



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

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

**CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE
POLIFENOLES TOTALES DEL EXTRACTO**

METANOLICO DEL FRUTO *Capsicum pubescens*

(ROCOTO)

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PARA OPTAR EL GRADO
ACADÉMICO DE BACHILLER EN FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

AUTOR

ESPINOZA ACEBEDO, KAREN LIZBETH

ORCID: 0000-0003-2373-6718

ASESOR

AZNARAN FEBRES GERMAN EDUARDO ISAAC

ORCID ID 0000-0002-3151-9564

CHIMBOTE – PERU

2019

**CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE
POLIFENOLES TOTALES DEL EXTRACTO
METANÓLICO DEL FRUTO DE *Capsicum pubescens*
(ROCOTO)**

2. EQUIPO DE TRABAJO

AUTOR

ESPINOZA ACEBEDO KAREN

ORCID: 0000-0003-2373-6718

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Estudiante de Pregrado,
Chimbote, Perú

ASESOR

AZNARÁN FEBRES GERMÁN EDUARDO ISAAC

ORCID ID: 0000-0002-3151-9564

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Facultad de Ciencias de
La Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Chimbote,
Perú

JURADO

DIAZ ORTEGA, JORGE LUIS

ORCID: 0000-0002-6154-8913

RAMIREZ ROMERO, TEODORO WALTER

ORCID: 0000-0002-2809-709X

VASQUEZ CORALES, EDISON

ORCID: 0000-0001-9059-6394

3. ÍNDICE

4. INTRODUCCIÓN:.....	5
5. PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACIÓN:.....	6
5.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:	6
a) CARACTERIZACIÓN DEL PROBLEMA:	6
b) ENUNCIADO DEL PROBLEMA:	8
5.2. OBJETIVO DE LA INVESTIGACIÓN:.....	8
5.3. JUSTIFICACIÓN:.....	8
6. MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL:	9
6.1. ANTECEDENTES:.....	9
6.2. BASES TEÓRICAS DE LA INVESTIGACIÓN:	10
6.3. HIPÓTESIS:.....	16
7. METODOLOGÍA:.....	17
7.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN:	17
7.2. NIVEL DE LA INVESTIGACIÓN	17
7.3. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	17
7.4. EL UNIVERSO Y MUESTRA	19
7.5. DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES	20
7.6. TÉCNICA E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS	20
7.7. PLAN DE ANALISIS	20
7.8. MATRIZ DE CONSISTENCIA:.....	21
7.9. PRINCIPIOS ÉTICOS:.....	22
8. REFERENCIAS:.....	23
ANEXOS:.....	28

4.- INTRODUCCIÓN:

El presente proyecto de investigación pertenece al proyecto línea de investigación de plantas medicinales de importancia terapéutica de la escuela profesional de Farmacia y Bioquímica de Uladech Católica.

Las plantas medicinales son plantas que producen metabolitos secundarios, llamados "Principios activos", sustancias que ejercen una acción farmacológica, beneficiosa o perjudicial, sobre el organismo vivo. Su utilidad principal es servir como un medicamento o medicamento que alivia enfermedades o restaura la salud perdida. También se puede utilizar con fines terapéuticos o cuyos Principios activos pueden servir como precursores para la síntesis de nuevos medicamentos. Se utilizan diferentes órganos dentro de la planta, como raíces, tallos, hojas, frutos, flores o semillas con fines curativos (1).

Capsicum pubescens o rocoto es un capsicum nativo de la especie *pubescens*, su centro de fundación es en Bolivia y Perú, tiene un significado sociocultural relacionado con el desarrollo financiero de las regiones rurales en las que se produce regiones privilegiadas en las que se puede observar su hábitat natural. Perú y Bolivia se consideran instalaciones de fundación del género *Capsicum*, es por eso que descubrimos una biodiversidad de tipos silvestres y domesticados, que se desarrollan en lugares específicos y con variados climas agrícolas que los hacen precisos (2).

El significado de rocoto ya no es más efectivo dentro del uso de la fruta como especie y vegetal en la amplia gama de gastronomía, sino que además se debe a sus aditivos de los alcaloides capsaicinoides y carotenoides como compuestos herbales, utilizados tanto dentro de la industria farmacéutica, en Medicamento medicinal, en la agricultura entre otros usos (3).

Un rocoto tiene una cantidad de vitamina C 4 veces mayor que la de la naranja y, como otra culminación, sus propiedades antioxidantes son una parte importante de un régimen alimenticio sano; sus estudios fitoquímicos en *Capsicum pubescens* deciden la presencia de compuestos polifenólicos (flavonoides, derivados de ácidos fenilpropanoicos), materiales importantes por su capacidad antioxidante que ayudan a controlar enfermedades de cánceres (4).

En base a lo antes descrito se plantea la siguiente pregunta de investigación ¿Tendrá capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales el extracto metanólico del fruto *Capsicum pubescens* (Rocoto)?

El presente trabajo de investigación se desarrollará según la metodología del efecto antioxidante y contenido de polifenoles de *Capsicum pubescens* “rocoto” para lograr dicho efecto se preparará dicha capacidad con su fruto.

