- Tips de 100, 1000 y 5000
- Bandejas de acero con tapa
- Discos de papel filtro whatman
- Microplacas y placa petri
- Agua destilada
- Pizeta
- Incubadora con fotoperiodo, VELP SCIENTIFICA FOC 2251

Método

Las semillas de lechuga se seleccionaron para el proceso de germinación que consistió en colocar las semillas en placa petri acondicionado con papel filtro whatman humedecido con agua destilada, luego la placa petri se ubicó en la bandeja metálica cubriendo las paredes con papel toalla humedecido para luego incubar a una temperatura de 20 °C durante 20 horas. En paralelo se colocaron discos de papel filtro Whatman en 10 placas petri de 2.5 cm. de diámetro. Transcurridas las 20 horas de pregerminación se eligieron 5 semillas más uniformes y se colocaron en paralelo y en forma circular, en la superficie del papel filtro de cada una de las placas. Posteriormente se añadieron 700 µl de agua destilada en la parte media de cada placa y luego se taparon las placas, para incubar dentro de la cámara de humedad durante 52 horas a 20 °C. Al completar el tiempo de incubación se procedió a medir el tamaño del hipocótilo y radícula de las semillas.

3.5. Técnicas de procesamiento y análisis de datos

Los datos se analizaron mediante el análisis comparativo de varianza (ANOVA), seguido de la comparación de medias de Dunnett con un grupo control, prueba de Kruskal-Wallis y test de Shapiro-Wilk.

Capítulo IV

Presentación y análisis de resultados

4.1. Presentación de resultados

✓ Ensayo preliminar de solubilidad

Se muestran los resultados obtenidos del análisis de solubilidad del extracto etanólico seco de las flores de *Brassica rapa* “Flor de nabo”, en la siguiente tabla.

Tabla 4. Solubilidad del extracto etanólico de *Brassica rapa* “flor de nabo”

Solventes	Solubilidad
Diclorometano	Soluble
Cloroformo	Soluble
Hexano	Medianamente soluble
Metanol	Medianamente soluble
Etanol	Poco soluble
Agua destilada	Insoluble

Resultados del análisis de solubilidad.
Fuente: Elaboración propia

De la tabla anterior se observa que el extracto etanólico seco de las flores de *Brassica rapa* “Flor de nabo” es soluble en solventes orgánicos (apolares) como el diclorometano y cloroformo y medianamente soluble en hexano y metanol. El carácter hidrofóbico del extracto se observa en el tubo con etanol y agua, donde la mezcla es poco soluble e insoluble respectivamente

✓ Ensayo preliminar del Tamizaje fitoquímico

Los resultados del tamizaje fitoquímico del extracto etanólico seco de las flores de *Brassica rapa* “Flor de nabo” se muestra a detalle en la siguiente tabla.

Fracción	Reactivo	Metabolitos primarios secundarios	Resultado
A	Rvo. Ninhidrina	Grupo amino libre	+++
	Rvo. Gelatina	Taninos	++
	Rvo. Tricloruro Férrico	Compuestos fenólicos	+++
	Rvo. Shinoda	Flavonoides	+++
B	Rvo. Libermann Burchard	Triterpernos / esteroides	+++
	Rvo. Borntranger	Naftoquinonas/Antraquinonas	+++
C	Rvo. Kedde	Glicósidos cardiacos	+++
	Rvo. Libermann Burchard	Triterpernos / esteroides	+/-
	Rvo. Mayer	Alcaloides	-
	Rvo. Dragendorff / Wagner	Alcaloides	-
D	Rvo. Shinoda	Flavonoides	-
	Rvo. Rosenheim	Leucoantocianidinas/catequinas	-
	Rvo. Kedde	Glicósidos cardiacos	+++
	Rvo. Libermann Burchard	Triterpernos / esteroides	+/-
	Rvo. Mayer	Alcaloides	-/-
E	Rvo. Shinoda	Flavonoides	-
	Rvo. Rosenheim	Leucoantocianidinas/catequinas	+
Leyenda:			
Negativo	-	Positivo moderado	++
Traza	+/-	Positivo abundante	+++
Positivo leve	+		

Tabla 5. Tamizaje fitoquímico del extracto etanólico de *Brassica rapa* "flor de nabo"

Resultados del tamizaje fitoquímico.

Fuente: Elaboración propia

De la tabla anterior se puede apreciar que el extracto de *Brassica rapa* "Flor de nabo" presenta abundantes compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, triterpernos, aminoácidos, esteroides, glicósidos cardiacos y antraquinonas. Hay presencia leve de Leucoantocianidinas y no se observa la presencia de alcaloides.

✓ Actividad antioxidante

Los resultados del ensayo antioxidante con reactivo DPPH al extracto etanólico seco de las flores de *Brassica rapa* “Flor de nabo”, se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 6. Resultados del ensayo DPPH del extracto etanólico de las flores de *Brassica rapa* "flor de nabo"

Concentración (µg/ml)	Absorbancia media	% de inhibición	IC ₅₀ (µg/ml)
0	0.514	-	797.334
50	0.499	2.92	
100	0.488	5.12	
250	0.453	11.92	
500	0.368	28.45	
1000	0.182	64.61	

Indica el % de inhibición e IC₅₀ del extracto etanólico *Brassica rapa*.

Fuente: Elaboración propia

La tabla anterior muestra que extracto etanólico de las flores de *Brassica rapa* “Flor de nabo” presenta mayor % de inhibición a 1000 µg/ml y que este mismo extracto posee un IC₅₀ de 797.334 µg/ml.

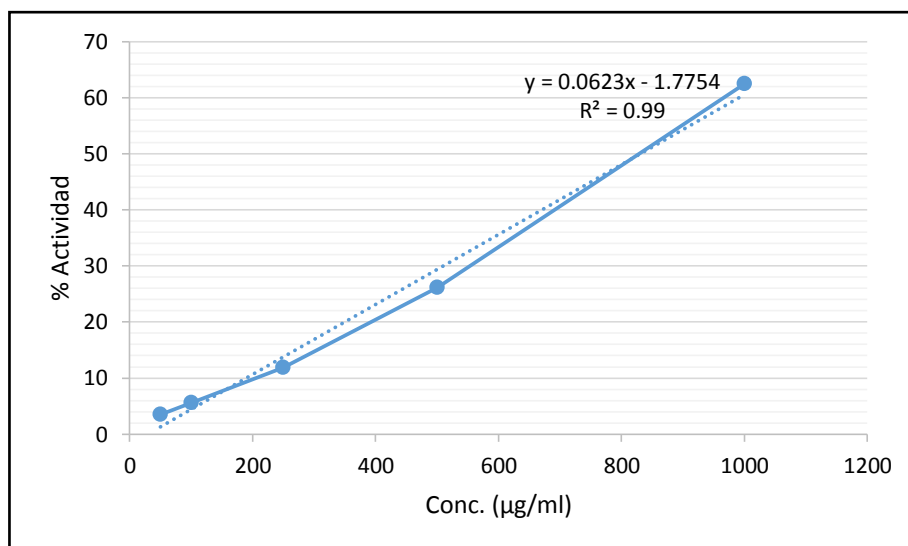


Figura 5. Curva de

calibración 1 del extracto. Curva de calibración 1 del extracto con reactivo DPPH.

Fuente. Elaboración propia.

Figura 6. Curva de calibración 2 y 3 del extracto. Curva de calibración 2 y 3 de extracto con reactivo DPPH.

Fuente. Elaboración propia

Los resultados del ensayo antioxidante con reactivo DPPH al reactivo de referencia trólox, se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 7. Resultados del ensayo DPPH al estandar trólox

Concentración n (µg/ml)	Absorbancia media	% de inhibición	IC ₅₀ (µg/ml)
0	0.5297	-	47.045
62.5	0.2687	49.276	
125	0.2177	58.905	
250	0.1603	69.729	
500	0.0487	90.812	

Indica % inhibición del estándar e IC₅₀ del estándar trolox.
Fuente: Elaboración propia.

La tabla anterior muestra que el reactivo de referencia trólox presenta un % de inhibición de 90.812 a la concentración de 500 µg/ml y un IC₅₀ de 47.045 µg/ml.

