



Facultad de Medicina Humana y Ciencias de la Salud
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

TESIS:

“CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO ACUOSO DE *Brassica napus* L. (NABO), FRENTE AL SISTEMA GENERADOR DE RADICAL LIBRE 2,2-DIFENIL-1-PICRILHIDRAZILO (DPPH)”

**PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

Presentado por:

MELISA ANGELA, CONDORI CUEVA

ASESOR:

Mg. Karen Vanessa Quiroz Cornejo

Mg. Cecilia Ignacio Punin

Lima, Perú, noviembre 2018

DEDICATORIA

A Dios por guiarme por el camino correcto, por darme salud y bendición para alcanzar mis metas como persona y profesional.

A mis padres; por brindarme su cariño, amor y apoyo incondicional ya que son el principal motivo para la construcción de mi vida profesional.

A mi hermanos; Juan Carlos y Rosario por creer, confiar en mí y su constante apoyo incondicional.

AGRADECIMIENTO

A Dios por haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera, por brindarme una vida llena de aprendizajes, por ser mi fortaleza en los momentos de debilidad.

A mis asesores, por su paciencia, orientación y ayuda para la realización de este trabajo, así como por su tiempo y por sus valiosos consejos.

A mis amigos por ser mis compañeros en todo momento, y el aliento a culminar un reto que empezamos juntos.

ÍNDICE

<i>Dedicatoria</i>	<i>ii</i>
<i>Agradecimiento</i>	<i>iii</i>
<i>Índice general</i>	<i>iv</i>
<i>Índice de figuras</i>	<i>vii</i>
<i>Índice de tablas</i>	<i>viii</i>
<i>Índice de cuadros</i>	<i>ix</i>
<i>Índice de gráficos</i>	<i>x</i>
<i>Resumen</i>	<i>xi</i>
<i>Absract</i>	<i>xii</i>
<i>introducción</i>	<i>xiii</i>

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1.Descripción de la situación problemática	14
1.2.Formulación del problema.....	15
1.2.1. Problema general	15
1.2.2. Problemas específicos	16
1.3.Objetivos de la investigación	16
1.3.1 Objetivo general	16
1.3.2 Objetivos específicos.....	16
1.4.Justificación, Importancia y Viabilidad de la investigación	17
1.3.1 Justificación de la investigación	17
1.3.2 Importancia de la investigación	18
1.5.Limitaciones del estudio.....	18

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes	19
2.1.1. A nivel Nacional	19
2.1.2. A nivel Internacional.....	21
2.2. Bases Teóricas.....	23
2.2.1. Plantas medicinales	23

2.2.2.	Principios activos de las plantas medicinales.....	24
2.2.3.	<i>Brassica napus</i> (Nabo).....	28
2.2.4.	Extracción de sustancias activas de especies vegetales	36
2.2.5.	Actividad antioxidante	37
	2.2.5.1. Tipos de antioxidantes	39
2.2.6.	Daño oxidativo	41
	2.2.6.1. Metabolismo de oxígeno y enfermedades humanas	41
	2.2.6.2. Concepto de radical libre	43
	2.2.6.3. Origen de los radicales libres en el organismo.....	44
	2.2.6.4. Clasificación de los radicales libres.....	47
	2.2.6.5 lesiones moleculares producidas por los radicales libre.....	47
2.2.7.	Determinación de la actividad antioxidante	52
2.3.	Definición de términos básicos.....	54

CAPITULO III: HIPÓTESIS Y VARIABLES

3.1.	Formulación de hipótesis.....	56
	3.1.1. Hipótesis general	56
	3.1.2. Hipótesis secundarias	56
3.2.	Identificación de variables	57
3.3.	Operacionalizacion de variables.....	58

CAPÍTULO IV: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

4.1.	Tipo y nivel de investigación.....	59
	4.1.1. Tipo de investigación.....	59
	4.1.2. Nivel de investigación.....	59
4.2.	Método y diseño de la investigación.....	60
	4.2.1. Método de la investigación.....	60
	4.2.2. Diseño de la investigación.....	60
4.3.	Población y muestreo de la investigación.....	60
	4.3.1. Población	60
	4.3.2. Muestra	60
4.4.	Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	60

4.4.1. Técnicas.....	60
4.4.2. Instrumentos	61
4.4.3. Procedimientos	61

CAPÍTULO V: ANALISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

5.1. Resultados de la investigación	69
---	----

CAPÍTULO VI: DISCUSIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

6.1. Discusión de la investigación	76
--	----

CONCLUSIONES	80
---------------------------	-----------

RECOMENDACIONES	81
------------------------------	-----------

FUENTES DE INFORMACIÓN	82
-------------------------------------	-----------

ANEXOS	90
---------------------	-----------

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA N°1: Estructura de los glucosinolatos	26
FIGURA N°2: Hoja y Raíz de <i>Brassica napus</i> (nabo)	31
FIGURA N°3: Mecanismo de lesión de radicales libres	53
FIGURA N°4: Reacción química del radical DPPH	54
FIGURA N°5: Obtención del extracto.....	65
FIGURA N°6: Determinación de la capacidad antioxidante	71
FIGURA N°7: Recolección de <i>Brassica napus</i> L.(nabo)	101
FIGURA N°8: Selección de <i>Brassica napus</i> L. (nabo)	101
FIGURA N°9: Prueba para flavonoides.....	102
FIGURA N°10: Prueba para antocianinas y lactonas	102
FIGURAN° 11: Identificación de alcaloides.....	103
FIGURA N°12: Identificación de fenoles y prueba para aminoácidos	103
FIGURA N°13: Identificación de triterpenos y azúcares reductores.....	104
FIGURA N°14: Preparación de la solución DPPH.....	105
FIGURA N°15: Cambio de coloración del DPPH	105

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N°1: Valor nutricional de <i>Brassica napus</i> L.(nabo)	35
TABLA N°2: Coeficiente inhibición 50 según método DPPH del extracto acuoso de <i>Brassica napus</i> parte hoja y parte raíz	77
TABLA N°3: Contenido de vitamina C del extracto acuoso de las hojas y raíz de <i>Brassica napus</i> (nabo)	78

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO N°1: Fitoquímicos anticancerígenos	28
CUADRO N°2: Clasificación taxonómica del Nabo	29
CUADRO N°3: Identificación de variables	59
CUADRO N°4: Operacionalización de variables	60
CUADRO N°5: Marcha fitoquímica del extracto acuoso de <i>Brassica napus</i>	73

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRAFICO N°1: Capacidad antioxidante de <i>Brassica napus</i> L.(nabo) parte hoja según método DPPH	74
GRAFICO N°2: Capacidad antioxidante de <i>Brassica napus</i> L. (nabo) parte hoja según método DPPH	75
GRAFICO N°3: Comparación de la capacidad antioxidante de <i>Brassica napus</i> (nabo) parte hoja y parte raíz según método DPPH	76

RESUMEN

Brassica napus L.(nabo) pertenece a la familia de las Brassicaceas, se encuentra dentro del género *Brassica*, es muy utilizado en la alimentación como un ingrediente en muchos platos, esta planta tiene muchos usos medicinales y metabolitos secundarios como los flavonoides y los glucosinolatos que por su naturaleza son los que le confieren la capacidad antioxidante. **Objetivo:** Determinar la capacidad antioxidante del extracto acuoso de las hojas y raíz de *Brassica napus* L. (nabo) frente al sistema generador de radical DPPH. **Métodos:** El trabajo se desarrolló utilizando el método 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) las pruebas se realizaron por triplicado para demostrar la capacidad antioxidante. El tipo de investigación aplicado fue analítico, experimental, longitudinal y prospectivo. **Resultados:** Se observó que el extracto acuoso de la hojas del nabo ejerce mayor capacidad antioxidante, presentando un porcentaje de inhibición de 66.27% y un IC 50 de 6.50 mg/ml, mientras que el extracto acuoso de la raíz tuvo un porcentaje de inhibición de 18.05% con un IC 50 de 22.33mg/ml. El contenido de vitamina C en la hoja fue de 32.33mg/ml y en la raíz fue de 7.33mg/ml. **Conclusiones:** Las hojas del extracto acuoso de *Brassica napus* L.(Nabo), ejerce mayor capacidad antioxidante comparándola con la raíz. A mayor concentración de extracto acuoso de *Brassica napus* L. (Nabo) se evidencia mayor capacidad antioxidante para ambas muestras. Así mismo presenta una correlación directa de su capacidad antioxidante con el contenido de vitamina C.

Palabras clave: Antioxidante, nabo, capacidad antioxidante, concentración.

ABSTRAC

Brassica napus L. (turnip) belongs to the Brassicaceae family, is within the Brassica genus, is widely used in food as an ingredient in many dishes, this plant has many medicinal uses and secondary metabolites such as flavonoids and glucosinolates that by their nature are those that confer antioxidant capacity. **Objective:** To determine the antioxidant capacity of the aqueous extract of the leaf and root of Brassica napus L. (turnip) against the DPPH radical generating system. **Methods:** The work was developed using the method 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) tests were performed in triplicate to demonstrate the antioxidant capacity. The type of research applied was analytical, experimental, longitudinal and prospective. **Results:** In the determination of the antioxidant capacity of the leaves and the root of Brassica napus L. (turnip), it was observed that the leaf sample of the turnip exerts a remarkably greater antioxidant capacity. The IC value for the leaves is 6.50 mg / ml, while for the root it is 22.33mg / ml, which indicates that with a lower concentration of the sample, a 50% reduction in DPPH is achieved. The vitamin C content in the leaf was 32.33mg / ml and in the root was 7.33mg / ml. **Conclusions:** The leaves of the aqueous extract of Brassica napus L. (Nabo) exerts greater antioxidant capacity compared with the root. A higher concentration of aqueous extract of Brassica napus L. (Nabo) shows greater antioxidant capacity for both samples. Likewise, it presents a direct correlation of its antioxidant capacity with the vitamin C content.

Key words: Antioxidant, turnip, antioxidant capacity, concentration.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer, Parkinson, cáncer y diferentes cardiopatías; actualmente han cobrado gran importancia en las investigaciones científicas evidenciándose que el aumento del estrés oxidativo interviene en el desarrollo de estas patologías. (1)

Numerosos estudios epidemiológicos demuestran que el consumo de frutas y hortalizas presentan protección contra el daño oxidativo, tal mecanismo se atribuye a la presencia de antioxidantes como compuestos fenólicos y vitamina C, capaces de atrapar radicales libres.(1)

Los antioxidantes de origen vegetal son los más empleados, ya que dichas especies son capaces de neutralizar elementos tóxicos de su entorno, motivo por el cual han sido empleados durante siglos por la población a nivel mundial.(2)

Precisamente una de estas verduras es *Brassica napus* L.(nabo), que es muy utilizado en la alimentación como un ingrediente en muchos platos, esta planta tiene muchas propiedades medicinales; como antibacterianas, antitusígenas, diuréticas, expectorantes entre otras, gracias a sus metabolitos secundarios como los flavonoides y glucosinatos que son los que le confieren el potencial de ser antioxidante.

Es por ello que la presente investigación tuvo como objetivo principal determinar la capacidad antioxidante de las hojas y raíz de *Brassica napus* L. (nabo) mediante el método conocido como 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPHH).

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. Descripción de la situación problemática

El estrés oxidativo se puede definir como una situación de desequilibrio entre la producción de moléculas oxidantes frente a la presencia de moléculas antioxidantes, donde el sistema de defensa del organismo tanto endógenos como exógenos es superado por la producción de radicales libres.(3) El daño celular producto del estrés oxidativo, está involucrado en la génesis de muchas enfermedades, como el cáncer, enfermedades neurodegenerativas, hepáticas, articulares, renales, daño endotelial y hasta procesos fisiológicos normales como el propio envejecimiento y la respiración; en ello se encuentra el oxígeno, considerado un elemento paradójico ya que es una molécula imprescindible debido a que juega un papel fundamental en el metabolismo y en el mantenimiento de la viabilidad celular. Sin embargo, este a su vez puede producir compuestos o especies reactivas ROS. Estos agentes oxidantes pueden dañar a moléculas biológicas como las

proteínas, carbohidratos, lípidos y ADN y generar el desarrollo de diferentes enfermedades.(4)

El interés por los antioxidantes naturales se ha intensificado, por dos razones: La baja seguridad que presenta el consumo de los alimentos antioxidantes sintéticos y la idea que el consumo de ciertos agentes fitoquímicos pueden intervenir de manera positiva la patología de las enfermedades crónicas y el proceso de envejecimiento, además se ha demostrado en diversas investigaciones científicas que las sustancias naturales son más seguros que los compuestos sintéticos, por consiguiente son comercialmente los más aceptados ya sea como inhibidores enzimáticos, conservantes, reguladores, entre otros.(5)

En efecto la población suele añadir sustancias antioxidantes en su dieta por medio de suplementos vitamínicos, pero sobre todo a través de plantas medicinales; es por ello que en la presente investigación se estudia a las hojas y a la raíz de *Brassica napus* (nabo), para determinar cuál de las partes presenta mayor capacidad antioxidante según la concentración de la muestra frente al radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH).

1.2. Formulación del problema

1.2.1. Problema General

- ¿Cuál es la capacidad antioxidante del extracto acuoso de *Brassica napus* L.(nabo) frente al sistema generador de radical DPPH ?

1.2.2. Problemas específicos

- ¿Cuál es la capacidad antioxidante del extracto acuoso de las hojas de *Brassica napus* L. (nabo) frente al sistema generador de radical libre DPPH?
- ¿Cuál es la capacidad antioxidante del extracto acuoso de la raíz *Brassica napus* L. (nabo) frente al sistema generador de radical DPPH?
- ¿Cuál de los extractos acuosos de *Brassica napus* L. (nabo) parte hoja y raíz presenta mejor capacidad antioxidante frente al sistema generador de radical libre DPPH?
- ¿Cuál de los extractos acuosos de *Brassica napus* L. (nabo) parte hoja y raíz presenta mayor contenido de vitamina C?

1.3. Objetivos de la Investigación

1.3.1. Objetivo General

- Determinar la capacidad antioxidante del extracto acuoso de *Brassica napus* L. (nabo), frente al sistema generador de radical DPPH.

1.3.2. Objetivos Específicos

- Determinar la capacidad antioxidante del extracto acuoso de las hojas de *Brassica napus* L. (nabo), frente al generador de radical DPPH.
- Determinar la capacidad antioxidante del extracto acuoso de la raíz de *Brassica napus* L. (nabo), frente al sistema generador de radical DPPH.

- Comparar la capacidad antioxidante del extracto acuoso de *Brassica napus* L. (nabo) de las hojas y raíz frente al sistema generador de radical libre DPPH .
- Determinar el contenido de vitamina C del extracto acuoso de *Brassica napus* L. (nabo) de las hojas y raíz.

1.4. Justificación e Importancia de la investigación

1.4.1. Justificación de la investigación

En los últimos años se ha incrementado el predominio de las enfermedades no transmisibles, siendo, más frecuentes las enfermedades cardiovasculares y diversos tipos de cáncer, consideradas como las principales causas de muerte. Todo ello ha conllevado a que se incremente el interés por el estudio de los procesos relacionados con las especies reactivas de oxígeno, los que están íntimamente relacionados con el estrés oxidativo y la función que cumplen los antioxidantes. (6)

Actualmente existen diversos productos alimenticios consumidos por la comunidad que contienen antioxidantes, lamentablemente en el desarrollo de los mismos se agregan sustancias sintéticas como preservantes, conservantes entre otros, que suelen ocasionar efectos nocivos para la salud. (6)

Cabe mencionar que diversas investigaciones científicas a nivel internacional han demostrado que existen especies vegetales en la naturaleza que podrían proporcionar alternativas de antioxidantes, tal es el caso del nabo, que es considerado una hortaliza que ha logrado adaptarse a diferentes climas a nivel mundial; teniéndose en cuenta que el clima, el suelo, los diferentes modos de cultivo entre otros influyen en sus componentes fitoquímicos, en esta

investigación se buscó aportar conocimiento sobre los principales metabolitos responsables de su capacidad antioxidante, de igual manera al ser una verdura consumida regularmente por la población permitirá que reconozcan sus beneficios originando que sea un alimento predilecto en la dieta.(7)

1.4.2. Importancia de la investigación

La ejecución de la presente investigación se reviste de importancia ya que contribuye con información científica respondiendo al interés de naturaleza académica para quienes están en búsqueda constante de la renovación de conocimientos y nuevas fuentes teóricas, así mismo permitirá que la sociedad tome conciencia de sus beneficios para la salud.

1.5. Limitaciones del estudio

- El presente estudio utiliza como único método de evaluación al Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH), ya que para realizar otros métodos se requiere de más tiempo para su realización.
- Carencia de antecedentes sobre investigaciones referente al efecto antioxidante de *Brassica napus L.* (nabo).