5.- PLANTEAMIENTO DE LA INVESTIGACION

5.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

a) CARACTERIZACIÓN DEL PROBLEMA

La planta medicinal es el recurso material más amplio y valioso de la medicina natural de los indígenas tradicionales, el objetivo es describir y evaluar las plantas medicinales silvestres, cultivadas y utilizadas de manera de poder describir las enfermedades, trastornos y padecimientos de salud, atendidos con la planta ya siendo su manera de preparación y en su aplicación y el poder de la medicina tradicional – familiar. ⁽⁵⁾

La comercialización de las plantas medicinales se lleva a cabo en los mercados distritales de la ciudad, soportado por su conocimiento etnobotánica que sobre medicina tradicional ha trascendido de generación en generación y así vale la pena dar valor e interés. En las plazas de mercado además de comercializarse en una gran cantidad de especies nativas que podría contribuir la investigación y desarrollo de productos Fito terapéuticos, la creencia por parte de la comunidad de no ser toxicas contribuye a su uso inadecuado. (6)

Las plantas restaurativas tienen fines de reparación, es un entrenamiento que se ha utilizado desde ocasiones anticuadas. Durante bastante tiempo, las curaciones características, y en particular las plantas terapéuticas, fueron el principal activo accesible para los especialistas, ya que no había información para completar el control sintético contemplado en el presente. Esto hizo que fuera posible ampliar la información de aquellas especies de plantas que tienen propiedades terapéuticas y aumentar su participación en la utilización de los elementos separados de ellos. (1)

La capsaicina es el principal metabolito opcional de la variedad *Capsicum* con extraordinaria importancia, variedad de usos terapéuticos y movimiento orgánico. La capsaicina además apoya la eliminación de la sustancia P, a cargo de la Instrumentos aprensivos que participan en la transmisión de la agonía desde la franja al Sistema Nervioso Central. Perú, es un país muy rico en recursos naturales, pero tiene la falta de información sobre los componentes y principios activos de las diversas plantas medicinales, tal y como es en el caso del “Rocoto”, ***Capsicum pubescens***. (3)

Capsicum pubescens se consume directamente como verdura fresca o como condimento, y se utiliza en la industria farmacéutica como medicamento, colorante y en otros puntos potenciales que derivan de la capsaicina y oleorresinas. Se hallaron 13 introducciones dentro del banco con resistencia a PepDMV, un virus común en plantaciones comerciales de ají y pimientos en el Valle del Cauca.
(2)

5.2. OBJETIVO DE LA INVESTIGACIÓN:

5.2.1 OBJETIVO GENERAL.:

Determinar la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales del extracto metanólico y acuoso del Fruto *Capsicum Pubescens* (Rocoto).

5.2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS.:

- Determinar la actividad antioxidante en el fruto *Capsicum pubescens* (Rocoto).
- Determinar el contenido de polifenoles en el fruto *Capsicum pubescens* (Rocoto).

5.3. JUSTIFICACIÓN

Esta investigación se realiza con el fin de determinar la capacidad antioxidante y la cantidad de polifenoles que posee la especie vegetal **Capsicum pubescens** (rocoto), para poder beneficiar a toda la población con la planta medicinal, para poder curar todo tipo de quemaduras e inflamaciones externas que podamos obtener.

II. REVISION DE LA LITERATURA

2.1 ANTECEDENTES:

La investigación realizada por Villavicencio⁽³⁾ en el año 2016, tuvo como objetivo realizar la caracterización químico-nutricional y la actividad antioxidante de dos variedades rojo y amarillo que se cultivan en Villa Rica, Pasco. El contenido de capsaicinoides (capsaicina y dihidrocapsaicina) fue determinado en placenta + semillas por medio de HPLC. Para ambas muestras, el contenido de capsaicinoides fue menor en la pulpa, siendo la dihidrocapsaicina el capsaicinoide de mayor concentración. El contenido de polifenoles totales, determinado a través del método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu, fue mayor en el rocoto amarillo. Se utilizó la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) para medir la cc. de 4 flavonoides (quercetina, luteolina, apigenina y kaempferol). La actividad antioxidante in vitro, determinada a través del ensayo ORAC (Capacidad de Absorción de Radicales de Oxígeno), muestra que el rocoto amarillo tiene mayor actividad que el rocoto rojo.

