

Universidad Católica de Santa María

Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica



EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y EFECTO HIPOLIPEMIANTE DE LA *Fragaria ananassa* (FRESA) y *Vaccinium corymbosum* (ARÁNDANO) Y SU ACTIVIDAD SINÉRGICA EN RATAS CON HIPERLIPIDEMIA INDUCIDA EXPERIMENTALMENTE.

Tesis presentada por los bachilleres:

Idme Dianderas, Alexander Pablo

Rodríguez Zevallos, Diana Claudia

Para optar el Título Profesional:

Químico Farmacéutico

Asesor:

Mg. Paredes Fuentes, Julitza

AREQUIPA – PERÚ

2018

UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA
Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas
y Biotecnológicas
Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica

Expediente N°. 20170000049586

N° Trámite en Fac. 1740-2018

Fecha 10-01-2018

FORMATO DE TITULACION PROFESIONAL

DE: IDME DIANDERAS, Alexander Pablo
RODRIGUEZ ZEVALLOS, Diana Claudia

TITULO DEL PROYECTO DE TESIS:

“EVALUACION DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y EFECTO DE LA *Fragaria ananassa* (fresa) Y *Vaccinium corymbosum* (arandano) Y SU ACTIVIDAD SINERGICA EN RATAS CON HIPERLIPIDEMIA INDUCIDA EXPERIMENTALMENTE”

DICTAMINADORES: 1) Dr. Jaime Cárdenas García 2) Blgo. Carlos Ivan Eitel Paz Aliaga

DICTAMEN DE PLAN: Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación, como Dictaminadores del Plan de Tesis presentado por las recurrentes, se ha procedido a la revisión del mismo, sugiriendo se cambie el título a: **“EVALUACION DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y EFECTO HIPOLIPEMIANTE DE LA *Fragaria ananassa* (Fresa) Y *Vaccinium corymbosum* (Arándano) Y SU ACTIVIDAD SINERGICA EN RATAS CON HIPERLIPIDEMIA INDUCIDA EXPERIMENTALMENTE”**, y después de realizadas las correcciones y sugerencias correspondientes, consideramos se encuentra APTO para continuar con los trámites estipulados en el Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad

Atentamente

Firmas :

(Devolver antes de 8 días hábiles)

Fecha

10/01/2018

ASESOR: Mgter. Julitza Paredes Fuentes

DICTAMEN DE ASESOR: Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación como Asesora en el presente Trabajo de Investigación, cumpla con informar que este se ha desarrollado de acuerdo a los objetivos trazados y se encuentra APTO para continuar con los trámites estipulados en el Reglamento de Grados y Títulos de nuestra Facultad.

Atentamente

Firma

Fecha 06/06/18

DICTAMINADORES BORRADOR DE TESIS:

- 1) **Dr. Jaime Cárdenas García**
- 2) **Blgo. Carlos Eitel Iván Paz Aliaga**
- 3) **Mgter. Maria Elena Guillén Núñez**

DICTAMEN DE BORRADOR: Señor Decano de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Bioquímicas y Biotecnológicas, en atención a su designación, hemos procedido a revisar el Borrador de Tesis presentado por los recurrente, y luego de haber verificado el cumplimiento de los objetivos, la redacción del informe, de los resultados, discusión y conclusiones correspondientes, consideramos se encuentra APTO para continuar con los trámites estipulados en el Reglamento de Grados y Títulos de la Facultad.

Atentamente

Firma

(Devolver antes de 15 días hábiles) Fecha 29/06/18

JURADOS: Presidente **Dr. JAIME CÁRDENAS GARCÍA**
Vocal **BLGO. CARLOS PAZ ALIAGA**
Secretario **Mgter. MARIA ELENA GUILLÉN NÚÑEZ.**

SUSTENTACIÓN DE TRABAJO:

Fecha: 07/08/18 Hora: 19.00 Local: C- 402 (SUM)

DECANO

06/07/18

DEDICATORIA

A Dios por siempre estar conmigo, y guiar mi camino, ya que Dios y yo siempre somos mayoría.

A mi madre Edith por ser la mejor madre y amiga, además de ser un ejemplo de lucha constante y siempre haber estado conmigo con su apoyo inconmensurable.

A mi padre y abuelita que desde el cielo siempre me han protegido e inspirado mi camino.

Alexander.

Le agradezco a Dios por estar conmigo en cada paso que doy.

A la persona más importante de mi vida, mi madre Rina, que siempre me apoyó, y darme la confianza y consejos.

A mis hermanas Brenda, Shaffel por estar en mi vida y a mis abuelitos que están en el cielo, por cuidarnos siempre.

A mi compañero Alex gracias por estar siempre en esos momentos difíciles, y por su paciencia y comprensión.

Diana.

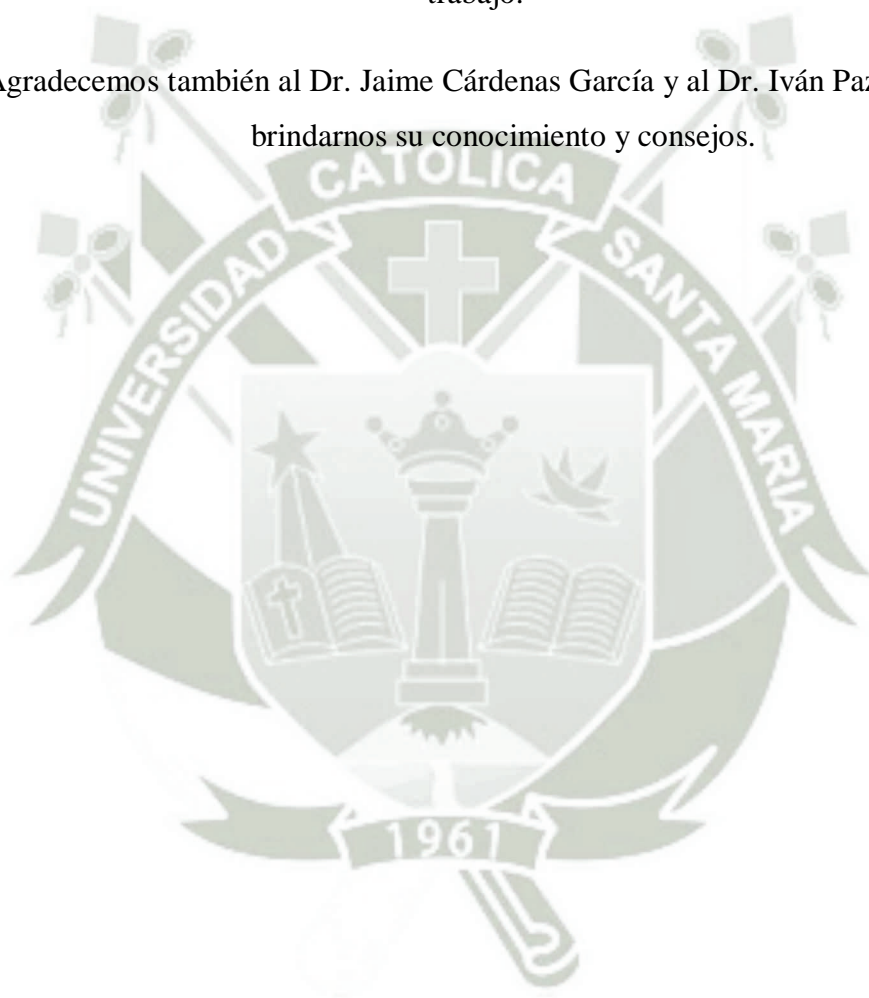
AGRADECIMIENTOS

A nuestra Universidad Católica de Santa María, por habernos permitido desarrollarnos en sus aulas y laboratorios.

De manera especial a nuestra asesora la Dra. Julitza Paredes Fuentes por su apoyo, guía y maravillosa predisposición a lo largo de todo este trabajo.

Al señor Justo y José encargados del bioterio, por su apoyo y consejos durante el presente trabajo.

Agradecemos también al Dr. Jaime Cárdenas García y al Dr. Iván Paz Aliaga por brindarnos su conocimiento y consejos.



ÍNDICE GENERAL

DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTOS.....	ii
RESUMEN.....	x
ABSTRACT.....	xii
INTRODUCCIÓN.....	xiv
HIPÓTESIS.....	xvi
OBJETIVOS.....	xvii
CAPÍTULO I.....	1
MARCO TEÓRICO.....	1
1. <i>FRAGARIA ANANASSA</i> (FRESA).....	1
1.1. ORÍGEN Y CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA.....	1
1.2. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA Y MORFOLÓGICA.....	2
1.3. COMPOSICIÓN NUTRICIONAL.....	3
1.4. CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS.....	5
2. <i>VACCINIUM CORYMBOSUM</i> (ARÁNDANO).....	5
2.1. ORÍGEN Y CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA.....	5
2.2. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA Y MORFOLÓGICA.....	6
2.3. COMPOSICIÓN NUTRICIONAL.....	7
2.4. CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS.....	8
3. RADICALES LIBRES.....	8
3.1. EFECTO NOCIVO DE LOS RADICALES LIBRES.....	9
3.2. ESTRÉS OXIDATIVO.....	10
4. ANTIOXIDANTES.....	11
4.1. CLASIFICACIÓN DE LOS ANTIOXIDANTES.....	11
4.1.1. ANTIOXIDANTES ENDÓGENOS.....	12
4.1.2. ANTIOXIDANTES EXÓGENOS.....	13
4.2. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.....	13
4.2.1. DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE (CUPRAC)	

5.	COMPUESTOS FENÓLICOS.....	15
5.1.	PROPIEDADES ORGANOLÉPTICAS ATRIBUIDAS A LOS COMPUESTOS FENÓLICOS	16
5.2.	CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS GENERALES	16
5.3.	CLASIFICACIÓN GENERAL	17
5.3.1.	No flavonoides	17
5.3.2.	Flavonoides (C6-C3-C6)	17
5.4.	PROPIEDADES BENEFICIOSAS: PAPEL EN LA PREVENCIÓN DE ENFERMEDADES	18
5.5.	DETERMINACIÓN DE FENOLES TOTALES (FOLIN- CIOCALTEU)....	19
6.	ANTOCIANINAS	20
6.1.	ESTRUCTURA DE LAS ANTOCIANINAS Y COLOR	20
6.2.	FACTORES QUE DETERMINAN LA ESTABILIDAD	21
6.3.	CUANTIFICACIÓN DE ANTOCIANINAS (pH DIFERENCIAL)	23
7.	HIPERLIPIDEMIAS	23
7.1.	CLASIFICACIÓN DE LAS DISLIPIDEMIAS	24
7.1.1.	Según el perfil lipídico	24
7.1.2.	Según la etiología	25
7.2.	PERFIL LIPÍDICO	25
7.3.	COLESTEROL TOTAL	26
7.4.	TRIGLICÉRIDOS	26
7.5.	TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN.....	27
7.5.1.	Estatinas	28
7.5.2.	Resinas de intercambio	29
7.5.3.	Fitosteroles	29
7.5.4.	Fibratos	30
8.	SINERGISMO	31
8.1.	TIPOS DE SINERGISMO:.....	31
8.1.1.	Sinergismo de sumación	31
8.1.2.	Sinergismo de potenciación	31
8.1.3.	Sinergismo de facilitación	32
8.2.	VENTAJAS DEL SINERGISMO	32
8.3.	SINERGISMO ENTRE ANTIOXIDANTES	32

CAPÍTULO II	34
MATERIALES Y MÉTODOS	34
1. MATERIALES	34
1.1. MATERIAL BIOLÓGICO	34
1.2. MATERIAL VEGETAL.....	34
1.3. EQUIPOS DE LABORATORIO.....	34
1.4. MATERIAL DE LABORATORIO	34
1.5. MATERIAL ANEXO	35
1.6. FÁRMACOS Y/O TRATAMIENTO.....	35
1.7. REACTIVOS.....	36
1.7.1. MÉTODO DE pH DIFERENCIAL (CUANTIFICACIÓN DE ANTOCIANINAS	36
1.7.2. MÉTODO FOLIN-CIOCALTEU (FENOLES TOTALES).....	36
1.7.3. MÉTODO CUPRAC (CAPACIDAD ANTIOXIDANTE)	36
1.7.4. DETERMINACIÓN DE PERFIL LIPÍDICO.....	36
1.8. ÁMBITO DE ESTUDIO.....	37
2. MÉTODOS.....	37
2.1. ELABORACIÓN DE LOS EXTRACTOS	37
2.2. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN FINAL DEL EXTRACTO 40	
2.3. MÉTODO PARA DETERMINACIÓN DE ANTOCIANINAS.....	40
2.3.1. Preparación de los buffers.....	40
2.3.2. Análisis de la muestra.....	40
2.4. DETERMINACIÓN DE FENOLES TOTALES, FOLIN-CIOCALTEU	42
2.4.1. Preparación de reactivos	43
2.4.2. Preparación de la gráfica de calibración	43
2.4.3. Análisis de las muestras.....	44
2.5. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE (CUPRAC) .45	
2.5.1. Preparación de la gráfica de calibración	46
2.5.2. Análisis de las muestras.....	47
2.6. ANÁLISIS DEL EFECTO HIPOLIPEMIANTE	48
2.7. INDUCCIÓN A LA HIPERLIPIDEMIA	49
2.8. GRUPOS DE RATAS.....	49

2.9.	ADMINISTRACIÓN DEL TRATAMIENTO Y DIETA	53
2.10.	DETERMINACIÓN DE PERFIL LIPÍDICO.....	54
2.10.1.	Determinación de Colesterol Total.....	54
2.10.2.	Determinación de Triglicéridos.....	55
2.11.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	56
CAPÍTULO III		57
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....		57
1.	OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS	57
2.	CUANTIFICACIÓN DE ANTOCIANINAS:.....	58
3.	DETERMINACIÓN DE FENOLES TOTALES.	62
3.1.	ANÁLISIS DE MUESTRA	63
3.2.	LÍMITES DE DETECCIÓN	63
3.3.	RESULTADO DE LA MUESTRA	65
4.	DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE CUPRAC.	66
4.1.	ANÁLISIS DE MUESTRA	67
4.2.	LÍMITES DE DETECCIÓN	67
4.3.	RESULTADO DE LA MUESTRA	69
5.	EVALUACIÓN DEL EFECTO HIPOLIPEMIANTE	70
5.1.	EVALUACIÓN DE LA INDUCCIÓN A LA HIPERLIPIDEMIA Y TRATAMIENTO DE LOS DIVERSOS GRUPOS (COLESTEROL TOTAL)	70
5.2.	EVALUACIÓN INTERGRUPOS (COLESTEROL TOTAL)	77
5.3.	EVALUACIÓN DE LA INDUCCIÓN A LA HIPERLIPIDEMIA Y TRATAMIENTO DE LOS DIVERSOS GRUPOS (TRIGLICÉRIDOS)	80
5.4.	EVALUACIÓN INTERGRUPOS (TRIGLICÉRIDOS)	87
CAPÍTULO IV		91
CONCLUSIONES.....		91
RECOMENDACIONES.....		93
REFERENCIAS		94
ANEXOS		98

