

**UNIVERSIDAD SAN PEDRO**  
**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA**  
**PROGRAMA DE ESTUDIO DE FARMACIA Y**  
**BIOQUIMICA**



**Identificación de metabolitos secundarios y determinación de la  
actividad antioxidante de la cáscara de *Púnica granatum L.*  
(granada)**

Tesis para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

**Autores:**

Mendoza Ulloa, Alejandrina  
Infantes Araujo, Nelsi Marleni

**Asesor**

Cacha Salazar Carlos Esteban  
(Código ORCID: 0000-0002-3169-5891)

**Nuevo Chimbote - Perú**

**2023**

## INDICE DE CONTENIDOS

INDICE DE TABLAS .....	ii
PALABRA CLAVE .....	iii
TITULO .....	iv
RESUMEN .....	v
ABSTRACT.....	vi
INTRODUCCIÓN .....	1
METODOLOGÍA .....	9
Tipo y Diseño de investigación .....	9
Población - Muestra y Muestreo .....	9
Técnicas e instrumentos de investigación.....	11
Procesamiento y análisis de la información.....	12
RESULTADOS .....	13
ANÁLISIS Y DISCUSIÓN .....	26
CONCLUSIONES .....	30
RECOMENDACIONES.....	30
ANEXOS .....	36

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1</b>	Condiciones de trabajo para obtener extracto hidroalcoholico de la cáscara de <i>Púnica granatum</i> L. (granada)	20
<b>Tabla 2</b>	Tamizaje fitoquímico de la cáscara de <i>Púnica granatum</i> L. (granada)	21
<b>Tabla 3</b>	Actividad antioxidante de la sustancia patrón (Ácido ascórbico).....	22
<b>Tabla 4</b>	Actividad antioxidante del extracto hidroalcoholico de la cáscara de <i>Púnica granatum</i> L. (granada)	25
<b>Tabla 5</b>	Concentración inhibitoria 50 (IC <sub>50</sub> ) y Actividad Antioxidante Relativa del extracto hidroalcoholico de la cáscara de <i>Púnica granatum</i> L. (granada)	27

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	Curva de calibración del ácido ascórbico	23
<b>Figura 2</b>	Porcentaje de captación del radical DPPH por el ácido ascórbico .....	24
<b>Figura 3</b>	Captación porcentual del extracto hidroalcoholico de la cáscara de <i>Púnica granatum</i> L. (granada)	26
<b>Figura 4</b>	Concentración inhibitoria 50 (CI <sub>50</sub> ) del extracto hidroalcohólico de la cáscara de <i>Púnica granatum</i> L. (granada)	28
<b>Figura 5</b>	Actividad Antioxidante relativa (AAR) del extracto hidroalcohólico de la cáscara de <i>Púnica granatum</i> L. (granada)	29

## 1 Palabras clave

<b>Tema</b>	Plantas medicinales
<b>Especialidad</b>	Farmacología

## Keywords

<b>Subject</b>	Medicinal plants
<b>Speciality</b>	Pharmacology

## Línea de investigación

<b>Línea de Investigación</b>	Recursos naturales terapéuticos y fitoquímicos.
<b>Área.</b>	Ciencias médicas y de salud.
<b>Subárea.</b>	Medicina básica.
<b>Disciplina.</b>	Farmacología y Farmacia

## **2 Título**

Identificación de metabolitos secundarios y determinación de la actividad antioxidante de la cáscara de *Púnica granatum* L. (granada)

### 3 Resumen

La presente investigación buscó identificar la presencia de los metabolitos secundarios y la determinación de la actividad antioxidante de la cáscara de *Púnica granatum* L. (granada) La recolección de la especie se realizó en el jardín botánico de la Universidad Nacional de Trujillo, provincia de Trujillo, región La Libertad. Los frutos maduros fueron cosechados y luego seleccionados de acuerdo a sus características visuales que mostraron que el fruto estaba en perfecto estado. Luego se procedió a realizar el lavado y desinfectado y secado. Posteriormente, se procedió a retirar la cascara o epicarpio de los frutos a las cuales se le dividieron en pequeños trozos para permitir un mejor secado. Una vez secas las cascara se procedió a molienda para obtener un polvo grueso, separando para el estudio el que queda en el tercer tamiz. Posteriormente se realizó la extracción mediante reflujo con etanol de 70 °GL. Se obtuvo un extracto de color marrón claro, transparente, picante y olor alcohólico, ajustado a una concentración del 2 % p/v. Los principales metabolitos secundarios fueron polifenoles, flavonoides, taninos, alcaloides, principios amargos, etc. La capacidad antioxidante se determinó mediante el método espectrofotométrico del DPPH\* (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) descrito por Brand Williams. Determinando un IC<sub>50</sub> de 2.8354 y una AAR de 162.98 %.

**Palabras clave:** Metabolitos secundarios, actividad antioxidante, radical libre, *Púnica granatum*, granada.

#### 4 Abstract

The present investigation sought to identify the presence of secondary metabolites and the determination of the antioxidant activity of the peel of *Púnica granatum* L. (granada). The collection of the species was carried out in the botanical garden of the National University of Trujillo, province of Trujillo. , La Libertad region. The ripe fruits were harvested and then selected according to their visual characteristics, which showed that the fruit was in perfect condition. Then proceeded to wash, disinfect and dry. Subsequently, the shell or epicarp of the fruits was removed, which was divided into small pieces to allow better drying. Once the shells were dry, they were ground to obtain a coarse powder, separating for the study what remains on the third sieve. Subsequently, extraction was carried out by reflux with 70 °GL ethanol. A light brown, transparent, pungent extract with an alcoholic odor was obtained, adjusted to a concentration of 2% w/v. The main secondary metabolites were polyphenols, flavonoids, tannins, alkaloids, bitter principles, etc. The antioxidant capacity was determined using the DPPH\* (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) spectrophotometric method described by Brand Williams. Determining an IC50 of 2.8354 and an AAR of 162.98%.

**Keywords:** Secondary metabolites, antioxidant activity, free radical, *Punica granatum*, pomegranate.



## 5 Introducción

### Antecedentes y fundamentación científica

Yisimayili & Chao, (2022) realizan y publican una revisión sobre la fitoquímica, perfiles metabólicos y farmacocinéticos de las diferentes partes (jugo, semillas, cáscara, flores, hojas y corteza) de la granada (*Púnica granatum* L.), en ella afirman que la granada es un árbol frutal e informan que las flores, las hojas, la corteza, el jugo de frutas, la cáscara y las semillas de granada tienen efectos farmacológicos. Nos comunican que hay una falta de resumen sobre las diferentes partes de la granada. Además, que estaban interesados en las posibles correlaciones y diferencias en los estudios de fitoquímicos, metabolismo y farmacocinética entre las diferentes partes de la granada.

Ruan et al., (2022) afirman que las cáscaras de granada, que normalmente se procesan como el principal subproducto de la producción de jugo de granada, merecen ser investigadas y utilizadas con el objetivo de obtener beneficios económicos y ambientales. En una investigación fitoquímica de las cáscaras de *Púnica granatum* L., se aislaron 10 compuestos fenólicos que contenían un resto hexahidroxidifenol común. Tres de ellas fueron identificadas por primera vez y denominadas granadas A-C, y de las otras siete conocidas, dos de ellas se obtuvieron por primera vez a partir de cáscaras de granada. Sus estructuras se determinaron mediante un extenso análisis espectroscópico. Además, con el fin de comprender preliminarmente sus actividades biológicas, se detectaron ensayos in vitro antimicrobianos, antioxidantes y antitumorales. En el ensayo antioxidante DPPH, seis compuestos presentaron una capacidad significativa de captación de radicales libres. Dos compuestos exhibieron actividades antimicrobianas moderadas contra *Cándida albicans*; un compuesto podría inhibir la proliferación tanto de *C. albicans* como de *Escherichia coli* dentro de ciertos límites. Cuatro compuestos poseían actividad antitumoral débil hacia la línea celular Hela sin tener en cuenta la biodisponibilidad de los elagitaninos. En general, estos resultados proporcionaron más información sobre la diversidad estructural de los metabolitos activos que se encuentran en la cáscara de granada, así como sobre sus actividades biológicas.

Cruz-Valenzuela et al., (2022), estudiaron los extractos acuosos y etanólicos de cáscara de granada (PPE) como fuente de compuestos fenólicos con propiedades antimicrobianas y antioxidantes. Se encontró que el extracto acuoso tuvo elevada cantidad de fenoles totales y flavonoides (153,43 mg GAE/g y 45,74, respectivamente) y capacidad antioxidante (inhibición de radicales DPPH: 86,12%, capacidad de captación de radicales ABTS: 958,21 mg TE/dw) en comparación con el extracto etanólico. Los principales compuestos fenólicos identificados por UPLC-DAD fueron los ácidos clorogénico y gálico. El extracto acuoso de PPE mostró actividad antimicrobiana contra *Salmonella Typhimurium*, *Listeria monocytogenes*, *Cándida tropicalis* (MIC 19–30 mg/mL). Los extractos acuosos de PPE a 25 mg/mL aplicados sobre brotes de alfalfa redujeron las bacterias psicrófilas (1.12 Log UFC/100 g) y coliformes totales (1.23 Log UFC/100 g) y aumentaron la capacidad antioxidante de los brotes tratados (55.13  $\mu$ mol TE/100 g (DPPH) y 126.56  $\mu$ mol TE/100 g (ABTS)) en comparación con la alfalfa no tratada. Este estudio enfatiza las actividades antioxidantes y antimicrobianas del PPE en la conservación de los brotes de alfalfa.

Parisi et al., (2022) llevaron a cabo un estudio cuali-cuantitativo comparativo de los extractos de cáscara de ocho cultivos de *Púnica granatum* obtenidos de áreas subexplotadas del sur de Italia para valorizarlos como subproductos que promueven la salud. Los resultados mostraron que todas las muestras poseían 45 elagitaninos, que consistían principalmente en polihidroxifenilos; 10 flavonoides, pertenecientes a las clases de flavonoides, flavonas y catequinas; y 2 antocianinas. Los compuestos más representativos se cuantificaron mediante un método basado en el monitoreo de reacciones múltiples (MRM) LC-MS/MS; su perfil cualitativo fue casi superponible, mientras que se observó variabilidad en el contenido fenólico cuantitativo. La actividad antioxidante se investigó mediante ensayos basados en células. El potencial antiinflamatorio in vitro también se estudió mediante el seguimiento de tres marcadores típicos de inflamación (IL-1 $\beta$ , IL-6 y TNF- $\alpha$ ). Se observaron diferencias moderadas en ambas actividades entre los cultivares. Los resultados mostraron que todas las cáscaras investigadas tienen un uso potencial como fitocomplejos bioactivos saludables debido a las interesantes actividades antioxidantes y antiinflamatorias; en particular, a partir de los enfoques bioinformáticos, se descubrió que una serie de

compuestos, incluidos los basados en ácido elágico, pedunculagina y galoílo, estaban altamente correlacionados con la bioactividad de los extractos.