En el año 2017 Caballero *et al*⁽⁴⁾ en esta investigación, se liofilizó ají rocoto, colectado en San Cristóbal-Medellín, Antioquia (Colombia) y se evaluó su efecto sobre la capacidad antioxidante. Mediante el método Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP), fenoles totales, carotenoides, contenido de ácido ascórbico y capsaicina, producto fresco como en los tto liofilizados. Se realizó un arreglo de parcelas divididas, con el factor de la programación de la velocidad de calentamiento, entre 0,02 y 0,05°C/ min, durante la sublimación, asignado a la parcela principal y al factor categórico de semilla en la subparcela, con una aleatorización completamente al azar (DCA), en tres repeticiones. Se registró, que el ají rocoto fresco con semilla incluida, la placenta valores de 1,18mg, equivalentes de ácido ascórbico/g base seca (b.s.), como capacidad antioxidante, por FRAP; 5,37mg, equivalentes de ácido gálico/g b.s., para el contenido de fenoles totales; 4,74mg/g, b.s. de carotenoides; 1,88mg/g b.s., de ácido ascórbico y 1,57mg/g b.s., de capsaicina. Se concluyó que para los tratamientos liofilizados con y sin semillas, se incrementó la capacidad antioxidante y fenoles totales con respecto al producto en fresco. Se evidenció diferencia estadística en las programaciones de calentamiento durante la sublimación, afectando el contenido de capsaicina, en los tratamientos con y sin semillas.

Según Cerecedo⁽⁵⁾ tuvo como objetivo evaluar la capacidad antioxidante y antimicrobiana, de tres diferentes temperaturas de dos distintas concentraciones de oleorresinas de chile chipotle realizadas con aceite de

aguacate. Los resultados mostraron que el aceite de aguacate es un buen medio de extracción de carotenoides provenientes del chile. Se observó que tanto la oleorresina como el aceite de aguacate presentaron una actividad antimicrobiana, siendo más sensibles las bacterias Gram positivas (*Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes*) que las bacterias Gram negativas (*Salmonella entérica* y *Escherichia coli*) debido a su estructura externa que bloquea la penetración de compuestos hidrofóbicos a la membrana celular. El resultado de estos experimentos mostró que las oleorresinas de Chile tienen alto poder antioxidante y propiedades antimicrobianas, y que el aceite de aguacate es una excelente opción para su extracción, por lo que puede ser utilizado como un ingrediente bioactivo natural en la fabricación de alimentos.

En el año 2019 Villar⁽⁶⁾ se estudió 100 accesiones de cuatro especies de *Capsicum* (*C. annum*, *C. baccatum*, *C. frutescens* y *C. chinense*), en las cuales se cuantificó el contenido de capsaicinoides (nordihidrocapsaicina, capsaicina y dihidrocapsaicina) y pungencia; los compuestos fenólicos totales; la actividad antioxidante, mediante la inhibición del catión radical ABTS⁺•; y el color instrumental (C*, h* e índice de color en CIELab). Los atributos medidos se asociaron mediante el Análisis de Componentes Principales (PCA) y Análisis discriminante (DA). La máxima pungencia alcanzada fue de 365 929 unidades Scoville por el ají Pucunucho de Lamas (*C. chinense*). En general se encontró mucha diversidad en los atributos; sin embargo, se encontraron altas correlaciones entre los contenidos de capsaicinoides con los compuestos fenólicos totales y la actividad antioxidante; así también una alta correlación inversa entre el valor hue y el índice de color.

5.4 BASES TEÓRICAS:

5.4.1 ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Se denomina antioxidante a "cualquier sustancia que retarda, previene o elimina el daño oxidativo hacia una molécula" o bien, "a la capacidad que tienen determinados compuestos para neutralizar los radicales libres". En este sentido, se ha observado que los arándanos, comparados con otras frutas y vegetales, tienen una alta capacidad antioxidante debido particularmente a sus altas concentraciones de antocianinas como los compuestos polifenólicos, el ácido ascórbico, los carotenoides y la vitamina E.⁸

Enfermedades como el cáncer son las principales causas de muerte en la civilización, lo beneficioso de los alimentos vegetales se atribuye principalmente a sustancias con actividad antioxidante, el vino tinto, el arándano (*Vaccinium corymbosum*) y la uva de mesa (*Vitis vinifera*) se han promovido mucho como alimentos que previenen la arterosclerosis y el cáncer, por su alto contenido de compuestos polifenólicos.²

5.4.2 RADICALES LIBRES Y ESTRÉS OXIDATIVO:

Para las células de nuestro organismo la respiración en presencia de oxígeno resulta esencial, pero ello trae como consecuencia la producción de unas moléculas denominadas “radicales libres”, las cuales producen con el paso del tiempo efectos negativos para la salud por la capacidad que tienen de alterar el DNA, las proteínas y los lípidos o grasas.^{9,10}

En nuestro cuerpo hay células que se renuevan continuamente como las células del intestino o de la piel y otras que no como las neuronas. Con el tiempo, los radicales libres pueden ocasionar alteraciones genéticas, aumentando de esta manera el riesgo de padecer enfermedades degenerativas como el cáncer, y reducir la funcionalidad de las células que no se renuevan desencadenando el envejecimiento.²

Los radicales libres actúan sobre el DNA mitocondrial, el cual al ser muy susceptible causa la oxidación de diversas moléculas produciendo el estrés oxidativo y existe evidencia de que este mecanismo está implicado en procesos carcinogénicos. También conlleva a la desfiguración estructural de las proteínas y a la peroxidación lipídica que produce a la alteración de la permeabilidad de la membrana celular y el correspondiente daño y muerte celular.¹⁰