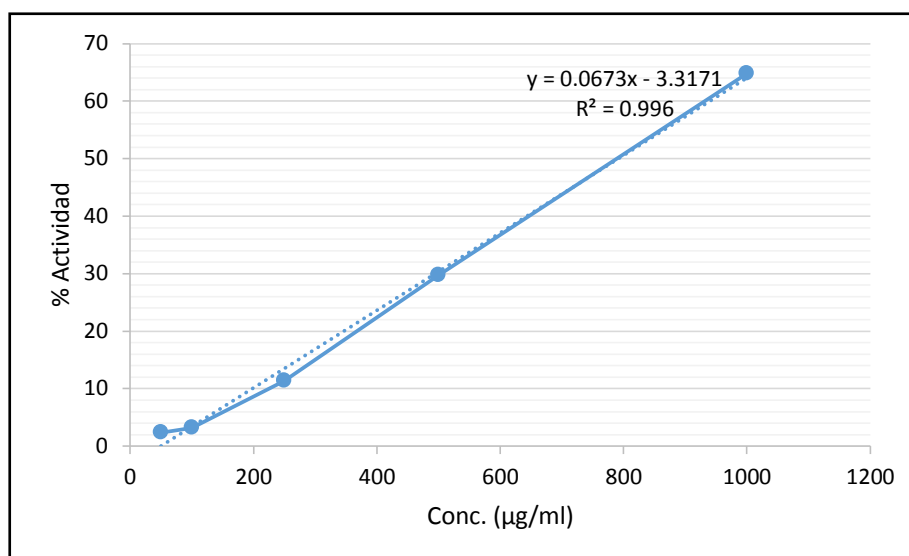


Figura 7. Curva de calibración 1 de trolox. Curva de calibración 1 de trólox con reactivo DPPH.
Fuente: Elaboración propia.

✓ Capacidad citotóxica

Los resultados del ensayo de citotoxicidad realizados con el extracto etanólico de las flores de *Brassica rapa*, sobre las semillas de *Lactuca sativa*, se muestran en la siguiente tabla.

Tabla 8. Tabla de resultados del ensayo de citotoxicidad del extracto etanólico de *Brassica rapa* "flor de nabo"

Concentración (mg)	Radícula (mm)	Media	Hipocótilo (mm)	Media	% de inhibición (R/H)
0 (Control)	14	14.6	12	11.4	-
0 (Control)	14		12		
0 (Control)	15		11		
0 (Control)	15		11		
0 (Control)	15		11		
100	2	1.2	1	1.4	91.78/87.72
100	1		1		
100	1		2		
100	1		2		
100	1		1		
30	1	1.2	2	1.6	91.78/85.96
30	1		1		
30	1		2		
30	2		1		
30	1		2		
10	1	1.0	3	3.4	93.15/70.18
10	1		5		
10	1		3		
10	1		3		
10	1		3		
3	1	3.8	4	4.6	73.97/59.65
3	5		4		
3	10		7		
3	2		5		
3	1		3		
1	4	4.0	8	7.2	72.6/36.84
1	4		9		
1	8		10		
1	2		5		
1	2		4		
0.3	12	11.6	13	11.6	20.55/-1.75
0.3	12		11		
0.3	11		14		
0.3	12		10		
0.3	11		10		
0.1	12	12.4	11	10	15.07/12.28
0.1	13		11		
0.1	13		10		
0.1	14		10		
0.1	10		8		

Resultados de citotoxicidad a concentraciones 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30 y 100 mg del extracto etanólico *Brassica rapa* "flor de nabo".
Fuente: Elaboración propia.

La tabla anterior muestra que a las concentraciones 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30 y 100 mg el extracto etanólico de las flores de *Brassica rapa* “flor de nabo” presentan longitudes medias de radícula de 12.4, 11.6, 4.0, 3.8, 1.0, 1.2 y 1.2 mm en la radícula y 10, 11.6, 7.2, 4.6, 3.4, 1.6 y 1.4 mm en el hipocótilo de las semillas de *Lactuca sativa*, respectivamente. Frente a 14.6 y 11.4 mm en la radícula e hipocótilo para el grupo control.

4.2. Prueba de hipótesis

Hipótesis general

H0: El extracto etanólico de las flores de *Brassica rapa* subsp. *campestris* (L.) Clapham “flor de nabo” no presenta actividad antioxidante.

H1: El extracto etanólico de las flores de *Brassica rapa* subsp. *campestris* (L.) Clapham “flor de nabo” presenta actividad antioxidante.

Para determinar la prueba estadística necesaria para contrastar la hipótesis general se requiere determinar si la distribución de los resultados es normal. Para esto se usó el test de Shapiro-Wilk como se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 9. *Test de Shapiro-Wilk*

	Grupo	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	p-valor
Absorbancias	Control	,750	3	,000
	Ext. 50	,964	3	,637
	Ext. 100	,983	3	,747
	Ext. 250	1,000	3	1,000
	Ext. 500	,910	3	,417
	Ext. 1000	,976	3	,702

Grupos de extracto a concentraciones de 50, 100, 250, 500 y 1000 µg/ml.
Fuente: Elaboración propia.

La tabla anterior muestra que los grupos extracto a 50, 100, 250, 500 y 1000 µg/ml muestran un p-valor mayor a 0.05 pero el grupo control muestra un p-valor menor al 0.05. Por esto, se puede inferir que los resultados del ensayo antioxidante extracto etanólico de las flores de *Brassica rapa* subsp. *campestris* (L.) Clapham “flor de nabo” presentan una distribución no normal.

El método estadístico utilizado para contrastar esta hipótesis es el H de Kruskal-Wallis. Ya que es una prueba estadística no paramétrica que permite hacer comparaciones entre las medias de los grupos tanto experimentales como grupo control como se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 10. *Prueba de Kruskal-Wallis*

	Absorbancias
Chi-cuadrado	16,596
Gl	5
p-valor	,005

Absorbancia a diferentes concentraciones.
Fuente: Elaboración propia

La tabla anterior muestra que el p-valor es menor al 0.05. Por esto, se puede inferir que el extracto etanólico de las flores de *Brassica rapa* subsp. *campestris* (L.) Clapham “flor de nabo” a las concentraciones de 50, 100, 250, 500 y 1000 µg/ml y el grupo control tienen absorbancias con diferencias estadísticamente significativas.

Decisión: Se rechaza la hipótesis nula.

Hipótesis específica 1

H0: El extracto etanólico de las flores de *Brassica rapa* subsp. *campestris* (L.) Clapham “flor de nabo” no presenta actividad antioxidante a diferentes concentraciones.

H1: El extracto etanólico de las flores de *Brassica rapa* subsp. *campestris* (L.) Clapham “flor de nabo” presenta actividad antioxidante a diferentes concentraciones.

El método estadístico utilizado para contrastar esta hipótesis es el T3 de Dunnet. Ya que es una prueba estadística no paramétrica que permite hacer comparaciones entre las medias de los grupos experimentales frente a un grupo control como se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 11. *Comparaciones múltiples por Dunnet de la actividad antioxidante*

(I) Grupo	(J) Grupo	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	p-valor	95% de intervalo de confianza	
					Límite inferior	Límite superior
Control	Ext. 50	,015000	,001886	,025	,00331	,02669
	Ext. 100	,026333	,004137	,05	-,00147	,05414
	Ext. 250	,061333	,002028	,000	,05009	,07258
	Ext. 500	,146333	,006864	,006	,09056	,20211
	Ext. 1000	,332333	,006642	,001	,27881	,38586

Grupos de extracto a diferentes concentraciones con absorbancias frente a los del grupo control.
Fuente: Elaboración propia.

La tabla anterior muestra que los grupos con el extracto etanólico de las flores de *Brassica rapa* subsp. *campestris* (L.) Clapham “flor de nabo” a las concentraciones de 50, 100, 250, 500 y 1000 $\mu\text{g/ml}$ muestran un p-valor menor o igual a 0.05. Por esto, se puede inferir que todos los grupos con el extracto a diferentes concentraciones presentan absorbancias con diferencias estadísticamente significativas frente a los del grupo control.

Decisión: Se rechaza la hipótesis nula

Hipótesis específica 2

H0: El extracto etanólico de las flores de *Brassica rapa* subsp. *campestris* (L.) Clapham “flor de nabo” no presenta mejor actividad antioxidante que trólox.