En nuestro país Pilco Laureano & Piscoche Chichay, (2022), en su investigación buscaron elaborar y evaluar una bebida que tenía como base a la *Púnica granatum* (granada) y *Passiflora edulis* (maracuyá), endulzado con stevia, donde se realizó primero el estudio fisicoquímico de las materias primas (granada y maracuyá), obteniéndose valores de humedad de 82.7% y 77.8%, cenizas 0.7% y 0.5%, acidez 3.6% y 2.65%, potencial de hidrógeno de 3.21 y 3.49, grados °Brix de 13.2 y 16.2, además de vitamina C 25.3mg/100g y 4mg/100 g tanto para granada y maracuyá respectivamente, luego se realizó un flujograma de operaciones identificándose procesos como la recepción, el pesado y la selección, el lavado y la desinfección, el pelado y el cortado; la extracción, la formulación, la homogenización, la filtración, la pasteurización, el envasado/sellado, el enfriamiento y finalmente el almacenamiento. Luego de elaborar la bebida se realizó el análisis fisicoquímico de los diez tratamientos, se encontró valores de pH de 3.46 y 3.98, valores de acidez de 0.07% y 1.97%, y valores de densidad de 1.000g/ml y 1.073 g/ml. También se determinó la actividad antioxidante de 188.15 y 8952.49  $\mu\text{mol ET}/100\text{ml}$ , determinación de Polifenoles de 1.292 y 49.334 mg A.G/100ml, Vitamina C con valores de 0.0214 y 14.0892 mg/100ml. Para la determinación de los caracteres organolépticos se necesitaron 30 panelistas encontrándose que la novena formulación tuvo mayor aceptación, la misma que contenía 12.5% del zumo de granada y 12.5% del zumo de maracuyá, 0,04% de sorbato de potasio y 500 mg de estevia. Se concluyó que la bebida con la formulación T9 fue la de mayor aceptación.

Velázquez Paz, (2022), buscó determinar la cantidad de polifenoles totales y la actividad antioxidante del zumo y del extracto etanólico (70%) de la cáscara de *Púnica granatum*, procedente de la ciudad de Trujillo- Alto Salaverry. El método utilizado para obtener el extracto fue por percolación. Y para cuantificar los polifenoles totales se utilizó el método de Folin-Ciocalteu con patrón de ácido gálico en un espectrofotómetro UV-VIS, además que para hallar la actividad antioxidante se empleó el método DPPH. La cantidad de fenoles fueron de 641,54 mg/100ml para el

zumo y 24 264,61 mg /100g para la muestra seca, respectivamente. El porcentaje de actividad antioxidante fue de 58,14 para el zumo y 57,68 %, para el extracto. Se concluyó, se logró obtener los polifenoles totales y determinar la capacidad antioxidante del zumo y del extracto de *Púnica granatum*.

Toledo Merma, (2020) realiza una investigación, donde pretende aislar los compuestos *fenólicos en mermas agroindustriales de Púnica granatum* (granada). Empleándose los fluidos supercríticos (SFE) y líquidos presurizados (PLE). Se encontraron una humedad de 71,95%, lípidos 1,61%, cenizas 1,21%, proteínas 1,41% y carbohidratos totales de 23,81%. Se evaluaron las proporciones de solvente CO<sub>2</sub>/etanol según SFE y PLE y luego se aplicó solo la extracción PLE con etanol, donde se consideró la temperatura de 40 y 60 °C y una presión de 20, 40, 60, 80 y 100 bar, también se evaluó los componentes fenólicos según el análisis factoriales de las muestras con 21,37% (etanol puro y PLE). Se encontró que los tratamientos siete y nueve rindieron mayor cantidad de compuestos fenólicos. Sin embargo, el extracto 1 presentó un contenido mayor de punicalagina alfa, beta y ácido elágico comparado con el extracto 2. Por tanto, los compuestos *fenólicos en mermas agroindustriales de Púnica granatum* (granada), tiene actividad antioxidante.

### **Marco Teórico.**

Desde el principio de la medicina, los productos vegetales son la principal fuente de principios activos utilizado para tratar diversas enfermedades productos de diversos microorganismos, lográndose estimar que aproximadamente el 25% de las drogas o principios activos proceden de fuentes vegetales de manera directa o indirecta. (Sohail, y otros, 2014)

La OMS afirma que los productos vegetales poseen metabolitos activos de uso seguro y eficaz. (Gallegos, 2016). Éstos metabolitos son los responsables del efecto farmacológico frente a alguna enfermedad o trastorno de cuerpo humano. (Kassim, 2013)

La *Púnica granatum* L. (granada), es una fruta milenaria perteneciente a la

familia Lythraceae, es uno de los cultivos hortícolas comerciales más importantes en los países asiáticos y en toda la región mediterránea. Sus frutos, hojas, raíces o flores, que son de uso común en la medicina tradicional, contienen varios constituyentes fitoquímicos, especialmente compuestos fenólicos con diversas propiedades biológicas, incluyendo propiedades antiproliferativas, antiinvasivas, antimetastásicas y apoptóticas, contra el cáncer. La gran parte de estudios destacan el uso del jugo de granada con efectos farmacológico. Las partes no comestibles, como las cáscaras de frutas, los subproductos del procesamiento de jugos de frutas y las cortezas de los árboles, pueden tener propiedades farmacológicas similares a las que se encuentran en la fruta, lo que puede aumentar su valor. (Leesombun et al., 2022)

Varias partes, como la fruta (arilos y semillas), la cáscara, las flores y la corteza de *P. granatum* contienen diferentes fitoquímicos. La fruta se compone de antocianinas, polifenoles, polisacáridos, ascorbato, pectinas, vitaminas, ácidos orgánicos, ácidos grasos y malato. El jugo (parte del fruto) de *P. granatum* contiene 85,4 % de agua, aproximadamente 1 % de polifenoles, 10,6 % de azúcares y 1,4 % de pectina. El jugo es rico en minerales y contiene concentraciones variables de elementos como cobalto, sodio, calcio, magnesio, cesio, selenio y zinc. Las semillas también poseen una capacidad antioxidante y una composición nutricional, como azúcares, vitaminas, ácidos grasos poliinsaturados, polisacáridos, minerales y polifenoles. Aproximadamente el 80% del aceite de semilla está compuesto por un ácido graso trienoico, llamado ácido punícico, que es capaz de ejercer una acción antitumoral. La cáscara contiene siete inhibidores de la anhidrasa carbónica: punicalina altamente activa, tellimagrandina, pedunculagina, granatina B, punicalagina y gallagildilactona. La corteza (parte del pericarpio/cáscara) contiene elagitaninos y flavanoles polifenólicos. La flor contiene ácido ursólico, ácido gálico y triterpenoides, mientras que la corteza tiene elagitaninos, taninos y alcaloides. Estos fitoquímicos no se han aislados solo de *P. granatum*, sino que se encuentran en muchas otras plantas. Se han realizado muchos estudios sobre plantas medicinales para investigar su potencial terapéutico anticancerígeno y su mecanismo de acción. (Fakudze et al., 2022).

Maphetu et al., (2022) en su revisión nos dicen que *Púnica granatum* L (granada)

es una de las plantas medicinales mediterráneas que se ha utilizado durante generaciones en el tratamiento de úlceras, diarreas e infertilidad masculina. La creciente evidencia ha revelado que la granada posee miríadas de actividades farmacológicas tales como efectos antidiabéticos, antitumorales, antiinflamatorios, antipalúdicos, antifibróticos, antifúngicos, antibacterianos y otros. El consumo de granada podría utilizarse para mejorar la microbiota intestinal y, por lo tanto, prevenir la obesidad y la diabetes. Los mecanismos de acción de la granada involucran principalmente el factor 2 relacionado con el factor nuclear eritroide 2 (Nrf2), el factor nuclear kappa B (NF-kB) y las vías de señalización de la proteína quinasa activada por mitógeno (MAPK). En tiempos recientes, los estudios de acoplamiento molecular in silico demostraron que el extracto de granada y/o sus fitoquímicos son inhibidores potenciales de la proteína espiga del síndrome respiratorio agudo severo coronavirus 2 (SARS-COV-2) y el contacto del receptor de la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2). Además, algunos ensayos clínicos han indicado que la granada se puede consumir para aliviar la enfermedad del hígado graso no alcohólico, el síndrome metabólico, las infecciones dentales y los síntomas de la menopausia. Hasta la fecha, se han aislado alcaloides, antocianidinas, taninos, flavonoides, fenoles, proantocianidinas, esteroides, terpenos, terpenoides, xantonoides, ácidos grasos, ácidos orgánicos, lignanos, sacáridos y vitamina C.

Los antioxidantes que se encuentran presentes en algunos metabolitos secundarios son de suma interés ya que el estrés oxidativo está involucrado en los principales problemas de salud (Calderón, 2011)

Los flavonoides al ser pigmentos naturales que se encuentran en materias primas de vegetales, permiten proteger al organismo de algún posible daño oxidativo. Nuestro organismo no produce esta sustancia por tanto se debe suplementar nuestra dieta con el consumo de estas sustancias (Chávez, 2018)

Los flavonoides al ser antioxidantes tienen propiedades de oxidoreducción de los grupos hidroxifenólicos (medio ácido), los flavonoides se encuentran en medio neutro, y debido a la acción antioxidante de los flavonoides reduce los radicales libres y llegan a formar quelatos con los metales, inhibiendo las reacciones catalizadoras de

éstos radicales. (Chávez, 2018)

Los antioxidantes captan los radicales libres producto del metabolismo celular o producto de ciertas sustancias tóxicas, cuyo acoplamiento a las membranas celulares permiten su destrucción; además los antioxidantes pueden inhibir ciertas mutaciones, logrando proteger las cadenas de ADN, mediante mecanismo que tienen como cofactor al cobre; finalmente los antioxidantes logran proteger al colesterol LDL de la oxidación (Díaz, 2010)

Un radical libre es definido como todo átomo o molécula que tiene electrones desapareados, logrando incrementar la reactividad química, en busca de lograr completar el electrón faltante y quedarse con un par de electrones. (Díaz, 2010)

Siendo los métodos de uso más frecuente los de Hydrogen Atom Transfer (HAT) y Single Electrón Transfer (SET), con resultados muy similares, debido a su gran solubilidad y coeficiente de partición, tipo de solvente, energía, potencial de ionización del antioxidante, permiten evaluar su mecanismo de acción y la eficacia del antioxidante. (Batalla-Mayoral et al., 2019).