Los radicales libres son todas aquellas especies químicas, cargadas o no, que en su estructura atómica presentan un electrón desapareado o impar en el orbital externo que les da una configuración espacial generadora de gran inestabilidad; son muy reactivos, tienen una vida media corta, por lo que actúan cerca del sitio en que se forman y son difíciles de dosificar.¹¹

5.4.3 SISTEMA DE DEFENSA ANTIOXIDANTE

Sistema Enzimático

Los organismos que viven en aerobiosis han desarrollado enzimas con función antioxidante, que incluyen “superóxido dismutasa”, “catalasa”, “glutatión peroxidasa” y “DT-diaforasa”. La enzima Superóxido Dismutasa está encargada de la rx de desmutación de O_2 a agua, luego de ello, otra rx catalizada a través de catalasa o de glutatión peroxidasa desintoxicará dicho producto obteniéndose agua y O_2 . Esta catalasa es encontrada específicamente en los “peroxisomas”, y su característica fundamental es eliminar el agua generado dentro de la beta oxidación de ácidos grasos, por otro lado, la glutatión peroxidasa se encarga de degradar el agua presente en el citoplasma. La función de DT - diaforasa, es reducir la quinona en quinol.¹⁸

Sistema No Enzimático

Nuestras células suelen utilizar una cadena de antioxidantes en donde están incluidas: la Vitamina C, Vitamina E, zinc, betacaroteno, ferritina, selenio, ácido úrico, glutatión reducido, ubiquinona, ceruloplasmina, manganeso, flavonoides, siendo estos últimos de una importancia única al ser extraídos de ciertos alimentos. El efecto que proporcionen será dependiente, de vez en cuando, de una directa interacción entre las especies reactivas para proporcionar complejos estabilizados o una reactividad muy disminuida, mientras que en otros actúa como un co-sustrato dentro del movimiento catalítico de algunas enzimas, por ejemplo, el glutatión reducido es el tiol citosólico más grande que actúa como un "secuestrador" de OH o un co-sustrato de la glutatión peroxidasa. En última instancia, muchos de estos antioxidantes provienen externamente.¹⁹

5.4.4 ANTIOXIDANTES EXÓGENOS

Vitamina C: Es un inhibidor de la oxidación de los lípidos, posee, además, efecto eliminador de radicales y regenera la vitamina E.²⁰

Vitamina E: Es el principal antioxidante exógeno, se encuentra presente en la membrana celular manteniendo la integridad, protegiendo la destrucción de la vitamina A y retardando el envejecimiento de las células.²⁰

β -Caroteno (pro-vitamina A): sus propiedades como antioxidantes están determinadas por las características de su estructura, la geometría molecular asegura una correcta función como protector del ADN, deteniendo el deterioro de los tejidos.¹⁹

Polifenoles: Los grupos funcionales de los compuestos fenólicos son los que le otorgan su potencial para captar los radicales libres. Algunos parámetros que le otorgan la capacidad antioxidante son: grado de metoxilación, tipo de compuesto y cantidad de hidroxilos en su estructura química.²⁰

Oligoelementos Selenio (Se), Zinc (Zn), Manganeso (Mn), Cobre (Cu):

Conforman el núcleo energético de las enzimas antioxidantes, mantienen en buenas circunstancias las funciones del hígado, corazón, funciones reproductoras, y actúan como protectoras frente a enfermedades degenerativas.^{19,20}

5.4.5 MECANISMO DE ACCIÓN ANTIOXIDANTE

Los antioxidantes son moléculas que sirven para neutralizar los radicales libres ya que éste libera un electrón, el cual es captado por la molécula inestable (radical libre), convirtiéndose en molécula estable.¹²

La mayoría de métodos para corroborar la actividad antioxidante se encuentran basados en la generación de radicales libres. Estos radicales formados reaccionan con la muestra en estudio dependiendo de su capacidad ésta ejercería su acción como inhibidor del radical. De esta manera, se determina realmente el “efecto antioxidante” que la muestra pueda proporcionar, ya que no se puede medir la “actividad antioxidante” directamente. La manera idónea de medir la actividad antioxidante sería midiendo por separado la actividad de cada

componente de la muestra natural en estudio, es muy compleja la determinación de la concentración y número de los compuestos antioxidantes presentes en la materia de estudio. Las medidas de la actividad como antirradical se pueden hacer por medio de dos diferentes estrategias, en función de la información que se quiere encontrar. ¹¹

5.4.6 MÉTODOS PARA LA CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES

Folin-Ciocalteus:

Éste método está basado en la capacidad que poseen los compuestos fenoles para reaccionar con algún agente oxidante. El molibdato y el tungstato de sodio presentes en el reactivo, reaccionan con todo tipo de fenoles, en medio básico forman complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico reducidos, dando lugar a óxidos de tono azulado de wolframio “W₈O₂₃” y molibdeno “Mo₈O₂₃”. Presentándose esta coloración de acuerdo a la variedad de hidroxilos presentes de la molécula.²¹

5.4.7 MÉTODOS PARA LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE.

Se han establecido diversos métodos para determinar la capacidad antioxidante de plantas y alimentos, como FRAP, DMPD, DPPH, DMPO y ABTS, de los cuales los más aplicados son el ABTS y el DPPH, siendo este último el más usado.²¹