H1: El extracto etanólico de las flores de *Brassica rapa* subsp. *campestris* (L.) Clapham “flor de nabo” presenta mejor actividad antioxidante que trólox.

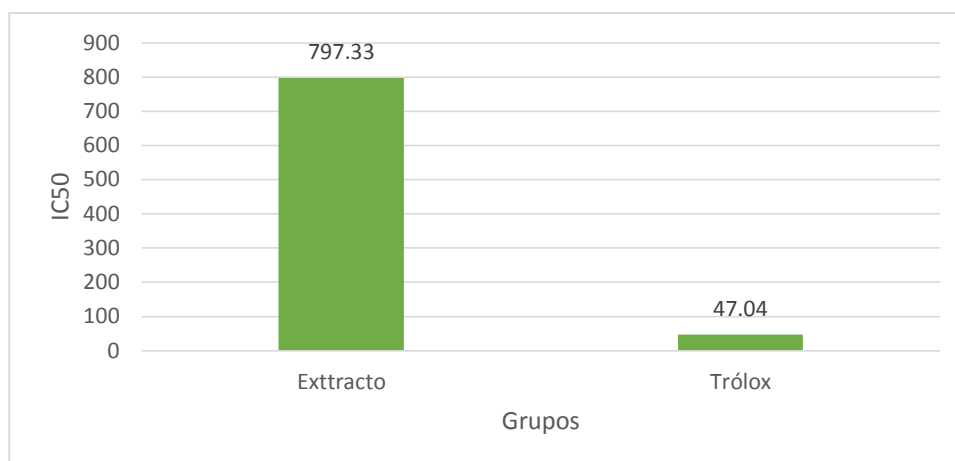


Figura 9.

Diagrama de barras de los IC_{50} de la actividad antioxidante
 IC_{50} del ensayo antioxidante del extracto etanólico de *Brassica rapa* frente a trólox.
 Fuente: Elaboración propia

La figura anterior muestra que el IC_{50} del extracto etanólico de las flores de *Brassica rapa* subsp. *campestris* (L.) Clapham “flor de nabo” es mayor que el de trólox. Esto, muestra que trólox presenta mayor efecto antioxidante.

Para determinar la prueba estadística necesaria para contrastar esta hipótesis se requiere determinar si la distribución de los resultados del, ensayo antioxidante del extracto etanólico de las flores de *Brassica rapa* subsp. *campestris* (L.) Clapham “flor de nabo”, es normal. Para esto se usó el test de Shapiro-Wilk como se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 12. Test de Shapiro-Wilk de los IC₅₀ del ensayo antioxidante

	Grupo	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	p-valor
IC50	Extracto	,960	3	,617
	Trólox	,982	3	,741

Test de Shapiro de los IC₅₀ del extracto *Brassica rapa* y trólox.
Fuente: Elaboración propia.

La tabla anterior muestra que los p-valores mostrados por los grupos con extracto etanólico de las flores de *Brassica rapa* subsp. *campestris* (L.) Clapham “flor de nabo” y trólox es mayor a 0.05. Por esto, se puede inferir que la distribución de los IC₅₀ del extracto y trólox es normal.

El método estadístico utilizado para contrastar esta hipótesis es el T de Student para muestras independientes. Ya que es una prueba estadística paramétrica que permite hacer una comparación entre la media de grupos experimental frente a un grupo control como se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 13. Test de Levene para muestras independientes

		Prueba de Levene de calidad de varianzas		prueba t para la igualdad de medias						
		F	p-valor	T	gl	p-valor	Diferencia de medias	Diferencia de error estándar	95% de intervalo de confianza de la diferencia	
									Inferior	Superior
I C 5 0	Se asumen varianzas iguales	5,112	,087	43,679	4	,000	751,945	17,215	704,148	799,742
	No se asumen varianzas iguales			43,679	2,140	,000	751,945	17,215	682,318	821,572

Muestra los IC₅₀ de extracto etanólico de *Brassica rapa* “flor de nabo” y el estándar trólox.
Fuente: Elaboración propia.

La tabla anterior muestra que según el test de Levene los IC_{50} del extracto y trólox presentan un p-valor mayor a 0.05. Por esto, se puede inferir que los IC_{50} del extracto y trólox presentan homogeneidad en sus varianzas. En la fila en la que se asume que las varianzas son iguales se muestra que el p-valor es menor a 0.05 según la T de Student para muestras independientes. Por esto, se puede inferir que existe diferencia estadísticamente significativa entre los IC_{50} del extracto y trólox.

Decisión: Se rechaza la hipótesis alternativa

Hipótesis específica 3

H0: El extracto etanólico de las flores de *Brassica rapa* subsp. campestris (L.) Clapham “flor de nabo” no presenta actividad citotóxica.

H1: El extracto etanólico de las flores de *Brassica rapa* subsp. campestris (L.) Clapham “flor de nabo” presenta actividad citotóxica.

Para determinar la prueba estadística necesaria para contrastar esta hipótesis se requiere determinar si la distribución de los resultados del, ensayo de citotoxicidad del extracto etanólico de las flores de *Brassica rapa* subsp. campestris (L.) Clapham “flor de nabo”, es normal. Para esto se usó el test de Shapiro-Wilk como se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 14. Prueba de normalidad por el test de Shapiro-Wilk

	Grupo	Shapiro-Wilk		
		Estadístico	gl	p-valor
Radícula	Control	,684	5	,006
	100 mg	,552	5	,000
	30 mg	,552	5	,000
	3 mg	,821	5	,118
	1 mg	,833	5	,146
	0.3 mg	,684	5	,006
	0.1 mg	,914	5	,492
Hipocótilo	Control	,684	5	,006
	100 mg	,684	5	,006
	30 mg	,684	5	,006
	10 mg	,552	5	,000
	3 mg	,914	5	,492
	1 mg	,915	5	,501
	0.3 mg	,867	5	,254
	0.1 mg	,833	5	,146

Resultados del ensayo de citotoxicidad a diferentes concentraciones.

Fuente: Elaboración propia.

La tabla anterior muestra que los grupos control, 100 mg, 30 mg y 0.3 mg tienen p-valores menor a 0.05 para la longitud de radícula y que los grupos control, 100 mg, 30 mg y 10 mg

presentan también p-valores menores a 0.05. Por esto, se puede inferir que los resultados del ensayo de citotoxicidad del extracto etanólico de las flores de *Brassica rapa* subsp. *campestris* (L.) Clapham “flor de nabo” sobre las semillas de *Lactuca sativa*, no presentan distribución normal.

El método estadístico utilizado para contrastar esta hipótesis es el T3 de Dunnet. Ya que es una prueba estadística no paramétrica que permite hacer comparaciones entre las medias de los grupos experimentales frente a un grupo control como se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 15. Comparaciones múltiples por Dunnet del ensayo citotóxico

Variable dependiente	(I) Grupo	(J) Grupo	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	95% de intervalo de confianza	
						Límite inferior	Límite superior
Radícula	Control	100 mg	13,400*	,316	,000	12,04	14,76
		30 mg	13,400*	,316	,000	12,04	14,76
		10 mg	13,600*	,245	,000	12,21	14,99
		3 mg	10,800*	1,732	,033	1,18	20,42
		1 mg	10,600*	1,122	,005	4,55	16,65
		0.3 mg	3,000*	,346	,001	1,53	4,47
		0.1 mg	2,200	,721	,288	-1,44	5,84
Hipocótulo	Control	100 mg	10,000*	,346	,000	8,53	11,47
		30 mg	9,800*	,346	,000	8,33	11,27
		10 mg	8,000*	,469	,000	5,89	10,11
		3 mg	6,800*	,721	,003	3,16	10,44
		1 mg	4,200	1,183	,204	-2,21	10,61
		0.3 mg	-,200	,849	1,000	-4,61	4,21
		0.1 mg	1,400	,600	,539	-1,50	4,30

Ensayo de citotoxicidad de radícula e hipocótulo de las semillas de *Lactuca sativa*.