El DPPH se constituye en una molécula de naturaleza orgánica muy estable, cuya coloración púrpura intensa, las que no requieren ser generados por una reacción. Según Brand-Williams se puede determinar la capacidad antioxidante evaluando la disminución de la coloración a 517 nm, por la acción de un antioxidante. (Rodríguez Aguirre et al., 2016). Otra manera de expresar lo mismo es que el DPPH es un radical orgánico libre estable con una banda de absorción de aproximadamente 515–528 nm que a menudo se emplea como reactivo para evaluar el potencial de eliminación de radicales libres de los antioxidantes. Se ha demostrado que los alimentos ricos en fitoconstituyentes antioxidantes son eficaces para prevenir enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo, como el cáncer y las enfermedades cardíacas. Las moléculas antioxidantes, tanto enzimáticas como no enzimáticas, funcionan como potentes mecanismos defensivos, interactuando con sustancias peligrosas para prevenir sus efectos negativos. Desafortunadamente, a pesar de su alta eficacia, estas defensas idénticas tienen una capacidad limitada y pueden superarse, lo que resulta en un aumento de ROS que puede promover el desarrollo de enfermedades dermatológicas.

Los antioxidantes sintéticos (como butilhidroxianisol o butilhidroxitolueno) se han utilizado comúnmente para controlar o proteger contra enfermedades mediadas por ROS durante décadas. Sin embargo, dadas las posibles preocupaciones sobre la salud o la toxicidad asociada con los antioxidantes sintéticos, la investigación predominante se centra en los antioxidantes naturales como una estrategia alternativa para restaurar la homeostasis en el sistema oxidante. (El-Beltagi et al., 2022)

El DPPH es un radical libre, y muy estable, con un electrón de valencia desapareado, donde se requiere de múltiples métodos o protocolos con diferentes tiempos de incubación (5 min–1 hora), el tipo de solvente de reacción y el valor de pH de la mezcla de reacción. También hay que tener en cuenta las condiciones de la reacción, los valores IC<sub>50</sub> e incluso para el uso de un antioxidante estándar, que puede ser hidroxitolueno butilado (BHT) y ácido ascórbico cuyas condiciones requieren de ciertas consideraciones como la luz, oxígeno y pH (Sharma & Bhat, 2009).

### **Justificación de la investigación**

Esta investigación se justifica teóricamente ya que los conceptos básicos sobre los conocimientos de identificación de metabolitos secundarios y determinación de la actividad antioxidante de la cáscara de *Púnica granatum* L. (granada), pues su uso indiscriminado y frecuente conlleva a serios efectos secundarios; llegar a tener los resultados podrían servir para implementar las medidas preventivas necesarias y evitar su uso frecuente en forma inadecuada.

Se justifica de manera metodológica, debido a que se empleó la técnica de investigación utilizando un instrumento validado y confiable para obtener resultados sin sesgos que fueron utilizados para su interpretación respectiva.

Se justifica de manera social, ya que se considera como un problema de salud pública, y urge el estudio de la actividad antioxidante de las sustancias químicas presentes en las plantas es un campo de mucha importancia farmacológica, pues, como se sabe actualmente, las enfermedades crónicas como cáncer, diabetes, artritis, etc.



cursan con un estrés oxidativo bastante alto, razón por la que el uso de preparados a base de plantas con alto poder antioxidante sería muy beneficioso para el elevado porcentaje de personas que sufran estas enfermedades y con los resultados obtenidos a partir de la ejecución del presente trabajo de investigación esperamos aportar al conocimiento científico sobre el tema en investigación.

### **Problema**

¿Qué metabolitos secundarios se encuentran presentes en la cáscara de la *Púnica granatum* L. (granada) y cuál será la actividad del extracto hidroalcohólico frente al test DPPH?

### Conceptuación y operacionalización de variables

Definición conceptual	Dimensión	Indicador	Escala de medición
Extractos de cáscara de <i>Púnica granatum</i> L. (granada)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Extracto acuoso</li> <li>• Extracto Etanólico</li> <li>• Extracto etéreo</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Poco concentrado</li> <li>• Concentrado</li> </ul>	Nominal
	Extracto hidroalcohólico	Concentración de cada muestra (mg/mL) <ul style="list-style-type: none"> <li>• Extracto completo</li> <li>• Dilución 1 (0.6)</li> <li>• Dilución 2 (1.25)</li> <li>• Dilución 3 (2.5)</li> <li>• Dilución 4 (3.75)</li> <li>• Dilución 5 ( 5 )</li> <li>• Dilución 6 (6.25)</li> </ul>	De razón
<b>Metabolitos secundarios:</b> Son componentes que no se encuentran relacionados con los procesos del metabolismo primario de un organismo, pero que buscan proteger a la planta del posible estrés ambiental y de los posibles organismos depredadores (López Castellanos, 2020)	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Flavonoides</li> <li>• Taninos</li> <li>• Alcaloides</li> <li>• Compuestos fenólicos</li> <li>• Antocianidinas</li> <li>• Cumarinas</li> <li>• Terpenoides</li> <li>• Etc</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Desarrollo de coloración</li> <li>• Presencia de precipitad</li> <li>• Presencia de espuma</li> </ul>	Nominal
<b>Actividad antioxidante.</b> Es la propiedad de una sustancia para reaccionar con un radical libre y disminuir su concentración dentro de una solución. La captura de radicales libres de DPPH en medio líquido, confirma la actividad antioxidante (IC50). (Villarreal La Torre, 2019)	Porcentaje de Inhibición	Valor en %	De razón
	Actividad Antioxidante Relativa (AAR)	Valor en %	De Razón

## **Hipótesis**

La literatura actual sobre el tema, ha reportado la presencia de distintos compuestos fenólicos en la cascara de *Púnica granatum* L. (granada), en nuestro estudio debemos encontrar distintos metabolitos secundarios oxigenados los que serían los responsables de una buena actividad antioxidante de la cascara de *Púnica granatum* L. (granada).

## **Objetivos**

### **Objetivo general**

Determinar los metabolitos secundarios y la actividad antioxidante de la cascara de *Púnica granatum* L. (granada).

### **Objetivos específicos**

1. Obtener los extractos (acuoso, metanólico y etéreo) de la cáscara de *Púnica granatum* L. (granada) y Determinar los principales metabolitos secundarios presentes en la cascara de la *Púnica granatum* L. (granada).
2. Determinar el porcentaje de inhibición del radical libre DPPH, del extracto hidroalcoholico de la cáscara de *Púnica granatum* L. (granada).
3. Determinar el IC50 del extracto hidroalcoholico de la cáscara de *Púnica granatum* L. (granada).
4. Determinar la actividad antioxidante relativa (AAR) del extracto hidroalcoholico de la cáscara de *Púnica granatum* L. (granada).

## 6 Metodología

### a) Tipo y diseño de investigación

#### Tipo de investigación:

La presente investigación es de tipo básica ya que genera conocimiento de las variables estudiadas aportando información para las futuras investigaciones.

(Rodríguez, 2020, s/p).

#### Diseño de investigación:

Esta investigación se realizará bajo un diseño de investigación descriptivo simple, lo cual permitirá determinar la actividad antioxidante de la Cascará de *Púnica granatum* L. (granada).



#### Dónde:

M: Extracto de las flores de Cascara de *Púnica granatum* L. (granada).

O: Actividad antioxidante.

### b) Población, muestra

#### Población:

Considerando que la investigación se refiere a determinadas propiedades de la Cascara de *Púnica granatum* L. (granada), entonces se puede decir que la población en estudio estaría conformada por todas las plantas del granado del jardín botánico de la UNT.

**Muestra:**

500 gramos de Cascara de *Púnica granatum* L. (granada)

**Criterios de Inclusión:**

1. Se recolectarán los frutos de *Púnica granatum* L. (granada) en el jardín botánico de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNT
2. Se recolectarán los frutos maduros de *Púnica granatum* L. (granada) en buen estado.
3. Se recolectarán frutos que no muestren signos de haber sido atacados por insectos, ni tengan plaguicidas

**Criterios de Exclusión:**

1. Frutos de *Púnica granatum* L. (granada) en mal estado.
2. Frutos de *Púnica granatum* L. (granada) inmaduros.

**c) Técnicas e instrumentos de investigación:****Recolección de la especie vegetal**

Se recolectaron los frutos de la *Púnica granatum* L. (granada) en el jardín botánico de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la UNT.

**Selección**

Una vez obtenidas los frutos, se procedió a hacer la selección de la muestra vegetal, retirando aquellos que presentaban algún defecto y escogiendo los que se observan en mejor estado.

**Identificación taxonómica**

La determinación taxonómica se realizó llevando un ejemplar al Herbarium Truxillense (HUT) de la Universidad Nacional de Trujillo, para su identificación.

### **Procesado de la cáscara:**

30 frutos de *Púnica granatum* L. (granada) fueron pelados y la cáscara se sometió a limpieza con agua potable a chorro, para luego ser desinfectadas sumergiendo en agua con lejía durante 10 minutos. En seguida se enjuagaron las cascaras con agua potable a chorro y colocadas en estufa de convección a 40 °C durante 3 horas, para obtenerlas secas.

Finalmente las cascaras secas fueron sometidas a molienda para obtener polvo grueso de cáscaras de *Púnica granatum* L. (granada).

### **Marcha fitoquímica:**

#### **Obtención de los extractos de la cáscara de *Púnica granatum* L. (granada)**

- 30 g de polvo grueso de cascara de *Púnica granatum* L. (granada) se colocaron en un matraz Erlenmeyer de 250 mL.
- 90 mL de éter de petróleo fueron colocados dentro del matraz Erlenmeyer con la muestra.
- Dejar en maceración por 48 horas.
- Se filtró al vacío el extracto obtenido.
- El extracto etéreo obtenido se colocó en un frasco ámbar de 120 mL.
- El material vegetal (residuo sólido) se colocó nuevamente dentro de Erlenmeyer y se agregó 100 mL de alcohol etílico 96 ° GL.
- Dejar en maceración por 48 horas.
- Se almacenará el extracto etanólico obtenido en un frasco ámbar de 120 mL.
- El material vegetal (residuo sólido) se colocó nuevamente dentro de Erlenmeyer y se agregó 100 mL de agua destilada.
- Dejar en maceración por 48 horas.

- Se almacenará el extracto acuoso obtenido en un frasco ámbar de 120 mL.