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1. Antecedentes

2.1.1. A nivel Nacional

Fernandez G, Chambi J, Ayme H, ESTUDIO ETNOBOTÁNICO Y FITOQUÍMICO DE HOJAS DE *Brassica oleracea* L (COL MORADA) Revista ciencia y desarrollo, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú, **2015**. Esta investigación tuvo como objetivo realizar el análisis fitoquímico de *Brassica oleracea*. Se escogieron las hojas que estaban localizadas en la cabeza de la col es decir la parte comestible, a las cuales se les hizo la deshidratación parcial, luego se procedió hacer la maceración, posteriormente se hizo el tamizaje fitoquímico utilizando los reactivos de molish, FeCL₃, shinoda, drangedorf, mayer entre otros; se detectó compuestos fenólicos, flavonoides, glucósidos, taninos, antocianinas, y alcaloides, además con la realización de la cromatografía en capa fina se propuso tres probables flavonoides dos de núcleo flavona 1 de flavona. (8)

Hernandez G, Castañeda C, EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIOXIDANTE DE LAS HOJAS DE *Lepidium peruvianum chacon* (MACA), para obtener el título profesional de Ingeniero en Industrias Alimentarias en la Universidad San Martín de Porres, Lima-Perú, **2013**. Esta investigación tuvo la finalidad de evaluar la capacidad antioxidante de la Maca, donde se utilizaron hojas molidas, se prepararon por maceración tres extractos: En éter etílico, en agua destilada y en alcohol etílico, posteriormente se filtraron y se pusieron en un rota vapor. Para obtener la captación de radical libre se utilizó el ensayo DPPH y el ácido ascórbico como grupo control, presentando mayor captación de radical libre el extracto en éter etílico con una actividad de 99.63% y de 96.83% a una concentración de 50 y 100 µg/ml; mientras que el extracto acuoso presentó una actividad de 45.53% y 68.02% en las mismas concentraciones. Los resultados obtenidos demuestran que la maca presenta actividad antioxidante, la que podría estar relacionada con la presencia de flavonoides y antocianinas. (9)

Arnao I, Suarez S, Cisneros R y Trabucco J, EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS DE LA RAÍZ Y LAS HOJAS DE *Smallantus sonchifolius* (YACÓN), Artículo de tesis, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Perú, **2012**. El propósito de esta investigación fue evaluar la capacidad antioxidante del extracto acuoso de las hojas y raíz del yacón. Se prepararon extractos acuosos de la hoja y raíz en las concentraciones de 50 µl/ml y 100 µl/ml respectivamente. Las muestras fueron traídas del departamento de Cajamarca, seguidamente se determinó la capacidad antioxidante *in vitro* por el ensayo DPPH; así mismo se halló la cantidad total de flavonoides y fenoles de los extractos por separado. El coeficiente de inhibición del extracto

acuoso de las hojas fue 7.53 mg/ml y el de la raíz fue de 14mg/ml, así también el contenido de fenoles y flavonoides de extracto de la raíz fue menor que el de las hojas. Se pudo concluir que el extracto de la hoja presentó mayor actividad antioxidante.(10)

2.1.2. A nivel internacional

Palomo G, Gutiérrez C, Astudillo S, Rivera S, Torres U, EFECTO ANTIOXIDANTE DE FRUTAS Y HORTALIZAS, Santiago- Chile, 2009. Este estudio buscó determinar la capacidad antioxidante de hortalizas y frutas. Las cuales fueron adquiridas en época de cosecha, dentro de las hortalizas que se evaluaron se encuentran el brócoli y coliflor, las que pertenecen a la familia de Brassicaceas o crucíferas, a partir de ellas se obtuvieron extractos acuosos mediante prensa manual obteniendo 30ml de jugo que fue doblemente filtrado para luego ser congelado a -20°C y finalmente ser liofilizado. La actividad antioxidante se determinó utilizando el método de decoloración del radical libre DPPH, obteniendo como resultado mayor capacidad antioxidante en las frutas de kiwi, frambuesa y frutilla las que presentaron un porcentaje de inhibición superior al 90% que en hortalizas (74.20%); para el caso del brócoli y coliflor presentaron un porcentaje de inhibición de 54.33% y 54.55% respectivamente.

La actividad antioxidante observada en la mayoría de las frutas y hortalizas evaluadas dependen de la concentración demostrando que a mayor concentración mejor capacidad antioxidante. (11)

Reyes A, Rosas L, Campos R, Quintero A, PROPIEDADES ANTIOXIDANTES DEL EXTRACTO ACUOSO DE *Brassica oleracea* var. *Sabellica*, publicado en la Revista de Ciencias Ambientales y Recursos Naturales, San Luis Potosí, **2017**. Busco evaluar las propiedades antioxidantes del extracto acuoso de las hojas de *Brassica oleracea*, se utilizaron hojas de col risada. Para la elaboración del extracto acuoso se utilizó una proporción de hojas-agua de 1:4, la actividad del extracto se midió de acuerdo con la metodología descrita por Brand Williams a través de la inhibición del estable DPPH a una longitud de onda de 515 nm. La mezcla se llevó a oscuridad y se monitoreo el cambio de la absorbancia, el porcentaje de inhibición de radicales libres fue de 78.6%.

Es importante destacar que las hojas y extractos acuosos de *Brassica oleracea* contienen compuestos fenólicos, que pueden ayudar en la prevención de enfermedades y el cáncer conociendo las propiedades nutricionales de esta planta, pues resulta una buena alternativa para obtener proteínas, hierro, calcio y principalmente antioxidantes. (12)

Armesto J, Carballo J, Martinez S, CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO EN FENOLES TOTALES DE *Brassica oleracea* (COL), Universidad de Vigo, España, **2018**. La finalidad de esta investigación fue evaluar la capacidad antioxidante y el contenido de fenoles totales de la col, se recolectaron y seleccionaron hojas lisas y tallos en buen estado proveniente de la provincia de ourence –España, que fueron transportadas al laboratorio, donde fueron divididos en tres grupos (hoja , tallo y col entera) que se trituraron para luego ser homogenizadas.

Se tomaron 15 gr de muestra con 20 ml de metanol, luego se centrifugo a 5000 rpm durante 30 minutos, a partir de los sobrenadantes obtenidos se prepararon diluciones en diferentes concentraciones con metanol, se añadió 0.5ml de solución de DPPH a cada una de las diluciones obtenidas, las mezclas se guardaron en la oscuridad durante 15 minutos para luego realizar la lectura en el espectrofotómetro a 517 nm pasados los 60 minutos se hizo las operaciones para hallar el porcentaje de inhibición DPPH .

La col, presento porcentajes de inhibición del DPPH más del 90% con una concentración de 8,1mg/ml en las hojas y con 16,2mg/ml en los tallos. El valor de IC50 hallado en las hojas fue 4,01 en los tallos fue de 10,96.

La col presento un alto contenido de fenoles totales y una elevada capacidad antioxidante, las hojas presentaron mayor capacidad antioxidante que los tallos, así mismo el contenido de fenoles totales fue mayor en las hojas.(13)

2.2. Bases teóricas

2.2.1. Plantas Medicinales

Según la organización mundial de salud un recurso vegetal es definido como cualquier especie vegetal que engloban principios activos.(14)

No es algo nuevo la utilización de especies vegetales para aliviar o disminuir los síntomas que algunas enfermedades producen, al contrario su uso viene desde hace años atrás por lo que han sido una alternativa divulgada a través del tiempo.(15)

La medicina moderna a través de varias investigaciones ha demostrado la eficacia de las especies vegetales para aliviar o prevenir enfermedades, incorporando los metabolitos presentes

en su formulación de medicamentos o drogas farmacéuticas. Han sido predominantemente las investigaciones bioquímicas, las que han demostrado cuáles son los componentes primarios de los recursos vegetales llamados principios activos. Estos componentes activos de la planta interactúan todos a la vez con el objetivo de que pueden favorecer a otros o neutralizar sus posibles efectos negativos.(15)

2.2.2. Principios activos de las plantas medicinales

Se trata de un componente purificado de una especie vegetal que poseen funciones terapéuticas científicamente estudiadas y comprobadas; estas sustancias se encuentran en los vegetales (hortalizas, frutas) que ejercen una función fisiológica o nutritiva en el organismo(15).

A. Glucosinolatos

Son moléculas que se encuentran en ciertas crucíferas o brassicáceas. El más abundante en la dieta y más investigado es la sinigrina que se hallan en diversas verduras u hortalizas como la coliflor, brócoli, col, nabo y rábanos. Los glucosinolatos poseen propiedades antibacterianas. También tienen propiedades antioxidantes y anticancerígenas que podrían limitar el riesgo de cáncer de colon y de pulmón; sin embargo este compuesto a dosis altas puede ser tóxico para la salud.(16)

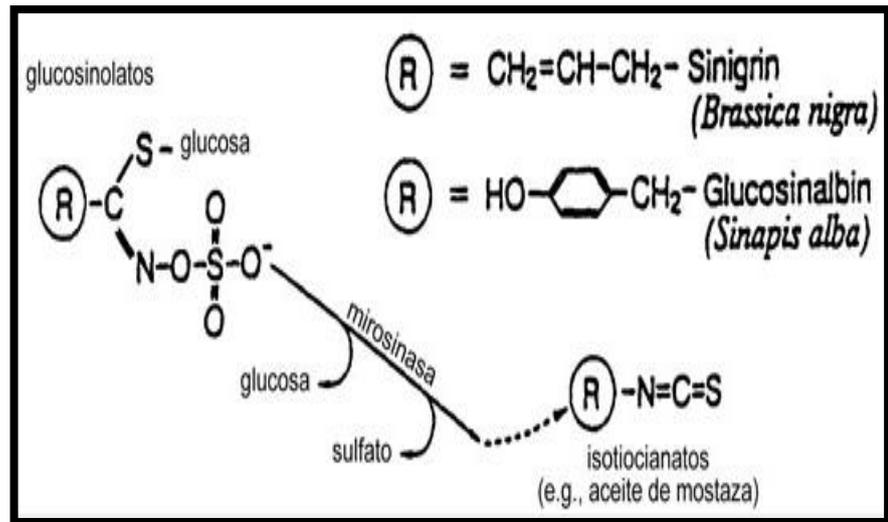


Figura N°1: Estructura de los glucosinolatos.

Fuente: <https://www.asturnatura.com/articulos/nutricion/energia-glucosilonatos.php>.

B. Polifenoles

Los polifenoles son una parte imprescindible para mantener la salud y bienestar. Son compuestos que abundan en los alimentos vegetales naturales con propiedades antioxidantes, estos ayudan a la prevención del cáncer protegiendo a las células del daño causado por los radicales libres o las especies reactivas de oxígeno, por lo que controlan la maduración prematura.(16)

Los polifenoles se clasifican en :

- Flavonoides

Los flavonoides son sustancias no sintetizadas por el organismo, estas deben adquirirse mediante una dieta equilibrada, una buena alimentación o en forma de suplementos. (17) Estos compuestos tienen la función de proteger al organismo del daño producido por

agentes oxidantes como la contaminación ecológica, sustancias químicas presentes en los alimentos (preservantes y conservantes), los rayos ultravioletas o radiaciones ionizantes. Presentan en su estructura química grupos de hidroxilo fenólico los que les otorga una gran capacidad antioxidante.(17)

- **Lignanós**

Son compuestos presentes en las paredes celulares de las plantas que forman parte de una familia de compuestos con estrógenos, antiestrogenos y con actividad antioxidante, por medio de la ruta del ácido shikimo, se forman estos metabolitos secundarios.(17)

- **Estilbenos**

Sus propiedades antioxidantes ayudan al tratamiento y prevención de enfermedades oncológicas y neurodegenerativas, estos compuestos mayormente se hallan en los recursos vegetales siendo el más abundante el resveratrol.(17)

A continuación en el cuadro N°1 se muestra los fitoquímicos anticancerígenos y fuentes de obtención.

CUADRON°1
Fitoquimicos anticancerígenos

FITOQUIMICO	ACCIONES	FUENTES
Carotenoides	<ul style="list-style-type: none"> • Antioxidantes • Estimulan las funciones inmunológicas 	Verduras oscuras ,como la zanahoria, la calabaza, las espinacas , la col.
Cumarinas	<ul style="list-style-type: none"> • Propiedades antitumorales • Estimulan las funciones inmunológicas • Estimulan los mecanismos antioxidantes 	Zanahoria, apio ,remolacha, hinojo
Glucosinolatos Tiocianatos	<ul style="list-style-type: none"> • Bloquean los compuestos cancerígenos para que no dañen las células • Estimula la desintoxicación 	Verduras de la familia de las coles, brócoli, coles de bruselas ,col rizada etc.
Flavonoides	<ul style="list-style-type: none"> • Antioxidantes • Efectos directos antitumorales • Inmunoestimulantes 	Frutas especialmente las frutas de colores vivos como las bayas, las cerezas, los cítricos; también los tomates, los pimientos y las verduras
Isoflavonoides	<ul style="list-style-type: none"> • Bloquea los receptores de estrógeno 	Soja y otras legumbres
Lignanos	<ul style="list-style-type: none"> • Antioxidantes • Modulan los receptores de hormonas 	Cereales integrales linaza y aceite de linaza
Polifenoles	<ul style="list-style-type: none"> • Antioxidantes • Bloquean la formación de carcinógenos • Modulan los receptores hormonales 	Té verde, chocolate, vino tinto

Fuente:<https://oncocomplementos.blogspot.com/2012>

2.2.3. *Brassica napus* (nabo)

Es originario de Asia central, también podría ser nativo de Europa. Es una hortaliza que se adecua muy bien a los climas fríos, pertenece a la familia de las brassicaceae o crucíferas, que abarcan 380 géneros y más de 3000 especies de lugares templados. La trascendencia de esta familia de hortalizas, a la que igualmente pertenecen las coles y los berros, reside en que poseen unas sustancias de azufre denominados como potentes antioxidantes.(18)

2.2.3.1. Clasificación taxonómica

Cuadro N°2

Clasificación taxonómica del nabo

Taxonomía	
Reino	Plantae
Division	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Capparales
Familia	Brassicaceae
Genero	<i>Brassica</i>
Especie	<i>Brassica napus</i> L.

Fuente: Museo de Historia Natural, UNMSM. (2018)

2.2.3.2. Variedades del nabo

✓ Nabito de Teltow

Esta variedad es la que más se cultiva, de medida pequeña y color blanco cremoso. (18)

✓ Nabo de Mayo

Se hallan en el mercado en las épocas de mayo a junio, es de color blanco, de forma circular o cilíndrica. (18)

✓ Nabo de Otoño

Se siembra en los meses de noviembre y se recolecta en invierno, su carne es blanca y piel roja, presenta mayor tamaño que el del nabo de mayo, el aroma es más potente que las demás variedades. (18)

2.2.3.3. Descripción Botánica

- ✓ Plantas herbáceas bianuales, de raíz engrosada, cilíndrica.
- ✓ Presenta tallos erguidos de hasta 1,3cm de altura, hispídos en la base y ramificados.
- ✓ Flores de 1.4-2.5 cm de ancho con pedicelos de 2.4 cm, presentan sépalos de color verde de 6-9 cm de longitud, sus pétalos son abovados de 7-18 mm de longitud.
- ✓ Presenta semillas globulosas de 3- 3.5mm de diámetro, son ligeramente reticulados o alveolados, de color castaño-rojizo o negruzco.(19)

A continuación en la figura N° 2 se muestra a la hoja y raíz de *Brassica napus* (nabo).



Figura N°2 : Hoja y raíz de *Brassica napus* (Nabo)

Fuente:<http://www.agroes.es/fotoshuerthorticultura/nabo/nabo-cuello>

2.2.3.4. Características Morfológicas

Es una especie bianual, las hojas son de forma lobulada, con los bordes festoneados, la extremidad de los lóbulos son más largas al de la base. Su color es verde medio según el tipo de variedad de la especie, al momento de tocarlo es áspero debido a los tricomas o pelos que presenta. (19)

La raíz es una de las principales características que diferencian las variedades del nabo, estas pueden ser carnosas, esféricas, aplanadas, engrosadas, también tienen la característica de poseer sabores picantes o azucarados dependiendo si son forrajeras o de mesa. (19)

El segundo año produce el tallo floral. Este tallo es ramificado y liso que alcanza los 50 cm -70cm de longitud, sus flores son de tamaño mediano y terminan en racimo que luego darán lugar a un fruto en forma circular. Dentro del fruto o raíz normalmente se encuentran de 15 a 25 semillas.(19)

2.2.3.5. Características Fisiológicas

Es un sembrío que se desarrolla en relación con su vegetación y raíz, porque presenta sensibilidad al medio ambiente.