Fuente: Elaboración propia

La tabla anterior muestra que los grupos 100, 10, 3, 1 y 0.3 mg presentan p-valores menores las 0.05 para la variable radícula y que los grupos 100, 30, 10 y 3 mg presentan p-valores menores las 0.05 para la variable hipocótulo. Esto expresa que extracto etanólico de las flores de *Brassica rapa* subsp. *campestris* (L.) Clapham “flor de nabo” a las concentraciones 100, 10, 3, 1 y 0.3 mg presentan actividad citotóxica estadísticamente significativa en la radícula de las semillas de *Lactuca sativa* y a las concentraciones 100, 30, 10 y 3 mg en los hipocótilos de las mismas.

Decisión: Se rechaza la hipótesis nula.

4.3. Discusión de resultados

El extracto de *Brassica rapa* “flor de nabo” presenta compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, triterpenos, aminoácidos, esteroides, glicósidos cardiacos y antraquinonas y ausencia de alcaloides

Con respecto a los metabolitos secundarios presentes en el género *Brassica.*, Armesto, *et al.* (2012), identificó la presencia de compuestos fenólicos, glucosinolatos y carotenoides. Por otra parte, Cobanio (2000), determinó la presencia de compuestos fenólicos como el ácido sipnático, ferúlico, cafeico.

Conocer la solubilidad de determinado extracto que nos permite hacer una estimación rápida la biodisponibilidad de los metabolitos presentes en él y conocer si serán efectivos o no a nivel *in vivo*. Allam, *et al* (2011). Se entiende que esta es una aproximación limitada, ya que existen, además muchos otros factores relacionados con la “biodisponibilidad”. El extracto de la flor de nabo al ser más soluble en solventes orgánicos que agua, podría presentar una mayor distribución en tejidos grasos y por ende un mayor efecto en ellos.

Los resultados de la presente tesis concuerdan con ellos al encontrar presencia abundante de compuestos fenólicos por métodos cualitativos y posteriormente corroborarla mediante técnicas cuantitativas espectrofotométricas.

Dentro de los compuestos más abundantes en *Brassica rapa* están los glucosinolatos. Areas (2009). Los glucosinolatos podrían tener un efecto positivo en el sistema antioxidante al minimizar la peroxidación de lípidos elevando la catalasa y glutatión. Intrigo (2013). Esto podría explicar los elevados valores de capacidad antioxidante encontrados en el presente estudio.

El ensayo antioxidante muestra que el extracto etanólico de las flores de *Brassica rapa* “Flor de nabo” presenta mayor % de inhibición a 1000 µg/ml y que este mismo extracto posee un IC₅₀ de 797.334 µg/ml con el reactivo DPPH.

Shafek, Michael, Sayed, Ibrahim, y Al-sayed (2018), evidenciaron la actividad antioxidante del extracto etanólico de las hojas de *Brassica rapa*, proveniente de Egipto, con un porcentaje de inhibición de 50.49 % a la concentración de 50 mg/ml. Esto, en contraste con los resultados de la presente tesis podrían ser explicados por la diferencia en la procedencia y tratamiento que recibió cada muestra ya que son factores determinantes para el rendimiento de extracción, de calidad de fruto y concentración de compuestos fenólicos. Peñarrieta, Tejada, Mollinedo, Vila, y Bravo (2014).

Otras especies pertenecientes al género *Brassica* también fueron investigadas por su actividad antioxidante como Podśędek, Sosnowska, Redzyna, y Anders (2006), que evidenciaron la actividad antioxidante del extracto etanólico de las hojas de *Brassica oleracea*, proveniente de Polonia, con un IC₅₀ de 770 µg/ml. Upadhyay, *et al* (2016), reporta valores de inhibición de DPPH de 18, 25, 27 y 69 % para *Brassica oleracea* var. botrytis, *Brassica oleracea* var. Italica, *Brassica oleracea* var. capitata y *Brassica oleracea* L. var. capitata *F. rubra*, respectivamente. El valor observado en este estudio para el extracto etanólico de flor de nabo se encuentra dentro del rango. Esto es evidencia de que las especies del género *Brassica* son plantas promisorias con amplia capacidad antioxidante.

El ensayo de citotoxicidad muestra que a las concentraciones 0.1, 0.3, 1, 3, 10, 30 y 100 mg el extracto etanólico de las flores de *Brassica rapa* “Flor de nabo” presentan longitudes medias de radícula de 12.4, 11.6, 4.0, 3.8, 1.0, 1.2 y 1.2 mm en la radícula y 10, 11.6, 7.2, 4.6, 3.4, 1.6 y 1.4 mm en el hipocótilo de las semillas de *Lactuca sativa*, respectivamente. Frente a 14.6 y 11.4 mm en la radícula e hipocótilo para el grupo control. Estos estudios del efecto alelopático realizados, nos permiten estimar si existe una interacción entre los compuestos de determinada planta y el desarrollo de otra, así como la dosificación a partir de la cual se pueden observar efectos significativos. Chomn y Nelson (2009). En este sentido, el extracto evaluado presentó un efecto significativo sobre el desarrollo de la radícula a dosis moderada. Este efecto fue inhibitorio del desarrollo normal de la radícula y permite afirmar que existe una interacción entre los metabolitos secundarios presentes en el extracto y el desarrollo de otros organismos.

Capítulo V

Conclusiones y recomendaciones

5.1. Conclusiones

- El extracto etanólico de las flores de *Brassica rapa* subsp. *campestris* (L.) Clapham “flor de nabo” presenta abundante presencia de compuestos fenólicos, triterpenos, esteroides, antraquinonas y taninos los cuales están relacionados con la capacidad antioxidante.
- El extracto etanólico de las flores de *Brassica rapa* subsp. *campestris* (L.) Clapham “flor de nabo” muestran una mayor solubilidad en solventes orgánicos, la cual se reduce al llegar al hexano; mientras que, en solventes polares como el agua, se muestran casi insolubles.
- El extracto etanólico de las flores de *Brassica rapa* subsp. *campestris* (L.) Clapham “flor de nabo” presenta actividad antioxidante a las concentraciones 50, 100, 250, 500 y 1000 $\mu\text{g/ml}$.
- El extracto etanólico de las flores de *Brassica rapa* subsp. *campestris* (L.) Clapham “flor de nabo” presenta menor actividad antioxidante que trólox con un IC₅₀ de 797.33 $\mu\text{g/ml}$ frente a 47.04 $\mu\text{g/ml}$.
- El extracto etanólico de las flores de *Brassica rapa* subsp. *campestris* (L.) Clapham “flor de nabo” presenta actividad citotóxica a las concentraciones 100, 30, 10, 3, 1 y 0.3 mg.

5.2.Recomendaciones

- Elaborar un preparado galénico de valor agregado a la investigación.
- Realizar ensayos con líneas celulares con tumoraciones (cáncer), dado su efecto citotóxico demostrado.
- Realizar ensayos in vitro con animales de laboratorio a fin de conocer los aspectos de la farmacocinética y dinámica para el empleo de fármacos en procesos que permitan llegar a un producto y evaluar como los procesos afectarían a las propiedades bioactivas demostradas en el presente estudio.
- Debido a que este estudio está enfocado a la revalorización de la Flor de nabo y su uso en poblaciones de bajos recursos, se podrían proponer un proceso de cocción y evaluar la estabilidad de las propiedades bioactivas en el tiempo.