**Tamizaje fitoquímico de la cáscara de *Púnica granatum L.* (granada)**

La determinación de metabolitos secundarios presentes en la cascará de *Púnica granatum L.* (granada) se realizará bajo la metodología de Miranda & Cuellar, 2000:

<b>Borntrager</b> (identificación de quinonas)	En un tubo de ensayo se colocó 2 mL de extracto + 1 mL NaOH al 5%.
<b>Dragendorff</b> (identificación de alcaloides)	En un tubo de ensayo se colocó 2 mL de extracto + II gotas de HCl al 1% (hasta pH ácido) + III gotas del reactivo Drangendorff.
<b>Mayer</b> (identificación de alcaloides)	En un tubo de ensayo se colocó 2 mL de extracto + II gotas de HCl al 1% (hasta pH ácido) + III gotas del reactivo de Mayer.
<b>Ensayo de identificación de resinas</b>	En un tubo de ensayo se colocó 2 mL de extracto + 1 mL de etanol de 96° + 2 mL de agua destilada.
<b>Ninhidrina</b> (identificación de aminoácidos libres)	En un tubo de ensayo se colocó 2 mL de extracto + 1 mL de etanol de 96° + II gotas de Ninhidrina 2%, luego la mezcla se calentó 5 min en baño maría.
<b>Fehling</b> (identificación de azúcares reductores)	En un tubo de ensayo se colocó 2 mL de extracto + 2 MI de Fehling y se calentó 5 min en baño maría.
<b>Ensayo de</b>	Se calentaron 2 mL del extracto durante 10 min con 1 mL. de HCl cc. Se dejó enfriar y se

<b>Antocianidinas:</b>	añadieron 1 mL de agua y 2 mL de alcohol amílico. Se agitó y se dejó en reposo para la separación de las dos fases.
<b>Ensayo de Baljet (identificación de lactonas)</b>	5 mL de extracto se llevaron hasta extracto blando y se redisolvieron en 1 mL. de etanol de 96°. En estas condiciones se adicionará el reactivo de Baljet.
<b>Liebermann-Burchart (identificación de terpenos)</b>	A 5 mL. de extracto se le agregaron 0,5 mL de anhídrido acético, 1 mL de ácido acético y luego II gotas de ácido sulfúrico concentrado
<b>Tricloruro Férrico (identificación de compuestos fenólicos)</b>	En un tubo de ensayo de 7 x 10 se colocó 2 mL de extracto y se llevaron hasta extracto blando. Se agregó 1 mL de etanol de 96°. Se agregó 1 gota de tricloruro de hierro al 5%.

**Actividad antioxidante de la cáscara de *Púnica granatum L.* (granada)**

Todo el proceso se realizó siguiendo a Rodríguez Aguirre et al., (2016)

**Preparación de la solución patrón de DPPH**

- En un vaso de precipitados de 10 mL se pesaron 2.0 mg del reactivo DPPH adquirido de Sigma Aldrich.
- Se agregan porciones de 15 mL. de metanol para ir disolviendo el DPPH, de a pocos y se va trasladando a una fiola de 100 mL.



- Finalmente se aforo a 100 mL con metanol.
- Se llevó a sonicator por 15 minutos para garantizar disolución total.

#### **Preparación de la solución stock de ácido ascórbico**

- En un vaso de precipitados de 10 mL se pesaron 50.0 mg del reactivo ácido ascórbico adquirido de Sigma Aldrich.
- Se agregan porciones de 10 mL. de metanol para ir disolviendo el DPPH, de a pocos y se va trasladando a una fiola de 50 mL.
- Finalmente se aforo a 50 mL con metanol.
- Se llevó a sonicator por 15 minutos para garantizar disolución total.
- Quedando así preparada de esta manera la solución stock de 1 mg/mL.

#### **Curva referencial para ácido ascórbico**

De acuerdo con Olivera Delgado & Gutiérrez Felix, (2021).

Para hallar la curva de referencial del ácido ascórbico a partir una solución stock preparada y con una muy ligera modificación según Rodríguez Aguirre et al., (2016), por dilución, se deben preparar soluciones 0.6, 1.25, 2.5, 3.75, 5.00 y 6.25 mg/L de metanol.

Se trabajaron con cinco tubos de ensayo, en los que se colocaron 1.5 mL. de la solución stock de DPPH y se agregó 500 uL de cada una de las soluciones de ácido ascórbico. Se dejaron en reposo y en la oscuridad por 30 minutos. Luego de minutos se miden las absorbancias a 517 nm y con esos datos se calculó los respectivos porcentajes utilizando la siguiente fórmula:

$$\% \text{ de captación DPPH} = \frac{A_{\text{inicial}} - A_{\text{final}}}{A_{\text{inicial}}} \times 100$$

### **Método DPPH:**

#### **Fundamento**

Según Brand Williams et al, éste método se fundamenta en que el radical libre estable 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) posee un electrón desapareado de color azul-violeta, el mismo que se decolora hasta amarillo pálido, debido a la reacción con alguna sustancia que logra capturar los radicales libres; donde las absorbancias son medidas con el uso de un espectrofotómetro a una longitud de onda de 520 nm. Donde las diferencias de las absorbancias, permitirán hallar la captación de radicales libres de manera porcentual.

#### **Procedimiento:**

Para evaluar la actividad antioxidante de las cáscaras de *Púnica granatum* L. (granada), se realizaron las siguientes actividades:

- Se realizó el ajuste de la concentración del extracto hidroalcohólico de la *cáscara de Púnica granatum* L. (granada), a 60 mg/L.
- Luego a partir de la anterior solución se preparan las soluciones a unas concentraciones de 0.6, 1.25, 2.5, 3.75, 5.00, 6.25 y 12.5 mg/L.
- Posteriormente se utilizaron 7 tubos de ensayo, y se colocaron 1.5 mL del reactivo DPPH previamente preparado.
- A cada tubo de ensayo (conteniendo 1.5 mL de DPPH) se le agregó medio mililitro de las concentraciones preparadas.

- Se miden las absorbancias con el espectrofotómetro y se realizaron los cálculos, usando la siguiente ecuación.

$$\% \text{ de captura DPPH} = \left( \frac{\text{Abs. Control} - \text{Abs. Muestra}}{\text{Abs. Control}} \right) \times 100$$

**d) Procesamiento y análisis de la información**

Los valores obtenidos fueron analizados, procesados y organizados utilizando la estadística descriptiva la misma que se expresará como media, median, moda, error estándar, entre otras más, para tal fin se utilizará el programa estadístico Excel de Microsoft.

## 7 Resultados

**Tabla 1**

*Condiciones de trabajo para obtener extracto hidroalcoholico de la cáscara de Púnica granatum L. (granada).*

CONDICIONES PARA EL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO	
Muestra	Frutos de Púnica granatum L
Cantidad	1.5 kilogramos
Cáscara fresca	500 gramos
Cáscara seca	365 gramos
Concentración extracto hidroalcoholico	4.12 % P/V
Concentración ajustada extracto	2 % P/V
Color extracto	Amarillo - marrón claro
Olor extracto	Característico
Sabor extracto	Astringente
Aspecto extracto	Transparente

**Fuente: elaboración propia**

**Interpretación:** En la tabla 1, se detallan los datos de manera secuencial, de la manera como se procesó la muestra de cáscaras de granada para obtener los extractos. En este caso se puede ver que la muestra de trabajo fue 1.5 kg de frutos de *Púnica granatum* L. (granada) a partir de estos frutos se obtuvo 500 gramos de cáscara fresca. La cual se llevó a estufa de convección y se obtuvo 365 gramos de cáscara seca. Esta cascara seca se molió y luego se tamizó para obtener la muestra de trabajo. Se tomó 100 gramos y se sometió a reflujo, obteniéndose un extracto al 4.12 % de concentración. Por motivos de trabajo, a esta solución se le agrego agua destilada para obtener un extracto al 2 %, de color amarillo-marrón claro, de sabor astringente, con olor característico y transparente

**Tabla 2***Tamizaje fitoquímico de la cáscara de Púnica granatum L. (granada).*

SUSTANCIAS	PRUEBAS QUÍMICAS	EXTRACTO		
		ACUOSO	ETANÓLICO	ETÉREO
	Dragendorf	p	p	n
Alcaloides	Mayer	p	p	n
	Wagner	p	p	n
Fenoles, Taninos	FeCl <sub>3</sub>	p	p	n
Flavonoides	Shinoda	p	p	n
Azucares reductores	Fehling	p	p	n
Saponinas	Espuma	n	n	n
Mucilagos	Ensayo de mucilagos	p	p	n
Principios amargos	Ensayo de Principios amargos	p	p	n
Catequinas	Ensayo de Catequinas	p	p	n
Resinas	Ensayo de Resinas	p	p	n
Cumarinas	Baljet	n	n	n
Triterpenos y esteroides	Lieberman-Buchard	nr	nr	p
Aminoácidos, aminas libres	Ninhidrina	n	n	nr
Quinonas	Borntrager	n	n	nr
Glicósidos cardiotónicos	Kedde	p	n	p
Antocianidinas	Ensayo de Antocianidinas	p	p	n
Aceites y grasas	Sudán	nr	nr	p

p : Positivo      n : Negativo      nr : No se realiza

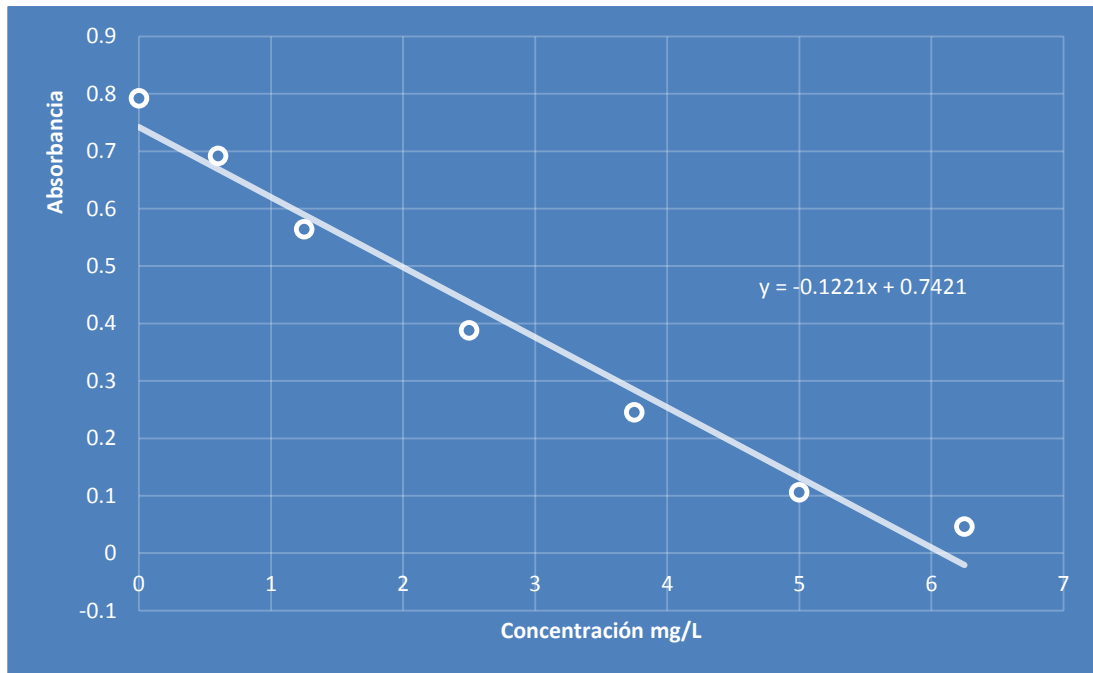
**Interpretación:** En la tabla 2 se observa que las fracciones acuosa y etanólica contienen la mayoría de compuestos oxigenados como flavonoides, catequinas, taninos, polifenoles, etc; destacándose que en la cascara no se encuentran alcaloides.