DPPH “2,2-difenil-1 picrilhidrazil”

Su enfoque y metodología se basa totalmente en la reducción de los radicales libres de DPPH que da como resultado la decoloración. La muestra con actividad antioxidante provoca la eliminación de la coloración dentro del reactivo en metanol a un volumen de 60 µM. En esta concentración, la mezcla alcanza de inmediato una absorbancia de 0.7 a 517 nm.²²

5.4.8. MUESTRA EN ESTUDIO

Capsicum pubescens (Rocoto)

Ésta planta medicinal es originaria de las partes altas de Peru, perteneciente a la familia Solanaceae mas conocido como rocoto y es muy utilizado en comidas; su fruto es de forma redonda, larga y las varian por su color como: blanco, verde, amarillo lila y rojo.(3)

CLASIFICACION TAXONÓMICA: (13)

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Solanales
Familia:	Solanaceae

Descripción botánica

Capsicum pubescens, proviene de la familia Solanáceas, el fruto del rocoto puede ser de diversos colores como rojo, amarillo, verde o marrón, y se distingue de los otros ajíes por obtener semillas de color negro. La estructura del fruto varía en el número de lóculos desde uno hasta cuatro. La longitud del fruto es de 4 a 8 cm y diámetro de 2 a 6 cm; el grosor del pericarpio va de 2 a 6 mm. (Su sabor característico es de sabor picante, aunque también ligeramente dulzón. Crece entre 1500 y 3300 m.s.n.m. y es común en la región de los Andes de Colombia, Perú, Ecuador y Bolivia. Su uso también es para elaborar medicamentos que combaten el dolor. Contiene un principio activo llamado capsaina que naturalmente brinda múltiples beneficios para la salud. Su zona de producción son los valles andinos, la época de siembra es todo el año teniendo como un clima templado y así favorece una temperatura optima que fluctúa entre los 18 a 20° C con una humedad relativa baja .Su forma es cordada con ápice acuminado y su borde liso, excesivamente vellosa en el haz y su nervadura es reticulada perinerve. Es peciolada y su filotaxia es alterna dística . El centro de la flor por lo general es de color blanco, en algunos casos se acumula néctar amarillo en esta posición y simula una mancha, la corola por lo general presenta pétalos rectos, el cáliz se fusionan en la base de la corola .Los

frutos pueden tomar formas redondas, acorazonadas, largas, cilíndricas, cónicas, rectangulares y hasta cuadradas. Hay frutos inmaduros de color blanco, verde, café y hasta negro. En estado maduro predominan los frutos de color rojo, pero también los hay de color marfil, amarillo, verde, anaranjado, café, lila, morado y negro. En la placenta se disponen numerosas semillas pequeñas y de color crema a pardo, a café oscuro y marrón (14, 15, 16).

6.3. HIPOTESIS

Hipotesis Implícita.

6. METODOLOGIA

6.1 Tipo de investigación

El presente proyecto de investigación será correspondiente a un estudio de tipo experimental.

6.2 Nivel de investigación

El nivel de investigación tendrá un planteamiento de tipo cuantitativo, lo cual, dará pie a la enumeración y a la evaluación a través de la matemática y que estarán sujetas a la valoración de confiabilidad y validez, busca representar numéricamente los vínculos entre los objetivos y anomalías y por lo general se relaciona con los diseños denominados tradicionales o convencionales, por ello, el análisis cuantitativo de contenido es condición indispensable para la valoración cuantitativa.

6.3. Diseño de investigación

El presente vistazo a las pinturas corresponde a un comentario cuantitativo. El nivel de investigación es cuantitativo, por lo tanto, permite la enumeración y el tamaño a través de la aritmética, lo que podría ser debido al rango de confiabilidad y validez; Las relaciones entre los objetivos y los fenómenos, en general, se asocian con los llamados, por ejemplo, la evaluación del contenido cuantitativo es una circunstancia esencial para la evaluación cuantitativa.

6.3.1. Obtención de la droga vegetal

La especie vegetal será recolectada en la localidad de Chao en el Departamento de La Libertad, ubicada aproximadamente a unos 65 kilómetros al sur de Trujillo, en óptimo estado vegetativo durante el mes de Julio.

El estudio se realizará con las hojas del vegetal. Estas serán secadas en estufa a 45° C, posteriormente pulverizadas en un Molino de cuchillas y almacenadas hasta la fecha del ensayo.

6.3.2 Preparación del extracto metanólico (CH₃OH 80%) por extracción exhaustiva

Para la obtención del extracto metanólico se procederá a pesar aproximadamente 0.2 g de muestra seca y pulverizada, se añadirá a un tubo (envuelto con una capa de aluminio) más 15 mL de metanol al 80% luego se colocará sobre un agitador magnético durante 30 minutos, posterior a ello se llevará a centrifugar a 6000 rpm (revoluciones) por 5 min y el sobrenadante se separará y se colocará en una fiola de 50 mL (envuelto con una capa de aluminio), el procedimiento se repetirá por tres veces, por último se llevará a volumen con el solvente y se guardará en el congelador hasta el momento del análisis respectivo.