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N° 1: Composición de la <i>Fragaria ananassa</i> (fresa), en 100g de fruto.	4
TABLA N° 2: Composición de <i>Vaccinium corymbosum</i> (arándano).	8
TABLA N° 3: Clasificación de los antioxidantes.	11
TABLA N° 4: Sustitución del anillo B de las antocinidinas.	21
TABLA N° 5: Preparación de estándares.	44
TABLA N° 6: Preparación de la gráfica de calibración de ácido gálico.	44
TABLA N° 7: Preparación de estándares.	46
TABLA N° 8: Preparación para gráfica de calibración de ácido ascórbico.	47
TABLA N° 9: Inducción a la hiperlipidemia y Tratamiento hipolipemiente.	50
TABLA N° 10: Tratamiento con los extractos	53
TABLA N° 11: Procedimiento para la determinación de colesterol total.	54
TABLA N° 12: Procedimiento para la determinación de triglicéridos.	55
TABLA N° 13: Gasto de etanol para la extracción total.	57
TABLA N° 14: Concentración final de extracto	57
TABLA N° 15: Absorbancia de las diluciones.	58
TABLA N° 16: Absorbancia corregida.	59
TABLA N° 17: Determinación de la concentración de antocianinas durante 3 días consecutivos.	59
TABLA N° 18: Estimación de la diferencia.	60
TABLA N° 19: Resultados de absorbancia de las gráficas de calibración.	62
TABLA N° 20: Promedio de las absorbancias durante tres días seguidos.	63
TABLA N° 21: Cuantificación de fenoles totales por el método Folin - Ciocalteu.	65
TABLA N° 22: Resultados de absorbancia de las gráficas de calibración de ácido ascórbico.	66
TABLA N° 23: Promedio de las absorbancias durante tres días seguidos.	67
TABLA N° 24: Capacidad antioxidante por el método CUPRAC.	69
TABLA N° 25: Grupo 1: Blanco negativo.	70
TABLA N° 26: Grupo 2: <i>Fragaria ananassa</i> 1.5 mg/g/día	71
TABLA N° 27: Grupo 3: <i>Fragaria ananassa</i> 3 mg/g/día.	72
TABLA N° 28: Grupo 4: <i>Vaccinium corymbosum</i> 1.5 mg/g/día.	73
TABLA N° 29: Grupo 5: <i>Vaccinium corymbosum</i> 3 mg/g/día.	75
TABLA N° 30: Grupo 6: <i>Fragaria ananassa</i> – <i>Vaccinium corymbosum</i> 3/3 mg/g/día (Sinergismo).	76
TABLA N° 31: Grupo 7: Blanco positivo (Atorvastatina 0.06 mg/kg/día)	77
TABLA N° 32: Evaluación final del tratamiento.	78
TABLA N° 33: Grupo 1: Blanco negativo.	80
TABLA N° 34: Grupo 2: <i>Fragaria ananassa</i> 1.5 mg/g/día.	81
TABLA N° 35: Grupo 3: <i>Fragaria ananassa</i> 3 mg/g/día.	82
TABLA N° 36: Grupo 4: <i>Vaccinium corymbosum</i> 1.5 mg/g/día.	83
TABLA N° 37: Grupo 5: <i>Vaccinium corymbosum</i> 3 mg/g/día.	84

TABLA N° 38: Grupo 6: <i>Fragaria ananassa</i> – <i>Vaccinium corymbosum</i> 3/3 mg/g/día (Sinergismo).....	86
TABLA N° 39: Grupo 7: Blanco positivo 0.06 mg/kg/día.....	87
TABLA N° 40: Evaluación final del tratamiento.....	88



ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA N° 1: <i>Fragaria ananassa</i>	2
FIGURA N° 2: <i>Vaccinium corymbosum</i>	6
FIGURA N° 3: Reacción del método de CUPRAC.....	15
FIGURA N° 4: Estructuras químicas de los subgrupos de flavonoides más usuales.....	18
FIGURA N° 5: Reacción del reactivo Folin Ciocalteu con un agente.....	19
FIGURA N° 6: Estructura y variaciones en la sustitución del anillo B de las antocinidinas.....	20
FIGURA N° 7: Estructura de antocianinas a diferentes pH.....	22
FIGURA N° 8: Biosíntesis del colesterol y mecanismo de acción de las estatinas.....	29
FIGURA N° 9: Flujograma del procedimiento de elaboración de los extractos.....	37
FIGURA N° 10: Materia prima: <i>Fragaria ananassa</i> y <i>Vaccinium corymbosum</i>	38
FIGURA N° 11: Trituración en el mortero para la preparación de los frutos.....	38
FIGURA N° 12: Cada extracto se lleva al rotavapor para eliminar el etanol.....	39
FIGURA N° 13: Extracto de <i>Vaccinium corymbosum</i> y <i>Fragaria ananassa</i>	39
FIGURA N° 14: Diluciones de <i>Vaccinium corymbosum</i> y <i>Fragaria ananassa</i> por el método de pH diferencial.....	42
FIGURA N° 15: Fiolas con diferentes concentraciones de ácido gálico.....	45
FIGURA N° 16: Tubos de ensayo con diferentes concentraciones de ácido ascórbico....	48
FIGURA N° 17: Obtención de la muestra sanguínea.....	48
FIGURA N° 18: Alimentación con la dieta hiperlipídica.....	52
FIGURA N° 19: Dieta hiperlipídica de los animales de experimentación.....	52
FIGURA N° 20: Dosis de administración.....	53
FIGURA N° 21: Comparación de las concentraciones de antocianinas durante tres días seguidos de los extractos de <i>Fragaria ananassa</i> y <i>Vaccinium corymbosum</i>	60
FIGURA N° 22: Gráfica de calibración.....	62
FIGURA N° 23: Concentración vs la desviación estándar.....	64
FIGURA N° 24: Gráfica de calibración.....	66
FIGURA N° 25: Concentración vs la desviación estándar.....	68
FIGURA N° 26: Niveles de COLESTEROL TOTAL al final de tratamiento de los distintos grupos de estudio.....	79
FIGURA N° 27: Promedios de TRIGLICÉRIDOS de los distintos grupos durante el estudio.....	89

RESUMEN

El presente proyecto de tesis tuvo como objetivo evaluar la capacidad antioxidante y determinar el efecto hipolipemiante de la *Fragaria ananassa* (fresa) y *Vaccinium corymbosum* (arándano) y su actividad sinérgica en ratas con hiperlipidemia inducida experimentalmente.

Para el desarrollo del proyecto se utilizó la extracción asistida por ultrasonidos de los compuestos activos de *Fragaria ananassa* (fresa) y *Vaccinium corymbosum* (arándano), usando como solvente al etanol de 96°, finalmente fue concentrado por rotavapor.

Seguidamente se realizaron los ensayos químicos para determinar la cantidad de antocianinas, para ello utilizó la prueba de pH diferencial donde se halló 29.40 ± 1.56 mg/100g de cianidina-3-glucosido de extracto de *Fragaria ananassa* (fresa) y 390.94 ± 3.27 mg/100g de cianidina-3-glucosido de extracto de *Vaccinium corymbosum* (arándano).

Para la determinación de fenoles totales, se realizó la prueba de Folin Ciocalteu donde se halló 368.21mg GAE/50g de fruto de *Fragaria ananassa* (fresa) y 1122.38mg GAE/50g de fruto de *Vaccinium corymbosum* (arándano).

Finalmente, para la determinación de la actividad antioxidante, se realizó por el método CUPRAC donde se halló 0.0747mmol de ácido ascórbico/50g de fruto de *Fragaria ananassa* (fresa) y 0.3276mmol de ácido ascórbico/50g de fruto de *Vaccinium corymbosum* (arándano).

Seguidamente se realizó el ensayo en las ratas inducidas con hiperlipidemia, donde para llevarlas al estado hiperlipemiente se les administró una dieta compuesta de tortillas de sesos de cordero, yemas de huevo y harina por un período de 30 días, y luego siendo tratadas con los extractos de *Fragaria ananassa* y *Vaccinium corymbosum*, ambos en dosis de 1.5 y 3 mg/g/día, además de un tratamiento sinérgico de ambos extractos en dosis de 3/3mg/g/día donde se realizó el análisis estadístico de ANOVA en un nivel de confianza del 95% y se encontró mejores resultados en el extracto sinérgico obteniendo una disminución de 59.33% de Colesterol Total y 58.90% de Triglicéridos que fueron significativamente mayores que el mejor resultado que fue el del extracto de *Vaccinium corymbosum* 3mg/g/día que obtuvo disminuciones del 55.70% en caso del Colesterol Total y de 44.57% de Triglicéridos lo que demostró que si existe una actividad sinérgica hipolipemiente de los extractos.

Palabras claves: *pH diferencial, Folin Ciocalteu, CUPRAC, antioxidantes, fenoles totales, antocianinas, sinergismo, Fragaria ananassa, Vaccinium corymbosum.*

ABSTRACT

The present thesis project had like objective evaluate the antioxidant capacity and determinate the lipid-lowering effect of the *Fragaria ananassa* (strawberry) and *Vaccinium corymbosum* (blueberry) and their synergistic activity in rats with hyperlipidemia induced experimentally.

For the development of this project was used the assisted extraction by ultrasounds of the active compounds of *Fragaria ananassa* (strawberry) and *Vaccinium corymbosum* (blueberry), using as solvent the 96° ethanol, finally it was concentrated by the rotary evaporator.

Then the chemist essays were realized to determinate the quantity of the anthocyanins, for that was used the differential pH test where was found 29.40 ± 1.56 mg/100g of cyanidin-3-glucoside of the extract of *Fragaria ananassa* (strawberry) and 390.94 ± 3.27 mg/100g of cyanidin-3-glucoside of the extract of *Vaccinium corymbosum* (blueberry).

For the determination of total phenols, was realized the test of Folin Ciocalteu where was found 368.21mg GAE/50g of fruit of *Fragaria ananassa* (strawberry) and 1122.38mg GAE/50g of fruit of *Vaccinium corymbosum* (blueberry).

Finally, for the determination of the antioxidant capacity, was made the CUPRAC method where was found 0.0747mmol of ascorbic acid/50g of fruit of *Fragaria ananassa* (strawberry) and 0.3276mmol of ascorbic acid/50g of fruit of *Vaccinium corymbosum* (blueberry).

Then was made the essay in the rats with hyperlipidemia induced, where to take them to the hyperlipidemic state, they took a diet composed of tortillas of brains of lamb, yolk and flour by a period of 30 days and then they were treated with the *Fragaria ananassa* and *Vaccinium corymbosum* extracts, both in the dose of 1.5 y 3mg/g/day, besides of a synergistic treatment of both extracts in the dose of 3/3mg/g/day where was realized the statistical analysis of ANOVA at a confidence level of 95% and were found better results in the synergistic extract, getting a decrease of 59.33% of Total Cholesterol and 58.90% of Triglycerides who were significantly better than the best result that was of the extract of *Vaccinium corymbosum* 3mg/g/day that had decreases of the 55.70% in case of the Total Cholesterol and 44.57% in Triglycerides what showed that there is an synergistic activity lipid-lowering of the extracts.

Key words: *Differential pH, Folin Ciocalteu, CUPRAC, antioxidants, total phenols, anthocyanins, synergism, Fragaria ananassa, Vaccinium corymbosum.*



INTRODUCCIÓN

En la actualidad la población mundial está siendo testigo del desarrollo de una amplia variedad de enfermedades crónicas como la hiperlipidemia provocadas principalmente por la ingesta inadecuada de alimentos con poder antioxidante, sumado al incremento del estrés oxidativo (radicales libres), producido por factores ambientales, sociales y la vida cotidiana.

Los RL (radicales libres) son útiles contra bacterias y virus, pero actúan sobre el organismo aún después de haber concluido sus funciones en el metabolismo normal y en la lucha contra las infecciones, lo cual genera consecuencias como envejecimiento prematuro, hiperlipidemias, enfermedades degenerativas y autoinmunes, etc. (1)

Se ha visto necesario realizar este estudio debido a que las enfermedades crónicas degenerativas causadas por radicales libres son muy preponderantes en la actualidad y una forma de prevenirlas es con la ingesta de alimentos ricos en antioxidantes, enfocándonos en el presente trabajo en las antocianinas.

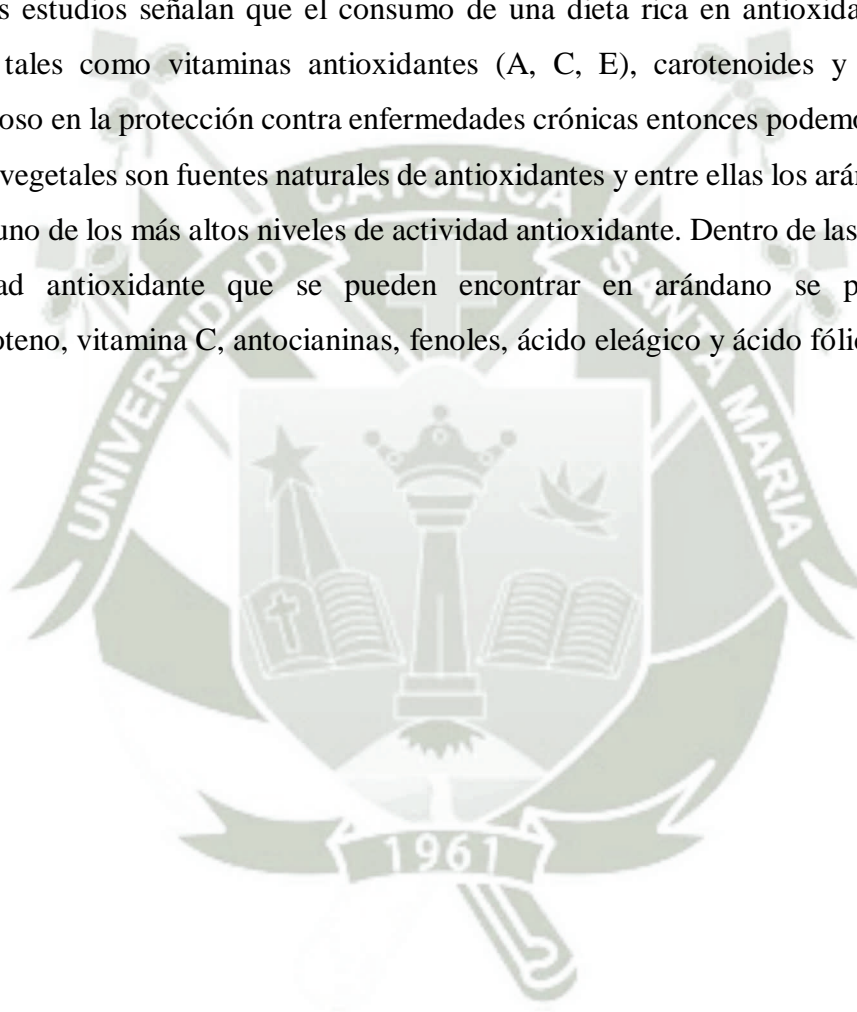
Las antocianinas representan los principales pigmentos solubles en agua visibles al ojo humano. Pertenecen al grupo de los flavonoides y su estructura básica es un núcleo de flavón, el cual consta de dos anillos aromáticos unidos por una unidad de tres carbonos. Las antocianinas están presentes en diferentes órganos de las plantas, tales como frutas, flores, tallos, hojas y raíces. (2)

El interés por los pigmentos antociánicos en investigación científica se han incrementado en los últimos años, debido no solamente al color que confieren a los productos que las contienen sino a su probable papel en la reducción de las enfermedades coronarias, cáncer, diabetes; a sus efectos antiinflamatorios y mejoramiento de la agudeza visual y comportamiento cognitivo. Por lo tanto, además de su papel funcional como colorantes, las antocianinas son agentes potenciales en la obtención de productos con valor agregado para el consumo humano. (3)(4)

La *Fragaria Ananassa* (fresa) y *Vaccinium Corymbosum* (arándano) al ser frutos con capacidad antioxidante pueden ser útiles para reducir la cantidad de radicales libres y regular los niveles lipídicos.

La intención es dar a conocer a la población sobre la capacidad sinérgica hipolipemiante de la *Fragaria Ananassa* (fresa) y *Vaccinium Corymbosum* (arándano) y así fomentar su consumo y como consecuencia mejorar la calidad de vida, además de tener sabores agradables, con muchos beneficios y accesibles para la población en general.

Los antioxidantes son sustancias que ayudan a neutralizar la acción de los radicales libres que son moléculas inestables asociadas a numerosas enfermedades tales como cáncer, enfermedades cardiovasculares, disfunciones del sistema inmune, cataratas y muchas otras. Diversos estudios señalan que el consumo de una dieta rica en antioxidantes de origen vegetal tales como vitaminas antioxidantes (A, C, E), carotenoides y polifenoles es beneficioso en la protección contra enfermedades crónicas entonces podemos decir que las frutas y vegetales son fuentes naturales de antioxidantes y entre ellas los arándanos y fresas poseen uno de los más altos niveles de actividad antioxidante. Dentro de las sustancias con capacidad antioxidante que se pueden encontrar en arándano se pueden señalar betacaroteno, vitamina C, antocianinas, fenoles, ácido eleágico y ácido fólico.(5)



HIPÓTESIS

Dado que se conoce la presencia de antocianinas de la *Fragaria ananassa* (fresa) y *Vaccinium corymbosum* (arándanos), es probable que estos frutos posean un efecto antioxidante e hipolipemiante, así como actividad hipolipemiante sinérgica trabajando en ratas de laboratorio con hiperlipidemia inducida experimentalmente.



OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

Evaluar la capacidad antioxidante y efecto hipolipemiante de la *Fragaria ananasa* (fresa) y el *Vaccinium corymbosum* (arándano) y su actividad sinérgica en ratas con hiperlipidemia inducida experimentalmente.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

1. Obtener el extracto de *Fragaria ananassa* (fresa) y *Vaccinium corymbosum* (arándano).
2. Determinar la cantidad de antocianinas totales de los frutos de *Fragaria ananassa* (fresa) y *Vaccinium corymbosum* (arándano).
3. Determinar la cantidad de fenoles de los frutos de *Fragaria ananassa* (fresa) y *Vaccinium corymbosum* (arándano).
4. Evaluar la capacidad antioxidante de los frutos de *Fragaria ananassa* (fresa) y *Vaccinium corymbosum* (arándano).
5. Provocar hiperlipidemia en ratas con sesos de ovino, yema de huevo y harina.
6. Evaluar el efecto hipolipemiante de la *Fragaria ananassa* (fresa) en ratas con hiperlipidemia inducida experimentalmente.
7. Evaluar el efecto hipolipemiante del *Vaccinium corymbosum* (arándano) en ratas con hiperlipidemia inducida experimentalmente.
8. Evaluar la capacidad sinérgica de los frutos *Fragaria ananassa* (fresa) y *Vaccinium corymbosum* (arándano).

CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO

1. *FRAGARIA ANANASSA* (FRESA)

1.1. ORIGEN Y CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

En Sudamérica es conocida como fresa o frutilla y en Europa es denominada fresa a la fresa silvestre *Fragaria vesca*, mientras que a las cultivadas o híbridas de *Fragaria ananassa*, son llamadas fresón por tener frutos de gran tamaño. El fruto recibe el nombre genérico de fresa en el Perú y en el mundo, además es sabido que la producción de fresa en el Perú se concentra en diversas localidades del norte chico de Lima, Arequipa y Cusco.(6)

El género *Fragaria* se encuentra en estado silvestre en América, Asia y Europa. En este último continente existen referencias sobre su consumo desde los tiempos de la antigua Roma. El cultivo de las especies de fruto pequeño (*F. vesca*, *F. alpina* y *F. viridis*) se extendió en Europa hasta el final del siglo XIX, momento en el que comenzaron a surgir híbridos entre las especies europeas y las americanas de frutos grandes (*F. chiloensis* y *F. virginiana*) dando origen a los híbridos con frutos de mayor tamaño que son conocidos como fresones. (7)(8)

La fresa (*Fragaria ananassa Duch.*), son derivados de dos especies octoploides ($2n=56$), es un híbrido natural de *Fragaria chiloensis L.* (Oeste, norte y sur de América, Hawaii) y *Fragaria virginiana Duch.*, (Norteamérica). (8)(6)

Nombre común: Fresa o Frutilla.

Nombre comercial: Fresa.

Nombre científico: *Fragaria Ananassa*.

Reino: Plantae.

Familia: Rosaceae.

Subfamilia: Rosoideae.

Orden: Rosales.

Especie: Dioica.

Género: *Fragaria*.

Tipo: Fruta.(6)



FIGURA N° 1: *Fragaria ananassa*.

Extraído de: <http://www.sinavimo.gov.ar/cultivo/fragaria-ananassa>.(8)

1.2. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA Y MORFOLÓGICA

Planta de tipo herbáceo y perenne, formada por tallos cortos o coronas en forma de rosetas de aproximadamente 2,5cm de diámetro. Las coronas están formadas por entrenudos cortos y muy próximos, de 2mm aproximadamente de longitud, donde se localizan los primordios foliares, radicales y yemas a partir de los cuales se originan los estolones o tallos rastreros de donde se producen las plantas hijas.(8)

Los estolones son tallos largos y delgados, los cuales se diferencian de las yemas por la longitud que presentan los dos primeros entrenudos. Las plantas hijas se originan del segundo entrenudo y están en capacidad de producir sus propios estolones. Una planta vigorosa puede producir entre 10 a 15 estolones durante el ciclo de crecimiento y desarrollo del cultivo. Asimismo, a lo largo de los estolones se pueden producir alrededor de 100 plantas hijas. Las plantas hijas son de gran importancia, ya que constituyen el principal método de propagación de la fresa.(8)

Las hojas aparecen en forma de roseta y se insertan en la corona. Son largamente pecioladas y provistas de dos estípulas rojizas. Presentan el limbo dividido en tres foliolos pedunculados, de bordes aserrados.(8)

Las inflorescencias pueden desarrollarse a partir de una yema terminal de la corona, o bien a partir de yemas axilares de las hojas. La ramificación de la inflorescencia puede ser basal o distal. En el primer caso aparecen varias flores de porte similar, mientras que en el segundo hay una flor terminal o primaria y otras secundarias de menor tamaño. La flor tiene entre 5 y 6 pétalos, de 20 a 35 estambres y varios cientos de pistilos sobre un receptáculo carnoso. Cada óvulo fecundado da lugar a un fruto de tipo aquenio.(8)

El desarrollo de los aquenios, distribuidos por la superficie del receptáculo carnoso, estimula el crecimiento y la coloración de éste. El sistema radical es fibroso y adventicio, el 90% de las raíces se concentran en los primeros 25cm del suelo. Está compuesto por raíces, las cuales presentan cambium vascular y suberoso y son perennes, y raicillas, que carecen de éste, son de color más claro y tienen un periodo de vida corto (días o semanas).(8)

1.3. COMPOSICIÓN NUTRICIONAL

La fresa, *Fragaria ananassa* es una de las frutas de mayor aceptación mundial y es también una de las que tiene mayores usos.(6)

La fresa es muy valorada por su delicado sabor, aroma y por su valor nutricional. El fruto maduro se compone aproximadamente en un 90% de agua y en un 10% de sólidos solubles que incluye numerosos componentes importantes de la dieta, como la vitamina C (ácido ascórbico). Una cantidad estándar de fresas (10 frutas o 100 gramos) suministra el 95% de los requerimientos dietéticos diarios recomendados de ácido fólico y Vitamina C, con un porcentaje de Vitamina C incluso superior al de la naranja, además de aportar 1.6 gramos de fibra. (9)(10)

El color de la fresa es debido a sus pigmentos vegetales (flavonoides) que son las antocianinas. Las antocianinas actúan como potentes antioxidantes que neutralizan a los radicales libres. Por ese motivo, si tenemos en cuenta que el

proceso oxidativo contribuye al depósito de colesterol en las arterias, y es responsable del envejecimiento y de ciertas mutaciones cancerígenas, se puede decir que el consumo abundante de frutas ayuda a la protección de la salud reduciendo estos efectos dañinos. De hecho, las fresas constituyen una de las frutas con mayor capacidad antioxidante, la cual no sólo es debido a su contenido en antocianinas, sino a la presencia en su composición de cantidades de otros polifenoles y de Vitamina C.(10)

Debido a su fibra, pigmentos y ácidos, la fresa puede favorecer las funciones intestinales y prevenir el estreñimiento. También su bajo aporte en sodio y su alto contenido en potasio hace que estén indicadas en personas con hipertensión arterial. (10)

TABLA N° 1: Composición de la *Fragaria ananassa* (fresa), en 100g de fruto.

Componente		Componente	
Agua (g)	90.95	Almidón (g)	0.04
Ácidos orgánicos (g)	1.0	Fructuosa (g)	2.5-3.5
Ceniza (g)	0.40	Glucosa (g)	2.04-3.03
Energía (kcal)	32-34	Sacarosa (g)	0.12-0.35
Fibra (g)	2.0	Xilitol (g)	0.03
Hidratos de carbono (g)	4.66-7.68	Sorbitol (g)	0.03
Lípidos (g)	0.3-0.5	Vitamina A (IU)	12.0
Proteína (g)	0.7	Tiamina B ₁ (mg)	0.024
Calcio (mg)	16.0	Riboflavina B ₂ (mg)	0.06
Cloro (mg)	14.0	Niacina B ₃ (mg)	0.386
Cobre (mg)	0.048	Ácido pantoténico B ₅ (mg)	0.125
Fósforo (mg)	24-26	Piridoxina B ₆ (mg)	0.047
Flúor (µg)	25.0	Folatos totales (µg)	24.0
Hierro (mg)	0.42-0.70	Vitamina C (mg)	58.8-60.0
Magnesio (mg)	13.0	Vitamina E (mg)	0.29
Manganeso (mg)	0.386	Vitamina K (µg)	2.2
Potasio (mg)	153.0	Ácido cítrico (mg)	870.0
Sodio (mg)	1-2	Ácido málico (mg)	140.0
Yodo (µg)	1.0	Ácido oxálico (mg)	16.0
Zinc (mg)	0.14	Ácido salicílico (mg)	1.4

Extraído de : <https://books.google.com.pe/books>.(11)

Las sustancias antioxidantes de la fresa (vitamina C, E, magnesio, antocianinas), folatos y como compuestos fenólicos son esenciales para la salud humana. Aunque los compuestos fenólicos de fresa son conocidos principalmente por sus acciones antiinflamatorias y antioxidantes, actúan inhibiendo la oxidación de las lipoproteínas (sustancias transportadoras de colesterol malo). La fibra reduce la absorción de colesterol exógeno (colesterol obtenido a través de los alimentos). Esto trae como consecuencia la reducción de la formación de placas de ateroma y, por lo tanto, disminuye la aparición de complicaciones cardiovasculares. Además las antocianinas que se encuentran en las fresas, reducen la agregación de plaquetas, evitando enfermedades como trombosis.(12)(6)

1.4. CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS

El sabor es condicionado por el balance de azúcar y acidez, ya que cuenta con una serie de azúcares y ácidos con diferentes grados de concentración según la variedad. Generalmente son cónicas y alargadas; sin embargo, dependiendo de la variedad puede variar la forma. Su olor es característico de la fruta. La fresa en estado maduro ha de tener un brillo intenso y un color rojizo oscuro y uniforme. Su pulpa es de color blanco, pero también puede ser rojizo de acuerdo a la variedad. Su textura es suave.(13)

2. *VACCINIUM CORYMBOSUM* (ARÁNDANO)

2.1. ORIGEN Y CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

El arándano es una baya que crece en forma silvestre y es oriunda de América del Norte. Generalmente se cultivan dos tipos de arándano: Lowbush blueberry (*Vaccinium angustifolium*) que comprende las especies más pequeñas y Highbush blueberry (*Vaccinium Corymbosum*) que abarca los arbustos más grandes, dentro de los cuales se encuentran muchas variedades comerciales.(14)

El arándano es el fruto de una planta arbustiva que forma parte, junto a la grosella, la frambuesa y la zarzamora, del grupo de los conocidos como “frutos del bosque”.(15)

Nombre común: Arándano.

Nombre comercial: Arándano.

Nombre científico: *Vaccinium Corymbosum*.

Reino: Plantae.

Familia: Ericaceae.

Subfamilia: Vaccinioideae.

Orden: Ericales.

Especie: *V. Corymbosum*.

Género: *Vaccinium*.

Tipo: Fruta.(16)



FIGURA N° 2: *Vaccinium corymbosum*.

Extraído de: <https://www.mijntuin.org/plants/13002-blauwe-bes>.(17)

2.2. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA Y MORFOLÓGICA

Es un arbusto perenne de hoja caduca y madera leñosa que puede llegar a medir 3 metros. El sistema radical del arándano es superficial, fibroso, de poca extensión y está constituido por raicillas muy finas y es moderadamente difícil de tratar en

plantas jóvenes. Las hojas del arándano son simples, alternadas, de forma ovalada o lanceolada, sus bordes pueden ser enteros o ligeramente aserrados y pueden presentar cierto revestimiento piloso en el envés.(5)

Es una especie autofértil. El tipo más común de inflorescencia en arándanos es un racimo, generalmente axilar, las que se diferencian en las yemas terminales de las ramillas cuando se detiene el crecimiento vegetativo al inicio del otoño. Estas flores se producen en brotes de un año de crecimiento, las flores son gamopétalas de forma de campana. Poseen 8 a 10 estambres insertos en la base de la corola. El ovario es ínfero con 4 a 10 celdas que pueden presentar uno o más óvulos en cada lóbulo. (5)

2.3. COMPOSICIÓN NUTRICIONAL

La abundancia de pigmentos naturales (antocianos y carotenoides) de acción antioxidante neutralizan la acción de los radicales libres que son nocivos para el organismo, dando lugar a efectos fisiológicos muy diversos: Antiinflamatorios y antibacterianos. También posee un importante aporte de vitamina C, lo que potencia el sistema inmunológico o de defensas del organismo y contribuye a reducir el riesgo de enfermedades degenerativas, cardiovasculares e incluso del cáncer. Asimismo, la vitamina C tiene la capacidad de favorecer la absorción del hierro de los alimentos, por lo que mejora o previene la anemia ferropénica. La fibra es un componente muy abundante en estas frutas, por lo que su consumo habitual puede resultar beneficioso para tratar el estreñimiento y la atonía intestinal. También son una buena fuente de potasio, hierro, calcio, taninos de acción astringente y de diversos ácidos orgánicos. Por último, poseen un bajo valor calórico por su escaso aporte de hidratos de carbono.(18).

En la Tabla N°2 se puede observar la composición nutricional del fruto de arándano:

2.4. CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS

El fruto es una baya redondeada, de 7 a 15mm de diámetro, de color negro azulado, cubierta de pruina azul y con un ribete en lo alto a modo de coronita, su carne, de un agradable sabor agridulce, es de color vinoso, y en la parte central contiene diversas simientes, su sabor depende de la variedad (azules, negros, morados y rojos) y tiene secreciones cerosas. (14)(19)

TABLA N° 2: Composición de *Vaccinium corymbosum* (arándano).

Nutriente	/100g	Componente	100g
Energía	56 kcal	Fosforo	10mg
Proteína	0.67g	Potasio	89mg
Lípidos totales	0.38g	Selenio	0.60µg
Carbohidratos	14.13g	Sodio	6mg
Fibra dietética	2.70g	Zinc	0.11mg
Cenizas	0.21g	Vitamina C	13mg
Agua	84.61mg	Tiamina	0.05mg
Calcio	6.0mg	Riboflavina	0.05mg
Cobre	0.06mg	Niacina	0.36mg
Hierro	0.17mg	Ácido pantoténico	0.09mg
Magnesio	5mg	Vitamina B ₆	0.04mg
Manganeso	0.28mg	Vitamina E	1mg

Extraído de: *Patrocinante P, Patrocinante PC-. Universidad Austral de Chile.*

2007.(5)

3. RADICALES LIBRES

Desde el punto de vista químico, son todas aquellas especies químicas, cargadas o no, que en su estructura atómica presentan un electrón desapareado en el orbital externo, dándole una configuración espacial que genera gran inestabilidad. Presentan una estructura birradicálica, son muy reactivos, tienen una vida media corta, por lo que actúan cercano al sitio en que se forman y son difíciles de dosificar.(20)

Desde el punto de vista molecular, son pequeñas moléculas ubicuitarias y difusibles que se producen por diferentes mecanismos entre los que se encuentran la cadena respiratoria mitocondrial, la cadena de transporte de electrones a nivel microsomal y

en los cloroplastos, y las reacciones de oxidación, por lo que producen daño celular (oxidativo), al interactuar con las principales biomoléculas del organismo. No obstante, lo expresado anteriormente, los radicales libres del oxígeno tienen una función fisiológica en el organismo como la de que participan en la fagocitosis, disminuyen la síntesis de catecolaminas por las glándulas suprarrenales, favorecen la síntesis de colágeno, activan enzimas de la membrana celular, favorecen la síntesis de prostaglandinas, favorecen la quimiotaxis y modifican la biomembrana. Existe un término que incluye a los radicales libres y a otras especies no radicálicas, pero que pueden participar en reacciones que llevan a la elevación de los agentes prooxidantes y son las especies reactivas del oxígeno (EROS).(20)

Los radicales más perjudiciales en sistemas biológicos son los radicales de oxígeno (a veces denominados especies de oxígeno reactivas), en especial superóxido, hidroxilo, y perhidroxilo. (21)

3.1. EFECTO NOCIVO DE LOS RADICALES LIBRES

El daño celular producido por las especies reactivas del oxígeno ocurre sobre diferentes macromoléculas:

- a) **Lípidos:** Es aquí donde se va a producir el daño mayor en un proceso que es conocido como peroxidación lipídica, afecta a las estructuras ricas en ácidos grasos poliinsaturados, ya que se altera la permeabilidad de la membrana celular produciéndose edema y muerte celular. La peroxidación lipídica representa una forma de daño hístico que puede ser originado por el oxígeno, el oxígeno singlete, el peróxido de hidrógeno y el radical hidroxilo. Los ácidos grasos insaturados son componentes esenciales de las membranas celulares, por lo que son importantes para su funcionamiento normal, sin embargo, son vulnerables al ataque oxidativo iniciado por los radicales libres del oxígeno.(20)

- b) **Proteínas:** Hay oxidación de un grupo de aminoácidos como tirosina, fenilalanina, metionina e histidina; además se forman entrecruzamientos de cadenas peptídicas, y por último hay formación de grupos carbonilos.(20)

c) **Ácido desoxirribonucleico (ADN):** Ocurren fenómenos de mutaciones y carcinogénesis, hay pérdida de expresión o síntesis de una proteína por daño a un gen específico, deleciones, modificaciones oxidativas de las bases, interacciones estables ADN-proteínas, fragmentaciones, desmetilación de citosinas del ADN que activan genes y reordenamientos cromosómicos. El daño se puede originar por la alteración (inactivación/pérdida de algunos genes supresores de tumores que pueden conducir a la iniciación, progresión, o ambas de la carcinogénesis). Los genes supresores de tumores pueden ser modificados por un simple cambio en una base crítica de la secuencia del ADN.(20)

3.2. ESTRÉS OXIDATIVO

El estrés oxidativo ocurre cuando hay desequilibrio en las células debido a un aumento en los radicales libres y/o una disminución en los antioxidantes. Con el tiempo, este desajuste en el equilibrio entre los radicales libres y los antioxidantes puede ser nocivo.(22)

Un radical libre es un átomo con un número impar de electrones o que tiene un electrón libre y desempeñan un papel importante y positivo en muchos procesos celulares. Pero es muy reactivo y puede causar daño a las células. Nosotros tenemos una maquinaria enzimática encargada de eliminarlos, pero si nuestras defensas antioxidantes no pueden contrarrestarlos, la célula no es capaz de superar ese daño, ni recuperar su función y la célula puede morir.(23)

CAUSAS

Una alimentación desequilibrada, el tabaco, las exposiciones solares prolongadas, el estrés y la contaminación entre otros, son factores que contribuyen al estrés oxidativo como al aumento de los radicales libres, lo que aumenta los procesos de envejecimiento.(21)

Además, muchas enfermedades o estados carenciales de la alimentación impiden el correcto aporte de nutrientes, y, por lo tanto, un déficit de vitaminas y otros antioxidantes. Además, actividades deportivas de ejercicio intenso y de larga

duración pueden provocar estrés oxidativo. Estos daños oxidativos causados por el ejercicio son un factor a tener en cuenta en la fatiga muscular durante el ejercicio de resistencia.(21)

4. ANTIOXIDANTES

Un antioxidante es una molécula capaz de prevenir o retardar la oxidación (pérdida de uno o más electrones) de otras moléculas, generalmente sustratos biológicos como proteínas, lípidos o ácidos nucleicos. La oxidación de tales sustratos podrá ser iniciada por dos tipos de especies reactivas: los radicales libres, y aquellas especies que sin ser radicales libres, son suficientemente reactivas para inducir la oxidación de sustratos como los mencionados.(24)

4.1. CLASIFICACIÓN DE LOS ANTIOXIDANTES

Los antioxidantes se clasifican en endógenos o enzimáticos como se observa en la Tabla N°3, fabricados por la propia célula, y exógenos o no enzimáticos, que ingresan en el organismo a través de la dieta o de suplementos con formulaciones antioxidantes.(25)

TABLA N° 3: Clasificación de los antioxidantes.

EXÓGENOS	ENDÓGENOS	
Vitamina E	Glutación	
Vitamina C	Coenzima Q	COFACTOR
Betacaroteno	Ácido tióctico	Cobre
Flavonoides	ENZIMAS	Zinc
Licopeno	Superóxido dimutasa	Manganeso
	Catalasa	Hierro
	Glutación peroxidasa	Selenio

Extraído de: http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid

4.1.1. ANTIOXIDANTES ENDÓGENOS

También llamados enzimáticos, están presentes en el organismo de los seres vivos y van a proteger frente a los radicales libres producidos por el metabolismo.(26)

Dentro de estos tenemos tres principales:

- a) **Catalasa (CAT):** Tiene una amplia distribución en el organismo humano, alta concentración en el riñón y en el hígado, baja concentración en tejido conectivo y epitelios, casi nula en el tejido nervioso y se localiza a nivel celular: Peroxisomas, Mitocondrias, citosol (eritrocitos); presenta dos funciones fundamentales: peroxidativa y catalítica y forma parte del sistema antioxidante CAT /SOD este actúa en presencia de altas concentraciones de peróxido de hidrogeno.(26)
- b) **Glutación peroxidasa (GPx):** Es una enzima selenio-dependiente, cataliza la reducción de peróxido de hidrogeno a lipoperóxido (L-OOH), usa como agente reductor el glutati6n reducido (GSH) y se localiza en: Lisosomas (neutr6filos, macr6fagos y otras c6lulas del sistema inmune), Citosol (eritrocitos). Existen tres formas GPx: GPx-c forma celular, tiene mayor afinidad por el per6xido de hidrogeno que por el lipoperoxido; GPx-p o forma extracelular, presenta afinidad semejante para ambos sustratos; GPx-PH, tienen afinidad espec6fica para los lipoperoxidos.(26)
- c) **Super6xido dismutasa:** Su distribuci6n es amplia en el organismo, est6 formada por un grupo de enzimas metaloides: Cu-SOD y Zn-SOD que contienen cobre y zinc en su sitio activo y se encuentran en el citosol y el espacio intermembranoso mitocondrial; Fe-SOD, que contiene hierro y se localiza en el espacio periplasm6tico de la E. Coli, Mn-SOD que contiene manganeso y se localiza en la matriz mitocondrial. Estas enzimas dismutan el ox6geno para formar per6xido

de hidrógeno y su principal función es la protección contra el anión superóxido.(26)

4.1.2. ANTIOXIDANTES EXÓGENOS

También llamados no enzimáticos, están presentes en la dieta ingerida por los seres vivos, en las frutas y verduras. Una de sus principales características es que son capaces de neutralizar un único radical libre por molécula (cazadores estequiométricos), sólo actúan a concentraciones elevadas.(26)

a) Antioxidantes no enzimáticos lo constituyen las moléculas reductoras de pequeños tamaños e hidrosolubles. Dentro de ellas tenemos al ascorbato o vitamina C y al glutatión reducido.(26)

Pueden actuar tanto como pro o antioxidantes. Así pueden autooxidarse, especialmente en presencia de metales, para producir especies reactivas de oxígeno (RSOs). Al ser hidrofílicos, no son efectivos, frente a la peroxidación lipídica.(26)

b) Antioxidantes no enzimáticos son las vitaminas liposolubles. Aquí están el α - tocoferol o vitamina E, que es capaz de impedir las reacciones en cadena, producidas por los radicales hidroperoxilo durante la peroxidación lipídica (la vitamina E se encuentra presente en aceites de semilla, aceites vegetales, maní, germen de trigo, carnes, pescados, pollo y algunas frutas y verduras) y el α -caroteno (presentes en la zanahoria) , que ofrece una protección eficaz frente al oxígeno singlete.(26)

4.2. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Se conoce como actividad antioxidante total o capacidad antioxidante total a la medición analítica de concentraciones de radicales de diferente naturaleza, en un sistema oxidativo controlado, en los alimentos de origen vegetal, se atribuye esta

capacidad a la presencia de compuestos fenólicos, especialmente a los flavonoides.(27)

Los ensayos de actividad antioxidante se pueden clasificar en general como ensayos basados en transferencia de electrones (ET) y transferencia de átomos de hidrógeno (HAT).(28)

La Actividad Antioxidante es usado para un ensayo individual y muestra solamente la reactividad química bajo condiciones específicas aplicadas. Para ser consistentes en la revisión, usamos "capacidad" cuando se refieren a los resultados obtenidos por diferentes ensayos, como "Capacidad secuestradora de radicales peróxido", "Capacidad secuestradora de superóxido", "Capacidad reductora del ión férrico", entre otros. Igualmente es importante distinguir entre capacidad antioxidante y reactividad. La capacidad antioxidante informa sobre la duración de la acción antioxidante, la reactividad caracteriza el inicio dinámico de la antioxidación a una determinada concentración de un antioxidante o mezcla antioxidante.(29)

Las especies reactivas de oxígeno (ERO), entre otros radicales pueden generar estrés oxidativo, fenómeno al cual se le atribuyen muchas enfermedades neurodegenerativas. Se ha evidenciado que las plantas, frutas y sus constituyentes son fuente de antioxidantes; por tanto, tienen la capacidad de capturar EROs. (30).

Químicamente la oxidación de un compuesto es la pérdida de electrones, de hidrógenos o la ganancia de oxígeno en una molécula. La reducción de un compuesto es exactamente lo contrario; es decir, la ganancia de electrones, de hidrógenos o la pérdida de oxígeno. En tal sentido, un agente oxidante es una molécula que se reduce al reaccionar con la molécula a la cual oxida. Este par oxido-reductor es necesario químicamente y esencial para entender la biología de las óxido- reducciones en el organismo.(31)

4.2.1. DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE (CUPRAC)

Este ensayo mide la capacidad antioxidante reductora de Cu (II) a Cu (I) por la acción combinada de los antioxidantes de la muestra. La molécula Neocuproína forma un complejo con el Cu (I), que es muy coloreado y muestra un máximo de absorción a 450nm, la medida de absorbancia de la muestra antioxidante se convierte a equivalente de ácido ascórbico mediante curvas de calibrado con estándares.(32)

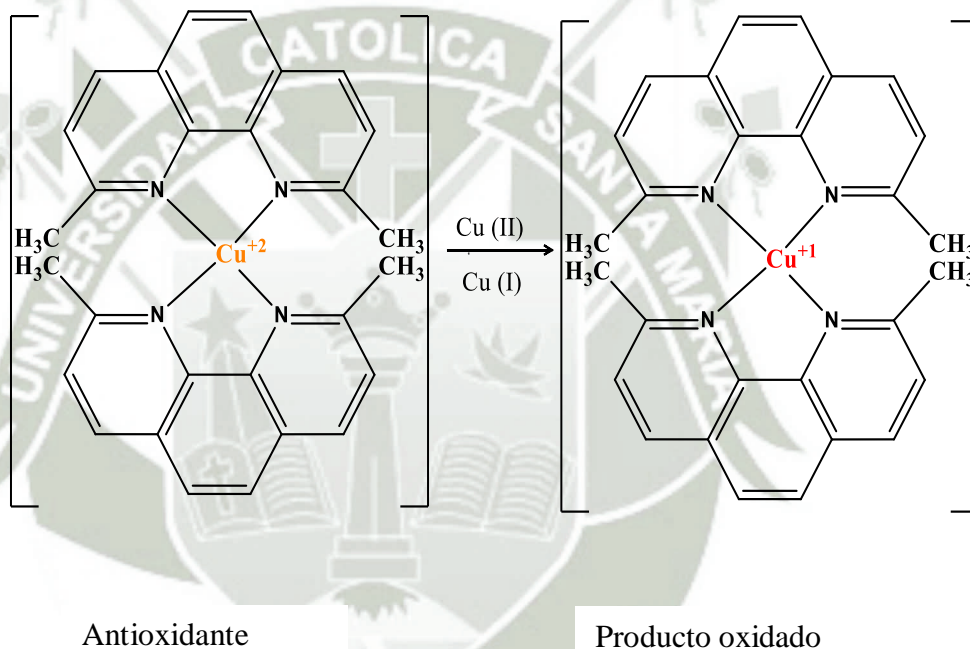


FIGURA N° 3: Reacción del método de CUPRAC.

5. COMPUESTOS FENÓLICOS

Los compuestos fenólicos se originan en el mundo vegetal. Son unos de los principales metabolitos secundarios de las plantas y su presencia en el reino animal se debe a la ingestión de éstas. (33)

Los compuestos fenólicos constituyen las principales clases de metabolitos secundarios de los vegetales, donde desempeñan diferentes funciones fisiológicas. Se

trata de compuestos que intervienen en la reproducción y crecimiento de las plantas, así como en procesos defensivos contra agentes patógenos, radiación ultravioleta o depredadores. Tradicionalmente se han considerado como sustancias antinutritivas debido al efecto adverso de uno de sus componentes principales, los taninos, en la digestibilidad de proteínas. Sin embargo, actualmente existe gran interés en estos compuestos debido a la gran variedad de actividades biológicas que presentan, considerándose uno de los compuestos fitoquímicos alimentarios más importantes por su contribución al mantenimiento de la salud humana.(34)(35)

La actividad biológica de los polifenoles está relacionada con su carácter antioxidante, el cual se basa en su capacidad para quelar metales, inhibir la actividad de la enzima lipooxigenasa y actuar como atrapadores de radicales libres. La cantidad de compuestos polifenólicos en un alimento varía en función de la especie vegetal, variedad y parte del vegetal considerada (fruto, semillas, brotes, hojas), horas de exposición solar, grado de madurez, condiciones de cultivo, procesado, condiciones de almacenamiento.(34)

5.1. PROPIEDADES ORGANOLÉPTICAS ATRIBUIDAS A LOS COMPUESTOS FENÓLICOS

- a) **Color:** Como las antocianidinas, responsables de los tonos rojos, azules y violáceos de muchas frutas, hortalizas y derivados: Fresas, arándanos, ciruelas, uvas, berenjena, col lombarda, rábano, vino tinto, etc.
- b) **Sabor amargo:** Como las flavanonas de los cítricos (naringina del pomelo, neohesperidina de la naranja) o la oleuropeína en las aceitunas.
- c) **Astringencia:** Como las proantocianidinas (taninos condensados) y los taninos hidrolizables, por ejemplo, en el vino.
- d) **Aroma:** Fenoles simples como el eugenol en los plátanos.(33)

5.2. CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS GENERALES

Lo más destacable de los compuestos fenólicos son sus propiedades antioxidantes. Por un lado, son muy susceptibles a ser oxidados y por otro, impiden que los

metales catalicen las reacciones de oxidación. Así, los grupos hidroxilo, al estar unidos a un anillo bencénico, presentan la posibilidad de que el doblete del átomo de oxígeno interactúe con los electrones del anillo, lo que le confiere unas características especiales respecto al resto de alcoholes. Por otro lado, pueden actuar de quelantes (sobre todo los fenoles no flavonoides) y formar complejos con metales di o trivalentes, especialmente con el hierro y el aluminio, lo que puede tener también implicaciones nutricionales.(33)

5.3. CLASIFICACIÓN GENERAL

Los polifenoles se pueden clasificar de muchas maneras debido a su diversidad estructural. Según su estructura química tenemos 2 grandes grupos:

5.3.1. No flavonoides

Entre ellos hay dos subgrupos:

- **Fenoles no carboxílicos:** C₆, C₆-C₁, C₆-C₃.
- **Ácidos fenoles:** derivados del ácido benzoico C₆-C₁ y derivados del ácido cinámico C₆-C₃.(33)

5.3.2. Flavonoides (C₆-C₃-C₆)

Formados por 2 grupos bencénicos unidos por un puente tricarbonado. Además, posee los siguientes subgrupos como se observa en la figura N°4.