**Tabla 3***Actividad antioxidante de la sustancia patrón (Ácido ascórbico)*

<b>Concentración</b>	<b>Abs final</b> $\bar{x}$	<b>% captación DPPH</b>
<b>0 (DPPH puro)</b>	<b>0.792</b>	<b>0</b>
0.6	0.692	12.63
1.25	0.564	28.8
2.5	0.388	51.01
3.75	0.245	69.07
5	0.106	86.62
6.25	0.046	94.19

**Fuente:** Elaboración propia**Interpretación:**

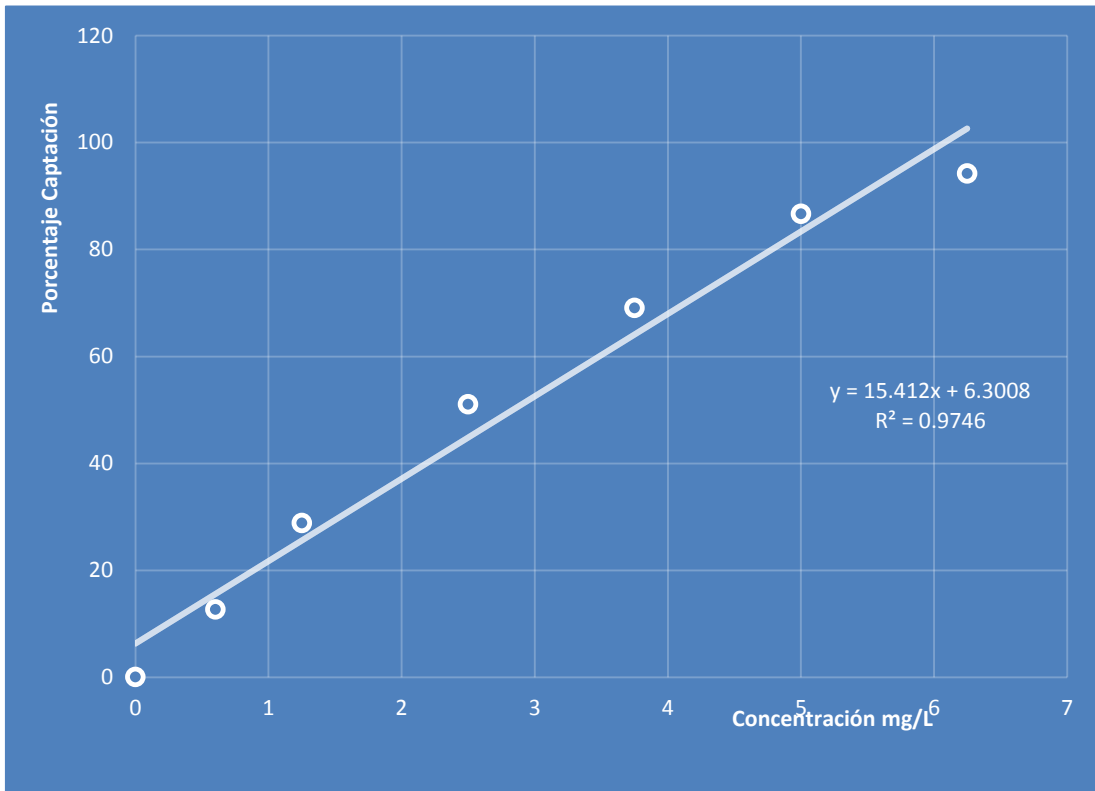
En la tabla 3 se muestran los resultados de absorbancia de la solución de DPPH al interactuar con cada una de las concentraciones de ácido ascórbico, a partir de las cuales se puede construir la curva de calibración que se muestra en la figura 1. En la tabla 3 también se muestran los porcentajes de captación del radical libre DPPH por las distintas soluciones de ácido ascórbico y que se presentan de modo gráfico en la figura 2.



**Figura 1.** Curva de calibración del ácido ascórbico

**Interpretación:**

En la figura 1 se muestra en forma gráfica la curva de calibración para el ácido ascórbico. Es lineal y la absorbancia disminuye de acuerdo con el aumento de la concentración del extracto hidroalcohólico de la cáscara de *Púnica granatum* L. (granada)



**Figura 2.** Porcentaje de captación del radical DPPH por el ácido ascórbico

**Interpretación:** En la figura 2 se gráfica los porcentajes de captación del radical DPPH por el ácido ascórbico. Es lineal y el porcentaje de captación aumenta de acuerdo con el aumento de la concentración del extracto hidroalcohólico de la cáscara de *Púnica granatum* L. (granada). También se presenta la ecuación de la recta, la cual nos sirvió para calcular el IC50 y la AAR de dicha sustancia.

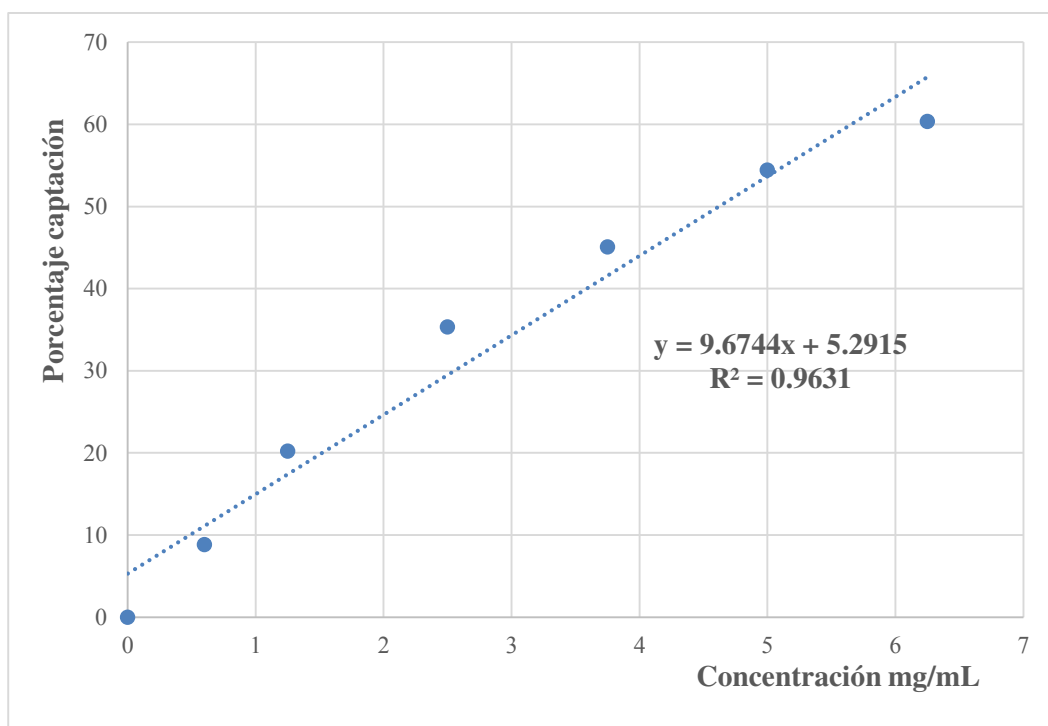


**Tabla 4**

*Actividad antioxidante del extracto hidroalcoholico de la cáscara de Púnica granatum L. (granada)*

<b>Concentración</b>	<b>Abs final</b> $\bar{x}$	<b>% captación</b> <b>DPPH</b>
<b>0 (DPPH puro)</b>	<b>0.792</b>	<b>0</b>
0.6	0.722	8.84
1.25	0.632	20.2
2.5	0.512	35.35
3.75	0.435	45.08
5	0.361	54.42
6.25	0.314	60.35

**Interpretación:** En la tabla 4 se muestran los resultados de absorbancia de la solución de DPPH al interactuar con cada una de las soluciones de ácido ascórbico a diferente concentración, a partir de las cuales se pudo calcular los porcentajes de captación del radical libre DPPH por las distintas soluciones de ácido ascórbico y que se presentan de modo gráfico en la figura 2.



**Figura 3.** Captación porcentual del hidrolcoholico de la cáscara de *Púnica granatum* L. (granada)

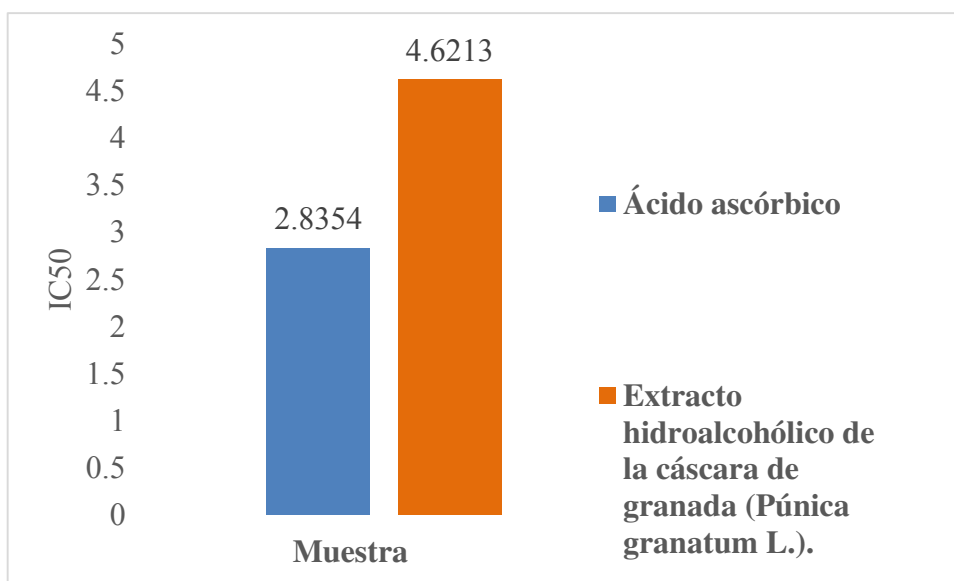
**Interpretación:** En la Figura 3 se muestra de manera gráfica los resultados de la captación en porcentaje del radical libre DPPH\* por los compuestos antioxidantes presentes en el extracto hidrolcoholico de la cáscara de *Púnica granatum* L. (granada), los cuales nos sirvieron para obtener el  $IC_{50}$  y la AAR de dicho producto.

**Tabla 5**

Concentración inhibitoria 50 ( $IC_{50}$ ), extracto hidroalcoholico de la cáscara de *Púnica granatum L.* (granada).