Referencias bibliográficas

- Al Mahmud, J., Hasanuzzaman, M., Nahar, K., Rahman, A., & Fujita, M. (2019). EDTA reduces cadmium toxicity in mustard (*Brassica juncea* L.) by enhancing metal chelation, antioxidant defense and glyoxalase systems. *Acta Agrobotanica*, 72(2), 1–17. Recuperado de <https://doi.org/10.5586/aa>.
- Aparcana, M., Villareal, L. (2014). Evaluaron la capacidad antioxidante del extracto etanólico del fruto del “aguaymanto”, de diferentes lugares geográficos (licenciatura). UNMSM.
- Arias, D. (2009). Caracterización físico-química y sensorial de nabiza y grelo de *Brassica rapa* L. (doctorado). U.S. de Compostela, España.
- Armesto, J., Carballo, J., Martínez, S. (2012). Capacidad antioxidante y contenido de fenoles totales de *Brassica oleracea* var. Recuperado de <https://previa.uclm.es/area/cta/cesia2012/cd/PDFs/4-BIO/BIO-P08T.pdf>
- Balunas, J., y Kinghorn, D. (2005). Drug discovery from medicinal plants. *Life Sciences*, 78, 431–441. Recuperado de <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2005.09.012>
- Bazuayehu, D., Atlabachew, M., Tihar, M. (2016). Determination of some selected secondary metabolites and their in vitro antioxidant activity in commercially available Ethiopian tea (*Camellia sinensis*)
- Bunaciu, A., Danet, F., Fleschin, S., y Aboul, H. (2015). Recent Applications for in Vitro Antioxidant Activity Assay. *Critical*
- Cartaya, O., Reynaldo, I. (2001). Flavonoides: Características químicas y aplicaciones. *Cultivos Tropicales*, 22(2), 5-14.
- Chon, S., Nelson, C., (2009). Allelopathy in compositae plants. A. Review. *Agronomy for Sustainable Development* 30:349-358
- Conabio (2000). *Brassica rapa*. Recuperado de <http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/brassicaceae/brassicarapa/fichas/ficha.htm>
- Corrales, C., y Muñoz, M. (2012). Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno. *NOVA*, 10(18), 135-250.
- De la Rosa, et al. (2012). Cuantificación de flavonoides totales en el extracto metanólico de *Glycine max* (soya) y su efecto larvicida contra *Aedes aegypti*. *Revista Colombiana de Ciencias de la Salud*. Vol. 1-1
- Elejalde, J. (2001). Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. *Anales de Medicina Interna*, 18(6), 326-335.
- Escalona, L., Tase, A., Estrada, A., y Almaguer, M. (2015). Uso tradicional de plantas medicinales por el adulto mayor en la comunidad serrana de Corralillo Arriba. Guisa, Granma. *Revistas Cubana de plantas medicinales*, 20(4), 429-439.
- Evans, A., Hirsch, B., y Dushenkov, S. (2006). Phenolics inflammation and nutrigenomics. *Journal of the science of food and agriculture*, 86, 2503–2509. Recuperado de <https://doi.org/10.1002/jsfa>
- Figuroa, S., Mollinedo, O. (2017). Actividad antioxidante del extracto etanólico e identificación de fitoconstituyentes del fruto de “ptahaya”. U. Norbert Wiener. Fundación Española de Nutrición. (2000). Nabo. Madrid, España: FEN.
- Garayar, C., Chávez, H. (2016). Actividad antioxidante del extracto etanólico de partes aéreas de *Loricaria ferruginea* (Ruiz&Pav.) Wedd. *Rev. Peruana de medicina Integrativa*, 1(4), 31-7.

- Gómez, C. (2000). *Brassica L.* Mérida, España: Floraiberica. Recuperado de: http://www.floraiberica.es/floraiberica/texto/pdfs/04_072_58_Brassica
- González, A., y Sabana, C. (2015). Identificación de fitoconstituyentes y caracterización de flavonoides en las inflorescencias de *Brassica oleracea L. var. Botrytis* “coliflor” por cromatografía líquida de alta resolución-espectrometría de masas. *Revista Farmaciencia*, 3(1), 4-10.
- González, H., y Lazarte, S. (2016). Plantas medicinales utilizadas como alternativa de tratamiento para afecciones del sistema digestivo en los pobladores del barrio Pucará – Huancayo (licenciatura). Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt, Perú. Recuperado de <http://www.fen.org.es/mercadoFen/pdfs/nabo.dpf>
- Intrigo, G. (2013). Comportamiento agrónomo del cultivo de papanabo (*Brassica rapa var. purple top white globe*) sembrado con diferentes densidades en la zona de Babahoyo (licenciatura) Universidad Técnica de Babahoyo, Ecuador.
- Lock, O. (2016) Investigación fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales.
- Londoño, A. (2012). Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad. En: Desarrollo y transversalidad. Colombia ISBN: 978-958-8406-14-5 ed: Editorial lasallista, v., p.129 – 162.
- Mamani, D. (2017). Efecto de cuatro concentraciones del extracto acuoso de hojas y flores de *Brassica rapa L.* en el ciclo celular de meristemos radiculares de *Allium sativum L.* (licenciatura). UNAP.
- Martínez, G. y López, F. (2016). Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu. Universidad Politécnica de Valencia. Recuperado de [http://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/52056/García Martínez et al.pdf?sequence=1](http://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/52056/García_Martínez_et_al.pdf?sequence=1)
- Matos, A., Paredes, J., y Gonzales, L. (2010). Determinaron la capacidad antioxidante de los compuestos fenólicos del Sancayo. *Rev Investig Cienc Tecnol Alimen*, 1(1), 66-71.
- Medicalnewstoday. (2018). *How can antioxidants benefit our health?*. Brighton, UK: MNT. Recuperado de: <https://www.medicalnewstoday.com/articles/301506.php>
- Medlineplus. (2019). Antioxidantes. Bethesda, USA: MedlinePlus. Recuperado de: <https://medlineplus.gov/spanish/antioxidants.html>
- Moharram, A y Youssef, M. (2014). Methods for Determining the Antioxidant Activity: A Review. *Food Science And Tecnology*, 11(1),31-42.
- Munoz, Ó., Torres, A., Nuñez, J., De la Rosa, A., Rodrigo, J., Ayala, J., Álvarez, E. (2017). Nuevo acercamiento a la interacción del reactivo de Folin-Ciocalteu con azúcares durante la cuantificación de polifenoles totales. *TIP Revista especializada en Ciencia Químico-Biológicas*, 20(2):23-28. Doir:10.1016/j.recqb.2017.04.003
- Newman, J., y Cragg, M. (2016). Natural Products as Sources of New Drugs from 1981 to 2014. *Journal of Natural Products*, 75(3), 629–661. Recuperado de <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.5b01055>
- Pallardó, V. (2017). Daño oxidativo. Facetas de este complejo proceso biológico. *SBBEM*, 193(3), 6-9.
- Peñarrieta, M., Tejada, L., Mollinedo, P., Vila, L., y Bravo, A. (2014). Phenolic compounds in foods. *Revista boliviana de química*, 31(2), 61–81. Recuperado de http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0250-54602014000200006&lng=es&nrm=iso
- Pisoschi, M. y Negulescu, P. (2012). Methods for total Antioxidant Activity Determination: A review. *Biochesmistry y Analytical y Analitical Biochesmistry*, 01(01):1-10- doi:10.172/211-1009.1000106

- Podsedeck, A., Sosnowska, D., Redzynia, M., y Anders, B. (2006). Antioxidant capacity and content of *Brassica oleracea* dietary antioxidants. *International Journal of Food Science and Technology*, 41(SUPPL. 1), 49–58. Recuperado de <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01260.x>
- Quiñones, M., Miguel, M. y Aleixandre, A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutr Hosp*, 27(1), 76-89. *Reviews in Analytical Chemistry*, 46 (5), 389-399.
- Salaverry, O., Cabrera, J. (2014). Florística de algunas plantas medicinales. *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, 31(1), 165-168.
- Salim, S. (2014). Oxidative Stress and Psychological Disorders. *Current Neuropharmacology*, 12, 140–147. Recuperado de https://s3.amazonaws.com/academia.edu.documents/52640680/Phenolics_inflammation_and_nutrigenomics20170416-23457
- Shafek, E., Michael, N., Sayed, Z., Ibrahim, G., y Al, A. (2018). Phytochemical study, antioxidant and cytotoxic activities of brassica rapa l. Leaves extract and its silver nanoparticles. *Egyptian Journal of Chemistry*, 61(2), 237–247. Recuperado de <https://doi.org/10.21608/ejchem.2018.2605.1211>
- Seong, G. U., Hwang, I. W., & Chung, S. K. (2016). Antioxidant capacities and polyphenolics of Chinese cabbage (*Brassica rapa* L. ssp. *Pekinensis*) leaves. *Food Chemistry*, 199, 612–618. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.12.066>
- Soengas P1, Cartea ME, Francisco M, Sotelo T, Velasco P. New Insights into antioxidant activity of brassica crops. *Food Chem*. 2012 Sep 15;134(2):725-33.
- Sotelo T, Cartea ME, Velazco P., Soengas P (2014) Identification of antioxidant capacity-related QTLs, in *Brassica oleracea*. *PLoS ONE*9(9):E107290.
- Talreja K, Moon A. *Brassica oleracea*. A Potent Antioxidant Therapeutic In Health and Diseases. *Int J Pharm Sci Res* 2015; 6(10); 4448-52.
- Ticona, V.; Nieva, M.; Irahola, P.; Gimenez, A. 1998. Pruebas biológicas destinadas a evaluar citotóxicos como indicadores de potenciales antitumorales. *BIOFARBO*. Vol VI. (11-16).
- Upadhyay R, Sehwal S, Singh S. 2016. Antioxidant Activity and Polyphenol Content of *Brassica oleracea* Varieties, *International Journal of Vegetable Science*, 22:4,353.363.
- Valencia-Avilés, E., Ignacio-Figueroa, I., Sosa-Martínez, E., Bartolomé-Camacho, M. C., Martínez-Flores, H.E., y García-Pérez, M.E. (2017). Polifenoles: propiedades antioxidantes y toxicológicas. *Revista de la Facultad de Ciencias Químicas*, 16, 15-29.
- Venereo, J.R., 2002. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Rev Cubana Med Milit*, 31(2), 126-133.
- Viada-Pupo, E., Gómez-Robles, L., Campaña-Marrero, Y. R., 2017. Estrés oxidativo. *Correo Científico Médico*, 21(1), 171-186.
- Vilar, M., 2006. Cultivo de berzas: valor agronómico y nutricional (licenciatura). Universidad de Vigo, Argentina.
- Villavicencio, B. (2016). Caracterización químico-nutricional y actividad antioxidante de *Capsicum pubescens* (dos muestras). U. Cayetano Heredia.
- Wang, W., Wang, X., Ye, H., Hu, B., Zhou, L., Jabbar, S., ... Shen, W. (2016). Optimization of extraction, characterization and antioxidant activity of polysaccharides from *Brassica rapa* L. *International Journal of Biological Macromolecules*, 82, 979–988. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.10.051>