Después de iniciar el crecimiento no tolera bien las temperaturas altas, por ello la raíz puede sufrir un crecimiento anormal y otras morir; cuando llegan temperaturas frías el cultivo presenta raíces desarrolladas, estas no llegan a tener la forma y tamaño esperado; es importante conocer las características climáticas que se dan en la zona ya que de ello depende la elección de la variedad que se va a sembrar.(20)

2.2.3.6. Ciclo Biológico

El periodo depende de la variedad y tipo de clima, el sembrío puede durar de 60-110 días. Se pueden presentar 2 épocas de cultivo

- ✓ Siembra durante junio-agosto, la recolección se realiza en otoño e invierno.
- ✓ Siembra durante abril y mayo, la recolección se realiza en verano.(20)

2.2.3.7. Propiedades Nutritivas

El nabo es un vegetal que tiene mucha agua y bajo contenido de azúcar y calorías, además posee una buena fuente de fibra.

Presenta una considerable cantidad de vitamina C, vitamina A, folatos y cantidades necesarias del complejo B (B1,B2,B3,B6) y minerales.(21)

✓ **Vitamina A**

Es vital para la visión, contrarresta la degeneración macular también tiene la capacidad de mantener el estado de la piel, el cabello, las películas mucosas, los huesos y mantener el buen funcionamiento del sistema inmunológico.(22)

✓ **Vitamina C**

Es un antioxidante que proporciona nutrientes para reparar el daño causados por los radicales libres o especies reactivas de oxígeno.(23)

Esta vitamina está presente en frutas, verduras, zumos y alimentos enriquecidos, es una de las vitaminas hidrosolubles con actividad antioxidante, se degrada fácilmente por cambios de temperatura, radiación y alta concentración de oxígeno. La mayor acción biológica se debe a, sus estructuras en forma de ácido ascórbico, también puede estar presente el ácido dehidroascorbico, el cual se origina por el estrés oxidativo que se presenta en la fruta. La acción antioxidante se debe a la alta capacidad de donar un electrón y poder regresar a su forma reducida. Esta vitamina interviene en la síntesis de colágeno además fortalece el sistema inmunológico por lo que se le considera un suplemento excepcional para las personas. Además tiene un efecto protector en la oxidación celular y es capaz de reducir el número de radicales libres producido durante procesos metabólicos.(23)

En infantes puede crear irregularidades óseas y hemorragias, su falta de esta vitamina se conoce como escorbuto y está relacionada con la presencia de infecciones, deficiencia muscular y agotamiento.(23)

✓ **Complejo B**

Estas vitaminas intervienen en el sistema sensorial, evitan problemas de memoria; permiten obtener la energía de los alimentos ya que participan en el metabolismo celular destinado a almacenar y consumir energía, también tiene la capacidad de mantener el bienestar de la piel y el cabello.(24)

✓ **Minerales**

Los principales minerales son él: Calcio, fosforo, potasio, magnesio, hierro, y cobalto, contribuyen al metabolismo de los hidratos de carbóno, proteínas y grasas. Gran cantidad de estos minerales tienen y guardan relación con la obtención de energía a nivel celular ya que poseen una función reguladora.(24)

La fitoquímica de *Brassica napus L.* (Nabo), se encuentra en base de 100 gr , como se muestra en la tabla N°1.

Tabla N°1

Valor nutricional de *Brassica napus* L. (nabo) en base a 100gr de materia fresca.

COMPONENTES	CANTIDAD
Energía (Kcal)	24.7
Agua (ml)	90.5
Proteínas (g)	0.8
Hidratos de carbono (g)	5
Fibra (g)	2.8
Potasio (mg)	240
Fosforo (mg)	34
Folatos (mcg)	14
Vitamina C (mg)	23
Calcio (mg)	45
Hierro (mg)	0.38
Yodo (mg)	2
Magnesio (mg)	14

Fuente:www.vegafinity.com/alimento/nabo-beneficios-informacion.

2.2.3.8. Propiedades Medicinales

✓ Expectorante

La raíz tuberosa del nabo presenta excelentes propiedades expectorantes, estando muy recomendado su consumo para tratar enfermedades como la bronquitis o infecciones respiratorias altas y bajas. (25)

✓ **Sedante**

La raíz del nabo tiene actividad hipnóticas, por lo cual es útil para personas que presentan cuadros de ansiedad. (25)

✓ **Antiinflamatorio**

El nabo es muy eficaz para aliviar estados de hinchazón y dolor ocasionado por algún tipo de traumatismo o golpe. (25)

2.2.3.9. Formas de uso

✓ **Jarabe de nabo**

Se cocina 2kg de nabo (raíces) en 2 litros de agua, se exprime el jugo, se endulza con miel(1/3) y se cocinan de nuevo hasta que tome punto de jarabe. Se usa para aliviar asma, catarros, bronquitis crónica.

Calma la acidez estomacal y participa evitando descalcificación de los huesos. Es antiescorbuto y antianemico.(25)

✓ **Para tratamientos internos**

Se usa el jugo de las hojas mezclando con zumos de zanahorias y diente de león. (25)

✓ **Hemorroides**

Hacer una mezcla de hojas de nabo, zanahoria, berro espinaca, tomar ½ litro diario de este jugo por 30 días.(25)

2.2.4. Extracción de sustancias Activas de Especies Vegetales

A. Definición

Es la extracción de principios activos de especies vegetales, realizados por diversos procedimientos, utilizando un solvente de acuerdo a la parte de la planta que se va extraer.(26)

Para garantizar la calidad de estos productos la farmacopea a designado fundamentos las cuales no requieren un control exacto como de los medicamentos sintéticos, pero se debe tener algunos cuidados en el tiempo y conservación del almacenamiento (26)

B. Extractos acuosos

El extracto acuoso es un extracto liquido cuyo solvente es el agua, son menos concentrados que los extractos hidroalcoholicos con la ventaja de no presentar sedimento, su olor y aroma son más suaves.(27)

C. Concentraciones del Extracto

Se clasifican en:

✓ **Extractos fluidos**

Concentración de metabolitos similar a la concentración del recurso vegetal original. (27)

(consistencia liquida).

✓ **Extractos Blandos**

Son obtenidos por la evaporación parcial o total del solvente, siendo los más concentrados.(27)

.(consistencia semisólida).

✓ **Extractos secos**

Se adquieren por desaparición total del disolvente y son de firmeza sólida.(27)

2.2.5. Actividad antioxidante

Los antioxidantes de origen vegetal está formado por conjunto de fitoquímicos. Dentro de ellas tenemos a las antocianinas, carotenoides, flavonoides y vitaminas, que poseen un amplio espectro de funciones biológicas cuando son ingeridas en la dieta. (28)

Este tipo de compuestos pueden encontrarse en productos como tomate, uvas, zanahorias, mango, brócoli, aguacate, melón.(28)

Los antioxidantes son compuestos que son capaces de prevenir e incluso neutralizar los daños ocasionados en el tejido humano por la consecuencia normal de oxidación fisiológica.(28)

Es importante evaluar la actividad antioxidante de los alimentos antes de ser consumidos para poder saber el poder antioxidante que presentan, de esta manera se puede evitar el deterioro de los alimentos que disminuye su calidad y valor nutricional. Existen varios ensayos de generadores de radicales libres para evaluar la capacidad antioxidante. La muestra reaccionaria con el daño inducido por los radicales libres y en consecuencia se inhibiría la generación de los primeros. Es difícil determinar la concentración y el número de los compuestos antioxidantes presentes en la muestra así lo que verdaderamente se determina es el efecto.(28)

El consumo de vitamina C, vitamina E, betacaroteno, así como las frutas y verduras han sido asociados contra enfermedades cerebrovasculares, cardiovasculares e incluso el cáncer,

también se debe a la presencia de otras sustancias como los polifenoles y flavonoides, que son compuestos adquiridos en la dieta o mediante suplementos. Es por ello la importancia de evaluar la capacidad antioxidante de las diferentes especies vegetales como frutas y verduras. (29)

Los antioxidantes utilizados en alimentos, inhiben la rancidez y la aparición de compuestos deteriorados por la oxidación. La función principal de los antioxidantes es contrarrestar la acción oxidante de los radicales libres, sin perder su estabilidad electroquímica. Actúan transfiriendo electrones e impidiendo que los radicales libres los capten de las células.(29)

La actividad antioxidante en productos de origen vegetal se debe principalmente a la presencia de antioxidantes naturales, Cuando estos antioxidantes están presentes en una baja concentración comparada con la del sustrato oxidable reducen significativamente o inhiben la oxidación de un sustrato.(30)

Entre los antioxidantes, se pueden citar al ácido lipoico, bilirrubina, Vitamina E, vitamina C, vitamina A, carotenoides, compuestos fenólicos y flavonoides.(30)

La actividad antioxidante por un proceso de oxidación controlada puede determinarse por los efectos del compuesto antioxidante, pero no se mide directamente. Pueden usarse intermediarios o productos finales en la medición de una muestra oxidante, para estimar la actividad de captación de radical libre.(30)

Los flavonoides como antioxidantes pueden proteger contra enfermedades, Actualmente, gran cantidad de estos antioxidantes que son usados por la población o comunidad se producen sintéticamente. Muchos antioxidantes sintéticos son

comercialmente asequibles, pero a la vez pueden ser tóxicos, por lo tanto, es importante encontrar y desarrollar una nueva técnica que sea segura para la determinación de antioxidantes de origen natural.(30)

2.2.5.1. Tipos de antioxidantes.

Hay diferentes grupos de antioxidantes que cumplen una función principal en las células, protegiéndolas en el exterior y en el interior, dado que los radicales libres, que anteriormente hemos hablado pueden atacar internamente y externamente. Los hay solubles en agua y solubles en grasas, es importante asegurarnos que consumimos antioxidantes de los dos tipos para tener una mejor protección de la membrana celular.(31)

Para comprenderlo mejor, si una persona sana únicamente consume antioxidantes solubles en agua provenientes de la vitamina C, Vitamina A, de frutas como la uva, el melón, las membranas de estas células seguirán siendo débiles a los radicales libres, protegiendo solo el interior de esta, pero dejándola indefensa en el exterior.(31)

Los antioxidantes lo podemos clasificar en dos grupos, en los solubles en agua (hidrofilicos) y los solubles en grasa (hidrofóbicos), pero también citaremos aquellos antioxidantes que, puede producir nuestro cuerpo sin necesidad de tener que ingerir la forma suplementaria o a través de cualquier alimento, así como los suplementos nutricionales con propiedades antioxidantes.(31)

A. Antioxidantes Endógenos

Previenen la producción de nuevas especies reactivas de oxígeno (ERO), esto se consigue convirtiéndose las ERO en moléculas menos perjudiciales, antes de que puedan reaccionar, o evitando su producción de otras moléculas.

En este grupo se destacan las siguientes enzimas. Las enzimas, son proteínas encargadas de mantener los niveles de radicales libres aceptables en nuestras células.(31)

✓ **El glutatión peroxidasa (GPX)**

Es una enzima que actúa en la eliminación de especies reactivas de oxígeno. Esta enzima ejerce un papel importante en sistema de defensa antioxidante por su localización en todos los órganos y tejidos, como parte del sistema antioxidante del glutatión, por lo que se encuentra involucrada en la fisiopatología de muchas enfermedades.(32)

✓ **Coenzimas superóxido**

Regulan la llegada de oxígeno a las células y así evitan una oxidación elevada de las células.(32)

✓ **La catalasa**

Tiene la función de poder atraer los radicales libres y los convierte en agua y oxígeno, favoreciendo así a las células, ácido úrico; tiene acción neuroprotectora ayudando a los daños inflamatorios del sistema nervioso, funcionando dentro de la célula como antioxidante no enzimático capaz de aceptar los electrones perdidos por las moléculas.(32)

B. Antioxidantes Exógenos

Estos capturan los radicales y evitan las reacciones en cadena, ejemplo de ellos son la Vitamina E y C, B-caroteno y sustancias con capacidad antioxidante, entre ellos se encuentran el glutatión urato, bilirrubina y ubiquinona.(32)

2.2.6. Daño oxidativo

2.2.6.1. Metabolismo de oxígeno y enfermedades humanas

El daño oxidativo puede afectar muchas biomoléculas, como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, por lo que la lesión tisular que se produce puede conllevar a enfermedades de tipo cardiovasculares, neurodegenerativas, cáncer, los accidentes cerebrovasculares y las enfermedades inflamatorias crónicas.(33)

Es difícil en este momento determinar las relaciones causa-efecto precisas y está claro que, en algunos casos, la agresión oxidativa no es la causa, sino el resultado de la lesión tisular por algún otro factor que exagera el problema original. Sin embargo, las pruebas epidemiológicas apuntan con fuerza hacia el valor de una ingestión alimenticia adecuada de compuestos antioxidantes para prevenir muchas de estas enfermedades. Los efectos promotores de salud evidentes de las alimentaciones con abundantes frutas y verduras, particularmente con relación a la incidencia de las enfermedades cardiovasculares y del cáncer, probablemente son el resultado en gran parte de su elevado contenido en vitamina C y E. Muchas personas actualmente consumen suplementos alimenticios de vitaminas C y E como medida preventiva.(33)

Cualquiera que sea la relación causa-efecto oxidativo y la enfermedad, hay poca duda de que el daño del DNA que producen las radiaciones ionizantes que se sabe son cancerígenas, esta mediado a través de los efectos mutagenos de los radicales hidroxilo. Además, los radicales hidroxilo se generan por agentes oxidantes con independencia de los efectos de la radiación. (34)

El cáncer es claramente una enfermedad genética, que se produce por la acumulación dentro de una célula precancerosa de mutaciones que en última instancia destruyen la capacidad de la célula para regular su propio crecimiento y su muerte programada (apoptosis). La generación de bases alteradas con el DNA, la 8-oxoguanina o la 5-hidroxicitosina, es muy mutagena. Aun cuando estas lesiones normalmente se eliminan por los sistemas de reparación del DNA, los sistemas de reparación no son eficaces al 100%, y con el tiempo la acumulación de mutaciones que finalmente transforman una célula normal en una célula cancerosa. En parte debido a que la incidencia del cáncer esta correlacionada con fuerza con la edad, muchos científicos también atribuyen el envejecimiento normal a la acumulación de lesiones mutagenas del DNA sin reparar, y se implica a la agresión oxidativa en lo que se ha llamado “ teoría del envejecimiento de los radicales libres”(34)

Otras pruebas tanto circunstanciales como genéticas, apuntan con fuerza hacia los papeles del metabolismo del oxígeno en las enfermedades humanas; a continuación, se dan algunos ejemplos. Las mutaciones humanas del gen que codifica la forma del superoxido dismutasa que contiene cobre/zinc están asociadas con la esclerosis lateral amiotrofica, una enfermedad neurodegenerativa conocida como enfermedad de Lou Gehring aunque no se conoce bien la relación causal precisa. El papel del peroxinitrito en la degeneración nerviosa que produce la esclerosis múltiple (MS) se ha considerado al observarse que los pacientes con gota difícilmente desarrollan MS, lo cual sugiere que la elevación crónica de ácido úrico que produce la gota también evita la aparición de MS. (34)

Finalmente, se ha visto que producen enfermedades, entre las que se encuentran la degeneración del nervio óptico y diversas enfermedades musculares, un número creciente de mutaciones de los genes mitocondriales que codifican proteínas respiratorias. Las mutaciones que afectan las subunidades de la citocromo oxidasa codificadas en la mitocondria se han asociado con la enfermedad de Alzheimer. De manera clara, la relación entre el metabolismo oxidativo y la enfermedad humana representa una de las fronteras de investigación más excitantes de la bioquímica.(34)

2.2.6.2. Concepto de radical libre

Un radical libre es un átomo extremadamente reactivo debido a que en unos de sus orbitales presenta un electrón desapareado. Esencialmente, todos los radicales libres que se desprenden en el cuerpo se obtienen a partir del oxígeno y el nitrógeno mediante la captación o la pérdida de un electrón. Los radicales libres poseen una vida autónoma, pero con una vida media corta ya que reaccionaran rápidamente con partículas próximas, a las cuales sacan un electrón para completar sus propios orbitales; por lo tanto se producen nuevos radicales libres en una sucesión de respuesta en cadena. De esta manera, las respuestas de radicales libres comprenden tres periodos progresivos:(35)

- ✓ **Iniciación:** El radical libre forma otros radicales.(35)
- ✓ **Propagación:** Se forman varias reacciones, con presencia de cuantiosos radicales libres secundarios. (35)
- ✓ **Terminación:** Se forman especies químicas más estables por las mezcla de radicales.(35)

2.2.6.3. Origen de los radicales libres en el organismo

El ser humano está constantemente expuesto de manera continua a la acción de agentes exteriores que producen radicales libres, como las radiaciones ionizantes, la luz UV y la contaminación. Los radicales libres también se producen de manera continua en el organismo. Algunas veces son subproductos de reacciones o consecuencia de una degradación mientras que en otras ocasiones se sintetizan para cumplir una función. La auto oxidación de proteínas con el grupo hemo y grupos sulfhidrilos produce anion superoxido. También la auto oxidación de moléculas pequeñas, como hidroquinonas, catecolaminas o ferredoxinas limitadas, produce anion superoxido .(36)

Las reacciones de oxidación, la fagocitosis y el más importante la respiración mitocondrial producen continuamente radicales libres, alrededor del 2-3% del oxígeno utilizado se transforma en radicales libres. (37)