Muestra	$IC_{50}$	% AAR
Ácido ascórbico	2.8354	100
Extracto hidroalcohólico de la cáscara de granada ( <i>Púnica granatum L.</i> ).	4.6213	162.98

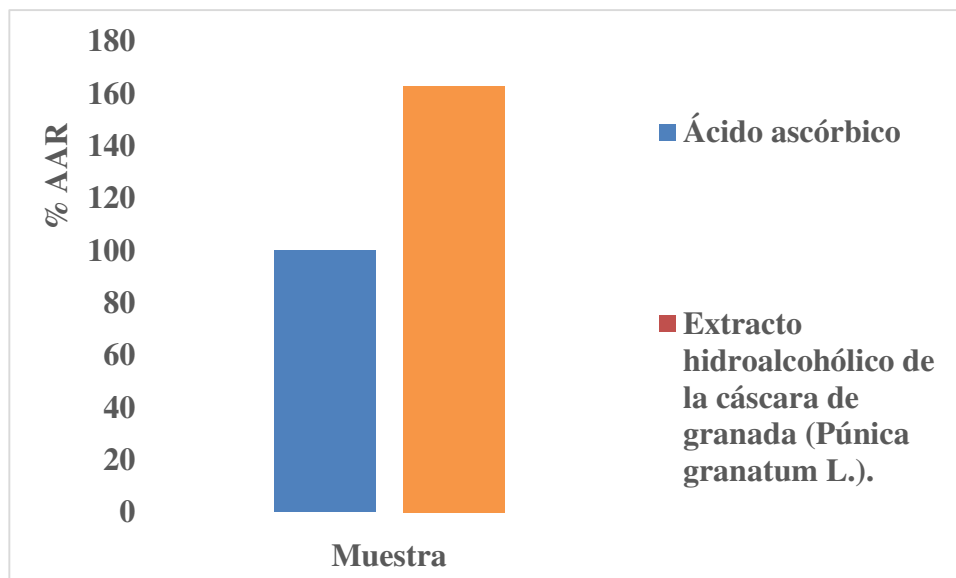
**Interpretación:** En la tabla 5, se muestran los  $IC_{50}$  y la AAR para el ácido ascórbico y para las sustancias antioxidantes presentes en el extracto hidroalcohólico de la cáscara de *Púnica granatum L.* (granada). En la tabla se puede observar que tanto el  $IC_{50}$  y como la AAR del extracto hidroalcohólico, cuantitativamente son mayores que el  $IC_{50}$  y la AAR de la sustancia patrón.



**Figura 4.** Concentración inhibitoria 50 (IC<sub>50</sub>) del extracto hidroalcohólico de la cáscara de Púnica granatum L. (granada)

**Interpretación:**

En la figura 4 se presenta de manera gráfica el IC<sub>50</sub> del extracto hidroalcohólico de la cáscara de *Púnica granatum* L. (granada) y el IC 50 de la sustancia patrón que es el ácido ascórbico, donde se observa que el IC<sub>50</sub> del extracto es mayor que el IC<sub>50</sub> de la sustancia patrón (ácido ascórbico), resultado que demuestra que la capacidad antioxidante del ácido ascórbico es mayor que la capacidad antioxidante del extracto en estudio.



**Fuente:** Elaboración propia

**Figura 5.** Actividad Antioxidante relativa (AAR) del extracto hidroalcohólico de la cáscara de *Púnica granatum* L. (granada)

**Interpretación:** En la figura 5 se presenta de manera gráfica la AAR del extracto hidroalcohólico de la cáscara de *Púnica granatum* L. (granada) y la AAR de la sustancia patrón que es el ácido ascórbico, donde se observa que el AAR del extracto es mayor que el AAR de la sustancia patrón (ácido ascórbico), resultado que demuestra que el ácido ascórbico es mejor antioxidante que el extracto en estudio.

## 8 Análisis y discusión

De acuerdo con Elshafie et al., (2021) afirman que los frutos de *Púnica granatum* L. (granada) se utilizan mucho en la industria de suplementos alimentarios por ser fuentes importantes de vitaminas y minerales. Investigaron si el extracto de exocarpo (cáscara) de la granada tenía actividad antimicrobiana (antifúngica y antibacteriana) y antioxidante. En términos generales los resultados antimicrobianos resultaron prometedores en comparación con los medicamentos sintéticos utilizados como patrón. La posible actividad antioxidante del extracto de exocarpo se evaluó mediante la prueba de 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) resultando en una eficaz actividad antioxidante. Por lo que recomiendan, el extracto de exocarpo sería un buen candidato para investigaciones futuras sobre su potencial uso y beneficio en enfermedades neurodegenerativas.

En este contexto, los resultados nuestra investigación que versa sobre el contenido de fitoquímicos bioactivos y su actividad antioxidante en la cáscara de esta fruta muy conocida en nuestro país como *Púnica granatum* L. (granada). En primer lugar, en la tabla 1, se muestra que los principales metabolitos secundarios presentes en la cáscara de *Púnica granatum* L. son compuestos oxigenados como flavonoides, taninos, catequinas y antocianidinas, además de la presencia de alcaloides. Estos resultados concuerdan con (Bhandary et al., 2012; Sabbah et al., 2017)

En la tabla 2, se detallan las condiciones en las cuales se obtuvo el extracto y las características organolépticas de dicho extracto. En términos generales y de acuerdo a la información sobre el tema ya consignada, la relación 1:1 entre parte comestible y cascara en los frutos utilizados en la presente investigación es diferente pues 3:1, lo cual, como todo mundo ya sabe se debe fundamentalmente al hábitat de donde se obtuvo la muestra. Luego, si evaluamos el extracto, los caracteres organolépticos, son los que se podía esperar, pues el fruto es una mezcla de zonas rojas y amarillas, por lo que el color del extracto es de un marrón claro con tonalidades amarillas, con un olor característico al aroma de la fruta con un poco de olor a alcohol etílico y con un sabor astringente, clásico de los taninos.

En la tabla 3 se presentan los resultados de Absorbancia para cada una de las concentraciones de sustancia patrón en estudio, los cuales muestran claramente que el valor de la absorbancia disminuye en razón directamente proporcional a la concentración de ácido ascórbico. Con estos valores se puede fácilmente construir la curva de calibración para el ácido ascórbico que se muestra en la Fig 1. La utilidad de la curva de calibración ya ha sido perfectamente establecida y se usa muy ampliamente en las cuantificaciones de laboratorio para calcular la concentración de una sustancia en una muestra desconocida. En la presente investigación, vamos un poco más allá y a partir de las absorbancias calculamos el porcentaje de captación del radical libre DPPH y con estos resultados pudimos construir la curva de captación del radical libre DPPH por el ácido ascórbico, la cual, tal y como se ve en el grafico 2 muestra la ecuación de la curva  $y = 15.412x + 6.3008$ . A partir de esta ecuación, haciendo  $y=50$  obtuvimos el valor de X, que es la concentración Inhibitoria 50, es decir la concentración a la cual la absorbancia del DPPH es el 50% de la absorbancia de la solución stock de DPPH. (Haerani et al., 2019)

En la tabla 4 se presentan los resultados de Absorbancia para cada una de las concentraciones del extracto hidroalcoholico de granada (*Púnica granatum L.*) en investigación, los cuales, igualmente que para la sustancia patrón, muestran claramente que el valor de la absorbancia disminuye en razón directamente proporcional a la concentración del extracto hidroalcoholico de granada (*Púnica granatum L.*). De manera similar al tratamiento de resultados que se le dio al ácido ascórbico, con estos valores se pudo fácilmente construir la curva de inhibición para el extracto en estudio que se muestra en la Fig 2. En esta misma figura se muestra la ecuación de la curva  $y = 9.6744x + 5.2915$ , con la cual y de manera similar al tratamiento dado para el ácido ascórbico, a partir de esta ecuación, haciendo  $y=50$  obtuvimos el valor de X, que es la concentración Inhibitoria 50, es decir la concentración a la cual la absorbancia del DPPH es el 50% de la absorbancia de la solución stock de DPPH. (Haerani et al., 2019)

También, en la tabla 5, mostramos que el IC50 obtenido para el ácido ascórbico es de 2.8354 y que el IC50 para el extracto hidroalcoholico de granada (*Púnica granatum L.*) es de 4.6213. La interpretación de estos valores es muy simple, ya que

se resume en que, si el IC50 de la sustancia en estudio es menor que el IC50 de la sustancia patrón, entonces, la capacidad antioxidante es mayor o mejor, porque se necesita menor cantidad para tener el mismo efecto que el de la sustancia patrón. De acuerdo a lo expresado anteriormente, se puede inferir que la capacidad antioxidante del extracto hidroalcoholico de granada (*Púnica granatum L.*) es menor que la del ácido ascórbico, ya que el valor de su IC50 es 4.6213; por lo que se puede inferir que si se necesita tener el efecto antioxidante de 1 gramo de ácido ascórbico y no lo tengo, puedo utilizar 1.63 gramos de extracto hidroalcoholico de granada (*Púnica granatum L.*). (Haerani et al., 2019)

En la misma tabla 5, mostramos la Actividad Antioxidante Relativa (AAR) que para el ácido ascórbico se debe considerar del 100 % pues es la sustancia referencia y que para el extracto hidroalcoholico de granada (*Púnica granatum L.*) es de 162.98 %. La interpretación de estos valores es similar a la realizada para la IC50, ya que se si el AAR de la sustancia en estudio es menor que el AAR de la sustancia patrón, entonces, la capacidad antioxidante es mayor o mejor, porque se necesita menor cantidad para tener el mismo efecto que el de la sustancia patrón. De acuerdo a lo expresado anteriormente, se puede inferir (de igual manera que para el IC50) que la capacidad antioxidante del extracto hidroalcoholico de granada (*Púnica granatum L.*) es menor que la del ácido ascórbico, por lo que se puede inferir que si se necesita tener el efecto antioxidante de 100 ug de ácido ascórbico y no lo tengo, puedo utilizar 163 ug de extracto hidroalcoholico de granada (*Púnica granatum L.*). (Haerani et al., 2019)

En cuanto a las figuras 3 y 4, son 2 formas diferentes de mostrar de manera visual la actividad antioxidante, ya sea graficando el IC50 en la figura 3 y la AAR en la figura 4. La lectura e interpretación de ambos gráficos es similar e indica lo mismo, como ya se explicó anteriormente.