- Antocianos.
- Flavonas, flavononas, flavanoles y flavanonoles.
- Flavanoles, taninos condensados y lignanos.(33)

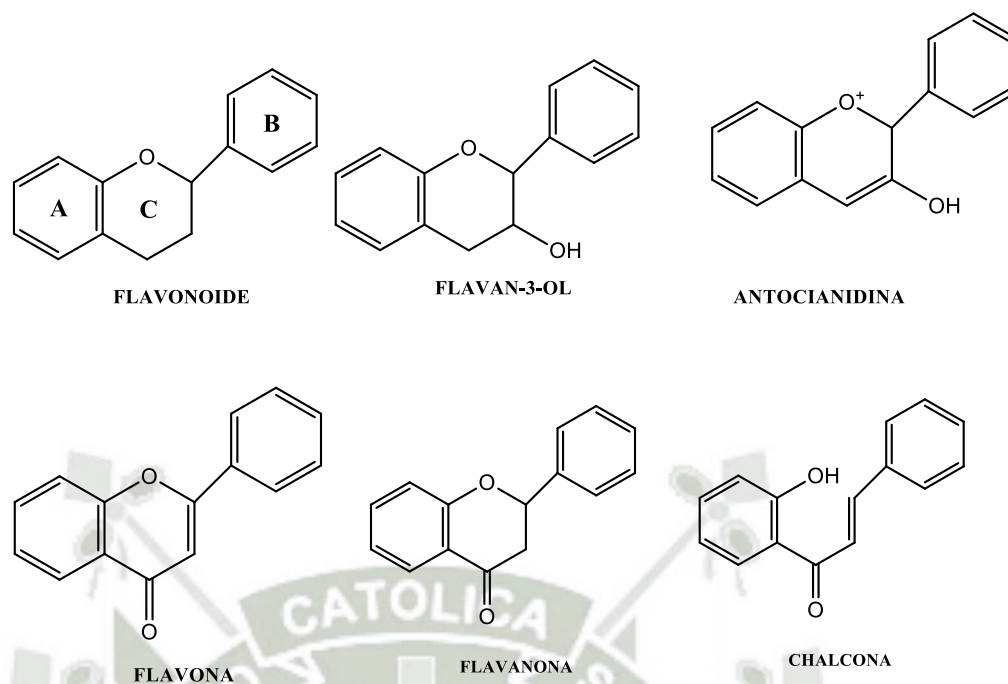


FIGURA N° 4: Estructuras químicas de los subgrupos de flavonoides más usuales.

5.4. PROPIEDADES BENEFICIOSAS: PAPEL EN LA PREVENCIÓN DE ENFERMEDADES

De hecho, diversas organizaciones internacionales en el ámbito de la nutrición, recomiendan un consumo diario como mínimo de cinco raciones de fruta o verdura, para asegurar una adecuada ingesta de antioxidantes y prevenir enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo. Existen numerosos estudios que proporcionan datos que apoyan el consumo de compuestos fenólicos para prevenir ciertas enfermedades, incluyendo las enfermedades cardiovasculares, cáncer, enfermedad de Alzheimer, cataratas y otras disfunciones relacionadas con la edad. Además, también se ha estudiado su efecto antiinflamatorio y su efecto preventivo en el tratamiento de asma. (34)

Debido al efecto adverso de los taninos sobre la digestibilidad de las proteínas que provoca un menor crecimiento del ganado y una menor puesta de huevos por parte

de las aves de corral, los fenoles fueron considerados como antinutrientes. Además, debido a sus propiedades antioxidantes es usado como prevención del cáncer, de enfermedades cardiovasculares, neurodegenerativas como el Alzheimer. Como hemos comentado anteriormente, también existen sustancias con actividad estrogénica (fitoestrógenos) como las isoflavonas, los lignanos y el estilbeno resveratrol, y otras con propiedades antimicrobianas.(33)

5.5. DETERMINACIÓN DE FENOLES TOTALES (FOLIN- CIOCALTEU)

El reactivo de Folin-Ciocalteu es una mezcla de fosfomolibdato y fosfotungstato usado para la determinación de antioxidantes fenólicos y polifenólicos. Sin embargo, este reactivo no solo mide los fenoles totales, sino que reaccionará con cualquier sustancia reductora, por lo que mide la capacidad reductora total de una muestra. El ácido fosfomolibdotúngstico de color amarillo, al ser reducido por los grupos fenólicos da lugar a un complejo de color azul, que es el que medimos a una longitud de onda de 765nm.(32)

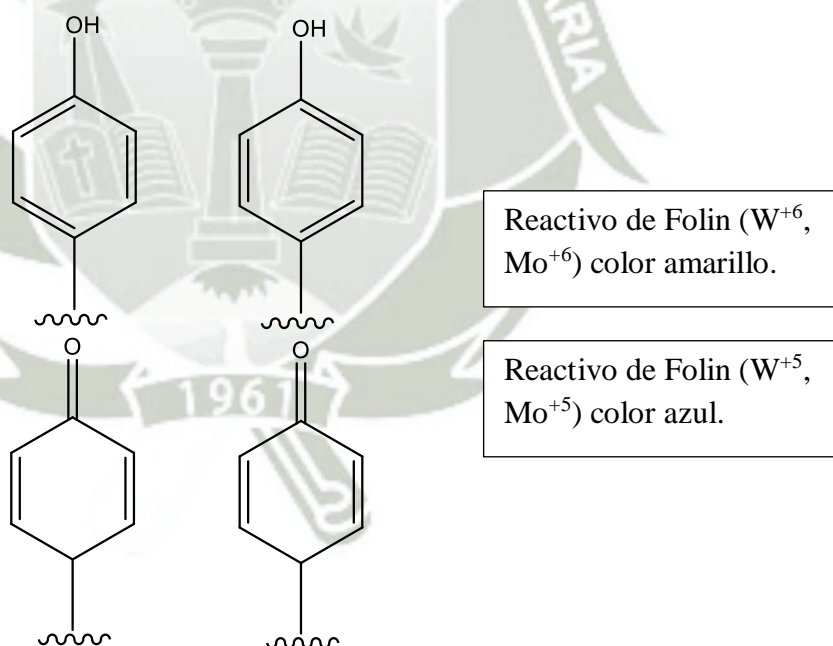


FIGURA N° 5: Reacción del reactivo Folin Ciocalteu con un agente.

6. ANTOCIANINAS

Las antocianinas representan el grupo más importante de pigmentos hidrosolubles detectables en la región visible por el ojo. Estos pigmentos son responsables de la gama de colores que abarcan desde el rojo hasta el azul en varias frutas, vegetales y cereales. Las antocianinas poseen diferentes funciones en la planta como son la atracción de polinizadores para la posterior dispersión de semillas y la protección de la planta contra los efectos de la radiación ultravioleta y contra la contaminación viral y microbiana.(3)

6.1. ESTRUCTURA DE LAS ANTOCIANINAS Y COLOR

Las antocianinas son glucósidos de antocianidinas, pertenecientes a la familia de los flavonoides, compuestos por dos anillos aromáticos A y B unidos por una cadena de 3 C. Están formadas por una estructura base llamada aglicona o antocianidina cuya estructura es un esqueleto de quince carbonos C6-C3-C6. Variaciones estructurales del anillo B resultan en seis antocianidinas conocidas como se observa en la Figura N°6 y Tabla N°4.(3)(37)

El color de las antocianinas depende del número y orientación de los grupos hidroxilo y metoxilo de la molécula. Incrementos en la hidroxilación producen desplazamientos hacia tonalidades azules mientras que incrementos en las metoxilaciones producen coloraciones rojas. En la naturaleza, las antocianinas siempre presentan sustituciones glicosídicas en las posiciones 3 y/o 5 con mono, di o trisacáridos que incrementan su solubilidad. (3)(32)

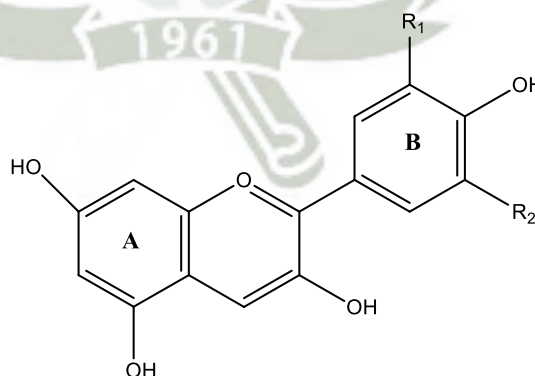


FIGURA N° 6: Estructura y variaciones en la sustitución del anillo B de las antocianidinas.

TABLA N° 4: Sustitución del anillo B de las antocinidinas.

Aglicona	Sustitución		Longitud de onda máxima (nm)
	R ₁	R ₂	
Pelargomedina	H	H	494 (naranja)
Cianidina	OH	H	506 (naranja-rojo)
Delfinidina	OH	OH	508 (azul-rojo)
Peonidina	OCH ₃	H	506 (naranja-rojo)
Petunidina	OCH ₃	OH	508 (azul-rojo)
Malvidina	OCH ₃	OCH ₃	510 (azul-rojo)

Dentro de los sacáridos glicosilantes se encuentran la glucosa, galactosa, xilosa, ramnosa, arabinosa, rutinosa, soforosa, sambubiosa y gentobiosa. Otra posible variación en la estructura es la acilación de los residuos de azúcares de la molécula con ácidos orgánicos. Los ácidos orgánicos pueden ser alifáticos, tales como: malónico, acético, málico, succínico u oxálico; o aromáticos: p-cumárico, caféico, ferúlico, sinápico, gálico, o p-hidroxibenzóico. Se demostró que el tipo de sustitución glicosídica y de acilación producen efectos en el tono de las antocianinas; es así como sustituciones glicosídicas en la posición 5 al igual que acilaciones aromáticas, producen un desplazamiento hacia las tonalidades púrpura.(3)(32)

6.2. FACTORES QUE DETERMINAN LA ESTABILIDAD

A pesar de las ventajas que las antocianinas ofrecen como posibles sustitutos de los colorantes artificiales, su incorporación a matrices alimenticias o productos farmacéuticos y cosméticos son limitadas debido a su baja estabilidad durante el procesamiento y el almacenamiento. Factores como su misma estructura química, pH, temperatura, presencia de oxígeno y ácido ascórbico, concentración y actividad de agua de la matriz determinan la estabilidad del pigmento.(38)

Efecto del pH. El pH tiene efecto en la estructura y la estabilidad de los colores de las antocianinas, donde un pH ácido tiene un efecto protector sobre la molécula. Dependiendo del pH las antocianinas puede existir en cuatro especies diferentes:

base quinoidal, catión flavilo, pseudobase carbinol y chalcona. En soluciones muy ácidas ($\text{pH} < 0.5$) el catión flavilo rojo es la única estructura. Con incrementos de pH la concentración del catión decrece al mismo tiempo que la hidratación da lugar a la base de carbinol incolora. Entre pH 4 y 5.5 habrá poco color, debido a que las dos formas coloreadas estarán en bajas concentraciones y el equilibrio se desplazara a las formas incoloras. Por lo tanto, la forma chalcona es más susceptible a la degradación y a la forma iónica flavilo es la más estable. En la figura N°7 se puede observar la estructura de las antocianinas a diferentes pH .(38)(3)

Efecto de la temperatura: Incrementos de temperatura resultan en pérdida del azúcar glicosilante en la posición 3 de la molécula y apertura de anillo con la consecuente producción de chalconas incoloras.(3)

Otros factores, la concentración del pigmento y la actividad de agua de la matriz afectan la estabilidad del color.(3)

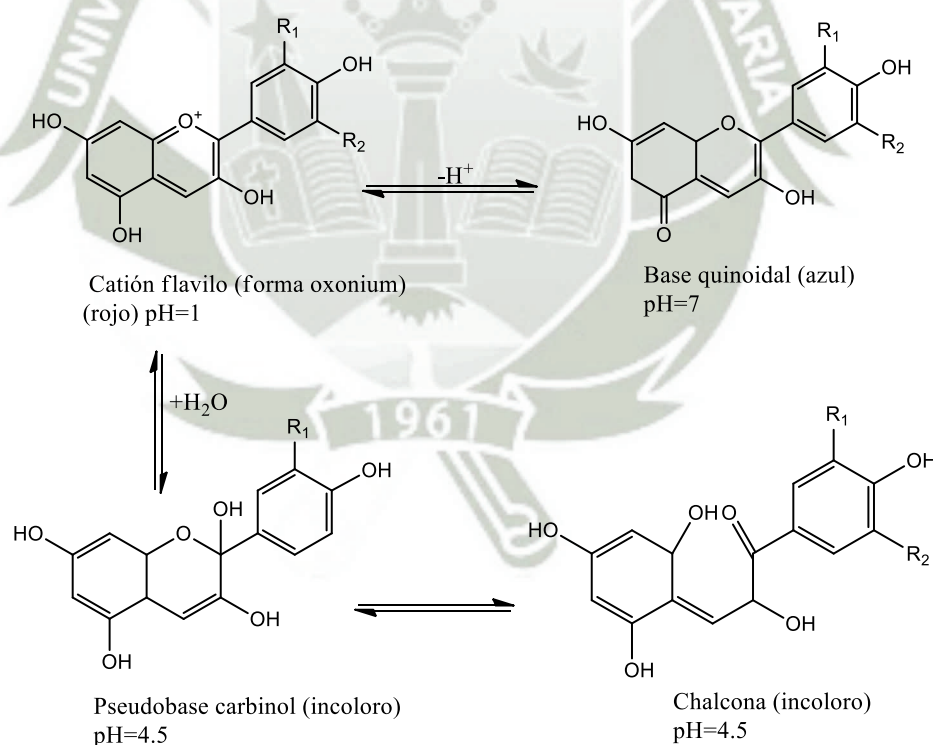


FIGURA N° 7: Estructura de antocianinas a diferentes pH .

6.3. CUANTIFICACIÓN DE ANTOCIANINAS (pH DIFERENCIAL)

Para la obtención de la concentración de la antocianina se utiliza el método de pH diferencial. La antocianina experimenta una transformación reversible con los cambios de pH manifestado por un llamativo cambio de absorbancia. La forma oxinium predomina a pH 1 y el hemiacetal a pH 4.5. Se prepararon diluciones del extracto con solución buffer pH 1.0 de cloruro de potasio y con solución buffer pH 4.5 de acetato de sodio. Se mide la absorbancia de cada muestra a la longitud de onda de máxima absorbancia ($\lambda_{\max}=510\text{nm}$) y a 700nm.(39)

El pH diferencial es un método basado en esta reacción, y permite una rápida y exacta medida de la antocianina total, incluso en la presencia de pigmentos degradados polimerizados y de otros compuestos interferentes. (38)

7. HIPERLIPIDEMIAS

Hiperlipidemia o también conocida como dislipidemia es cuando la cantidad de grasas (o lípidos) en la sangre es alto. Estas grasas incluyen el colesterol y los triglicéridos, que son importantes para la función del cuerpo. Sin embargo, cuando el nivel es muy alto, estas grasas pueden propiciar el desarrollo de enfermedades cardiacas o propiciar un derrame cerebral.(40)

La hiperlipidemia es causada por una dieta que contiene demasiado colesterol y grasa (que se encuentran en la carne, queso, crema, huevos y mariscos), o cuando el hígado produce demasiado colesterol y grasa, o ambos. Para que las grasas puedan ser transportadas por la sangre (que es principalmente agua), se tienen que combinar con una proteína que se encuentra en el hígado para formar una lipoproteína.(40)

Los factores de riesgo para hiperlipidemia son la obesidad, la falta de ejercicio y una dieta con muchas grasas saturadas y colesterol, además de la baja ingesta de frutas, verduras y alimentos con fibra, también puede conllevar a propiciar la hiperlipidemia.(40)

Además niveles muy altos de TG, especialmente cuando hay hiperquilomicronemia, han sido señalados como de riesgo en la patogenia de la pancreatitis aguda.(40)

7.1. CLASIFICACIÓN DE LAS DISLIPIDEMIAS

Las dislipidemias también llamadas dislipemias, pueden ser clasificadas teniendo en cuenta diferentes criterios.

7.1.1. Según el perfil lipídico

- a) **Hipercolesterolemia aislado:** Aumento del Colesterol Total a expensas del colesterol de las lipoproteínas de baja densidad (C-LDL).
- b) **Hipertrigliceridemia aislada:** Aumento de los triglicéridos de origen endógeno (a expensas de las lipoproteínas de muy baja densidad, VLDL), exógeno (a expensas de quilomicrones), o ambos.
- c) **Hiperlipemia mixta:** Aumento del Colesterol Total y los triglicéridos.
- d) **Hipoalfalipoproteinemia:** Disminución del colesterol de las lipoproteínas de alta densidad (C-HDL). (41)

Esta clasificación permite determinar el riesgo del paciente. Si presenta aumento de los niveles plasmáticos del colesterol total, con incremento moderado de triglicéridos y disminución de C-HDL, el paciente tendrá mayor riesgo de padecer algún evento cardiovascular que otro individuo que presente hipercolesterolemia o hipertrigliceridemia aisladas. Si el paciente presenta una elevación severa de los triglicéridos (>1000 mg/dl), estará en riesgo de padecer una pancreatitis aguda.(41)

Por otro lado, esta clasificación permite decidir cómo orientar el tratamiento específico de la dislipemia.(41)

7.1.2. Según la etiología

- a) **Primarias:** Son dislipemias de causa genética y son generadas por mutaciones en uno o más genes que intervienen en la síntesis y/o metabolismo de las lipoproteínas. Se caracterizan por:

Aparecer en más de un familiar.