Anexos

Anexo A: Matriz de consistencia

PROBLEMAS	OBJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES
<p>Problema general</p> <p>¿Cuál es la actividad antioxidante del extracto etanólico de las flores de <i>Brassica rapa</i> subsp. campestris (L.) Clapham “flor de nabo”?</p>	<p>Objetivo General</p> <p>Evaluar la actividad antioxidante del extracto etanólico de las flores de <i>Brassica rapa</i> subsp. campestris (L.) Clapham “flor de nabo”.</p>	<p>Hipótesis General</p> <p>El extracto etanólico de las flores de <i>Brassica rapa</i> subsp. campestris (L.) Clapham “flor de nabo” presenta actividad antioxidante.</p>	<p>Variable Dependiente</p> <p>Actividad antioxidante</p>
<p>Problema específico</p> <p>¿Cuál es la capacidad antioxidante del extracto etanólico de las flores de <i>Brassica rapa</i> subsp. campestris (L.) Clapham “flor de nabo” a diferentes concentraciones?</p>	<p>Objetivo específico</p> <p>Evaluar la actividad antioxidante del extracto etanólico de las flores de <i>Brassica rapa</i> subsp. campestris (L.) Clapham “flor de nabo” a diferentes concentraciones.</p>	<p>Hipótesis específico</p> <p>El extracto etanólico de las flores de <i>Brassica rapa</i> subsp. campestris (L.) Clapham “flor de nabo” presenta actividad antioxidante a diferentes concentraciones.</p>	<p>Variable Independiente</p> <p>Metabolitos de extracto etanólico</p>
<p>¿Cuál es la capacidad antioxidante del extracto etanólico de las flores de <i>Brassica rapa</i> subsp. campestris (L.) Clapham “flor de nabo” frente a trolox?</p>	<p>Evaluar la actividad antioxidante del extracto etanólico de las flores de <i>Brassica rapa</i> subsp. campestris (L.) Clapham “flor de nabo” frente a trolox.</p>	<p>El extracto etanólico de <i>Brassica rapa</i> subsp. campestris (L.) Clapham “flor de nabo” presenta mejor actividad antioxidante que trolox.</p>	<p>Metabolitos del extracto etanólico</p>
<p>¿Cuál es la capacidad citotóxica del extracto etanólico de las flores de <i>Brassica rapa</i> subsp. campestris (L.) Clapham “flor de nabo” de inhibición del crecimiento en semillas de lechuga?</p>	<p>Determinar la actividad citotóxica del extracto etanólico de las flores de <i>Brassica rapa</i> subsp. campestris (L.) Clapham “flor de nabo” de inhibición del crecimiento en semillas de lechuga.</p>	<p>El extracto etanólico de las flores de <i>Brassica rapa</i> subsp. campestris (L.) Clapham “flor de nabo” presenta actividad citotóxica de inhibición del crecimiento en semillas de lechuga.</p>	<p>Metabolitos del extracto etanólico</p>

Anexo B: Instrumentos

Recolección de datos para el ensayo preliminar de la marcha fitoquímica.

Fracción	Reactivo	Metabolitos primarios secundarios	Resultados
A	Rvo. Ninhidrina	Grupo amino libre	
	Rvo. Gelatina	Taninos	
	Rvo. Tricloruro Férrico	Compuestos fenólicos	
	Rvo. Shinoda	Flavonoides	
B	Rvo. Libermann Burchard	Triterpernos / esteroides	
	Rvo. Borntranger	Naftoquinonas/Antraquinonas	
C	Rvo. Kedde	Glicósidos cardiacos	
	Rvo. Libermann Burchard	Triterpernos / esteroides	
	Rvo. Mayer	Alcaloides	
	Rvo. Dragendorff / Wagner	Alcaloides	
D	Rvo. Shinoda	Favonoides	
	Rvo. Rosenheim	Leucoantocianidinas/catequinas	
	Rvo. Kedde	Glicósidos cardiacos	
	Rvo. Libermann Burchard	Triterpernos / esteroides	
	Rvo. Mayer	Alcaloides	
E	Rvo. Shinoda	Flavonoides	
	Rvo. Rosenheim	Leucoantocianidinas/catequinas	

Recolección de datos del ensayo preliminar de solubilidad.

Solventes	Solubilidad
Diclorometano	
Cloroformo	
Hexano	
Metanol	
Etanol	
Agua destilada	

Recolección de datos de la actividad antioxidante por el método DPPH

Concentración ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbancia media	% inhibición	IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)
0			
50			
100			
250			
500			
1000			

Recolección de datos de la actividad antioxidante DPPH al estándar Trolox.

Concentración ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbancia media	% inhibición	IC ₅₀ ($\mu\text{g/ml}$)
0			
62.5			
125			
250			
500			

Anexo C: Data consolidado de resultados

Estadísticos descriptivos de ensayo antioxidante

	Grupo		Estadístico	Error estándar	
IC ₅₀	Extracto	Media	798,972336	16,9220805	
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	726,162500	
			Límite superior	871,782172	
		Media recortada al 5%		.	
		Mediana		792,230312	
		Varianza		859,070	
		Desviación estándar		29,3099032	
		Mínimo		773,6209	
		Máximo		831,0658	
		Rango		57,4449	
		Rango intercuartil		.	
		Asimetría		,980	1,225
		Curtosis		.	.
	Trólox	Media		47,026489	3,1632891
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	33,415954	
			Límite superior	60,637023	
		Media recortada al 5%		.	
		Mediana		47,880435	
		Varianza		30,019	
		Desviación estándar		5,4789775	
		Mínimo		41,1707	
		Máximo		52,0284	
Rango		10,8577			
Rango intercuartil		.			
Asimetría		-,684	1,225		
Curtosis		.	.		