Básicamente, si investigamos la actividad antioxidante de una sustancia, debemos dejar sentado que un radical libre es una sustancia química que tiene un electrón desapareado en su último orbital, condición que explica su alta reactividad con las moléculas cercanas. Los radicales libres, en el organismo del ser humano, principalmente son de oxígeno y de nitrógeno. En el organismo de las personas estos



radicales libres reaccionan con carbohidratos, proteínas, lípidos y ácidos nucleicos. La consecuencia de estas reacciones causa alteraciones de las células que dependiendo del lugar del organismo donde se hayan producido en mayor cantidad el resultado es el desarrollo o perpetuación de una gran cantidad de patologías o enfermedades, entre ellas las cardiovasculares y muchas enfermedades crónicas, como la diabetes, por ejemplo. Ahora bien, las plantas ponen a nuestra disposición una amplia gama de compuestos químicos, muchos de ellos con diferentes actividades biológicas en el organismo del ser humano, dentro de los cuales destaca la actividad antioxidante. (Torrenegra-Alarcón et al., 2019)

Entre las sustancias con capacidad antioxidante hay varias clases de principios activos, así tenemos a los polifenoles y los fitoestrógenos. Dentro de los polifenoles se encuentran flavonoides y taninos. Algunos flavonoides como las antocianidinas, catequinas, citroflavonoides, isoflavonoides de la soya. Protoantocianidinas (semillas de uva). Otro tipo de antioxidantes son los taninos (polifenoles), con su característica astringencia. (Grosso et al., 2018). La ingesta normal de sustancias polifenólicas es muy diversa; pero los españoles reportan una ingesta promedio teórica de 1365,1mg/día por persona. Por lo tanto, los españoles consumen mayor cantidad de polifenoles que otros países mediterráneos. Una ingesta mayor de 600mg/p/d protege en las enfermedades crónicas. A pesar de la relación directamente proporcional entre ingerir polifenoles y el beneficio en la salud del ser humano, los autores recomiendan realizar más estudios de biodisponibilidad, absorción y metabolismo de los polifenoles en el organismo humano, *in vivo*, ya que si conocemos estos parámetros podemos inferir si el compuesto llegará al tejido diana y ejercer su efecto farmacológico (Navarro González et al., 2017). En la tabla 1, donde mostramos los resultados del estudio fitoquímico, observamos que los resultados obtenidos coinciden con lo anteriormente reportado en cuanto a polifenoles, flavonoides y taninos, lo que explicaría la actividad antioxidante del extracto de hidroalcoholico de granada (*Púnica granatum L.*)

Finalmente, para resaltar la importancia de la investigación sobre la actividad antioxidante de este fruto, en una publicación actual se da a conocer que para la enfermedad de Alzheimer, hasta la actualidad no existen formas eficaces de retrasar el

inicio o la progresión lenta de esta enfermedad; pero que los niveles elevados de polifenoles en el jugo de la granada (*Púnica granatum L.*) influenciaron en el comportamiento y en una patología similar a la Enfermedad de Alzheimer en un modelo de ratón transgénico APPsw/Tg2576 que recibieron jugo de granada (grupo problema) o agua azucarada (grupo control) entre 6 - 12,5 meses de edad. Los ratones del grupo problema aprendieron las tareas del laberinto de agua más rápido y nadaron más rápido que los ratones del grupo control. Los ratones del grupo problema acumulan alrededor del 50 % menos de A $\beta$ 42 soluble y depósito de amiloide en el hipocampo en comparación con los ratones del grupo control. Los autores concluyen que sus resultados sugieren realizar más estudios para validar y determinar el mecanismo de estos efectos, así como si las sustancias presentes en el jugo de granada pueden ser útiles en la Enfermedad de Alzheimer.

## 9 Conclusiones y recomendaciones

### Conclusiones:

1. El estudio fitoquímico de la cáscara de *Púnica granatum* L. (granada) confirmo que los principales metabolitos secundarios presentes en la muestra son los polifenoles (flavonoides, taninos), triterpenos y esteroides, alcaloides, mucílagos, principios amargos; pero tambien azucares reductores.
2. El IC50 del ácido ascórbico es 2.8354.
3. Determinar el IC50 del extracto hidroalcoholico de la cáscara de *Púnica granatum* L. (granada) es 4.6213.
4. La actividad antioxidante relativa (AAR) del extracto hidroalcoholico de la cáscara de *Púnica granatum* L. (granada) es 162.98 %
5. La actividad antioxidante del extracto hidroalcoholico de la cáscara de *Púnica granatum* L. (granada) es buena; pero es menor que la actividad antioxidante del ácido ascórbico (sustancia patrón).

### Recomendaciones:

1. Profundizar el estudio de la capacidad antioxidante de la cáscara de *Púnica granatum* L. (granada).
2. Identificar cual o cuales son las sustancias antioxidantes de la granada.
3. Determinar el mecanismo de acción como estas sustancias actúan en las enfermedades crónico degenerativas.

## 10 Referencias bibliográficas

- Bhandary, S. K., N., S. K., Bhat, V. S., P., S. K., & Bekal, M. P. (2012). Preliminary phytochemical screening of various extracts of punica granatum peel, whole fruit and seeds. *Journal of Health and Allied Sciences NU*, 02(04), 34–38. <https://doi.org/10.1055/s-0040-1703609>
- Batalla-Mayoral, J., Vega-Hernández, M., & Silveti-Loeza, A. (2019). Análisis de la actividad antioxidante en la flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) mediante las técnicas FRAP y DPPH. *RD-ICUAP*, 5(14), 79. Retrieved 14 October 2021, from <http://rd.buap.mx/ojs-dm/index.php/rdicuap/article/view/386/373>.
- Calderón Hernández JA. Caracterización fitoquímica, actividad antibacteriana y antioxidante de extractos de plantas medicinales utilizadas en Pereira y Santa Rosa de Cabal (Risaralda). (Licenciatura). Pereira: Facultad de Tecnología. Universidad Tecnológica de Pereira; 2011
- Coronado H, M., Vega y León, S., Gutiérrez T, R., Vázquez F, M., & Radilla V, C. (2015). Antioxidantes: Perspectiva actual para la salud humana. *Revista Chilena De Nutrición*, 42(2), 206–212. <https://doi.org/10.4067/s0717-75182015000200014>
- Chávez León, A., & Gómez Alva, A. (2018). Evaluación fitoquímica preliminar del extracto metanólico y etanólico de las flores de *Cordia lutea* Lam y su capacidad antioxidante (Licenciatura). Universidad Nacional de Trujillo.
- Cruz-Valenzuela, M. R., Ayala-Soto, R. E., Ayala-Zavala, J. F., Espinoza-Silva, B. A., González-Aguilar, G. A., Martín-Belloso, O., Soliva-Fortuny, R., Nazzaro, F., Fratianni, F., Tapia-Rodríguez, M. R., & Bernal-Mercado, A. T. (2022). Pomegranate (*punica granatum* L.) peel extracts as antimicrobial and antioxidant additives used in alfalfa sprouts. *Foods*, 11(17), 2588. <https://doi.org/10.3390/foods11172588>
- Díaz Solano, H., & Rodríguez Quito, I. (2010). Capacidad antioxidante in vitro de las isoflavonas totales obtenidas de semillas de *Glycine max* L. (Soya)

provenientes

- El-Beltagi, H. S., Eshak, N. S., Mohamed, H. I., Bendary, E. S., & Danial, A. W. (2022). Physical characteristics, mineral content, and antioxidant and antibacterial activities of punica granatum or citrus sinensis peel extracts and their applications to improve cake quality. *Plants*, 11(13), 1740. <https://doi.org/10.3390/plants11131740>
- Elshafie, H. S., Caputo, L., De Martino, L., Sakr, S. H., De Feo, V., & Camele, I. (2021). Study of bio-pharmaceutical and antimicrobial properties of pomegranate (punica granatum L.) leathery exocarp extract. *Plants*, 10(1), 153. <https://doi.org/10.3390/plants10010153>
- Fakudze, N. T., Aniogo, E. C., George, B. P., & Abrahamse, H. (2022). The therapeutic efficacy of Punica granatum and its bioactive constituents with special reference to photodynamic therapy. *Plants*, 11(21), 2820. <https://doi.org/10.3390/plants11212820>
- Gallegos-Zurita, Maritza. (2016). Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. *Anales de la Facultad de Medicina*, 77(4), 327-332. Recuperado en 06 de noviembre de 2020, de [http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1025-55832016000400002&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832016000400002&lng=es&tlng=es)
- J., S. M. S., & Preedy, V. R. (2016). *Nutritional composition of fruit cultivars* (1st ed., Vol. 1). Elsevier/AP, Academic Press is an imprint of Elsevier.
- Kassim Ghaima, K., Makie Hashim, N., & Abdalrasool Ali, S. (2013). Antibacterial and antioxidant activities of ethyl acetate extract of nettle (*Urtica dioica*) and dandelion (*Taraxacum officinale*). *Journal Of Applied Pharmaceutical Science*, 03(05), 096-099. Retrieved 19 August 2020, from [https://www.japsonline.com/admin/php/uploads/904\\_pdf.pdf](https://www.japsonline.com/admin/php/uploads/904_pdf.pdf).
- Leesombun, A., Sariya, L., Taowan, J., Nakthong, C., Thongjuy, O., & Boonmasawai, S. (2022). Natural antioxidant, antibacterial, and antiproliferative activities of ethanolic extracts from punica granatum L. Tree

- Barks mediated by extracellular signal-regulated kinase. *Plants*, 11(17), 2258.  
<https://doi.org/10.3390/plants11172258>
- López Castellanos, Á. V. (2020). Metabolitos secundarios presentes en extractos herbales promisorios para el tratamiento del cáncer cervical: una revisión sistemática de estudios in vitro. (Tesis). Universidad Antonio Nariño, Bogotá.
- Maphetu, N., Unuofin, J. O., Masuku, N. P., Olisah, C., & Lebelo, S. L. (2022). Medicinal uses, pharmacological activities, phytochemistry, and the molecular mechanisms of *punica granatum* L. (pomegranate) plant extracts: A Review. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 153, 113256.  
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113256>
- Miranda M, Cuellar A. Manual de prácticas de laboratorio: Farmacognosia y productos naturales. (1º, ed) Ed. Universidad de la Habana Cuba. 2000. Pp.: 34- 50
- Parisi, V., Santoro, V., Donadio, G., Bellone, M. L., Diretto, G., Sandri, C., Mensitieri, F., De Tommasi, N., Dal Piaz, F., & Braca, A. (2022). Comparative chemical analysis of eight *Punica granatum* L. Peel cultivars and their antioxidant and anti-inflammatory activities. *Antioxidants*, 11(11), 2262.  
<https://doi.org/10.3390/antiox11112262>
- Pilco Laureano, A. del piero, & Piscoche Chichay, R. H. (2022). Actividad Antioxidante De Una Bebida Refrescante A Base De Granada (*Púnica granatum* Y Maracuy Á (*Passiflora edulis*) Edulcorada Con Estevia (*Stevia Rebaudiana* B.) (thesis). Universidad Nacional del Santa, Nuevo Chimbote.
- Ruan, J.-H., Li, J., Adili, G., Sun, G.-Y., Abuduaini, M., Abdulla, R., Maiwulanjiang, M., & Aisa, H. A. (2022). Phenolic compounds and bioactivities from pomegranate (*punica granatum* L.) peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70(12), 3678–3686. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c08341>
- Rodríguez Aguirre, O., Andrade Barreiro, W., Andrade Barreiro, W., Diaz Lopez, F., & Diaz Lopez, F. (2016). Actividad antioxidante de extractos de hojas de *Bocconia frutescens* L. (*Papaveraceae*). *Revista De Tecnología*, 14(2), 21-35.  
<https://doi.org/10.18270/rt.v14i2.1868>
- Rodríguez, D. (2020). Investigación básica: características, definición, ejemplos. Lifeder. Recuperado de

<https://www.lifeder.com/investigacion-basica/>.

Sabbah, A., Nasser, M., As-sadi, F., Hijazi, A., Ramma, H., & Nasser, G. (2017). Phenolic Compounds and Bioactivities from Pomegranate (*Punica granatum* L.) Peels. *International Journal of Pharma Research and Health Sciences*, 5(1), 1555–1555. <https://doi.org/10.21276/ijprhs.2017.01.06>

Sharma, O., & Bhat, T. (2009). DPPH antioxidant assay revisited. *Food Chemistry*, 113(4), 1202.