✓ Respiración mitocondrial

La respiración mitocondrial es el suministro más importante de especies reactivas de oxígeno. En situaciones normales, la mitocondria reduce casi todo el oxígeno a H₂O, pero el 1-2% del oxígeno disminuye a anión superoxido considerando el hecho de que a lo largo del suministro de electrones se forma el radical de la coenzima Q (CoQH), que puede transferir un electrón al O₂.(38)

✓ Reacciones de oxidasas y oxigenasas

Como se define en el capítulo anterior, la oxidación de los ácidos grasos en los peroxisomas a través de las oxidasas produce peróxido de hidrogeno (H_2O_2). Sin embargo, en estos orgánulos existe abundante catalasa que degrada el H_2O_2 , con lo cual se anula el efecto toxico. Otro origen de H_2O_2 es la enzima monoaminoxidasa(MAO) en la membrana mitocondrial al degradar la dopamina.(39)

La xantina –oxidasa actúa in vivo como xantina-deshidrogenasa utilizando NAD^+ como aceptor de electrones. Sin embargo en condiciones de estrés debido a la oxidación de grupos sulfhidrilos o por proteólisis se convierte en oxidasa y emplea entonces el oxígeno como aceptor de electrones para formar el anión superóxido.(39)

Las enzimas oxigenasas adhieren uno o dos oxígenos a una molécula aceptora. Entre ellos se encuentran los citocromos P-450, que oxidan componentes endógenos o exógenos, como medicamentos, transfiriendo oxígeno molecular y empleando $NADH$ Y $NADPH$. Durante este proceso el oxígeno se activa recibiendo un electrón y algunos de estos radicales formados se pueden desaparecer de modo que se sueltan anión superóxido y H_2O_2 . (39)

Durante el metabolismo del ácido araquidónico a prostaglandinas, tromboxanos o leucotrienos, en el que participan enzimas oxigenasas, se crean compuestos intermedios de tipo radical libre.(39)

✓ Fagocitosis

El estallido respiratorio oxidativo producido a través de las células fagocíticas, junto con los macrófagos neutrófilos a lo largo del ataque a los microorganismos, es una fuente principal de radicales libres de nitrógeno y de oxígeno. Este proceso se produce utilizando la acción de la NADPH-oxidasa, una enzima hecha por varias subunidades que se ensamblan dentro de la membrana plasmática de la célula fagocítica que envuelve al microorganismo. Esta enzima cataliza la oxidación de NADPH y la disminución del oxígeno molecular a anión superóxido, que a su vez, se convierte en H₂O₂ (peróxido de hidrógeno) por la enzima superóxido-dismutasa (SOD) y en radicales hidroxilo. A parte de ellos, los neutrófilos liberan mieloperoxidasa al medio, una enzima con grupo hemo que cataliza la reacción entre H₂O₂ (peróxido de hidrógeno) y el cloruro para formar el hipoclorito.(40)

El hipoclorito tiene acción bactericida porque tiene una ya capacidad excesiva de halogenación y de oxidación y ataca proteínas, centros Fe-S o grupos hemo. Como se describió anteriormente, en la reacción inflamatoria se induce a la enzima óxido nítrico enzima inducible (iNOS) que produce altas cantidades de monóxido de nitrógeno, el cual formara especies reactivas de nitrógeno (RNOs) al combinarse con el anión superóxido.(40)

Todo estos radicales libres producidos por los leucocitos, participan en la defensa frente a microorganismos perturbando a las moléculas del propio tejido.(41)

2.2.6.4. Clasificación de radicales libres

Los radicales libres se clasifican en:

A. Inorgánicos o primarios

Una de sus principales características es tener una corta vida, este tipo de radicales representan distintos estados en la reducción ya que se originan por transferencia de electrones sobre el átomo de oxígeno. Dentro de ellos podemos mencionar al superóxido, el radical hidroxilo y el óxido nítrico.(42)

B. Orgánicos o secundarios

Tienen una vida media más larga que los inorgánicos, los principales átomos son el carbono, nitrógeno, oxígeno y azufre. Estos se pueden producir por la interacción de dos radicales primarios entre sí, también por la donación de un electrón de un radical primario o un átomo de molécula orgánica.(42).

C. Intermediarios estables

En esta clasificación se agrupan las especies químicas que al no ser radicales libres, resultan de la reducción o metabolismo de ellas siendo generadoras de estas sustancias.(42)

2.2.6.5. Lesiones moleculares producidas por los radicales libres

Los radicales libres participan en reacciones de extracción de hidrógeno, polimerización, rotura de enlaces o adición de radicales ya que son moléculas con reactividad excesiva. Casi todas las moléculas son susceptibles de ser atacadas, sin embargo las más afectadas son las proteínas, lípidos poliinsaturados, el ADN y los glúcidos o azúcares.(43)

A. Peroxidación lipídica

La peroxidación de los lípidos de la membrana causa cambios biológicos, como una disminución de la fluidez de la membrana, y puede alterar receptores o enzimas asociados, y dañar a la función y la permeabilidad celular. Además, se generan metabolitos tóxicos de los hidroxiperoxidos lipídicos, como el malondialdehído o el 4-hidroxinonenal, que son característicos de esta peroxidación.(44)

Estos compuestos pueden reaccionar con lípidos, proteínas y nucleosidos formando aductos o uniones cruzadas, conocidos como productos finales de la oxidación lipídica avanzada, que modifican las propiedades y funciones de estas moléculas. Por ejemplo, la mayor forma de excreción del malondialdehído es formando aductos con la lisina, lo que demuestra que se une preferentemente al grupo ε-amino. En las lesiones arterioscleróticas se pueden encontrar aductos de lipoproteínas de baja densidad (LDL) con el malondialdehído o con 4-hidroxinonenal. Las concentraciones plasmáticas de malondialdehído son excesivas en muchas enfermedades, como diabetes mellitus, enfermedad de Alzheimer, asma o pre eclampsia. Además, el 4-hidroxinonenal inhibe la agregación plaquetaria y altera la actividad adenilatociclasa.(45)

Además el colesterol, fosfolípidos y los ácidos grasos polinsaturados, también pueden sufrir modificaciones por los radicales libres. Los isoprostanos son un grupo de compuestos semejantes a la prostaglandina que se generan in vivo a través de la peroxidación no enzimática del ácido araquidónico esterificado y se liberan a la circulación por la acción de las fosfolipasas. Los que tienen

una estructura similar a la prostaglandina se denomina F₂-isoprostanos. Estos son bastantes estables, pero una vez que se liberan, se metabolizan de forma rápida y se eliminan. Algunos de estas sustancias tienen una elevada actividad biológica, causan activación plaquetaria y vasoconstricción renal. Se han encontrado aumento de los F₂-isoprostanos en enfermedades pulmonares, cardiovasculares, inflamatorias, diabetes mellitus y otras. Además, la acumulación de estos compuestos varía como respuesta a la administración de medicamentos antioxidantes o según la dieta.(45)

B. Lesión a la proteínas

Las proteínas son importantes dianas de los radicales libres, que pueden ocasionar cambios en la estructura y dañar sus funciones y propiedades. Determinados aminoácidos, como metionina, lisina, treonina o prolina, son especialmente susceptibles y la oxidación de sus cadenas laterales produce proteínas carboniladas. (46)

También se puede producir aductos entre los grupo aminos de la lisina o histidina y derivados de aldehídos. La cuantificación de las proteínas carboniladas permiten una excelente estimación de la oxidación de estas. (46)

Los especies reactivas de nitrógeno pueden nitrar o nitrosilar proteínas y modificar sus propiedades. Los residuos de tirosina pueden modificarse formando nitrotirosinas, que constituyen un marcador de alteración por los derivados del óxido nítrico. La formación de estos derivados de nitrotirosina modifica la función de las proteínas, inactiva enzimas o impide las señalizaciones intracelulares.(46)

Además, los radicales libres pueden reaccionar con el ion metálico de muchas metaloenzimas e inactivarlas. El cambio de las proteínas puede producir, además, la formación de agregados entre proteínas, ayudar la formación de auto anticuerpos y cambiar sus características antigénicas. Las proteínas oxidadas se degradan en el proteosoma y el lisosoma. Sin embargo, algunas no se degradan completamente y forman agregados que se acumulan fuera o dentro de la célula. Esta acumulación aumenta conforme pasa el tiempo y puede estar implicada en enfermedades asociadas al envejecimiento.(47)

C. Oxidación de hidratos de carbono

La oxidación puede producir, oxaldehidos y peróxidos. Estos tienen capacidad de unir y provocar uniones cruzadas con el ADN, el ARN y las proteínas. De esta forma, los oxaldehidos son compuestos antimitóticos por lo que participan en procesos de envejecimiento y desarrollo tumoral.(48)

El ataque de los radicales libres a los polisacáridos puede ocasionar su degradación, esto se da durante la inflamación en el líquido sinovial ya que los neutrófilos infiltrados producen radicales libres que degradan el ácido hialurónico y se pierden las propiedades de amortiguación del líquido sinovial.(48)

D. Lesión del ADN

Los radicales libres dañan al ADN y su ataque está dado por la existencia de iones metálicos, como el Fe^{+3} que facilitan la producción localizada de radical hidroxilo. El ataque al ADN ocasiona la rotura de la doble hélice, la formación de aductos ADN- proteína, modificaciones de la desoxirribosa, purinas o pirimidinas, como la dimerización de la timina o la formación de la 8-hidroxi guanina. Este último compuesto puede emparejarse erróneamente con la timina de forma que aparece una alteración en el código genético. De esta forma, las modificaciones en las bases pueden producir mutaciones y metadisfunción celular e, incluso, inducir un tumor. Tal y como ocurre con las proteínas, la exposición del ADN a los RL puede originar que este se convierta en antigénico y favorezca la aparición de anticuerpos Anti-ADN. (49)

A continuación en la Figura N°3 se da a conocer el mecanismo de lesión de los radicales libres.

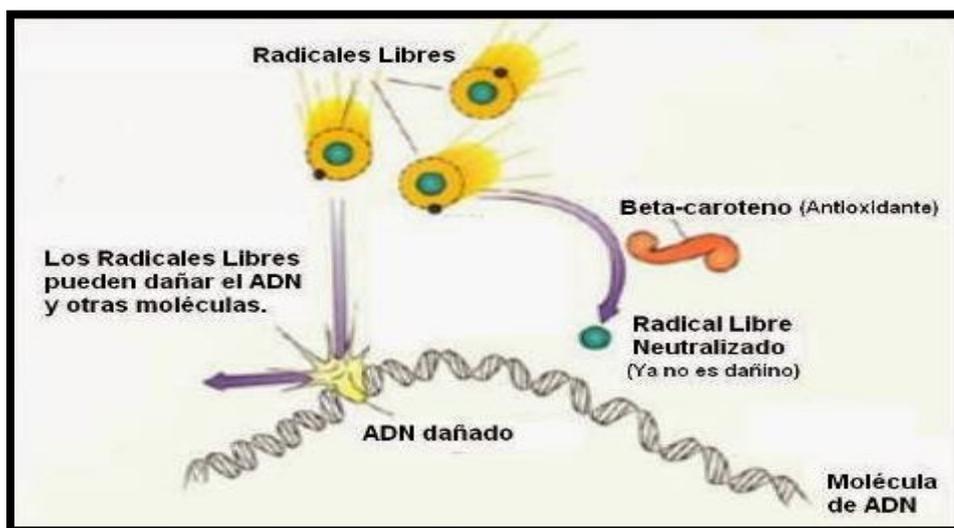


Figura N° 3: Mecanismo de lesión de radicales libres

Fuente:<http://juanvenapatologia.blogspot.com/2014/05/mediadores->

2.2.7. Determinación de la actividad antioxidante.

- **Medición de la actividad antioxidantes**

Pueden evaluarse por los efectos del compuesto antioxidante en un proceso de oxidación controlada, estos no pueden medirse directamente.(50)

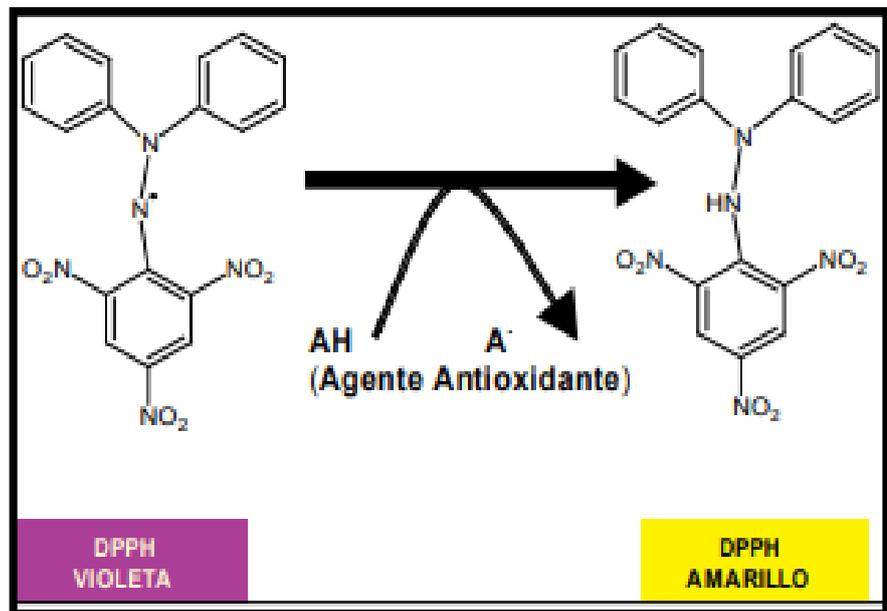
- **Ensayo del DPPH (1,2-Difenil-Picril-Hidrazilo)**

Este método demuestra la capacidad del radical libre DPPH para aceptar un molécula de hidrogeno (H) a partir de un compuesto de cisteína. (51)

Debido a la deslocalización de un electrón desapareado en todo el átomo se conoce como un radical libre constante. Estas moléculas no se unen para formar una nueva molécula es decir no se dimerizan como lo hacen por regla general. La pérdida de un electrón intensifica el color violeta propio del radical el cual se absorbe en metanol a 517 nm . Cuando el reactivo DPPH reacciona con el sustrato antioxidante que puede dar un átomo de hidrogeno, el color violeta se va desvaneciendo. El cambio de color se controla mediante espectrofotómetro.

Después de muchos años este ensayo comenzó a utilizarse cada vez más volviéndose uno de las técnicas más importantes para determinar la capacidad antioxidante.(51)

A continuación en la figura N° 4 se muestra la reacción química entre el radical DPPH y el agente antioxidante.



FiguraN°4: Reacción química entre el radical DPPH y la especie Antioxidante

Fuente:http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid

2.3. Definición de términos básicos

- **Antioxidante:** Sustancia que evita la formación de moléculas oxidantes.
- **Prooxidante :** Son compuestos que aumentan el estrés oxidativo en el organismo, como consecuencia, se pueden lesionar componentes celulares y producir enfermedades graves.
- **Extracto:** Sustancia concentrada que se obtiene de una planta, por diferentes procedimientos. Es una relación que hay entre la droga y el disolvente.
- **Peroxidacion lipídica:** Este procedimiento se inicia con un componte de respuesta en cadena de un radical libre a través del cual los radicales libres capturan electrones de los lípidos en las membranas celulares.
- **Catalasa:** Es un compuesto de refuerzo celular que se encuentra en grandes cantidades en los organismos aerobios.
- **Coenzima :** Son pequeñas partículas naturales no proteicas que transportan grupos químicos entre enzimas.
- **Antimitótico:** Sustancia que evita el desarrollo celular al evitar la mitosis, estos se usan para tratar el cáncer.
- **Proteosoma:** Es un grupo proteico grande presente en todas las células que poseen un núcleo.
- **Anticuerpo:** Los linfocitos segregan estas sustancias para combatir o prevenir infecciones de virus o bacterias que puedan afectar al organismo.
- **Infusión:** Es una solución obtenida de los recurso vegetales , que son aromáticas.

- **Metaloenzima** : Posee un fuerte vínculo entre el metal y la parte proteica, donde el metal se inserta en el interior de la molécula .
- **Lípidos**: Se conoce por el término de los lípidos la disposición de partículas naturales, una gran parte de ellas biomoléculas, hechas de carbono e hidrógeno y además por fósforo, azufre y nitrógeno.
- **Hidrofílico**: Se refiere a la afinidad que tienen ciertas sustancias al agua.
- **Hidrofóbico**: Se refiere a aquellas sustancias que son rechazadas por el agua o que no se pueden mezclar con ella.
- **Farmacognosia**: Es la ciencia que estudia las drogas o principios activos de los recursos de origen natural.

CAPÍTULO III

HIPÓTESIS Y VARIABLES

3.1. Formulación de Hipótesis

3.1.1. Hipótesis General

- El extracto acuoso de *Brassica napus* L. (nabo), presenta capacidad antioxidante frente al sistema generador de radical DPPH.