Se asocian a valores de lípidos y lipoproteínas considerablemente alterados con respecto a los valores de referencia.

Ocasionalmente presentar manifestaciones clínicas características, debido al depósito de lípidos en zonas atípicas.

Se les suele asociar frecuentemente a enfermedades cardiovasculares prematuras.(41)

- b) **Adquiridas:** Se manifiestan debido a los hábitos del paciente.(41)

- c) **Secundarias:** Son consecuencia de la presencia de otra patología de base. Las dislipemias adquiridas y secundarias pueden corregirse parcial o totalmente eliminando o controlando el factor causante. La utilidad de este tipo de clasificación es que permite determinar el tratamiento. Mientras que en las dislipemias primarias los tratamientos no sólo van a consistir en medidas higiénico-dietéticas y farmacológicas sino también en terapéuticas específicas y complejas, como trasplante de hígado o aféresis de LDL, en las dislipemias adquiridas y secundarias el tratamiento se basa en tratar el origen de base que genera la alteración lipídica.(41)

7.2. PERFIL LIPÍDICO

Por medio de un análisis denominado "perfil lipídico", el médico podrá ver los diferentes tipos de grasas presentes en la sangre. El colesterol y los triglicéridos son dos de las sustancias lipídicas que se encuentran en mayor proporción en la sangre y pueden causar diversas enfermedades cardiovasculares.(42)

El perfil lipídico permite verificar los niveles de lípidos en la sangre, y de esta manera indicar el riesgo de una persona de padecer enfermedades cardíacas o arterosclerosis.(42)

7.3. COLESTEROL TOTAL

El colesterol es un compuesto esteroideo alicíclico, miembro de un gran subgrupo de esteroides llamados esteroleos. Por lo que respecta a sus propiedades físicas, el colesterol es un lípido muy poco soluble en agua, además es un componente ubicuo y esencial en las membranas celulares de los mamíferos.(42)

El colesterol es una sustancia similar a la grasa e indispensable para la vida. El cuerpo necesita colesterol para fabricar hormonas, vitamina D, ácidos biliares, y otras sustancias. Sin embargo, el aumento del colesterol en la sangre y su depósito en las arterias puede ser peligroso y producir aterosclerosis (estrechamiento o endurecimiento de las arterias por depósito de colesterol en sus paredes).(43)

Valores normales

Normal: menos de 200mg/dl

Normal-alto: entre 200 y 240mg/dl. Se considera hipercolesterolemia a los niveles de colesterol total superiores a 200mg/dl.

Alto: por encima de 240mg/dl.(44)

7.4. TRIGLICÉRIDOS

Los triglicéridos constituyen la familia más abundante de lípidos y los principales componentes de los lípidos de depósito o de reserva de las células animales y vegetales. A los triglicéridos, que son sólidos a temperatura ambiente, se les conoce generalmente como grasas; mientras que a los que son líquidos, como aceites. Los triglicéridos, que funcionan como lípidos de depósito o de almacenamiento, son activamente sintetizados en las células de los vertebrados, particularmente en las células hepáticas y adiposas.(42)

Los Triglicéridos son grasas que se encuentran en determinados alimentos y también son producidas por el hígado. Los triglicéridos circulan en la sangre mediante unas lipoproteínas que se producen en el intestino y en el hígado y se transportan a los tejidos donde se utilizan como una reserva de energía para cubrir las necesidades metabólicas de los músculos y el cerebro. Las primeras, se encargan de transportar los triglicéridos de los alimentos que son absorbidos, y las segundas transportan los triglicéridos que sintetiza el hígado. Las causas más frecuentes de aumento de los triglicéridos son el sobrepeso, una dieta muy alta en hidratos de carbono, obesidad, el exceso de alcohol, la inactividad física, y fumar. También existen causas genéticas de aumento de los triglicéridos, en ocasiones asociadas con aumento de colesterol.(43)

Valores normales

Normal: menos de 150mg/dl

Normal-alto: entre 100 y 500mg/dl. Se considera hipertrigliceridemia a los niveles de triglicéridos superiores a 150-200mg/dl.

Alto: por encima de 500mg/dl.(44)

7.5. TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN

El hipercolesterolemia se puede prevenir siguiendo las siguientes recomendaciones:

Consumir una alimentación equilibrada y sin grasas saturadas, siendo la dieta mediterránea la idónea debido a que su aporte de grasas proviene fundamentalmente de los ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados presentes en el pescado y los aceites de oliva y de semillas. También es importante el consumo de vegetales, legumbres, cereales, hortalizas y frutas.(44)

Haciendo un programa de ejercicio aeróbico (caminar, carrera suave, ciclismo, natación, etc), a intensidad moderada (65-70% de frecuencia cardíaca máxima) y desarrollado de manera regular (tres a cinco sesiones por semana), aumenta el HDL (colesterol bueno) y reduce el LDL (colesterol malo) y los niveles de

triglicéridos. Una vez diagnosticada la dislipemia, y si la dieta y el ejercicio físico no consiguen rebajar los niveles del perfil lipídico, se podrá optar por un tratamiento farmacológico. La elección de los fármacos será de acuerdo a la anomalía dominante: elevación del LDL (colesterol malo); elevación de los triglicéridos; o niveles elevados en ambos casos. Algunos de los fármacos para pacientes con colesterol elevado son:(44)

- Estatinas.
- Resinas de intercambio.
- Fitosteroles.
- Fibratos.
- Ezetimibe. (44)

7.5.1. Estatinas

Las estatinas son una clase de medicamentos recetados que reducen el colesterol “malo” (LDL) y aumentan el colesterol “bueno” (HDL), y actúan mediante la inhibición de la HMG-CoA reductasa, disminuyendo la síntesis de colesterol y provocando un descenso de los valores de CT y LDL. Las estatinas siempre deben acompañarse con ejercicio y una dieta saludable para el corazón.(45)

Mecanismo de acción:

La enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A reductasa (HMG CoA) es encargada de catalizar el paso limitante en la biosíntesis del colesterol; es aquí donde precisamente actúan las estatinas para la inhibición de esta enzima (Figura N° 8). La mayoría de estos fármacos reducen los niveles de colesterol, sin embargo, no han demostrado disminución en la mortalidad relacionada a cardiopatías en pacientes con y sin enfermedad coronaria. Actualmente se recomienda el tratamiento con estatinas a pacientes con alto riesgo cardiovascular, incluyendo a aquellos pacientes con niveles lipídicos subóptimos. Actualmente existen 6 tipos de estatinas:

Lovastatina, pitavastatina, simvastatina, fluvastatina, pravastatina, atorvastatina y rosuvastatina.(45)

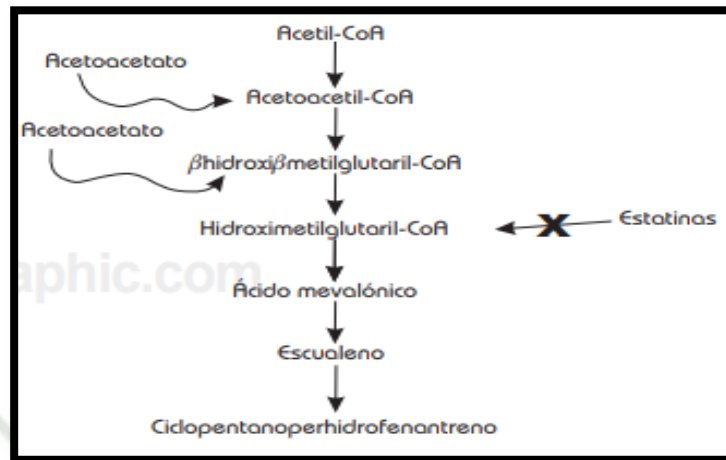


FIGURA N° 8: Biosíntesis del colesterol y mecanismo de acción de las estatinas. Extraído de: <http://www.medigraphic.com/cgibin/new>.(45)

7.5.2. Resinas de intercambio

Actúan impidiendo la reabsorción intestinal de ácidos biliares, aumentando la eliminación de colesterol. Producen un descenso del LDL plasmático.

Indicadas en el hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia mixta, como alternativa a las estatinas o en combinación con ellas. De elección en niños y embarazadas.(46)

Los efectos adversos son de tipo gastrointestinal, bastante frecuentes, por lo que pueden comprometer el cumplimiento terapéutico. Interacción con numerosos fármacos y nutrientes a nivel de absorción.(46)

7.5.3. Fitosteroles

Son lípidos que se encuentran en distintos tipos de pescado y que se pueden ingerir en una dieta equilibrada modifican el perfil lipídico y disminuyen TG plasmáticos. Sus indicaciones clínicas son:

Hipertrigliceridemia endógena, en monoterapia o asociados a estatinas
Tras un infarto de miocardio, en combinación con los tratamientos de
referencia(47)

7.5.4. Fibratos

Actúan estimulando la actividad de la lipoproteína-lipasa, disminuyen el
LDL y sobre todo los triglicéridos plasmáticos son de gran utilidad en las
hipertrigliceridemias e hiperlipidemia mixta con predominio de
hipertrigliceridemia. (48)

Suelen ser bastante útiles en combinación con estatinas en dislipemias
familiares o graves.

Eficacia de los fibratos:

Gemfibrozilo: Ha demostrado reducir la morbimortalidad coronaria frente
a placebo a los 5 años en ensayos de prevención primaria (HHS) y de
prevención secundaria (VA-HIT) frente a placebo.(48)

7.5.5. Ezetimiba

Actúa impidiendo la absorción intestinal de colesterol por un mecanismo
aún desconocido Sus indicaciones clínicas son:

Hipercolesterolemia primario: En monoterapia si no se pueden emplear
estatinas o en combinación con una estatina si ésta no es suficiente.(48)

Hipercolesterolemia familiar homocigótica, en combinación con una
estatina.(48)

Sitosterolemia homocigótica, en monoterapia.(48)

Eficacia de ezetimiba:

Los ensayos clínicos con ezetimiba (sola o asociada a estatinas) son frente
a placebo y de corta duración (6 meses como máximo). Ezetimiba

incrementa la capacidad reductora del LDL de simvastatina cuando se asocia a ella. (48)

La evidencia de eficacia de ezetimiba en hipercolesterolemia familiar homocigótica y en sitosterolemia homocigótica es escasa.(48)

8. SINERGISMO

Es llamado al resultado de la acción de dos o más sustancias que, actuando en conjunto, provocan una respuesta mayor a la suma de los efectos que provocarían por separado. Es la exaltación de la capacidad de control del formulado mediante la adición de una sustancia que aisladamente carece de propiedades fitosanitarias. Sinergismo: La acción de una determinada sustancia se ve favorecida por la presencia de otra.(25)

8.1. TIPOS DE SINERGISMO:

Tipos de sinergismo: Sinergismo de sumación, sinergismo de potenciación y sinergismo de facilitación.(25)

8.1.1. Sinergismo de sumación

La acción combinada de los fármacos es igual a la suma de las acciones individuales de cada fármaco. Ejemplo: Al unir AAS y fenacetina (se obtiene un efecto antipirético de sumación).(25)

$$A (\text{efecto } 1) + B (\text{efecto } 2) = A + B (\text{efecto } 3)$$

Para que exista sinergismo de sumación se necesita que los fármacos sean AGONISTAS, es decir que deben poseer: La misma afinidad (actúan en el mismo receptor). La misma actividad intrínseca (mismo efecto).(25)

8.1.2. Sinergismo de potenciación

La acción combinada de los fármacos es mayor que la suma de las acciones individuales de cada fármaco.(25)

$$A (\text{efecto } 1) + B (\text{efecto } 1) = A + B (\text{efecto } 6)$$

Para que ocurran sinergismo de potenciación los fármacos deben de ser: No agonistas (actuar en diferentes receptores). Produzcan el mismo efecto. El resultado de esta unión se le denomina ISOBOLES DE LEOWE y que sucede al juntar: TRIMETROPIN + SULFAMETOXAZOL el cual potencia su acción aproximadamente 300 veces.(25)

8.1.3. Sinergismo de facilitación

Existe cuando un fármaco inactivo en un sentido puede aumentar cualitativamente o cuantitativamente la respuesta de otro fármaco que si es activo en ese sentido. Por ejemplo, si damos dos fármacos, un fármaco A (efecto nulo) más un fármaco B (efecto 1). Existirá facilitación cuando el efecto de la asociación sea 1 o mayor de 1.(25)

$$A (\text{efecto nulo}) + B (\text{efecto } 1) = A + B > 1$$

8.2. VENTAJAS DEL SINERGISMO

Permite administrar dosis menores de los fármacos. Puede disminuirse y evitarse los efectos secundarios, colaterales o deletéreos de los dos fármacos al administrar dosis menores de fármacos. Puede aliviarse la rapidez de inicio y prolongarse los efectos. Ejemplo: asociar un efecto de acción rápida con otro de acción prolongada, se logra inicio rápido de la acción y duración del efecto.(25)

8.3. SINERGISMO ENTRE ANTIOXIDANTES

El sinergismo se produce cuando dos o más antioxidantes presentes en un sistema muestran un efecto total superior al que se puede estimar por una simple adición de sus acciones individuales. En algunas ocasiones el papel del sinergista consiste en regenerar el antioxidante oxidado mediante una reacción redox que cataliza su paso al estado reducido original. Esto es lo que ocurre entre la vitamina C y la vitamina E, cuando la primera regenera a la segunda, así como entre el betacaroteno y la vitamina C.(25)

En cuanto a la potenciación de sus acciones, la literatura recoge ampliamente el efecto sinérgico entre el selenio y la vitamina E.(25)

También se ha mencionado el de las antocianinas (pigmentos antioxidantes de frutas y verduras) con la vitamina C.(25)

En 1993 Circulation publica cómo in vitro la vitamina E inhibe la oxidación de las LDL, y su acción es superior si se combina con vitamina C y betacaroteno. Tras conocer el papel que juegan los RL en la lesión cardiaca mediada por el mecanismo de isquemia –reperfusión, existe un creciente interés en la posibilidad de que los suplementos con antioxidantes nutricionales puedan tener un efecto cardioprotector. Las investigaciones con modelos animales revelan que la suplementación dietética con vitamina E y ácido alfa lipoico ejerce protección en contra de las lesiones I-R, probablemente debida al sinergismo entre ellos más que por sus cualidades antioxidantes individuales. Por ejemplo, mientras el ácido alfa lipoico es capaz de neutralizar directamente a los RL, también regenera a la vitamina C, que a su vez regenera a la vitamina E durante el estrés oxidativo.(25)

CAPÍTULO II

MATERIALES Y MÉTODOS

1. MATERIALES

1.1. MATERIAL BIOLÓGICO

- ✓ Ratas albinas, de la raza Wistar.

1.2. MATERIAL VEGETAL

- ✓ Fruto de Fresa (*Fragaria ananassa*).
Obtenida del mercado San Camilo de la ciudad de Arequipa.
- ✓ Fruto de Arándano (*Vaccinium corymbosum*).
Obtenida de la distribuidora BEATRIZ, adquiridos en el mercado mayorista #2 de la ciudad de Arequipa.

1.3. EQUIPOS DE LABORATORIO

- ✓ Balanza analítica.
- ✓ Equipo de ultrasonido.
- ✓ Agitador magnético.
- ✓ Equipo centrífuga.
- ✓ Rotavapor.
- ✓ Refrigerador.
- ✓ Espectrofotómetro UV.
- ✓ pH metro.

1.4. MATERIAL DE LABORATORIO

- ✓ Luna de reloj.
- ✓ Espátulas.
- ✓ Mortero de porcelana.
- ✓ Beakers (20, 50, 100, 250 y 1000mL).