Estadística descriptiva de ensayo de citotoxicidad

	Grupo		Estadístico	Error estándar	
Radícula	Control	Media	14,60	,245	
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	13,92	
			Límite superior	15,28	
		Media recortada al 5%		14,61	
		Mediana		15,00	
		Varianza		,300	
		Desviación estándar		,548	
		Mínimo		14	
		Máximo		15	
		Rango		1	
		Rango intercuartil		1	
		Asimetría		-,609	,913
		Curtosis		-3,333	2,000
		100 mg	Media		1,20
	95% de intervalo de confianza para la media		Límite inferior	,64	
			Límite superior	1,76	
	Media recortada al 5%		1,17		
	Mediana		1,00		
	Varianza		,200		
	Desviación estándar		,447		
	Mínimo		1		
	Máximo		2		
	Rango		1		
	Rango intercuartil		1		
	Asimetría		2,236	,913	
	Curtosis		5,000	2,000	
	30 mg		Media		1,20
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	,64	
			Límite superior	1,76	
		Media recortada al 5%		1,17	
		Mediana		1,00	
		Varianza		,200	
		Desviación estándar		,447	
		Mínimo		1	
		Máximo		2	
		Rango		1	
Rango intercuartil		1			

		Asimetría	2,236	,913
		Curtosis	5,000	2,000
3 mg		Media	3,80	1,715
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	-,96	
		Límite superior	8,56	
		Media recortada al 5%	3,61	
		Mediana	2,00	
		Varianza	14,700	
		Desviación estándar	3,834	
		Mínimo	1	
		Máximo	10	
		Rango	9	
		Rango intercuartil	7	
		Asimetría	1,407	,913
		Curtosis	1,331	2,000
1 mg		Media	4,00	1,095
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	,96	
		Límite superior	7,04	
		Media recortada al 5%	3,89	
		Mediana	4,00	
		Varianza	6,000	
		Desviación estándar	2,449	
		Mínimo	2	
		Máximo	8	
		Rango	6	
		Rango intercuartil	4	
		Asimetría	1,361	,913
		Curtosis	2,000	2,000
0.3 mg		Media	11,60	,245
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	10,92	
		Límite superior	12,28	
		Media recortada al 5%	11,61	
		Mediana	12,00	
		Varianza	,300	
		Desviación estándar	,548	
		Mínimo	11	
		Máximo	12	
		Rango	1	
		Rango intercuartil	1	
		Asimetría	-,609	,913

	0.1 mg	Curtosis		-3,333	2,000
		Media		12,40	,678
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	10,52	
			Límite superior	14,28	
		Media recortada al 5%		12,44	
		Mediana		13,00	
		Varianza		2,300	
		Desviación estándar		1,517	
		Mínimo		10	
		Máximo		14	
		Rango		4	
		Rango intercuartil		3	
		Asimetría		-1,118	,913
		Curtosis		1,456	2,000
Hipocótilo	Control	Media		11,40	,245
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	10,72	
			Límite superior	12,08	
		Media recortada al 5%		11,39	
		Mediana		11,00	
		Varianza		,300	
		Desviación estándar		,548	
		Mínimo		11	
		Máximo		12	
		Rango		1	
		Rango intercuartil		1	
		Asimetría		,609	,913
	Curtosis		-3,333	2,000	
	100 mg	Media		1,40	,245
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	,72	
			Límite superior	2,08	
		Media recortada al 5%		1,39	
		Mediana		1,00	
		Varianza		,300	
		Desviación estándar		,548	
		Mínimo		1	
		Máximo		2	
Rango		1			
Rango intercuartil		1			
Asimetría		,609	,913		
Curtosis		-3,333	2,000		

30 mg	Media		1,60	,245
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	,92	
		Límite superior	2,28	
	Media recortada al 5%		1,61	
	Mediana		2,00	
	Varianza		,300	
	Desviación estándar		,548	
	Mínimo		1	
	Máximo		2	
	Rango		1	
	Rango intercuartil		1	
	Asimetría		-,609	,913
	Curtosis		-3,333	2,000
	10 mg	Media		3,40
95% de intervalo de confianza para la media		Límite inferior	2,29	
		Límite superior	4,51	
Media recortada al 5%		3,33		
Mediana		3,00		
Varianza		,800		
Desviación estándar		,894		
Mínimo		3		
Máximo		5		
Rango		2		
Rango intercuartil		1		
Asimetría		2,236	,913	
Curtosis		5,000	2,000	
3 mg		Media		4,60
	95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	2,72	
		Límite superior	6,48	
	Media recortada al 5%		4,56	
	Mediana		4,00	
	Varianza		2,300	
	Desviación estándar		1,517	
	Mínimo		3	
	Máximo		7	
	Rango		4	
	Rango intercuartil		3	
	Asimetría		1,118	,913
	Curtosis		1,456	2,000
	1 mg	Media		7,20

		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	3,99	
			Límite superior	10,41	
		Media recortada al 5%		7,22	
		Mediana		8,00	
		Varianza		6,700	
		Desviación estándar		2,588	
		Mínimo		4	
		Máximo		10	
		Rango		6	
		Rango intercuartil		5	
		Asimetría		-,363	,913
		Curtosis		-2,413	2,000
		0.3 mg		Media	
95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior			9,34	
	Límite superior			13,86	
Media recortada al 5%				11,56	
Mediana				11,00	
Varianza				3,300	
Desviación estándar				1,817	
Mínimo				10	
Máximo				14	
Rango				4	
Rango intercuartil				4	
Asimetría				,567	,913
Curtosis				-2,231	2,000
0.1 mg		Media		10,00	,548
		95% de intervalo de confianza para la media	Límite inferior	8,48	
			Límite superior	11,52	
		Media recortada al 5%		10,06	
		Mediana		10,00	
		Varianza		1,500	
		Desviación estándar		1,225	
		Mínimo		8	
		Máximo		11	
		Rango		3	
		Rango intercuartil		2	
		Asimetría		-1,361	,913
		Curtosis		2,000	2,000

Anexo D: Testimonios fotográficos

Figura 10. *Flor de nabo*. Secado de las flores de *Brassica rapa* "Flor de nabo"
 Fuente: Elaboración propia



Figura 11. *Tamizaje fitoquímico*. Resultado de la fracción A y B
 Fuente: Elaboración propia.



Figura

12.

Tamizaje fitoquímico. Resultado de la fracción C, D y E
 Fuente: Elaboración propia.

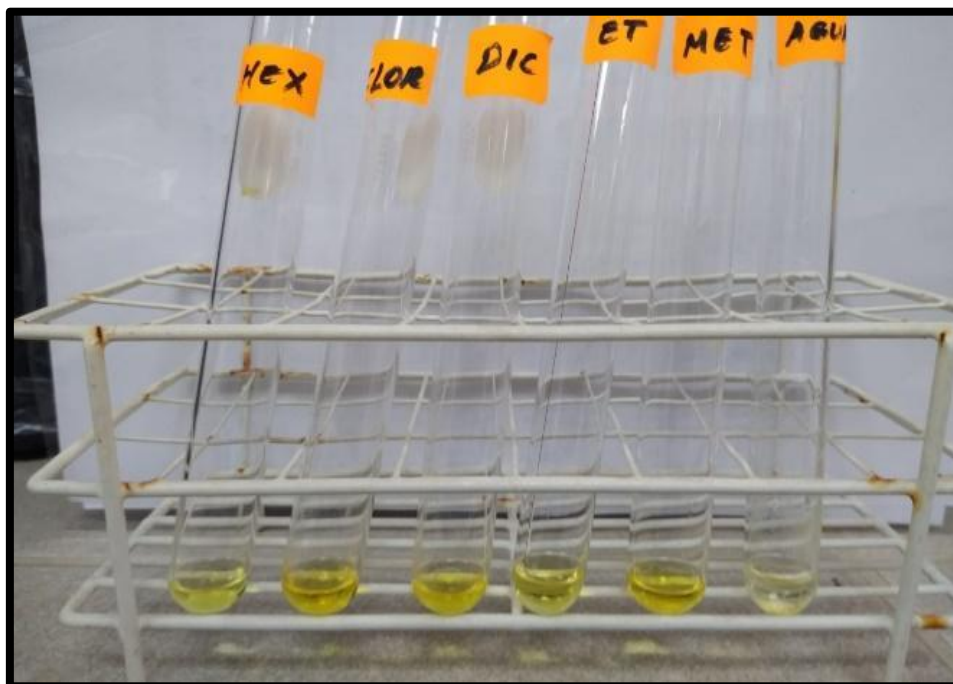


Figura 13. *Ensayo de solubilidad del extracto seco de las flores de Brassica rapa "Flor de nabo"*
Fuente: Elaboración propia.