3.1.2. Hipótesis secundarias

- El extracto acuoso de las hojas de *Brassica napus* L. (nabo), presenta capacidad antioxidante frente al sistema generador de radical DPPH.
- El extracto acuoso de la raíz de *Brassica napus* L. (nabo), presenta capacidad antioxidante frente al sistema generador de radical DPPH.
- El extracto acuoso de *Brassica napus* L.(nabo) de las hojas presenta mayor capacidad antioxidante que la raíz, frente al sistema generador de radical DPPH.

- El extracto acuoso de las hojas de *Brassica napus* L. (nabo) presenta mayor contenido de vitamina C que la raíz.

3.2. Identificación de variables

Cuadro N°3

Identificación de variables

VARIABLES INDEPENDIENTE	Concentración del extracto acuoso de <i>Brassica napus</i> L.(nabo) parte hoja y raíz
VARIABLE DEPENDIENTE	Capacidad antioxidante

Fuente: Elaboración propia 2018.

3.3. Operacionalización de variables

Cuadro N°4

Operacionalización de variables

Variable Independiente	Definición conceptual	Dimensiones	Indicadores	Unidad de medida
Concentración del extracto acuoso de <i>Brassica napus</i> (Nabo)	Sustancia concentrada que se obtiene de una planta por diversos procedimientos	Concentración de la muestra de la hoja	25 50 75	ul/ml
		Concentración de la muestra de la raíz	100	
Variable dependiente	Definición Conceptual	Dimensiones	Indicadores	Unidad de medida
Capacidad antioxidante	Reacción de óxido reducción entre el radical libre DPPH y la sustancia antioxidante	Capacidad antioxidante CI:50% en mg/ml	% de Reducción de La inhibición de DPPH	CI:50
		concentración de vitamina C	mg/ácido ascórbico	mg /ml

Fuente: Elaboración propia 2018.

CAPÍTULO IV

METODOLOGIA DE LA INVESTIGACIÓN

4.1. Tipo y Nivel de Investigación

4.1.1. Tipo de investigación

- ✓ **Analítico** : Porque la finalidad del estudio fue evaluar la relación que existen entre las variables, la capacidad antioxidante y la concentración del extracto acuoso de las hojas y raíz de *Brassica napus* L.(nabo)
- ✓ **Longitudinal**: Porque la variable independiente se midió en varios momentos.
- ✓ **Prospectivo**: Porque la captación de información se realizó una vez iniciada la investigación.

4.1.2. Nivel de investigación

Explicativo: Porque se buscó explicar la capacidad antioxidante del extracto acuoso de *Brassica napus* L.(nabo) frente al radical DPPH.

4.2. Método y diseño de la investigación

4.2.1. Método de la investigación

Deductivo: La presente investigación partió de lo general a lo específico ya que las conclusiones fueron planteadas a partir de los resultados obtenidos.

4.2.2. Diseño de la investigación

Experimental: Porque se manipulo la variable independiente en diferentes concentraciones.

4.3. Población y Muestreo de la investigación

4.3.1. Población

Brassica napus L. (nabo) procedente de la ciudad de Arequipa del distrito de Majes-Pedregal.

4.3.2. Muestra

Extracto acuoso de las hojas y raíz de *Brassica napus* L. (nabo).

4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

4.4.1. Técnicas

- ✓ **2,2- difenil -1- picrilhidrazilo (DPPH):** Este método se fundamenta cuando hay una reducción de la absorbancia medida mediante la espectrofotometría. La reducción que se produce del radical libre es por una interacción química con el antioxidante la cual se evidencia con una disminución de la absorbancia conforme pasan los minutos y además por un cambio o pérdida de color de la solución del radical la cual es proporcional con la concentración. (51)

- ✓ **Folin-Ciocalteu:** Se basa en el Poder reductor que ejerce la vitamina sobre el reactivo Folin-Ciocalteu en medio ácido, cambiándolo de color azul, cuya intensidad guarda relación con la concentración de vitamina C.(51)
- ✓ **Observación directa:** Consiste en registrar la información clave en la ficha de análisis.

4.4.2. Instrumentos

- ✓ Se tuvo como instrumento una ficha de recolección de datos y en ellos se registraron los resultados obtenidos sobre la capacidad antioxidante.

En esta ficha se registraron las reacciones de coloración y otras características que se observaron en la absorbancia para identificar la capacidad de secuestro de los radicales libre que serán expresados como IC: 50 (ver anexo 07)

4.4.3. Procedimientos

4.4.3.1. Recolección de la muestra

- ✓ *Brassica napus* L.(nabo) se recolectó en el departamento de Arequipa del distrito de Majes-Pedregal.
- ✓ Con la ayuda de una pala pequeña se recolectarán ejemplares completos de *Brassica napus* L. (nabo)

✓ La cantidad utilizada fue 25 gr de hojas y 25 gr de raíz de *Brassica napus* L. (nabo).

4.4.3.2. Determinación botánica de la especie

La identificación taxonómica se llevó a cabo en el Museo de Historia Natural de la Universidad Mayor de San Marcos. (Ver anexo N°2)

4.4.3.3. Obtención de la muestra

Se seleccionaron muestras con características iguales y sin daños físicos, seguidamente se procedió a cortar y lavar con agua destilada las hojas y las raíz de *Brassica napus* (nabo).

4.4.3.4.Preparación del extracto acuoso

En la preparación de la muestras del nabo de *Brassica napus* (nabo) se utilizó 25 gr de hojas las que se colocaron en una probeta y se le agregó agua destilada csp 100ml y luego se procedió a licuarla durante un minuto, el homogenizado obtenido se filtró, posteriormente se llevó a la centrifuga a 1200 rpm por un tiempo de 30 minutos, el sobrenadante obtenido se utilizó para evaluar la capacidad antioxidante. Este mismo procedimiento se realizó para la muestra de la raíz . (51)

A continuación en la Figura N°5 se muestra la obtención del extracto.

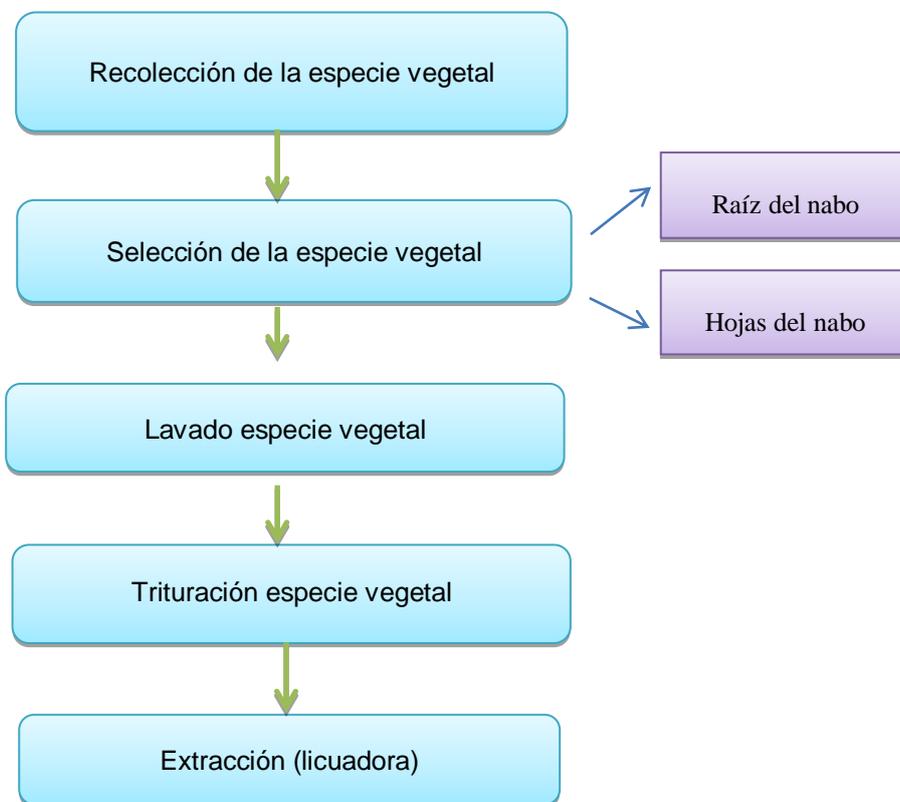


Figura N°5: Obtención del extracto

Fuente: Elaboración propia 2018.

4.4.3.5. Determinación de la Marcha Fitoquímica

El reconocimiento de metabolitos secundarios a través de reacciones de color y precipitado, se realizó en la Universidad Mayor de San Marcos. (Ver anexo N°3)

A. Identificación de Alcaloides

Se realizó por medio del ensayo de Mayer considerándose dos soluciones, las cuales se detallan a continuación.

- **Solución A:** Se disolvió 1,37 g de cloruro de mercurio con 60 ml de agua.
- **Solución B:** Se disolvió 5g de yoduro de potasio en 10 ml de agua. Posteriormente se mezcló las dos soluciones y se aforó a 100ml con agua destilada, se considera positivo ante la presencia de precipitado blanco. (52)

B. Prueba para flavonoides

Se realizó por el ensayo de Shinoda donde se tomó 1ml del filtrado del extracto acuoso en un tubo de ensayo, luego se agregó limaduras de magnesio y por la pared del tubo se dejó caer lentamente HCL concentrado (37%). La presencia de colores: naranja, rojo, violeta o rosado, indican la presencia de flavonoides en el material vegetal. (52)

C. Prueba para antocianinas

Se agregó 2ml del filtrado en un tubo de ensayo y se añadió 1ml de NaOH diluido. Observar la coloración (azul). En otro tubo de ensayo se adicionó 2ml del filtrado y se añadió 6 gotas de algún ácido mineral diluido (HCL O H₂SO₄ al 10%). Observar la coloración formada. (rojo a anaranjado). Las antocianinas se reconocen por producir diferente color a diferente pH. (52)

D. Identificación de Lactonas

La identificación de lactonas se realizó por medio del ensayo de Baljet donde se tomó 2ml del extracto y se adiciono 5-6 gotas del reactivo de Baljet que contiene acido pícrico e hidróxido de sodio. Se considera positivo ante presencia de coloración roja oscura o anaranjado.(52)

E. Esteroides

se realizó mediante la prueba de liebermann-burchard donde se mezclaron 1ml de cloroformo y 1ml de anhídrido acético, se enfrió a 0° y se le añadió 1 a 2 gotas de ácido sulfúrico. La prueba se considera positivo ante presencia de color verde, azul rojo, anaranjado, etc. Los que cambian con el tiempo a claro. (52)

F. Saponinas

Para la identificación de saponinas se colocó en un tubo de ensayo 2 ml del extracto, se le agrego agua caliente (40 °C), se dejó reposar durante 15 a 30 minutos y luego se agitó manualmente durante 1 a 2 minutos.(52)

G. Taninos

Para esta prueba se tomaron alícuotas de 1ml del extracto, se le agregó agua caliente (40°C), se dejó reposar durante 15 a 30 minutos y luego se agito manualmente durante 1 a 2 minutos. (52)

H. Fenoles

Para la identificación de fenoles se tomaron alícuotas de 1 ml del extracto y se agregaron 3-4 gotas de cloruro férrico. Se considera positivo la aparición de un precipitado de color azul oscuro a verde oscuro. (52)

I. Prueba para aminoácidos

Se realizó mediante el ensayo de Ninhidrina donde se tomaron 1 ml del extracto, se adicionó 1 ml de ninhidrina, se calentó hasta ebullición por 1 minuto, posteriormente se dejó enfriar. Una coloración violeta o azul violeta determina positiva la prueba. (52)

J. Triterpenos

La identificación de triterpenos se realizó mediante la prueba de Liebermann-Burchard, se tomaron 2 ml del extracto y se le agregaron 1 mL de cloroformo resbalando por las paredes, 1 mL de anhídrido acético y se dejó reposar en frío. La aparición de colores rojo, rosa, verde, púrpura o azul en la interfase cuando se añaden 1 o 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado se considera positiva. (52)

K. Azúcares Reductores

Para la identificación de azúcares reductores se realizó mediante la prueba de Fehling, se tomaron 1 mL del extracto en un tubo de ensayo y se adicionó 1 mL de Fehling A y 1 mL de Fehling B (reactivos de sulfato de cobre y tartrato de sodio y potasio), posteriormente se calentó a fuego directo constante. Se considera positivo el precipitado rojo ladrillo de óxido cuproso. (52)

4.4.3.6. Determinación de vitamina C

En un tubo de ensayo se tomó 0.2ml de reactivo Folin-Ciocalteu al 10%, luego se adiciono 0.5ml de ácido tricloroacetico(TCA) al 10% y se agito durante un minuto. Posteriormente se añadió 0.05 ml de muestra y 1.35 ml de agua destilada dejándolo en reposo a temperatura ambiente por un tiempo de 10 minutos finalmente se leyó en el espectrofotómetro a 760nm. Para llevar a cabo los cálculos se preparó una curva de estándar de ácido ascórbico utilizando concentraciones de esta vitamina, y los resultados se expresan como mg de ácido ascórbico/100 gramos de muestra fresca.(53)

4.4.3.7. Ensayo de la actividad antioxidante por método DPPH

Para poder determinar la capacidad antioxidante se utilizó un sistema constituido por: Metanol, Tampón acetato 0.1M de pH 6.0, sobrenadante y solución DPPH*. Luego se agito cada tubo durante treinta segundos, se dejó reposar durante 30 minutos en oscuridad y después se leyó en un espectrofotómetro a 517nm. Finalmente se calculó el porcentaje de inhibición de acuerdo a la siguiente formula.(54)

$$\% \text{ inhibición} = \frac{A - A_1}{A} \times 100$$

A = Absorbancia del blanco

A₁ = Absorbancia de la muestra

A continuación en la figura N°6 se muestra la determinación de la capacidad antioxidante.

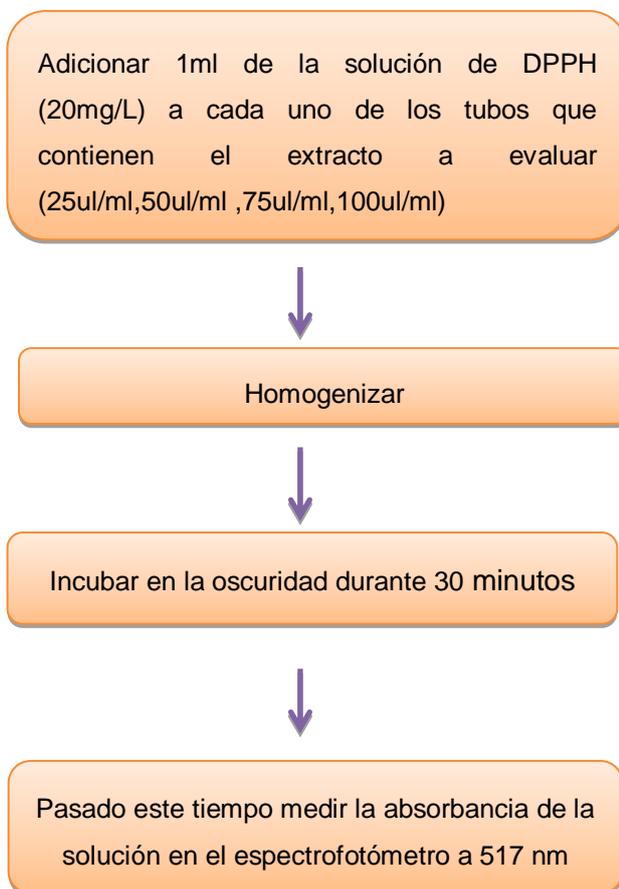


Figura N°6: Determinación de la capacidad antioxidante

Fuente: Elaboración propia 2018.

CAPÍTULO V

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

5.1. Resultados de la investigación

La capacidad antioxidante de extracto acuoso de *Brassica napus* L. (nabo) frente al radical libre 2,2 Difenil Picril Hidrazilo (DPPH) según los datos obtenidos, realizados en Instituto de centro de investigación Bioquímica y Nutrición de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos , se detallan a continuación:

CUADRO N°5

MARCHA FITOQUIMICA DEL EXTRACTO ACUOSO DE *Brassica napus* L. (nabo)

N°	METABOLITO	ENSAYO	RESULTADO
1	ANTOCIANINAS	Prueba cualitativa	+
2	ALCALOIDES	Reacción de Dragendorf	-
		Reacción de Mayer	+
		Reacción de Wagner	-
3	LACTONAS	Reacción de Baljet	-
4	FLAVONOIDES	Reacción de Shinoda	+
5	AMINOÁCIDOS	Reacción de Ninhidrina	+++
6	CARDENÓLIDOS	Reacción de Kedde	+
7	ESTEROIDES	Reacción de Liebermann-Burchard	+
8	SAPONINAS	Reacción de espuma	-
9	TANINOS	Reacción con cloruro férrico	++
10	TRITERPENEOS	Reacción de Liebermann Burchard	+
11	AZÚCARES REDUCTORES	Reacción de Fehling	++
12	FENOLES	Reacción de cloruro férrico	++

Fuente: Elaboración propia 2018.