6.3.3. Preparación de la muestra por infusión

Se agregará 200 mL de agua destilada en un vaso de precipitación, se llevará a calor hasta su ebullición, luego se retirará y se agregará aproximadamente 1 g de muestra seca y pulverizada, posteriormente se cubrirá con aluminio en papel, se dejará en reposo durante 5 min y finalmente se filtrará y se dejará enfriar para su posterior análisis.

6.3.4. Preparación de la muestra seca en decocción:

Se añadirá 200 mL de agua destilada en un vaso de precipitación más 1 g aproximadamente de muestra seca y pulverizada, se llevará a ebullición por 10 min se cubrirá con aluminio en papel, después de este tiempo se filtrará y se dejará enfriar para su posterior análisis.

6.3.5. Preparación del DPPH:

Se preparará 100 ml del reactivo con metanol, para ello se utilizará 2.3mg de polvo de DPPH y se aforará con metanol en la fiola de 100ml, para tenerlo 0.06Mm.

Determinación de capacidad antioxidante por el método DPPH

En una cubeta se adicionará 1450µL de DPPH a 0.06 mM, luego se llevará al espectrofotómetro y se leerá a una longitud de onda de 515nm obteniendo así la absorbancia a tiempo cero (DPPH t0), luego se le agregará 50µL del extracto y se dejará por 15 minutos en oscuridad para que se produzca la reacción, por último, se obtendrá la absorbancia a tiempo 15 (DPPH t15). El análisis se realizará 3 veces para cada una de las muestras.

Se utilizará el Trolox como estándar a concentraciones de 0.5, 1.0, 2.5, 5, 7.5 y 10 mM, para obtener la curva de calibración.

Para determinar el porcentaje de inhibición se utilizará la formula siguiente

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{\text{DPPH t0} - \text{DPPH t15}}{\text{DPPH t0}} \times 100$$

6.3.6. Determinación de polifenoles por el método de *Folin – Ciocalteu*

Se agregará 2,5 ml de agua destilada en una fiola de 10 ml, después se adicionará el estándar de catequina a concentraciones de 0,5; 1; 2,5; 5; 7.5 y 10ppm (mg/L) para obtener la curva de calibración, a las demás fiolas se adicionará 50 µL de extracto metanólico al 80%, 50µl de infusión y 50 µl de la decocción respectivamente a cada fiola. Posteriormente se agregará 500 µL de Folin Ciocalteu y se dejará en reposo y oscuridad por 5 min. Transcurrido el tiempo establecido se agregará 2 ml de carbonato desodio 10%, posteriormente se aforará con

agua destilada e inmediatamente se llevará a oscuridad por 90 minutos, El análisis se realizará por triplicado para cada una de las muestras. Finalmente se realizará la lectura en el espectrofotómetro ÚNICO 2800 UV/Vis a una longitud de onda de 700 nanómetros.

6.4. Universo y muestra

Población vegetal: Conjunto del fruto *Capsicum pubescens* (*Rocoto*), obtenidas en la zona del Valle de Santa, distrito de Santa, departamento de Áncash.

Muestra vegetal: 100 g del fruto *Capsicum pubescens* (*Rocoto*) en buen estado vegetativo.

6.5. DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADORES
<ul style="list-style-type: none"> Actividad antioxidante del fruto de Capsicum pubescens (Rocoto) 	<p>Sustancia utilizada para ser encontrados en bajos grados de fijaciones en presencia de un sustrato oxidable, Esto modera la oxidación del equivalente</p>	<p>Se realizó a través del método de DPPH según capacidad de secuestro y/o inhibición de radicales libres de acuerdo a valores de absorbancia medida en el espectrofotómetro UV/VIS.</p>	<p>✓ mM trolox equivalente/g de hoja seca</p>
<ul style="list-style-type: none"> Concentración de polifenoles en el fruto de Capsicum pubescens (Rocoto) 	<p>Recopilación heterogénea de partículas que ofrecen las normales para tener en su estructura unos encuentros bencénica suplantado por capacidades hidroxilicas.</p>	<p>Se trabajó con el reactivo Folín Ciocalteu según valores de absorbancia medida en el espectrofotómetro UV/VIS</p>	<p>✓ mg catequina equivalente/g de fruto fresco.</p>

6.6. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Se utilizó la observación directa, medición y registro de las reacciones de coloración y otras características que se observen en la medición de las concentraciones totales de polifenoles. Los datos obtenidos fueron registrados en fichas de recolección de datos

6.7. Plan de análisis

Los datos se procesaron mediante en una matriz elaborada en el programa de excel se obtuvieron los datos de la media y desviación estándar.