<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.08.008>

Sohail, Zafar Iqbal, Muhammad Afzal, Aftab Afzal, Inayat Ur Rahman, Salma shad, Afsana Bibi. (2014). In vitro antibacterial study of *Taraxacum officinale* L. “diente de león” leaves extracts against different bacterial pathogenic strains. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 3(2), 15-17. Obtenido de

[https://www.researchgate.net/profile/Sohail/publication/272814797\\_In\\_vitro\\_antibacterial\\_study\\_of\\_Taraxacum\\_officinale\\_leaves\\_extract\\_against\\_different\\_bacterial\\_pathogenic\\_strains/links/54ef58b30cf2432ba6566ecd/In-vitro-antibacterial-study-of-Taraxacum-](https://www.researchgate.net/profile/Sohail/publication/272814797_In_vitro_antibacterial_study_of_Taraxacum_officinale_leaves_extract_against_different_bacterial_pathogenic_strains/links/54ef58b30cf2432ba6566ecd/In-vitro-antibacterial-study-of-Taraxacum-)

Toledo Merma, Pamela Ruth, (2020). Aprovechamiento de los residuos de la Granada (*Punica granatum*) Variedad Wonderful para la obtención de compuestos fenólicos mediante la aplicación de Tecnologías Limpias (Tesis). Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann, Tacna.

Torrenegra-Alarcón, M., Granados-Conde, C., & León-Mendez, G. (2019). Antioxidant activity of ethanolic extract of *capsicum frutescens* L. *Bistua Revista de la Facultad de Ciencias Básicas*, 17(2), 102. <https://doi.org/10.24054/01204211.v2.n2.2019.3526>

Velázquez Paz, J. (2022). Polifenoles totales y capacidad antioxidante del zumo y extracto fluido de la cáscara de *Punica granatum* var. Wonderful (thesis). Universidad Nacional de Trujillo, Trujillo.

Villarreal La Torre, V. E. (2019). Actividad Antioxidante in vitro y compuestos Fenólicos de las hojas de *beautempsia avicenniifolia* (kunth) Gaudich (capparaceae). *Arnaldoa*, 26(1), 417.

<https://doi.org/10.22497/arnaldoa.261.26121>

Yisimayili, Z., & Chao, Z. (2022). A review on phytochemicals, metabolic profiles and pharmacokinetics studies of the different parts (juice, seeds, Peel, flowers, leaves and bark) of pomegranate (*púnica granatum L.*). *Food Chemistry*, 395, 133600. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133600>



## **11 Agradecimiento**

Al Creador de todas las cosas, desde lo más profundo de mi corazón,  
quien me cuida y me guía por los buenos caminos,  
el que me ha dado fortaleza día a día para continuar con mis estudios.

## 12 Anexos

### Anexo 1

Ficha de recolección de datos (instrumento)

#### Ficha N° 1: Preparación del extracto

<b>MATERIAL</b>	<b>CANTIDAD</b>	
Frutos de granada	1.5 Kilogramos	
cascara de fruto	0.5 Kilogramos	
Cáscara seca	0.365 Kilogramos	
Cáscara en polvo	0.278 Kilogramos	
Muestra para extraccion	50 gramos	
Etanol 70 % Humectación	44 mL	
Etanol 70 % Extracción	200 mL	
Volumen de extracto	196 mL	
Peso cápsula vacia 1	45.5698	
Peso cápsula vacia 2	51.2284	
Peso cápsula vacia 3	35.8545	
Volumen de extracto en la prueba	10 mL	
Peso caps + extracto seco1	45.9956	
Peso caps + extracto seco2	51.61852	
Peso caps + extracto seco3	36.27561	
Caps c/ext - cap. Vacía1	0.4258	<b>Promedio</b> <b>0.41234333</b> <b>Desvest</b> <b>0.01938831</b>
Caps c/ext - cap. Vacía2	0.39012	
Caps c/ext - cap. Vacía3	0.42111	
Concentración del extracto	4.1234333 g%	
Vol ajuste conc. Extracto	48.5 mL	
Aforo con Etanol 70%	100 mL	
Concentración final extracto	2 g%	

Anexo 2

Base de datos

**Ficha N° 1: Características organolépticas del extracto**

<b>Característica organoléptica</b>	<b>Resultado</b>
Color extracto	Amarillo - marrón claro
Olor extracto	Característico
Sabor extracto	Astringente
Aspecto extracto	Transparente

**Ficha N° 2: Resultados análisis fitoquímico**

<b>TAMIZAJE FITOQUIMICO</b>									
<b>PRUEBA</b>	<b>ACUOSO</b>			<b>ETANOLICO</b>			<b>ETEREO</b>		
Dragendorf	P	P	P	P	P	P	N	N	N
Mayer	P	P	P	P	P	P	N	N	N
Wagner	P	P	P	P	P	P	N	N	N
FeCl3	P	P	P	P	P	P	N	N	N
Shinoda	P	P	P	P	P	P	N	N	N
Fehling	P	P	P	P	P	P	N	N	N
Espuma	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Mucilagos	P	P	P	P	P	P	N	N	N
Principios amargos	P	P	P	P	P	P	N	N	N
Catequinas	P	P	P	P	P	P	N	N	N
Resinas	P	P	P	P	P	P	N	N	N
Baljet	N	N	N	N	N	N	N	N	N
Lieberman-Buchard	NR	NR	NR	NR	NR	NR	P	P	P
Ninhidrina	N	N	N	N	N	N	NR	NR	NR
Boritrager	N	N	N	N	N	N	NR	NR	NR
Kedde	P	P	P	N	N	N	P	P	P
Antocianidinas	P	P	P	P	P	P	N	N	N
Sudán	NR	NR	NR	NR	NR	NR	P	P	P

P: Positivo

N: Negativo

NR: No se realizó

Ficha N° 3:

**RESULTADOS PARA SUSTANCIA PATRON (ÁCIDO ASCÓRBICO)**

<b>Muestra (mg/mL)</b>	<b>Abs 1</b>	<b>Abs 2</b>	<b>Abs 3</b>
<b>DPPH puro</b>	0.8121	0.8041	0.7598
<b>0.6</b>	0.7012	0.75425	0.6554
<b>1.25</b>	0.707	0.6652	0.7044
<b>2.5</b>	0.5591	0.5345	0.599
<b>3.75</b>	0.2221	0.2513	0.2622
<b>5</b>	0.09845	0.08787	0.1321
<b>6.25</b>	0.0513	0.0501	0.0368

**RESULTADOS PARA EXTRACTO HIDROALCOHOLICO (granada)**

<b>Muestra (mg/mL)</b>	<b>Abs 1</b>	<b>Abs 2</b>	<b>Abs 3</b>
<b>DPPH puro</b>	0.8121	0.8041	0.7598
<b>0.6</b>	0.7471	0.7394	0.6809
<b>1.25</b>	0.6418	0.5933	0.6609
<b>2.5</b>	0.4591	0.4985	0.579
<b>3.75</b>	0.4621	0.4513	0.3922
<b>5</b>	0.3764	0.3833	0.3239
<b>6.25</b>	0.2611	0.3501	0.3314

**FORMULAS:**

**CALCULO DEL PORCENTAJE DE CAPTACION DEL RADICAL  
DPPH**

Para cada muestra (Sustancia patrón o extracto):

$$\text{Porcentaje captación DPPH} = 100 - \left( \frac{\text{ABS. DPPH muestra} \times 100}{\text{ABS. DPPH puro}} \right)$$

**CALCULO DEL IC50 PARA ACIDO ASCORBICO**

$$Y = 15.412X + 6.3008 \quad (\text{Del Gráfico1})$$

Reemplazando  $Y = 50$

Despejando:

$$X = \frac{50 - 6.3008}{15.412}$$

**CALCULO DEL IC50 PARA EL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO**

$$Y = 9.6744X + 5.2915 \quad (\text{Del Gráfico1})$$

Reemplazando  $Y = 50$

Despejando:

$$X = \frac{50 - 5.2915}{9.6744}$$

**CALCULO DE AAR (Actividad Antioxidante Relativa) PARA ACIDO ASCORBICO**

**Se asume:**

$$\text{AAR} = 100 \%$$

**CALCULO DE AAR (Actividad Antioxidante Relativa) PARA EL EXTRACTO HIDROALCOHOLICO**

**Aplicamos regla de 3 simple:**

$$\text{AAR extracto} = \frac{\text{IC}_{50} \text{ del extracto} \times 100}{\text{IC}_{50} \text{ Ac. Ascórbico}}$$

Anexo 3

Matriz de consistencia

PROBLEMA	HIPÓTESIS	OBJETIVOS	VARIABLES	METODOLOGÍA	DIMENSIONES
¿Qué metabolitos secundarios y qué nivel de actividad tendrá la cáscara de granada (Púnica granatun L.) mediante el test DPPH?	Como en la literatura actual sobre el tema, se ha reportado la presencia de distintos compuestos fenólicos en la cáscara de granada (Púnica granatun L.), en nuestro estudio debemos encontrar distintos metabolitos secundarios oxigenados los que serían los responsables de una buena actividad antioxidante de la cáscara de granada (Púnica granatun L.).	<b>GENERAL:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>Determinar los metabolitos secundarios y la actividad antioxidante de la cáscara de granada (Púnica granatun L.).</li> </ul> <b>ESPECÍFICOS:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>Obtener los extractos (acuoso, metanólico y etéreo) de la cáscara de granada (Púnica granatun L.).</li> <li>Determinar los principales metabolitos secundarios presentes en la cáscara de la granada (Púnica granatum L.).</li> <li>Determinar el porcentaje de inhibición de los extractos de la cáscara de granada (Púnica granatun L.).</li> <li>Determinar el IC50 de los extractos de la cáscara de granada (Púnica granatun L.).</li> <li>Determinar la actividad antioxidante relativa (AAR) de los extractos de la cáscara de granada (Púnica granatun L.).</li> </ul>	Identificación de Metabolitos secundarios	<b>Tipo de investigación:</b> Descriptiva Transversal Diseño de Investigación: Descriptivo simple M ----- O  <b>Población:</b> la población en estudio estaría conformada por todas las plantas del granado del jardín botánico de la UNT.  <b>Muestra:</b>  100 gramos de pétalos de las flores de Taraxacum officinale L del distrito de Otuzco	Grupos de metabolitos secundarios: <ul style="list-style-type: none"> <li>Flavonoides</li> <li>Taninos</li> <li>Polifenoles</li> <li>Alcaloides</li> <li>Coumarinas</li> <li>Etc</li> </ul>
			Determinar la Actividad antioxidante		<ul style="list-style-type: none"> <li>Diluciones del extracto a una concentración conocida</li> <li>Porcentaje de Inhibición</li> <li>Concentración Inhibitoria 50 (CI50)</li> <li>Actividad Antioxidante Relativa (AAR)</li> </ul>