LEYENDA:(+++) Reacción muy evidente, (++) Reacción evidente, (+) Reacción poco evidente, (-) no hubo reacción.

En el cuadro N°5 se observa los resultados de la marcha fitoquímica, realizado al extracto acuoso de *Brassica Napus* L.(nabo), demostrando la presencia abundante de aminoácidos; presencia moderada de fenoles, azúcares reductores y la presencia leve de antocianinas, alcaloides, flavonoides, esteroides, triterpenos y cardenólidos.

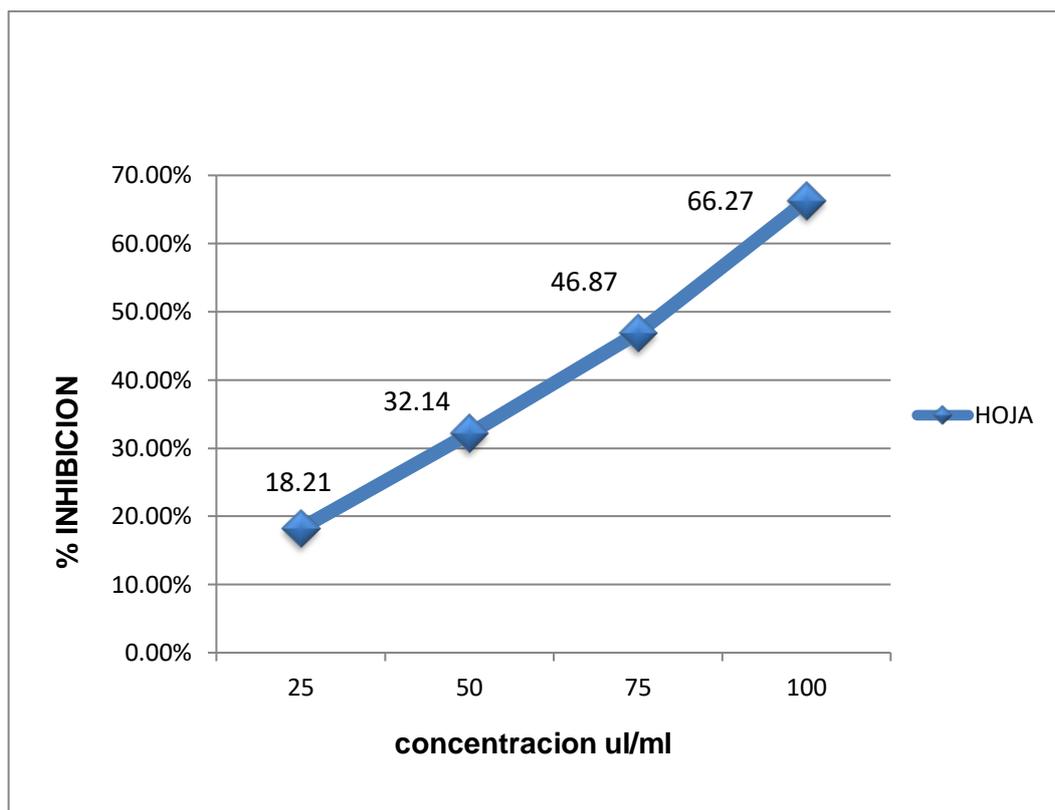


Grafico N°1: Porcentaje de inhibición de la capacidad antioxidante del extracto acuoso de las hojas de *Brassica napus* L. (nabo) según método DPPH.

Fuente: Elaboración propia

En el grafico N°1 se observa la variación de la capacidad antioxidante ejercida por las muestras del extracto acuoso de las hojas de *Brassica napus* (nabo), usando concentraciones de 25ul/ml, 50ul/ml, 75ul/ml, y 100ul/ml; donde se aprecia que los valores de la capacidad antioxidante según determinación DPPH van aumentando en relación directa al incremento de la concentración muestra.

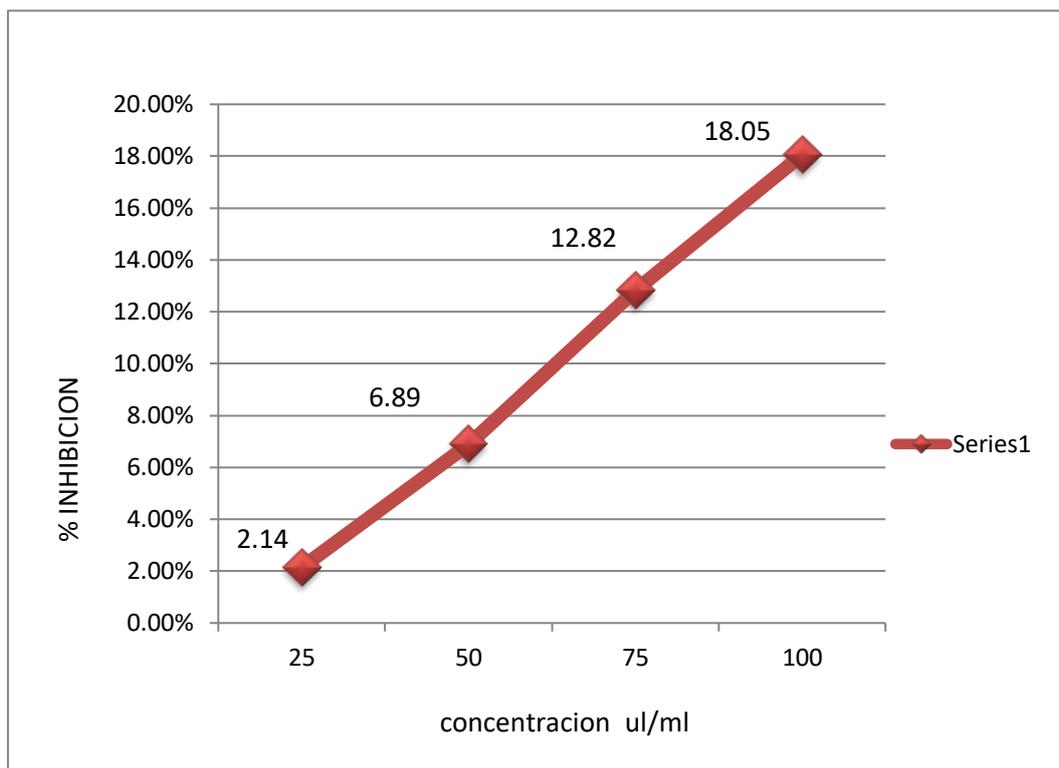


Grafico N°2: Porcentaje de inhibición de la capacidad antioxidante del extracto acuoso de la raíz de *Brassica napus* L. (nabo) según método DPPH.

Fuente: Elaboración propia.

En el grafico N°2 se observa la variación de la capacidad antioxidante ejercida por la muestra del extracto acuoso de la raíz de *Brassica napus* L. (nabo), usando varias concentraciones cuyo rango estuvo comprendido entre 25 y 100 ul/ml; donde se aprecia que los valores de la capacidad antioxidante según determinación DPPH van aumentando en relación directa al incremento de las concentraciones de las muestras, un comportamiento similar al presentado en la gráfica N°1.

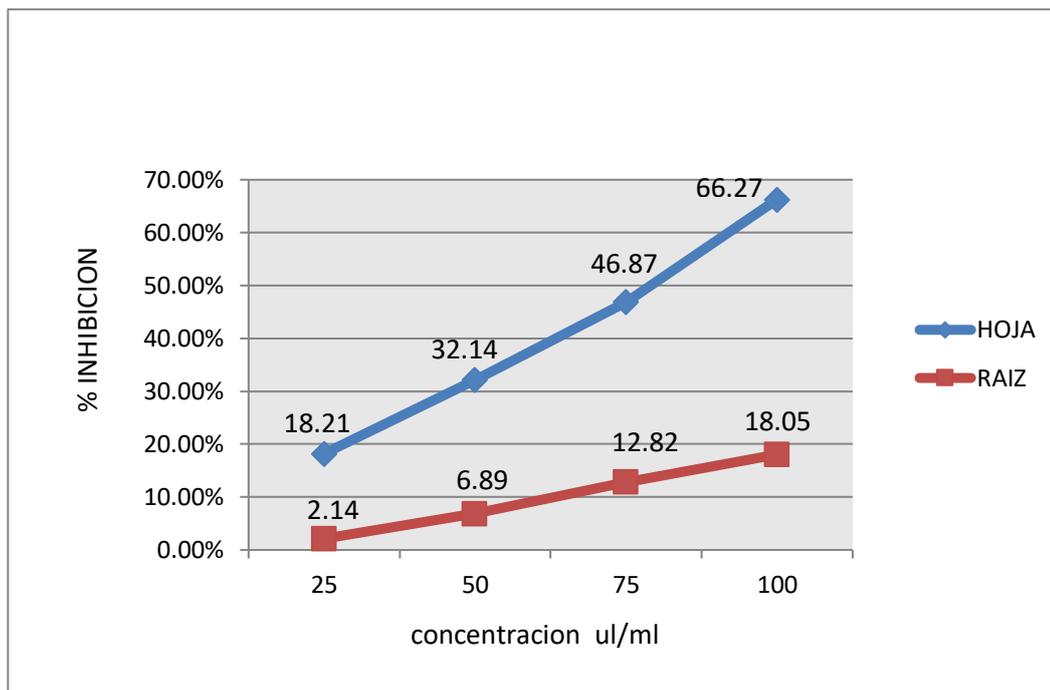


Grafico N°3: Comparación del porcentaje de inhibición de la capacidad antioxidante de *Brassica napus L.*(nabo), parte hoja y parte raíz según método DPPH.

Fuentes: Elaboración propia.

En el grafico N°3 se observa que al relacionar el porcentaje de inhibición la capacidad antioxidante según el método DPPH, de *Brassica napus L.* (nabo) parte hoja y parte raíz, en función de la concentración de la muestra, se pudo evidenciar que existe una correlación directa, así mismo se observa una mejor capacidad antioxidante ejercida por parte de la hoja de *Brassica napus L.* (nabo) presentando un porcentaje de inhibición de 66.27% mientras que la raíz presento un porcentaje de inhibición de 18.05% en la concentración de 100ul/ml.

TABLA N° 2
COEFICIENTE INHIBICION 50 SEGÚN METODO DPPH DEL
EXTRACTO ACUOSO DE LAS HOJAS Y RAÍZ DE *Brassica napus*L.
(nabo)

NABO	IC 50mg/ml
HOJA	IC 6.50mg/ml
RAIZ	IC 22.33mg/ml

Fuente : Elaboración propia

En la tabla N°2 se observa que el extracto acuoso de las hojas *Brassica napus* L. (nabo) ejerce una mayor capacidad antioxidante que la raíz presentando un IC 50 de 6,5mg/ml y 22.33mg/ml respectivamente, lo que indica que con una concentración menor de la muestra, se logra alcanzar un 50% de reducción del radical libre DPPH.

TABLA N°3
CONTENIDO DE VITAMINA C DEL EXTRACTO ACUOSO DE LAS
HOJAS Y RAÍZ DE *Brassica napus* L. (nabo)

Nabo	Vitamina C (mg/100gr de muestra)
Hoja	32.33mg/ml
Raíz	7.33mg/ml

Fuente: Elaboración Propia

En la tabla N°3 se observa que en las hojas del nabo presento un contenido de vitamina C de 32.33 mg/100 gramos de muestra, lo que haría pensar que este componente estaría favoreciendo su acción antioxidante frente a la presencia de radicales libres, sin embargo se aprecia que en la raíz presenta un menor contenido de vitamina C 7.33mg /100 gramos de muestra, lo que se correlaciona con la disminución en su capacidad antioxidante.

CAPÍTULO VI

DISCUSIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

6.1. Discusión de la investigación

Existen diferentes métodos para evaluar la captación de radicales libres; para el desarrollo de la presente investigación se consideró el método 2,2 difenil-picril-hidracilo (DPPH), el cual permite tener una idea aproximada de la capacidad antioxidante basado en la captación de los radicales libres.

El nabo es muy utilizado en la alimentación como un ingrediente en muchos platos, esta planta tiene muchos usos medicinales, debido a que se han detectado muchos metabolitos secundarios que por su naturaleza tienen el potencial de ser antioxidantes como los flavonoides y los glucosinolatos.

A pesar de que se han hecho estudios acerca de las propiedades medicinales de *Brassica napus* L. (nabo) en otras partes del mundo, cabe resaltar que en nuestro país no han sido tan estudiadas, por lo que es necesario profundizar su estudio y dar a conocer sus aplicaciones, para que pueda ser utilizado por la población como producto natural en la prevención y tratamiento de enfermedades.

En la investigación realizada por **Arnao I, Suarez S, Cisneros R y Trabuco J**, evaluaron la capacidad antioxidante de los extractos acuosos de la raíz y las hojas de *smallantus sonchifolius* (yacón), mediante la técnica 2,2 difenil- picril hidrazilo (DPPH), los resultados obtenidos demostraron que el extracto acuoso de la hoja del yacon presento valores de IC 50 de 7,53 mg/ml y de la raíz fue de 14mg/ml, lo que significa que las hojas tienen mayor capacidad para captar los radicales libres, comparando con la presente investigación, el extracto acuoso de las hojas *Brassica napus* L. (nabo),presento un IC de 6.5mg/ml y de la raíz fue de 22.33mg/ml, donde se puede apreciar que ambos estudios presentaron un similar comportamiento, evidenciando mayor capacidad antioxidante en las hojas comparándolas con las raíces, lo que demuestra que las hojas son un órgano fotosintetizador y quimiosintetizador vegetal por excelencia por lo que en su interior sus células retienen a los metabolitos secundarios. (10)

En otra investigación realizada por **Hernandez G, Castañeda C**, sobre el efecto antioxidante de las hojas de *lepidum peruvianum* (Maca), utilizaron tres extractos: En éter etílico, en agua destilada y alcohol etílico presentando mayor captación de radical libre el extracto en éter etílico con una actividad de 99.63% y 96.83% a una concentración de 50 y 100 ug/ml , mientras que el extracto acuoso a las mismas concentraciones presentaron una actividad de 45.53% y 68.02% respectivamente. Comparando con la presente investigación el extracto acuoso de la hoja de *Brassica napus* L. (nabo) tuvo un porcentaje de actividad de 46.87% y 66.27% en las concentraciones de 75ul/ml y 100ul/ml, lo cual indica que presenta un comportamiento similar en ambos estudios, esto puede deberse a que ambas plantas pertenecen a la familia de Brassicaceas, por lo que también deben contener similares metabolitos secundarios.(9)

En un estudio realizado por **Fernandez G, Chambi J, Ayme H**, que determinaron el análisis fitoquímico del extracto acuoso de hojas de *Brassica oleracea* (col morada) se observó la presencia de compuestos fenólicos, flavonoides, glucósidos, taninos, antocianinas y alcaloides; comparando con la presente investigación, al realizar la marcha fitoquímica al extracto acuoso de *Brassica napus* L. (nabo) se evidenció un comportamiento similar, detectando la presencia de fenoles, antocianinas, taninos, aminoácidos (como se muestra en el cuadro N°4). Lo que le estaría confirmando su poder antioxidante. (8)

En otro estudio realizado por **Armesto J, Carballo J, Martinez S**, evaluaron la capacidad antioxidante y contenido en fenoles totales de *Brassica oleracea* (berza gallega o col), presentando una elevada capacidad antioxidante, obteniendo porcentajes de inhibición más del 90%. El valor de IC₅₀ hallado en las hojas fue 4.01 mg/ml, en los tallos fue de 10.96 mg/ml comparado con la presente investigación, el IC₅₀ para la hoja de *Brassica napus* L. (nabo) fue 6.51 mg/ml y en la raíz fue de 22,23 mg/ml, lo que demuestra que las hojas presentan mayor actividad antioxidante, en el caso de la raíz de *Brassica napus* L. (nabo) al compararlo con el tallo de la col se observa una diferencia en los resultados esto puede deberse a la parte de la planta utilizada, variedad, madurez, las condiciones de cultivo y el tipo de suelo, los fertilizantes, la situación geográfica, el momento de recolección. (13)

En un estudio realizado por **Palomo G, Gutierrez C, Astudillo S**, que determinó la capacidad antioxidante de las hojas de brócoli y coliflor, perteneciente a la misma familia del nabo, presentaron un porcentaje de inhibición de 54.33% y 54.55% respectivamente, en la concentración de 100 µl/ml, un comportamiento similar que se aprecia en las hojas de *Brassica napus* (nabo) que tuvo un porcentaje de inhibición de 66.27% a la misma concentración; en

este estudio se pudo apreciar que la capacidad antioxidante depende de la concentración, es decir a mayor concentración mejor es la capacidad antioxidante, dichos resultados concuerdan con el mencionado estudio, que la capacidad antioxidante de las frutas y verduras es dependiente de la concentración empleada.(11)

En otro estudio realizado por **Reyes L, Rosas L, Campos R, Quintero A**, evaluaron la capacidad antioxidante del extracto acuoso de las hojas de *Brassica oleracea var sabellica* (col rizada) por el método 2,2 difenil-picril-hidrazilo (DPPH), obteniendo como resultado un porcentaje de captación de radical libre de 78.6%, comparado con la presente investigación del extracto acuoso de las hojas de *Brassica napus* (nabo) se obtuvo un porcentaje de inhibición de 66.26% un comportamiento similar al estudio mencionado, esto podría deberse a que las hojas de Brassicas contienen compuestos fenólicos y vitamina C, lo que le estaría confiriendo el poder antioxidante.(12)

CONCLUSIONES

- Se determinó que el extracto acuoso de *Brassica napus L.* (nabo) presenta capacidad antioxidante frente sistema generador de radical libre DPPH evidenciando que a mayor concentración del extracto acuoso mayor capacidad antioxidante.
- Se determinó la capacidad antioxidante de las hojas de *Brassica napus L.* (nabo), presentando un IC: 50 de 6.5mg/ml según el método DPPH.
- Se determinó la capacidad antioxidante de las raíz de *Brassica napus L.* (nabo), presentando un IC: 50 de 22.33 mg/ml según el método DPPH.
- El extracto acuoso de las hojas de *Brassica napusL.* (nabo) presenta mayor capacidad antioxidante con un IC50 de 6.5mg/ml comparándola con el extracto acuoso de la raíz de *Brassica napus L.* presentando un IC50 de 22,33mg/ml.
- El extracto acuoso de las hojas de *Brassica napus L.* (nabo) presenta mayor contenido de vitamina C que la raíz.