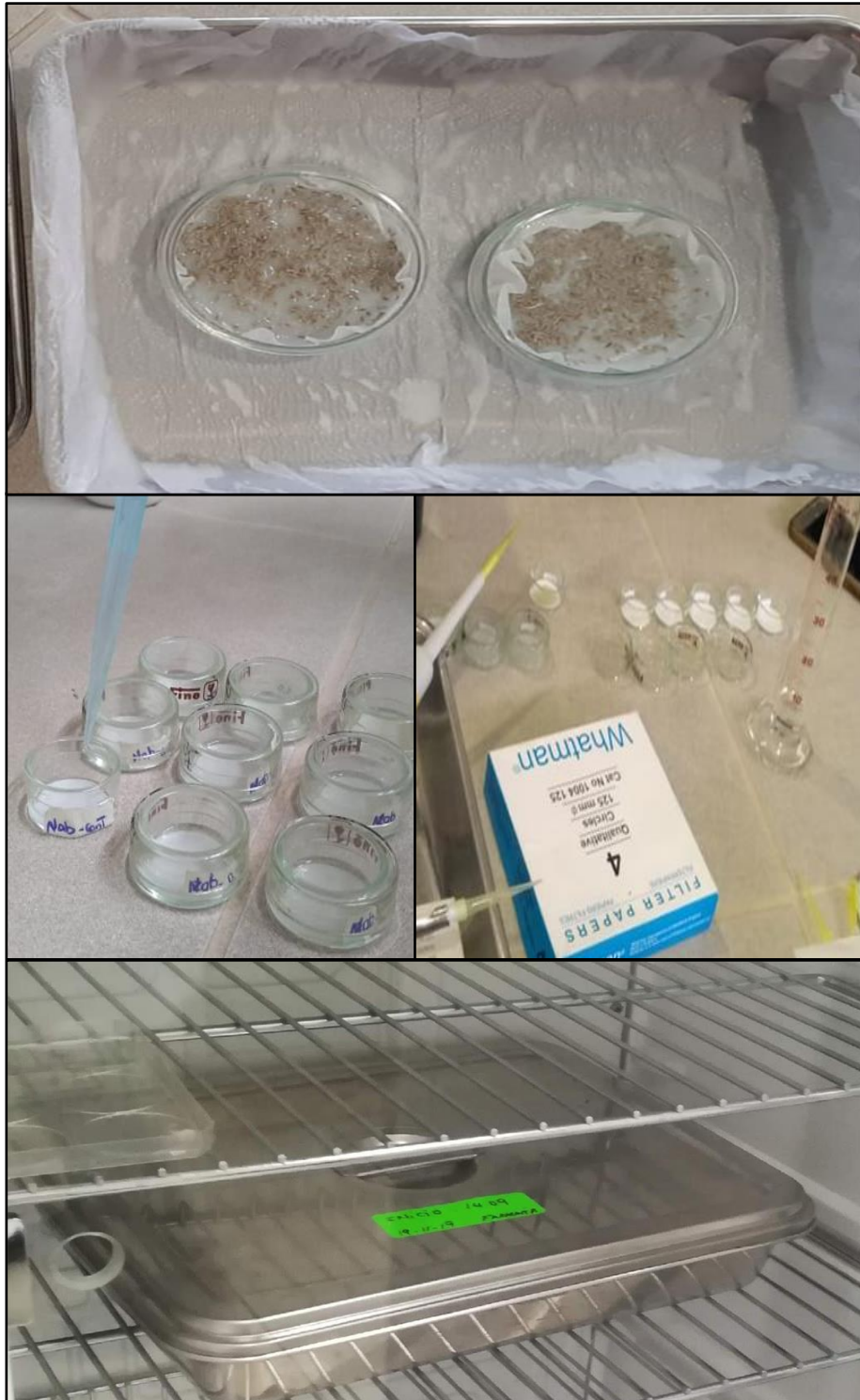


Figura 14. *Ensayo de la capacidad citotóxica* Procedimiento del ensayo de la capacidad citotóxica en semillas de lechuga.

Fuente: Elaboración propia.





Figura 16. *Crecimiento de semillas. Lectura a diferentes concentraciones.*
Fuente: Elaboración propia.

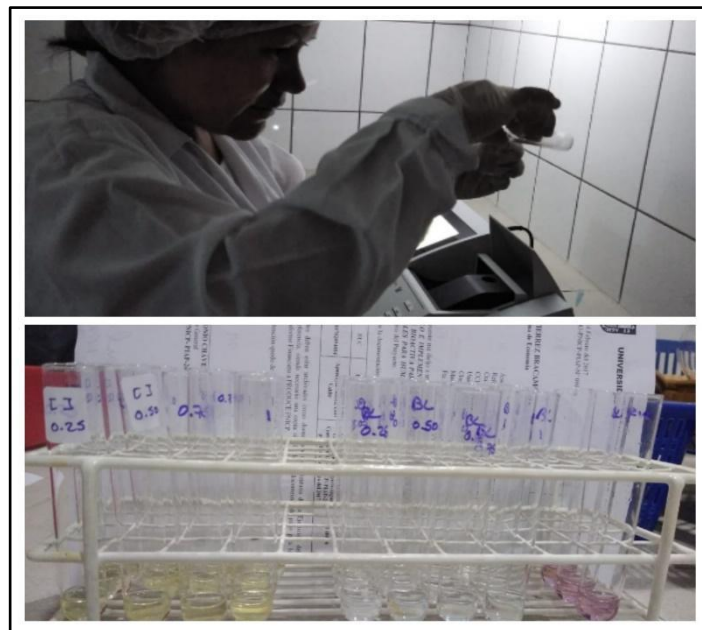


Figura 17. *Actividad antioxidante de trólox. Ensayo de la actividad del estándar trólox y lectura.*
Fuente: Elaboración propia.



Figura 18.
Actividad

antioxidante por el método de DPPH. Preparación de soluciones a diferentes concentraciones y lectura del ensayo antioxidante por el método de DPPH

Fuente: Elaboración propia.

Anexo F: Juicio de expertos

FICHA DE VALIDACION DEL INSTRUMENTO POR JUICIO DE EXPERTOS

III. DATOS GENERALES

3.1 Apellidos y nombres del experto: SOH ZAVOLA SILVANA

3.2 Grado académico: DOCTORA

3.3 Cargo e institución donde labora: DECANA - UNID

3.4 Título de la Investigación:

3.5 Autor del instrumento:

3.6 Nombre del instrumento:

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.					82%
22. OBJETIVIDAD	Esta expresado en conductas observables.				80%	
23. ACTUALIDAD	Adecuado al alcance de ciencia y tecnología.					81%
24. ORGANIZACIÓN	Existe una organización lógica.				80%	
25. SUFICIENCIA	Comprende los aspectos de cantidad y calidad.					83%
26. INTENCIONALIDAD	Adecuado para valorar aspectos del estudio.					85%
27. CONSISTENCIA	Basados en aspectos Teóricos-Científicos y del tema de estudio.					82%
28. COHERENCIA	Entre los índices, indicadores, dimensiones y variables.					84%
29. METODOLOGIA	La estrategia responde al propósito del estudio.					84%
30. CONVENIENCIA	Genera nuevas pautas en la investigación y construcción de teorías.				80%	
SUB TOTAL						
TOTAL						

VALORACION CUANTITATIVA (Total x 0.20): 82.1%

VALORACION CUALITATIVA: Excelente

OPINIÓN DE APLICABILIDAD: Aplacable

Lugar y fecha: 24/02/2020

Firma y Posfirma del experto: [Firma]

DNI: 25697788

Anexo G: Constancia de la clasificación Botánica de *Brassica rapa*

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



"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"

CONSTANCIA N° 145-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 (planta completa) recibida de **Yeni Gladiz Cuti Chullo y Yennifer Beatriz Prado Paredes**, estudiantes de la Universidad Interamericana para el Desarrollo; ha sido estudiada y clasificada como: ***Brassica rapa* subsp. *campestris* (L.) Clapham**; y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

Rrea DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB CLASE: DILLENIIDAE

ORDEN: CAPPARALES

FAMILIA: BRASSICACEAE

GENERO: *Brassica*

ESPECIE: *Brassica rapa* subsp. *campestris* (L.) Clapham

Nombre vulgar: "Flor de nabo"

Determinado por: Mg. Asunción A. Cano Echevarría.

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



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

ACE/ddb

Lima, 07 de mayo de 2019