- ✓ Probetas (50, 100mL).
- ✓ Matraz Erlenmeyer (50, 100mL).
- ✓ Baguetas.
- ✓ Pizetas.
- ✓ Micropipeta automática (25-250uL).
- ✓ Pipetas (0.5, 1, 5 y 10mL).
- ✓ Propipetas.
- ✓ Tubos de ensayo.
- ✓ Gradilla para tubos de ensayo.
- ✓ Fiolas (5, 10, 25, 100, 250 y 1000mL).
- ✓ Tubos Eppendorf (Merck)

1.5. MATERIAL ANEXO

- ✓ Alcohol 96°.
- ✓ Algodón.
- ✓ Capilares.
- ✓ Sonda orogástrica.
- ✓ Marcador.
- ✓ Barbijos.
- ✓ Guantes quirúrgicos estériles.
- ✓ Campos.
- ✓ Escobillas.
- ✓ Jaulas metálicas para ratas.
- ✓ Bebederos y comedores para ratas.
- ✓ Jeringas de 5mL.
- ✓ Papel aluminio.
- ✓ Frascos ámbar.

1.6. FÁRMACOS Y/O TRATAMIENTO

- ✓ Atorvastatina 10mg (Laboratorios AC Pharma)
- ✓ Extracto de *Fragaria ananassa*.
- ✓ Extracto de *Vaccinium corymbosum*.

- ✓ Extracto de *Fragaria ananassa* + *Vaccinium corymbosum*.
- ✓ Suero fisiológico (placebo).

1.7. REACTIVOS

1.7.1. MÉTODO DE pH DIFERENCIAL (CUANTIFICACIÓN DE ANTOCIANINAS)

- ✓ Ácido clorhídrico.
- ✓ Cloruro de potasio.
- ✓ Ácido acético.
- ✓ Acetato sódico.

1.7.2. MÉTODO FOLIN-CIOCALTEU (FENOLES TOTALES)

- ✓ Agua destilada.
- ✓ Carbonato de sodio.
- ✓ Reactivo Folin-Ciocalteu.
- ✓ Ácido gálico.
- ✓ Alcohol etílico 96°.

1.7.3. MÉTODO CUPRAC (CAPACIDAD ANTIOXIDANTE)

- ✓ Neocuproína.
- ✓ Cloruro de cobre II (CuCl_2).
- ✓ Acetato de amonio.
- ✓ Ácido ascórbico.

1.7.4. DETERMINACIÓN DE PERFIL LIPÍDICO

- ✓ Kit de determinación de Colesterol Total (VALTEK).
- ✓ Kit de determinación de Triglicéridos (VALTEK).

1.8. ÁMBITO DE ESTUDIO

El presente trabajo de investigación se desarrolló en los laboratorios H-101, H-203 y el bioterio de la Universidad Católica de Santa María.

2. MÉTODOS

2.1. ELABORACIÓN DE LOS EXTRACTOS

Para proteger nuestras muestras de la luz se trabajó a oscuras y protegiendo las mismas con papel aluminio.

El proceso se resume en el siguiente flujograma.

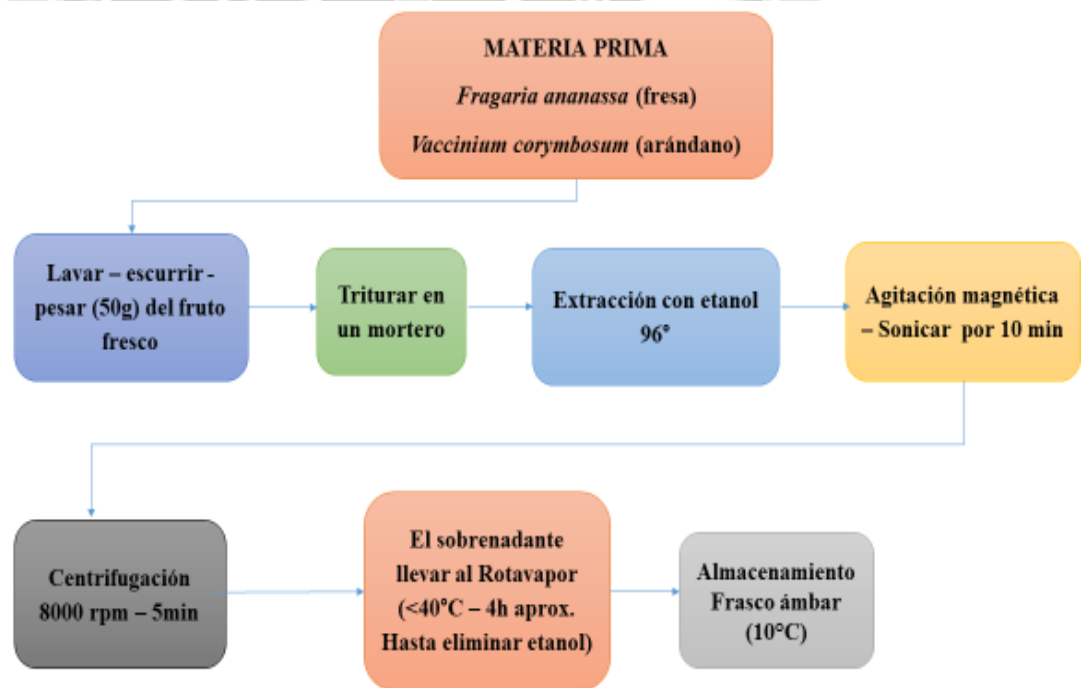


FIGURA N° 9: Flujograma del procedimiento de elaboración de los extractos.

FUENTE: Elaboración propia.

Se realizó la extracción usando etanol de 96°, ya que por bibliografía se obtiene una mejor extracción con dicho solvente.



FIGURA N° 10: Materia prima: *Fragaria ananssa* y *Vaccinium corymbosum*.

Se pesó 50g del fruto (Figura N° 10), y se lavó con agua destilada, seguidamente se enjuagó con etanol, luego se realizó una trituration manual como se puede observar en la Figura N°11, utilizando un mortero de porcelana.

La muestra triturada se colocó en un beacker con 100mL de etanol de 96° y fue llevado al agitador magnético por 10 minutos.



FIGURA N° 11: Trituración en el mortero para la preparación de los frutos.

Luego fue llevado al “sonicador” por un periodo de 10 minutos para extraer la mayor cantidad de metabolitos secundarios.

Posteriormente se llevó a la centrifuga a 8000 rpm durante 5 minutos y se extrae el sobrenadante. Se repite este procedimiento enjuagando el contenido del beacker con etanol hasta que el precipitado del mismo sea incoloro. Posteriormente se recolectó todo el sobrenadante y se llevó al rotavapor como se observa en la Figura N° 12 para concentrar la muestra y así eliminar el exceso de etanol.



FIGURA N° 12: Cada extracto se lleva al rotavapor para eliminar el etanol.



FIGURA N° 13: Extracto de *Vaccinium corymbosum* y *Fragaria ananassa*.

El extracto se almacenó en un frasco ámbar y a una temperatura de 10°C aproximadamente.

2.2. DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN FINAL DEL EXTRACTO

Debido a que nuestra materia prima fue un fruto fresco y nuestro extracto se encontraba en estado líquido, la concentración final del extracto se calculó en base al volumen final obtenido de la siguiente manera:

$$\text{Concentración final del extracto } \left(\frac{\text{g}}{\text{mL}}\right) = \frac{\text{Peso inicial de la materia prima (g)}}{\text{Volumen final obtenido (mL)}}$$

2.3. MÉTODO PARA DETERMINACIÓN DE ANTOCIANINAS

El método se fundamenta en la particularidad de los compuestos antociánicos de adoptar diferentes coloraciones y estructuras a determinados pH, siendo para este método la concentración de antocianinas totales proporcional a la diferencia entre las absorbancias a pH 1 y pH 4.5. (4)

2.3.1. Preparación de los buffers

Se preparó dos soluciones buffer de la siguiente manera:

Buffer pH 4.5: Se pesó 54.43g de CH_3COONa , el cual se disolvió en una fiola de 1000mL con 960mL de agua destilada, posteriormente con el uso de un potenciómetro se llevó a un de pH 4.5 (± 0.1) con HCl, luego se llevó a volumen con agua destilada.

Buffer pH 1.0: Se pesó 1.86g de KCl, el cual se disolvió en una fiola de 1000mL con 960mL de agua destilada, luego con el uso de un potenciómetro se llevó a pH 1.0 utilizando HCl, finalmente se llevó a volumen con agua destilada.

2.3.2. Análisis de la muestra

Se trabajó con el extracto obtenido en el punto N°2 y se realizó las siguientes diluciones:

Extracto de *Fragaria ananassa*: Se realizó una dilución 1 en 80 de la siguiente manera:

50 uL del extracto + 3950 uL del buffer.

Extracto de *Vaccinium corymbosum*: Se realizó una dilución 1 en 160 de la siguiente manera:

25 uL del extracto + 3975 uL del buffer.

Estas diluciones se leyeron a una longitud de onda de 510nm y 700nm por duplicado durante 3 días seguidos como se puede observar en la Figura N° 14.

Para determinar la cantidad de antocianinas (mg) que hay en 100g de fruto se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Antocianinas} \left(\frac{\text{mg}}{100\text{g}} \right) = \frac{A \times PM \times Fd \times 100}{\epsilon \times l}$$

Donde:

A: Corresponde a la absorbancia medida con un espectrofotómetro, o también llamada absorbancia corregida.

El valor “A” se obtiene de la siguiente fórmula:

$$A = (A_{510\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH}1.0} - (A_{510\text{nm}} - A_{700\text{nm}})_{\text{pH}4.5}$$

ϵ : Corresponde a la absorbancia molar (26900).

l: Es la longitud de recorrido en la cubeta del espectrofotómetro (1cm).

PM: Es el peso molecular del pigmento que en este caso es glucósido-3 cianidina (449.2).

Fd: Es el factor de dilución.

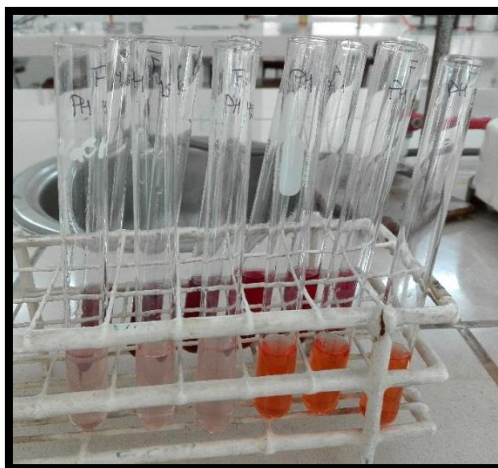


FIGURA N° 14: Diluciones de *Vaccinium corymbosum* y *Fragaria ananassa* por el método de pH diferencial.

2.4. DETERMINACIÓN DE FENOLES TOTALES, FOLIN-CIOCALTEU

El ensayo Folin-Ciocalteu se utiliza como medida del contenido en compuestos fenólicos totales en productos vegetales. Se basa en que los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu, a pH básico, dando lugar a una coloración azul susceptible de ser determinada espectrofotométricamente a 765 nm. Este reactivo contiene una mezcla de wolframato sódico y molibdato sódico en ácido fosfórico y reacciona con los compuestos fenólicos presentes en la muestra. El ácido fosfomolibdotúngstico (formado por las dos sales en el medio ácido), de color amarillo, al ser reducido por los grupos fenólicos da lugar a un complejo de color azul intenso, cuya intensidad es la que medimos para evaluar el contenido en polifenoles.(34)

El mecanismo de reacción es una reacción redox, por lo que además puede considerarse también, como un método de medida de la actividad antioxidante total. La oxidación de los polifenoles presentes en la muestra, causa la aparición de una coloración azulada que presenta un máximo de absorción a 765nm, y que se cuantifica por espectrofotometría en base a una recta patrón de ácido gálico. Se trata de un método preciso y sensible, que puede padecer numerosas variaciones, fundamentalmente en lo relativo a los volúmenes utilizados de la muestra a analizar, concentración de reactivos y tiempo de reacción.(34)

Necesitamos las siguientes soluciones:

- ✓ Solución madre de Ácido Gálico.
- ✓ Carbonato de sodio al 20%.
- ✓ Reactivo de Folin Ciocalteu.
- ✓ Agua destilada.

2.4.1. Preparación de reactivos

a) Solución madre de Ácido Gálico.

Se pesó 10mg de Ácido Gálico y se llevó a fiola de 10mL, posteriormente fue llevado a volumen con agua destilada, lo que nos dio una concentración de 1000ppm.

b) Carbonato de sodio 20%.

Se pesó 20mg de Carbonato de sodio y fue disuelto en 100mL de agua destilada.

2.4.2. Preparación de la gráfica de calibración

De la solución madre de Ácido Gálico se tomaron las siguientes alícuotas: 0.25mL, 0.50mL, 0.75mL, 1mL, 1.5mL y se añade a todos los tubos con excepción del blanco y se procedió a determinar sus concentraciones en ppm (mg/L) de la siguiente manera:

$$C \times V = C_1 \times V_1$$

$$1000\text{ppm} \times 0.25\text{mL} = C_1 \times 25\text{mL}$$

$$C_1 = 10\text{ppm}$$

De la misma manera se realizó el cálculo para preparar los demás estándares y se obtuvo las siguientes concentraciones: 10ppm, 20ppm, 30ppm, 40ppm, 60ppm, como se observa en la Tabla N°5:

TABLA N° 5: Preparación de estándares.

N° de estándar	Alícuota (mL)	cc ppm
St 1	0.25mL	10ppm
St 2	0.50mL	20ppm
St 3	0.75mL	30ppm
St 4	1.00mL	40ppm
St 5	1.50mL	60ppm

FUENTE: Elaboración propia.

A cada una de estas soluciones se añadió 15ml de agua destilada y 1.25ml de reactivo de Folin - Ciocalteu, para luego ser homogenizadas. Después de 5 minutos se adicionó 3.75ml de la solución de carbonato de sodio al 20%, y finalmente se llevó a volumen final de 25mL como se puede observar en la Tabla N° 6 y en la Figura N° 15.

Se dejó las soluciones a oscuridad por 30 minutos antes de leer en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 765nm.

TABLA N° 6: Preparación de la gráfica de calibración de ácido gálico.

Número de patrón.	Blanco (mL)	St1 (mL)	St2 (mL)	St3 (mL)	St4 (mL)	St5 (mL)
Solución estándar de Ácido Gálico.	0	0.25	0.50	0.75	1.00	1.50
Agua destilada.	20.00	19.75	19.50	19.25	19.00	18.50
Folin Ciocalteu.	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25	1.25
Carbonato de sodio 20%	3.75	3.75	3.75	3.75	3.75	3.75

FUENTE: Elaboración propia.

2.4.3. Análisis de las muestras

Se trabajó con el extracto obtenido en el punto 2.1. Para la lectura de la muestra se reemplazó el tubo del estándar N°2 por la muestra del extracto

diluido a analizar y se leyó a una longitud de onda de 765nm, las diluciones se realizaron como se escribe a continuación:

- ✓ Extracto de *Fragaria ananassa*: 1 en 10 (en agua destilada).
- ✓ Extracto de *Vaccinium corymbosum*: 1 en 100 (en agua destilada).



FIGURA N° 15: Fiolas con diferentes concentraciones de ácido gálico.

2.5. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE (CUPRAC)

Este ensayo mide la capacidad antioxidante reductora de los antioxidantes de la muestra. Se utiliza la Neocuproína como agente reductor y se basa en una reducción cúprica de Cu (II) a Cu (I) por la acción de este mismo como agente oxidante cromogénico. El máximo de absorción está a 450nm.(32)

Este método se realiza con el extracto de la muestra previamente obtenido en el paso anterior.

Además, se deben preparar las siguientes soluciones para el desarrollo de la curva de calibración:

- ✓ Cloruro de cobre dihidratado $1 \times 10^{-2} \text{M}$ (disuelto en agua destilada)
- ✓ Acetato de Amonio 1M (disuelto en agua destilada)
- ✓ Neocuproína $7.5 \times 10^{-3} \text{M}$ (disuelto en etanol)

- ✓ Ácido Ascórbico $2 \times 10^{-4} \text{M}$ (disuelto en etanol)

2.5.1. Preparación de la gráfica de calibración

Se dispuso de una batería de 6 tubos y se colocó en cada uno de ellos las siguientes soluciones en el orden mencionado: 1mL de la solución de cloruro de cobre, 1mL del buffer acetato de amonio, 1mL de la solución de neocuproína.