RECOMENDACIONES

- Evaluar la capacidad antioxidante de *Brassica napus* L.(nabo) frente a otros sistemas generadores de radicales libres.
- Se recomienda utilizar otros tipos de extractos para evaluar la capacidad antioxidante de *Brassica napus* L. (nabo)
- Se recomienda realizar más estudios de la hoja y raíz de *Brassica napus* L. (nabo) debido a que son reducidos los estudios y así mostrar al mundo una de las riquezas que posee nuestro país.
- Realizar trabajos de investigación sobre la toxicidad del extracto acuoso de la hojas y raíz de *Brassica napus* L. (nabo) para determinar posibles efectos secundarios.

FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Quiñones M. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*. 1 de enero de 2012;(1):76–89.
2. Valls V. El papel antioxidante de los alimentos de origen vegetal vitaminas y polifenoles, facultad de medicina, universidad de valencia [Internet]. [citado 28 de junio de 2018]. Disponible en: [http://revista.nutricion.org/hemeroteca/revista_agosto_03/Funcional es/vegetales,vitaminas,polifenoles.pdf](http://revista.nutricion.org/hemeroteca/revista_agosto_03/Funcional%20es/vegetales,vitaminas,polifenoles.pdf).
3. Jiménez R, Kuhn G. *Toxicología fundamental*. Ediciones Díaz de Santos; 2009;(2):65-90
4. Mora F. *Soporte nutricional especial*. Ed. Médica Panamericana; 2002;(2):78-80.
5. Figueroa S, Mollinedo O. *Actividad antioxidante del extracto etanolico del mesocarpio del fruto de Hylocerius undatus -pitaya e identificación de los constituyentes [tesis para optar el título profesional de químico farmacéutico]; 2017*. Disponible en:<http://repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/123456789/9>
6. Coronado H, León S, Gutiérrez T, Vázquez F, Radilla V. *Antioxidantes: Perspectiva actual para la salud humana*. *Revista chilena de nutrición*. junio de 2015; 42(2):206-12.
7. Oliveira G. *Capacidad antioxidante de averrhoa carambola I. (carambola) frente a sistemas generadores de radicales libres [tesis Para optar el Grado Académico de Magister en Nutrición con mención en Aspectos Biológicos de la Nutrición] Lima – Perú 2014* [Internet]. [citado 20 de junio de 2018]. Disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/3943/Oliveira_bg.pdf?sequence=1&isAllowed=y

8. Fernández G, Chambi J, Ayme H. Estudio Etnobotánico y Fitoquímico de hojas de Brassica oleracea l. col morada. Disponible en : <http://revistas.unjbg.edu.pe/index.php/CYD/article/viewFile/315/269>
9. Hernandez G, Castañeda C .Evaluación del efecto antioxidante de hojas de Lepidium peruvianum Chacón, “maca” [Internet]. [citado 22 de junio de 2018]. Disponible en: <http://www.medicina.usmp.edu.pe/medicina/horizonte/Art3vol08n1.pdf>
10. Arnao I, Suárez S, Cisneros R, Trabucco J. Evaluación de la capacidad antioxidante de los extractos acuosos de la raíz y las hojas de Smallanthus sonchifolius (yacón). Revista de la Sociedad Química del Perú. abril de 2013; 78(2):120-5.
11. Palomo G, Gutiérrez C, Astudillo S, Rivera S, Torres U, efecto antioxidante de frutas y hortalizas, Santiago- chile, 2009.
12. Reyes A, Rosas L, Campos R, Quintero A, Propiedades antioxidantes del extracto acuoso de *Brassica oleracea var. Sabellica* ,Universidad Autónoma de San Luis Potosí , 2017. Disponible en: <http://www.ecorfan.org/spain/researchjournals/Ciencias>.
13. Armesto J, Carballo J, Martínez S. Capacidad antioxidante y contenido en fenoles totales de la berza gallega (Brassica oleracea) Área de Tecnología de los Alimentos, Facultad de Ciencias. Universidad de Vigo. Ourense (España [Internet]. [citado 22 de junio de 2018]. Disponible en: <https://previa.uclm.es/area/cta/cesia2012/cd/PDFs/4-BIO/BIO-P08T.pdf>
14. Beyra Á, León MC, Ferrándiz D, Herrera R. Estudios etnobotánicos sobre plantas medicinales en la provincia de Camagüey, Cuba.

Anales del Jardín Botánico de Madrid. 2004;61(2):185-204 Disponible

en: <http://learningobjects2006.espol.edu.ec/index.php/tecnologica/article/view/40>

15. Gallegos M. Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. Anales de la Facultad de Medicina. 16 de diciembre de 2016;P.77(4):327.

Disponible en: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/anales/article/view/12647>

16. Quiñones M, Miguel M, Aleixandre A. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. Nutr Hosp. 2012; 27 (1): 76-89. Disponible en: http://scielo.isciii.es/pdf/nh/v27n1/09_revision_08.pdf

17. Muñoz O, Copaja S, Speisky H, Peña R, Montenegro G. Contenido de flavonoides y compuestos fenólicos de mieles chilenas e índice antioxidante. Química Nova. 2007; 30: 848 – 851.

Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2014000400008

18. Camañez M, Muñoz P, Bartolome P. Brassica napus L. Var. napobrassica, El nabo. cultivos-hortícolas-al-aire-libre.pdf [Internet]. [citado 11 de julio de 2018]. Disponible en: <http://www.publicacionescajamar.es/uploads/cultivos-hortícolas-al-aire-libre/06-cultivos-hortícolas-al-aire-libre.pdf>

19. Sánchez L. Cultivo del Nabo y el Colinabo [Internet]. https://www.botanical-online.com/nabo_cultivo.htm. [citado 22 de junio de 2018]. Disponible en: https://www.botanical-online.com/nabo_cultivo.htm

20. Dann A, Jara F. Manejo del nabo [Internet]. Ciencias presentadas en; 11:49:44 UTC [citado 22 de junio de 2018]. Disponible en: <https://es.slideshare.net/danhtml/manejo-del-nabo>
21. Angeles C. Propiedades nutricionales del Nabo [Internet]. Barcelona Alternativa. 2017 [citado 11 de julio de 2018]. Disponible en: <https://barcelonalternativa.es/propiedades-nutricionales-del-nabo/>
22. Bueno A. Vitaminas: Aspectos prácticos en medicina. Ediciones DíazdeSantos;1995.138p. Dponible: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1692-35612017000100006&lang=pt.
23. Miguel J, Cepero B. La vitamina C como un eficaz micronutriente en la fortificación de alimentos. 2016, Marzo [Citada: 2018 julio 10];43(1):81-6.
Disponible:https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182016000100012
24. Espinosa Hernández JA, Cué Brugueras M. Vitaminas y minerales contra el estrés. Revista Cubana de Farmacia. abril de 2012;35(1):74-8.
Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152001000100013
25. Fuentes VR, Granda M. Estudio sobre la medicina tradicional en Cuba I. Rev Plant Med. 1982;2:25-46. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962015000400007
26. Barrenzuela J. Métodos de extracción [Internet]. Farmacognosia. Plantas medicinales. [citado 12 de julio de 2018]. Disponible en: <http://www.plantas-medicinal-farmacognosia.com/temas/métodos-de-extracción/>
27. Salomón Izquierdo S, Hernández L, Darío O, García C, Sanabia G, Lidia M, et al. Desarrollo de una tecnología para la obtención de

extracto acuoso de hojas de *Morinda citrifolia* L. (noni). Revista Cubana de Plantas Medicinales. junio de 2009;14(2).

Disponible:

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962009000200003

28. Cruz N, Rhode A, Velazco P, Márquez D. Evaluación de la actividad antioxidante del berro (*Nasturtium officinale*). Revista de la Sociedad Química del Perú. enero de 2008;74(1):40-5.

29. Zavaleta J, Muñoz AM, Blanco T, Alvarado C, Loja B. Capacidad antioxidante y principales ácidos fenólicos y flavonoides de algunos alimentos. Revista Horizonte Médico. 2005, 2(5): 29 – 38.

Disponible

en:http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2007000300003

30. Pérez F. Capacidad antioxidante total de frutas - revista de química agrícola y de alimentos [Internet]. [citado 29 de junio de 2018]. Disponible en: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf950579y>

31. Oliveira G. Capacidad antioxidante de *averrhoa carambola* L. (carambola) frente a sistemas generadores de radicales libres. Universidad Nacional Mayor de San Marcos [Internet]. 2014 [citado 29 de junio de 2018]; Disponible en: <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/3943>

32. Avello M, Suwalsky M. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea* (Concepción). 2006;(494):161-72. Disponible: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-04622006000200010

33. Olivares I, Cabrera G, Martínez M. Importancia de los antioxidantes dietarios en la disminución del estrés oxidativo. 2010;7. disponible en : https://www.uaeh.edu.mx/investigacion/icsa/li_nutrimole/gabriel_bet/importancia.pdf

34. Diego J. Antioxidantes: micronutrientes en lucha por la salud. Revista chilena de nutrición. marzo de 2007; 34(1):17-26. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182007000100002
35. Aguirre M. Radicales Libres.pdf [Internet]. [citado 22 de junio de 2018]. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/306349827/11-Radicales-Libres-pdf>
36. Romero D, Bueno J. Radicales libres del oxígeno y antioxidantes en medicina (Editorial). Rev Clin Española 1998;184(7):345-6. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572002000200009
37. Christopher K. Bioquímica 4º edición; 2009.123 p. [Internet]. [citado 30 de junio de 2018]. Disponible en: <https://www.casadellibro.com/libro-bioquimica-4-edicion/9788490353929/2127352>
38. Hernández A. Principios de bioquímica clínica y patología molecular. El sevier España; 2010. 492 p.
39. Corrales M, Muñoz M. Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno. Nova. 15 de diciembre de 2012;10(18):213.
40. Almonte S. Respiración Celular: Proceso | Portal Académico del CCH [Internet]. [citado 5 de julio de 2018]. Disponible en: <https://portalacademico.cch.unam.mx/alumno/biologia1/unidad2/respiracionAerobia/proceso>
41. Lazo M. Radicales libres, antioxidantes, y vitaminas [Internet]. [citado 22 de junio de 2018]. Disponible en: <http://www.ataxia-y-ataxicos.es/HA/MED/YNAC16.htm>

42. Saavedra M, Vázquez J, Guapillo B, Bolaina M. Radicales libres y su papel en las enfermedades crónico-degenerativas. 2010;8.
43. Miranda J. Respiración celular.pdf [Internet]. [citado 22 de junio de 2018]. Disponible en: http://www.agrarias.unlz.edu.ar/archivos_descargables/material_archivos/biologia/Respiracion%20celular.pdf
44. Padial R. Los radicales libres: Que son, tipos y consecuencias [Internet]. Nutropedia. 2018 [citado 5 de julio de 2018]. Disponible en: <http://www.nutropedia.es/radicales-libres/>
45. Korc I, Bidegain M, Marte M. Radicales libres Bioquímica y sistemas antioxidantes Implicancia en la patología neonatal Rev Med Uruguay 1995; 11: 121-135 [Internet]. [citado 5 de julio de 2018]. Disponible en: <http://www.ejournal.unam.mx/cns/no75/CNS07505.pd>
46. Miranda J. Estrés oxidativo y radicales libres [internet]. praxis-nigros webseite! [citado 22 de junio de 2018]. disponible en: <http://praxis-nigro.jimdo.com/sp/métodos-de-diagnóstico/estrés-oxidativo-y-radicales-libres/>
47. Aguirre M. Radicales Libres.pdf [Internet]. Scribd. [citado 22 de junio de 2018]. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/306349827/11-Radicales-Libres-pdf>
48. Vazquez W. La proteína whey en la recuperación de lesiones - Noticias [Internet]. MyFitBody. [citado 30 de junio de 2018]. Disponible en: http://www.myfitbody.es/blog/39_la-proteina-whey-en-la-recuperacion-de-lesiones.html
49. Rodríguez M. lesiones y reparación del ADN de [Internet]. [citado 30 de junio de 2018]. Disponible en: <https://prezi.com/tvvsqezfbqdl/lesiones-y-reparacion-del-adn/?webgl=0>

50. Kuskoski E, Asuero AG, Troncoso AM, Mancini-Filho J, Fett R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Food Science and Technology*. diciembre de 2005;25(4):726-32.
51. Fernandez S, Villano D, Troncoso A, Garcia C. Revisión de los métodos de evaluación de la actividad antioxidante in vitro y valoración de sus efectos in vivo. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 2006; 56(2):1-25
52. Sanabria, A. Análisis fitoquímico preliminar. Metodología y su aplicación en la evaluación de 40 plantas de la familia Compositae. [tesis para optar el título del grado académico de químico farmacéutico] Facultad de Ciencias, Departamento de Farmacia, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. Santos. Disponible en:<http://www.scielo.org.co/pdf/cofo/v12n1/v12n1a11.pdf>
53. Ramos E, Castañeda C, Ibáñez A. Evaluación de la capacidad antioxidante y determinación de vitamina C de plantas medicinales peruanas nativas e introducidas. 2008;5.
54. Brand W, Cuvelier, M. and Berset, C. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm Wiss Technology*. 28. 25-30
- Disponible en:http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2008000200004

ANEXOS

ANEXO N°1

TITULO: Capacidad antioxidante del extracto acuoso de *Brassica napus* L.(Nabo), frente al sistema generador de radical libre DPPH