6.8. Matriz de consistencia

TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN	FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	OBJETIVOS:	HIPOTESIS	VARIABLES	TIPO DE INVESTIGACIÓN	METODOLOGIA
Capacidad Antioxidante y Contenido de Polifenoles Totales del fruto <i>Capsicum pubescens</i> (rocoto)	¿Tendra Capacidad Antioxidante y Contenidos de Polifenoles Totales del extracto del fruto <i>Capsicum pubescens</i> (rocoto)?	<p>OBJ.GENERAL</p> <p>Determinar capacidad antioxidante y contenido de polifenoles el extracto metanolico del fruto <i>Capsicum pubescens</i> (rocoto)</p> <p>OBJ.ESPECIFICOS</p> <p>Determinar la actividad antioxidante del fruto <i>Capsicum pubescens</i> (Rocoto)</p> <p>Relacionar la concentración de polifenoles totales con la actividad antioxidante <i>Capsicum pubescens</i> (Rocoto)</p>	Implicita	<p>Actividad antioxidante del fruto <i>Capsicum pubescens</i> (Rocoto)</p> <p>Concentracion de polifenoles del fruto <i>Capsicum pubescens</i> (Rocoto)</p> <p>Extracto metanolico del fruto <i>Capsicum pubescens</i> (Rocoto)</p>	Estudio de tipo Descriptivo	<p>Diseño de Investigación:</p> <p>Determinación de polifenoles totales según el método de Folin-Ciocalteu.</p> <p>Determinación de actividad antioxidante según el método de DPPH.</p>

6.9. PRINCIPIOS ÉTICOS

Teniendo en cuenta la Declaración de Helsinki, se promoverá la recuperación del conocimiento tradicional sobre el uso de las plantas medicinales, no solo para preservar su legado cultural, sino también para registrar información relevante y demostrar científicamente sus efectos terapéuticos que servirán como nuevas fuentes de medicamentos y otros beneficios para la humanidad. En el caso del manejo de animales de experimentación se realizará con respeto de su bienestar de acuerdo a los propósitos de la investigación, promoviendo su adecuada utilización y evitándoles sufrimiento innecesario.

REFERENCIA BIBLIOGRAFICA

1. Fretes A. Plantas medicinales y aromáticas una alternativa de producción comercial plantas medicinales y aromáticas una alternativa de producción comercial [Internet]. Estados Unidos: United States Agency Internatial Development, 2010. (citado 2019 Julio 10). Disponible en : https://www.usaid.gov/sites/default/files/documents/1862/plantas_medicinales.pdf
2. Sardon E. “Fortalecimiento de la cadena de valor del rocoto fresco (capsicum pubescens) de la selva central para el mercado de Lima” [Tesis]. Peru: Universidad Nacional Agraria la Molina, 2015. (citado 2019 Julio 10). Disponible en: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/2071/E70-S37T.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
3. Villavicencio B. CARACTERIZACIÓN QUÍMICO-NUTRICIONAL Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE DOS MUESTRAS DE Capsicum pubescens (“Rocoto rojo y amarillo”) [Tesis]. Peru: UNIVERSIDAD PERUANA CAYETANO HEREDIA, 2016. (citado 2019 Julio 10). Disponible en: [http://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/upch/637/Caracterizaci%F3n+qu%EDmiconutricional+y+actividad+antioxidante+de+dos+muestras+de+Capsicum+pubescens+\(Rocoto+rojo+y+amarillo\)+provenientes+de+Villa+Rica+\(Pasco\).pdf;jsessionid=928D6303AD4CDDD7BFE87A49395DB413?sequence=1](http://repositorio.upch.edu.pe/bitstream/handle/upch/637/Caracterizaci%F3n+qu%EDmiconutricional+y+actividad+antioxidante+de+dos+muestras+de+Capsicum+pubescens+(Rocoto+rojo+y+amarillo)+provenientes+de+Villa+Rica+(Pasco).pdf;jsessionid=928D6303AD4CDDD7BFE87A49395DB413?sequence=1)
4. Valdez I. Caracterización fenotípica de quince accesiones de germoplasma de rocoto (Capsicum pubescens Ruiz & Pavón.) en la estación INIA Santa Rita Arequipa. [Tesis]. Peru: UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN AGUSTÍN AREQUIPA, 2017. (citado 2019 Julio 10). Disponible en: <https://es.scribd.com/document/382013986/Lengua-Cabrera-Ricardo-Gabriel>
5. CABALLERO B., CARDOZO C., ROJANO A. EFECTO DE LA LIOFILIZACIÓN SOBRE LAS PROPIEDADES FUNCIONALES DEL AJÍ ROCOTO (Capsicum pubescens)[online]. Revista de Actualidad & Divulgación Científica: vol.20, n.1, 2017. (citado 2019 Julio 10). Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0123-42262017000100013&lng=en&nrm=iso&tlng=es
6. Villar J. Capsaicinoides, compuestos fenólicos, actividad antioxidante in vitro y color de 100 accesiones de Capsicum spp [Tesis]. Peru: Universidad Agraria La Molina, 2019. (citado 2019 Julio 10). Disponible en: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/4016>
7. Godos Y. Actividad antioxidante y citotóxica de 35 plantas medicinales de la Cordillera Negra [Tesis]. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica. 2017. [Citado 2019 Julio 10]