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACION	METODO Y DISEÑO DE INVESTIGACION	VARIABLES	POBLACION Y MUESTRA
<p>Problema General</p> <p>¿Cuál es la capacidad antioxidante del extracto acuoso de <i>Brassica napus</i> L. (Nabo) frente al sistema generador de radical DPPH?</p> <p>Problemas específico</p> <p>¿Cuál es la capacidad antioxidante del extracto acuoso de las hojas de <i>Brassica napus</i> L. (Nabo) frente al sistema generador de radical libre DPPH?</p> <p>¿Cuál es la capacidad antioxidante del extracto acuoso de la raíz de <i>Brassica napus</i> L. (Nabo) frente al sistema generador de radical libre DPPH ?</p> <p>¿Cuál de los extractos acuosos de <i>Brassica napus</i> L. (Nabo) parte hoja y raíz presenta mayor capacidad antioxidante frente al sistema generador de radical libre DPPH ?</p> <p>¿Cuál es el contenido de vitamina C del extracto acuoso de <i>Brassica napus</i> L. parte hoja y raíz</p>	<p>Objetivo General</p> <p>Determinar la capacidad antioxidante del extracto acuoso de <i>Brassica napus</i> L.(Nabo), frente al sistema generador de radical DPPH.</p> <p>Objetivos específicos</p> <p>-Determinar la capacidad antioxidante del extracto acuoso de las hojas de <i>Brassica napus</i> L. (Nabo) frente al sistema generador de radical DPPH.</p> <p>-Determinar la capacidad antioxidante del extracto acuoso de la raíz de <i>Brassica napus</i> L. (Nabo) frente al sistema generador de radical DPPH.</p> <p>-Comparar la capacidad antioxidante del extracto acuoso de <i>Brassica napus</i> L. parte hoja y raíz frente al sistema generador de radical libre DPPH.</p> <p>-Determinar el contenido de vitamina c del extracto acuoso de <i>Brassica napus</i> L.(Nabo) parte hoja y raíz</p>	<p>Hipótesis General</p> <p>El extracto acuoso de <i>Brassica napus</i> L.(Nabo) presenta capacidad antioxidante frente al sistema generador de radical DPPH.</p> <p>Hipótesis secundarias</p> <p>-El extracto acuoso de las hojas de <i>Brassica napus</i> L. (Nabo) presenta capacidad antioxidante frente al sistema generador de radical DPPH.</p> <p>-El extracto acuoso de la raíz de <i>Brassica napus</i> L. (Nabo) presenta capacidad antioxidante frente al sistema generador de radical DPPH.</p> <p>-El extracto acuoso de las hojas de <i>Brassica napus</i> L. (Nabo) presenta mayor capacidad antioxidante que el extracto acuoso de la raíz de <i>Brassica napus</i> L. (Nabo) frente al sistema generador de radical DPPH en comparación al extracto de la raíz.</p> <p>-El extracto acuoso de <i>Brassica napus</i> L. nabo parte hoja presenta mayor contenido de vitamina C que la parte raíz.</p>	<p>Tipo de investigación</p> <p>✓ Analítico</p> <p>✓ Longitudinal</p> <p>✓ Prospectivo</p> <p>Nivel de investigación</p> <p>✓ Explicativo</p>	<p>Método de investigación</p> <p>- Deductivo: La presente investigación partió de lo general a lo específico, ya que las conclusiones fueron planteadas a partir de los resultados obtenidos.</p> <p>Investigación</p> <p>- Experimental: Porque se manipulo la variable independiente en diferentes concentraciones</p>	<p>Variable dependiente (X)</p> <p>Extracto acuoso de las hojas y raíz</p> <p>Indicadores:</p> <p>25ul/ml</p> <p>50ul/ml</p> <p>75ul/ml</p> <p>100ul/ml</p> <p>Variable independiente(Y)</p> <p>Capacidad antioxidante</p> <p>Indicadores</p> <p>- % de reducción de la inhibición DPPH</p> <p>- mg/ácido ascórbico</p>	<p>Población:</p> <p><i>Brassica napus</i> (nabo)</p> <p>Muestra :</p> <p>Extracto acuoso de las hojas y raíz de <i>Brassica napus</i> (nabo)</p>

ANEXON° 2

CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA DE *Brassica napus* L. (nabo



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° 230-USM-2018

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 (raíz tuberosa y hojas) recibida de **Melisa Angela Condori Cueva**, estudiante de la Universidad Alas Peruanas, Facultad de Farmacia y Bioquímica, ha sido estudiada y clasificada como: *Brassica napus* L., y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

DIVISION: MAGNOLIOPHYTA

CLASE: MAGNOLIOPSIDA

SUB CLASE: DILLENIIDAE

ORDEN: CAPPARALES

FAMILIA: BRASSICACEAE

GENERO: *Brassica*

ESPECIE: *Brassica napus* L.

Nombre vulgar: "Nabo"

Determinado por: Blgo. Mario Benavente Palacios

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

Lima, 22 de Junio de 2018




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

ACElddb

ANEXO N°3

PROTOCOLO DE RESULTADOS DE LA MARCHA FITOQUIMICA DE *Brassica napus* (nabo)



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
CENTRO PROFARMA

CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO - CCA



PROTOCOLO DE ANÁLISIS N.º00360-CPF-2018

ORDEN DE ANÁLISIS : 05004/2018
 SOLICITADO POR : MELISA CONDORI CUEVA
 MUESTRA : Brassica Napus L. (NABO)
 NÚMERO DE LOTE : -----
 CANTIDAD : 01 bolsa x 500g
 FECHA DE RECEPCIÓN : 24 de Julio del 2018
 FECHA DE FABRICACIÓN : -----
 FECHA DE VENCIMIENTO : -----

MARCHA FITOQUÍMICA			
METABOLITO	ENSAYO	MÉTODOS	RESULTADOS
ANTOCIANINAS	Prueba Cualitativa	Cualitativo	+
ALCALOIDES	Reacción de Dragendorff	Cualitativo	-
	Reacción de Mayer	Cualitativo	+
	Reacción de Wagner	Cualitativo	-
LACTONAS	Reacción de Baljet	Cualitativo	-
FLAVONOIDES	Reacción de Shinoda	Cualitativo	+
AMINOÁCIDOS	Reacción de Ninhidrina	Cualitativo	+++
CARDENÓLIDOS	Reacción de Kedde	Cualitativo	+
ESTEROIDES	Reacción de Liebermann – Burchard	Cualitativo	+
SAPONINAS	Reacción de espuma	Cualitativo	-
TANINOS	Reacción con cloruro férrico	Cualitativo	++
TRITERPENOS	Reacción de Liebermann – Burchard	Cualitativo	+
AZÚCARES REDUCTORES	Reacción de Fehling	Cualitativo	++
FENOLES	Reacción de cloruro férrico	Cualitativo	++





"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"
 Jr. Puno N° 1902 Jardín Botánico Lima 1 - Perú
 ☎ (511) 619-7000 anexo 4824 ✉ Ap. Postal 4559 - Lima 1
 E-mail: cca.farmacia@unmsm.edu.pe http://farmacia.unmsm.edu.pe



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
CENPROFARMA
CENTRO DE CONTROL ANALÍTICO - CCA



ENSAYO	ESPECIFICACIONES	MÉTODOS	RESULTADOS
EXTRACCIÓN ACUOSA	---	—	Conforme

Leyenda:

- +++ : Reacción muy evidente
- ++ : Reacción evidente
- + : Reacción poco evidente
- : No hubo reacción

Lima, 13 de Agosto del 2018


.....
Q.F. Gustavo Guerra Brizuela
Director del Centro de Control Analítico

"FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO"

Jr. Puno N° 1002 Jardín Botánico Lima 1 - Perú
☎ (511) 619-7000 anexo 4824 ☒ Ap. Postal 4559 - Lima 1
E-mail: cca.farmacia@unmsm.edu.pe <http://farmacia.unmsm.edu.pe>

ISO 9001

BUREAU VERITAS
Certification



ANEXO N°4

RESULTADO DE ANÁLISIS DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE *Brassica napus* (nabo)



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE MEDICINA
Instituto Centro de Investigación Bioquímica y Nutrición
"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"



Resultados de Análisis

1. Determinación de la capacidad antioxidante

Se realizó un extracto acuoso

Para la determinación se usó 25, 50, 75 y 100 uL de extracto acuoso.

Muestra : HOJAS de NABO a temperatura ambiente

Método Radical libre estable DPPH

Resultado : Primer ensayo : IC50 = 6.50 mg/mL
Segundo ensayo: IC50 = 6.51 mg/mL

2. Determinación de la capacidad antioxidante

Se realizó un extracto acuoso

Para la determinación se usó 25, 50, 75 y 100 uL del extracto acuoso.

Muestra : RAÍZ de NABO a temperatura ambiente

Método Radical libre estable DPPH

Resultado : Primer ensayo : IC50 = 22.33 mg/mL
Segundo ensayo: IC50 = 22.33 mg/mL

Lima, 15 de agosto del 2018

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
FACULTAD DE MEDICINA

Mg. Miguel Hernan Sandoval Vegas
DIRECTOR
INSTITUTO CENTRO DE INVESTIGACIÓN
DE BIOQUÍMICA Y NUTRICIÓN

ANEXO N° 5

RECOLECCIÓN Y SELECCIÓN DE LA MUESTRA



Figura N°7: Recolección de *Brassica napus* L. (nabo)

Fuente: Elaboración propia 2018.



Figura N°8: Selección de *Brassica napus* (nabo)

Fuente: Elaboración propia 2018.

ANEXO N°6

MARCHA FITOQUIMICA DEL EXTRACTO ACUOSO DE *Brassica napus* (nabo)

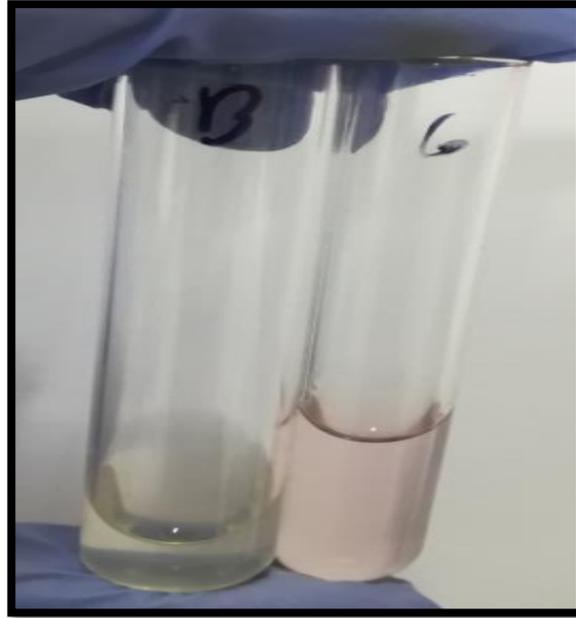


Figura N°9: Prueba para flavonoides

Fuente: Elaboración propia 2018.

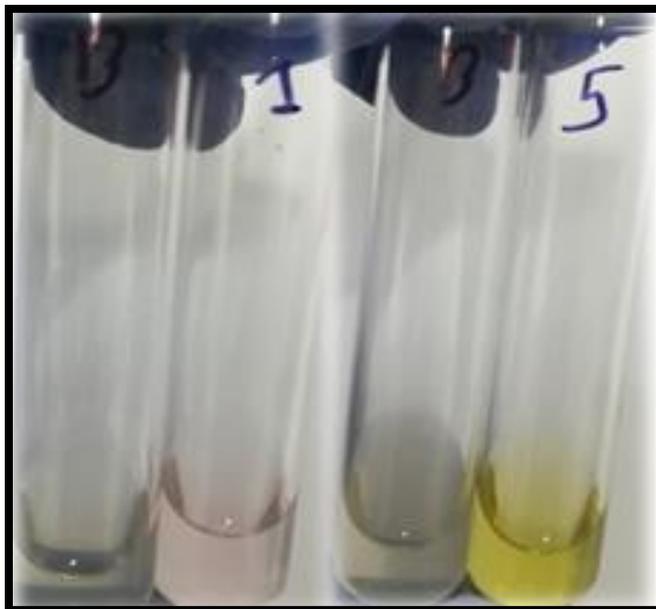


Figura N°9: prueba para antocianinas e identificación de lactonas.

Fuente: Elaboración propia 2018.



Figura N°11: Identificación de alcaloides

Fuente: Elaboración propia 2018.

,

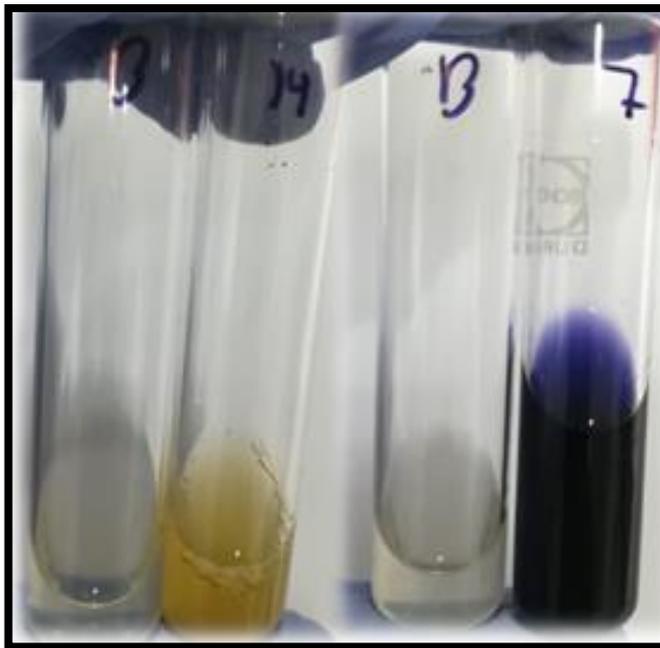


Figura N°12: Identificación de fenoles y prueba para aminoácidos

Fuente: Elaboración propia 2018.

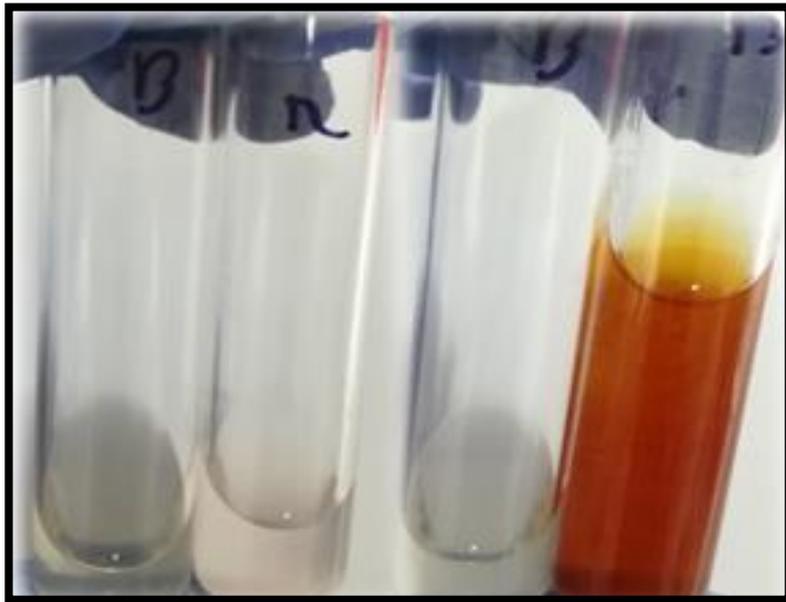


Figura N°13: Identificación de triterpenos y azúcares reductores

Fuente: Elaboración propia 2018.

ANEXO N°7
DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE



Figura N°14: preparación de la solución antioxidante DPPH
Fuente: Elaboración propia 2018.

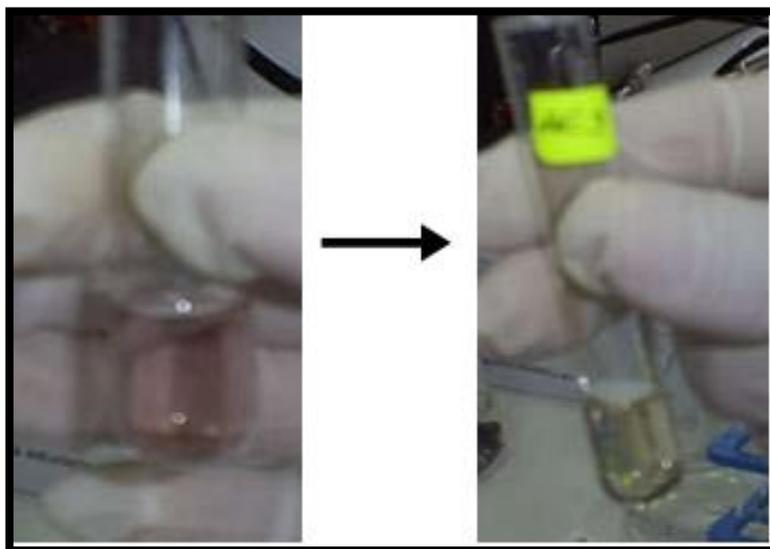


Figura N°15: Cambio de coloración del DPPH
Fuente: Elaboración propia 2018.

ANEXO N°7
FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS
DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANIOXIDANTE MEDIANTE
EL METODO DPPH

MUESTRA:

TRATAMIENTO:

MUESTRA	Fecha:	Fecha:	Fecha:	Fecha:
	ABS*	ABS*	ABS*	ABS*
M1				
M2				
M3				

ABS*: absorbancia

ANEXO 8

ANALISIS ESTADISTICO: DATOS ANOVA

		N°	MEDIA	DESVIACION ESTANDAR	ERROR ESTANDAR	95% DE INTERVALO DE CONFIANZA PARA LA MEDIA		MINIMO	MAXIMO
						LIMITE SUPERIOR	LIMITE INFERIOR		
% Captación de radical libre 25ul/mL	Extracto acuoso hoja	3	18,2100	18,21	18,21
	Extracto acuoso raíz	3	2,1400	2,14	2,14
	Total	6	10,750	11,36,321	8,03,500	-91,9,194	112,2,694	2,14	18,21
% Captación de radical libre 50ul/mL	Extracto acuoso hoja	3	32,1400	32,14	32,14
	Extracto acuoso raíz	3	6,8900	6,89	6,89
	Total	6	19,5150	17,85,445	12,62,500	-140,008	179,9,308	6,89	32,1
% Captación de radical libre 75ul/mL	Extracto acuoso hoja	3	46,8700	46,87	46,87
	Extracto acuoso raíz	3	12,8200	12,82	12,82
	Total	6	29,8450	24,07,699	17,02,500	-186,4781	246,1,681	12,82	46,87
% Captación de radical libre 100ul/mL	Extracto acuoso hoja	3	66,2700	66,27	66,27
	Extracto acuoso raíz	3	18,0500	18,05	18,05
	Total	6	42,1600	34,09,669	24,11,000	-264,1866	348,5,066	18,05	66,27