[http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/7799/ANTIOXIDANTE
POLIFENOLES_GODOS_CHINCHAYHUARA_YANPIER_YURI.pdf?sequence=1&isAllowed
=y](http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/7799/ANTIOXIDANTE_POLIFENOLES_GODOS_CHINCHAYHUARA_YANPIER_YURI.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

8. Barrientos J. Bazán S., Acción del extracto acetato etílico del fruto liofilizado de capsicum pubescens (tesis). Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo, 2015. (citado 2019 Julio 10) Disponible en:
<http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/3620/Barrientos%20Cordova%20Jonathan%20Jair.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
9. Ordoñez E, León A, Reátegui D, Sandoval M. “Cuantificación de polifenoles totales y actividad antioxidante en hojas, corteza, flores y fruto de dos variedades de Guayaba (Psidium guajava L.)” Investigación y Amazonia. [Internet]; 2011 [citado 2019 Julio 10] 1(2): 48- 52. Disponible en:
https://www.academia.edu/4830157/CUANTIFICACION_DE_POLIFENOLES_TOTALES_Y_ACTIVIDAD_ANTIOXIDANTE_EN_HOJAS_CORTEZA_FLORES_Y_FRUTO_DE_DOS_VARIETADES_DE_GUAYABA_Psidium_guajava_L.
10. Perfil comercial de rocoto (internet). La Libertad: Portal Agrario Regional. [citado 2019 Julio 10] Disponible en:
http://www.agrolalibertad.gob.pe/sites/default/files/09_%20PERFIL%20COMERCIAL%20DE
11. Hernandez E. Manual para la producción de chile manzano en el Valle del Mezquital, Hidalgo (internet). Mezquital: Universidad Tecnológica de Tula-Tepeji. 2016. . [citado 2019 Julio 10]
<http://www.uttt.edu.mx/publicaciones/Manual%20para%20la%20produccion%20de%20chile%20manzano%20en%20el%20valle%20del%20mezquital.pdf>
12. Venereo J. “Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes”. Revista Cub Med Mil [Internet]; 2002 [citado 2019 Julio 10]; 31(2):126-133. Disponible en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572002000200009
13. Perochena A. “Extracción y cuantificación de Capsaicina de siete variedades de Capsicum pubescens “Rocoto” nativas de Arequipa.” (tesis). Arequipa: Universidad Católica de Santa María. 2015. [citado 2019 Mayo 05]

<http://tesis.ucsm.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/UCSM/3410/42.0117.IB.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

14. Rocoto. [Artículo]. Comisión Nacional contra la Biopiratería. 2016. (citado 2019 Julio 10). Disponible en:
<https://www.indecopi.gob.pe/documents/20791/369580/ROCOTO+2/51d226ce-b12d-f775-2c80-c667558850a5>
15. Goioetxia I. Importancia de la Automedicación, especialmente con aines, e implicaciones en ellas de los profesionales Sanitarios en España (tesis). España: Universidad Pública de Navarra, 2016 [citado 2018 Junio 20] Disponible en:
<https://academicae.unavarra.es/bitstream/handle/2454/23455/Goikoetxea%20Abad%2C%20Irati.%20TFG..pdf?sequence=1&isAllowed=y>
16. Sánchez E, González V, Cruz A , Pérez M. , Gutiérrez M. , Gardea A . ETAL. Herencia de capsaicinoides en chile manzano (tesis). México: Universidad Autónoma Chapingo. 2010. Disponible en:
<http://www.scielo.org.mx/pdf/agro/v44n6/v44n6a5.pdf>
17. Mercado G , De la Rosa L., Wall A., López J., Álvarez E. Compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante de especias típicas consumidas en México [Internet]. México: Universidad Autónoma de Ciudad Juárez. Nutrición Hospitalaria: 2013;28(1):36-46. [citado 2019 Julio 10] Disponible en:
<http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/6298.pdf>
18. Kuskoski M, Asuero A, Troncoso A, Mancini J, Fett R. “Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos”. Rev. Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas [Internet]; 2005 [citado 2019 Julio 23]; 25(4): 726-732. Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/cta/v25n4/27642.pdf>

ANEXOS:

ANEXO 01: CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES																	
N°	Actividades	Año 2018								Año 2019							
		Semestre I				Semestre II				Semestre I				Semestre II			
		Abril-Julio				Sep-Dic				Abril-Julio				Sep-Dic			
		1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
1	Elaboración del Proyecto	X	X														
2	Revisión del proyecto por el jurado de investigación			X													
3	Aprobación del proyecto por el Jurado de Investigación			X													
4	Exposición del proyecto al Jurado de Investigación				X												
5	Mejora del marco teórico					X											
6	Redacción de la revisión de la literatura.						X	X									
7	Elaboración del consentimiento informado (*)								X								
8	Ejecución de la metodología									X							
9	Resultados de la investigación										X						
10	Conclusiones y recomendaciones											X	X				
11	Redacción del pre informe de Investigación.												X				
12	Reacción del informe final													X			
13	Aprobación del informe final por el Jurado de Investigación													X	X		
14	Presentación de ponencia en jornadas de investigación														X		