Se añadió 0.25mL, 0.5mL, 1mL, 1.5mL y 2mL de la solución de ácido ascórbico a los tubos 1, 2, 3, 4 y 5 respectivamente y se determinó sus concentraciones en mmol/L de la siguiente manera:

$$C \times V = C_1 \times V_1$$

$$(2 \times 10^{-4} \text{M}) \times 0.25 \text{mL} = C_1 \times 5 \text{mL}$$

$$C_1 = 0.01 \text{mmol/L}$$

De la misma manera se realizó el cálculo para los demás estándares, y se obtuvieron las siguientes concentraciones: 0.01, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 mmol/L como se observa en la Tabla N°7:

TABLA N° 7: Preparación de estándares.

N° de estándar	Alicuota (mL)	Cc mmol/L
St 1	0.25mL	0.01mmol/L
St 2	0.50mL	0.02mmol/L
St 3	1.00mL	0.04mmol/L
St 4	1.50mL	0.06mmol/L
St 5	2.00mL	0.08mmol/L

FUENTE: Elaboración propia.

Luego se añadió 2mL, 1.75mL, 1.5mL, 1mL y 0.5mL de agua a los tubos Blanco, 1, 2, 3 y 4, respectivamente.

El tubo blanco no contiene ácido ascórbico.

Se dejó reposar la batería de tubos a temperatura ambiente y en la oscuridad, por 30 minutos.

Se leyeron las absorbancias a 450nm en el espectrofotómetro.

Este procedimiento se puede resumir en la siguiente Tabla N° 8 y la Figura N° 16.

TABLA N° 8: Preparación para gráfica de calibración de ácido ascórbico.

Número de patrón.	Blanco (mL)	St1 (mL)	St2 (mL)	St3 (mL)	St4 (mL)	St5 (mL)
Cloruro de cobre dihidratado $1 \times 10^{-2} \text{M}$.	1	1	1	1	1	1
Buffer acetato de amonio 1M.	1	1	1	1	1	1
Neocuproína $7.5 \times 10^{-3} \text{M}$.	1	1	1	1	1	1
Ácido ascórbico $2 \times 10^{-4} \text{M}$.	0	0.25	0.50	1	1.50	2
Agua destilada.	2	1.75	1.50	1	0.50	0

FUENTE: Elaboración propia.

2.5.2. Análisis de las muestras

Se trabajó con el extracto obtenido en el punto N°2. Para la lectura de la muestra se reemplazó el tubo del estándar N°2 por la muestra del extracto diluido a analizar y se leyó a una longitud de onda de 450nm, las diluciones se realizaron como se describen a continuación:

- ✓ Extracto de *Fragaria ananassa*: 1 en 10 (en agua destilada).
- ✓ Extracto de *Vaccinium corymbosum*: 1 en 100 (en agua destilada).

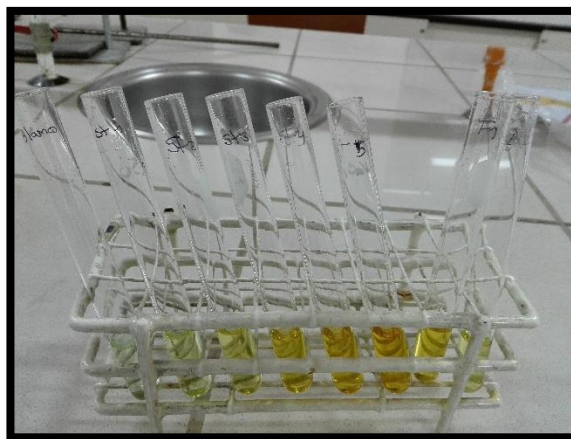


FIGURA N° 16: Tubos de ensayo con diferentes concentraciones de ácido ascórbico.

2.6. ANÁLISIS DEL EFECTO HIPOLIPEMIANTE

La extracción de la muestra sanguínea (1mL aproximadamente) se obtuvo en ayunas, mediante el método de Dartman, que utiliza la punción capilar a nivel del ángulo interno del ojo como se observa en la Figura N°17, las muestras se recolectaron y fueron rotuladas en envases con cierre hermético (Eppendorf).

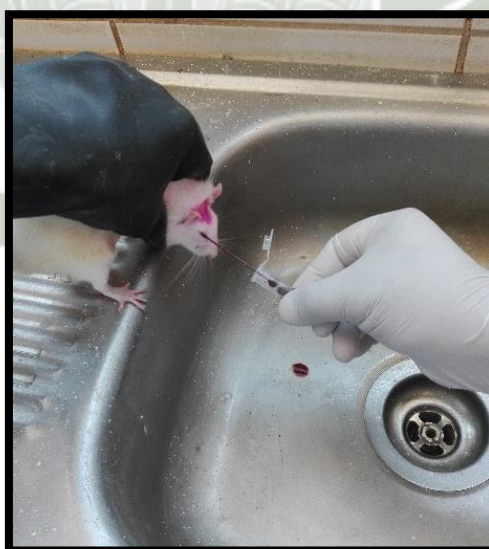


FIGURA N° 17: Obtención de la muestra sanguínea.

Se realizaron 5 tomas de muestra:

- ✓ La primera toma de muestra fue la basal (día 0), la cual fue antes de inducir a la hiperlipidemia; dio a conocer los valores iniciales de Colesterol Total y Triglicéridos de las ratas.
- ✓ La segunda toma de muestra (día 15) sirvió para monitorear si la inducción a la hiperlipidemia venía siendo correcta.
- ✓ La tercera toma de muestra (día 30) sirvió para saber si los valores de Colesterol total y Triglicéridos subieron finalmente de manera significativa para iniciar con el tratamiento hipolipemiente.
- ✓ La cuarta toma de muestra (día 45) ayudó a monitorear el tratamiento realizado con los extractos y el farmacológico.
- ✓ Finalmente, la quinta toma de muestra (día 60) mostró si los valores de Colesterol total y Triglicéridos disminuyeron o no significativamente mediante los tratamientos y se pudo determinar el más apropiado.

2.7. INDUCCIÓN A LA HIPERLIPIDEMIA

Las ratas fueron estandarizadas según su peso y divididas en grupos de 5 en diferentes jaulas con bebederos y comederos, bajo las mismas condiciones ambientales tomando especial énfasis en la alimentación, la cual consistió en una dieta hiperlipídica que consistió de tortillas de sesos de cordero, yemas de huevo y harina como se puede observar en la Figura N°19.

Dicha dieta se proporcionó siempre a la misma hora durante las mañanas durante 30 días (etapa hiperlipemiente).

2.8. GRUPOS DE RATAS

El proceso de inducción a la hiperlipidemia y el posterior tratamiento de las ratas se resumió en la Tabla N°9 y se puede observar en la Figura N°18 y N°19.

TABLA N° 9: Inducción a la hiperlipidemia y Tratamiento hipolipemiente.

Grupos	Inducción a la hiperlipidemia	Tratamiento hipolipemiente	
	Dieta	Dieta	Tratamiento
Grupo 1	Dieta de tortillas de sesos de cordero y yemas de huevo en un peso promedio de 90 -100 g por día la que se les proporcionó siempre a la misma hora y agua.	Dieta habitual (maíz, cebada, trigo y agua).	Según Tabla N°10.
Grupo 2			
Grupo 3			
Grupo 4			
Grupo 5			
Grupo 6			
Grupo 7			

FUENTE: Elaboración propia.

- **Grupo 1 (*Grupo Blanco negativo*)**

Formado por 5 ratas de la raza Wistar, las mismas que sirvieron de control negativo; este grupo fue alimentado con una dieta de sesos de cordero y yemas de huevo por un período de 30 días, a partir de entonces su dieta fue la habitual (maíz, cebada, trigo y agua).

Su tratamiento a partir del día 31 consistió de suero fisiológico (placebo), hasta finalizar el estudio (día 60).

- **Grupo 2 (*Grupos *Fragaria ananassa* I*)**

Formado por 5 ratas de la raza Wistar, este grupo fue alimentado con una dieta de sesos de cordero y yemas de huevo por un período de 30 días, a partir de entonces su dieta fue la habitual (maíz, cebada, trigo y agua).

Su tratamiento a partir del día 31 consistió de una administración por vía oral de la solución del extracto de *Fragaria ananassa* a una dosis de 1.5 mg/g/día, antes de la comida hasta el final del estudio (día 60).

- **Grupo 3 (*Grupo Fragaria ananassa II*)**

Formado por 5 ratas de la raza Wistar, este grupo fue alimentado con una dieta de sesos de cordero y yemas de huevo por un período de 30 días, a partir de entonces su dieta fue la habitual (maíz, cebada, trigo y agua).

Su tratamiento a partir del día 31 consistió de una administración por vía oral de la solución del extracto de *Fragaria ananassa* a una dosis de 3 mg/g/día, antes de la comida hasta el final del estudio (día 60).

- **Grupo 4 (*Grupo Vaccinium corymbosum I*)**

Formado por 5 ratas de la raza Wistar, este grupo fue alimentado con una dieta de sesos de cordero y yemas de huevo por un período de 30 días, a partir de entonces su dieta fue la habitual (maíz, cebada, trigo y agua).

Su tratamiento a partir del día 31 consistió de una administración por vía oral de la solución del extracto de *Vaccinium corymbosum* a una dosis de 1.5 mg/g/día, antes de la comida hasta el final del estudio (día 60).

- **Grupo 5 (*Grupo Vaccinium corymbosum II*)**

Formado por 5 ratas de la raza Wistar, este grupo fue alimentado con una dieta de sesos de cordero y yemas de huevo por un período de 30 días, a partir de entonces su dieta fue la habitual (maíz, cebada, trigo y agua).

Su tratamiento a partir del día 31 consistió de una administración por vía oral de la solución del extracto de *Vaccinium corymbosum* a una dosis de 3 mg/g/día, antes de la comida hasta el final del estudio (día 60).

- **Grupo 6 (*Grupo sinergismo; Fragaria Ananassa II y Vaccinium Corymbosum II*)**

Formado por 5 ratas de la raza Wistar, este grupo fue alimentado con una dieta de sesos de cordero y yemas de huevo por un período de 30 días, a partir de entonces su dieta fue la habitual (maíz, cebada, trigo y agua).

Su tratamiento a partir del día 31 consistió de una administración por vía oral de la solución del extracto de *Fragaria ananassa* + *Vaccinium corymbosum* a una dosis de 3 mg/g/día, antes de la comida hasta el final del estudio (día 60).

- **Grupo 7 (Grupos tratado con atorvastatina)**

Formado por 5 ratas de la raza Wistar, este grupo fue alimentado con una dieta de sesos de cordero y yemas de huevo por un período de 30 días, a partir de entonces su dieta fue la habitual (maíz, cebada, trigo y agua).

Su tratamiento a partir del día 31 consistió de una administración por vía oral de Atorvastatina 10mg, a una dosis de 0.06 mg/kg/día, antes de la comida hasta el final del estudio (día 60).

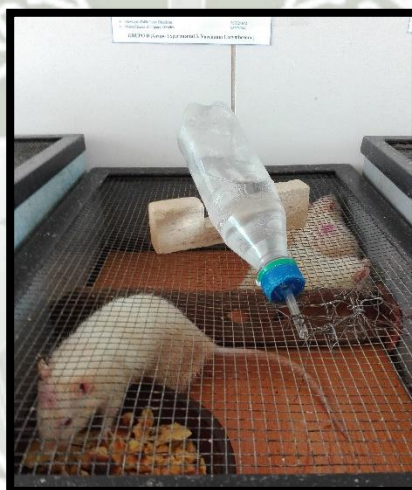


FIGURA N° 18: Alimentación con la dieta hiperlipídica.



FIGURA N° 19: Dieta hiperlipídica de los animales de experimentación.

2.9. ADMINISTRACIÓN DEL TRATAMIENTO Y DIETA

La administración del tratamiento se resumió en la Tabla N°10:

TABLA N° 10: Tratamiento con los extractos.

Grupos	Tratamiento	Dosis
Grupo 1	Blanco (-).	Placebo (suero fisiológico)
Grupo 2	Extracto de <i>Fragaria ananassa I.</i>	1.5mg/g/día
Grupo 3	Extracto de <i>Fragaria ananassa II.</i>	3mg/g/día
Grupo 4	Extracto de <i>Vaccinium corymbosum I.</i>	1.5mg/g/día
Grupo 5	Extracto de <i>Vaccinium corymbosum II.</i>	3mg/g/día
Grupo 6	Sinergismo (Extracto de <i>Vaccinium corymbosum II</i> + Extracto de <i>Vaccinium corymbosum II</i>).	3/3mg/g/día
Grupo 7.	Blanco (+) Atorvastatina.	0.06mg/kg/día

FUENTE: Elaboración propia.

La administración del tratamiento se realizó en horas de la mañana y los extractos fueron disueltos en 2mL de suero fisiológico y administrados mediante una sonda orogástrica en dosis calculadas según el peso de cada rata, como se observa en la Tabla N°10.

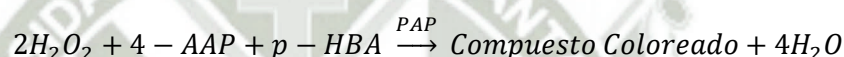
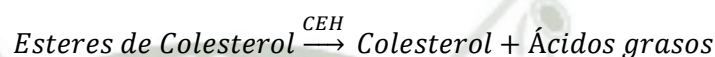


FIGURA N° 20: Dosis de administración.

2.10. DETERMINACIÓN DE PERFIL LIPÍDICO

2.10.1. Determinación de Colesterol Total

El colesterol se determina por acción de las enzimas Colesterol ester hidrolasa y Colesterol oxidasa. La primera libera el colesterol de los ésteres de colesterol, y la segunda oxida el colesterol libre produciéndose peróxido de hidrógeno, el cual en presencia de la enzima peroxidasa reacciona con el sistema cromogénico dando origen a un compuesto coloreado que absorbe a 505 nm.



Técnica: Para la determinación de colesterol total se utilizará el siguiente procedimiento:

TABLA N° 11: Procedimiento para la determinación de colesterol total.

	Blanco	Estándar	Muestra
Muestra (mL)	-	-	0.01
Estándar (mL)	-	0.01	-
Reactivo (mL)	1.00	1.00	1.00

FUENTE: Elaboración propia.

Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C. ó 10 minutos a temperatura ambiente (>20°C.). Leer las absorbancias llevando a cero el espectrofotómetro con el blanco de reactivo. El color resultante es estable por a lo menos treinta minutos.

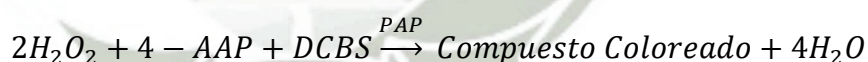
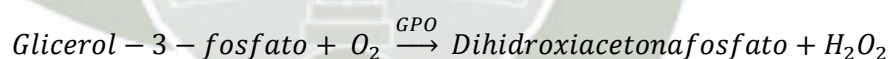
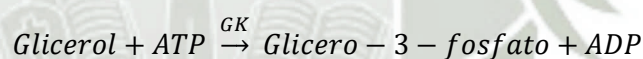
CÁLCULOS

$$\text{Factor} = \frac{\text{Concentración estándar}}{\text{Abs. estándar}}$$

$$\text{Colesterol Total (mg/dL)} = \text{Factor} \times \text{Abs. Muestra}$$

2.10.2. Determinación de Triglicéridos

Los triglicéridos son hidrolizados por una lipasa específica liberando ácidos grasos y glicerol. El glicerol es fosforilado por la enzima glicerolquinasa y posteriormente, el glicerol-1-fosfato es oxidado a dihidroxiacetona fosfato por la enzima glicerol-fosfato oxidasa, generándose peróxido de hidrógeno. Posteriormente el peróxido de hidrógeno reacciona con 4- Aminoantipirina y el ácido 3,5-Dicloro-2-Hidroxi-bencensulfónico para producir por medio de la enzima peroxidasa un compuesto coloreado en cantidad proporcional a la concentración de triglicéridos presente en la muestra, midiéndose la absorbancia a 520 nm.



Técnica: Para la determinación de triglicéridos se utilizará el siguiente procedimiento:

TABLA N° 12: Procedimiento para la determinación de triglicéridos.

	Blanco	Estándar	Muestra
Muestra (mL)	-	-	0.01
Estándar (mL)	-	0.01	-
Reactivo (mL)	1.00	1.00	1.00

FUENTE: Elaboración propia.

Mezclar e incubar 5 minutos a 37°C. o temperatura ambiente (20° a 25°C.).
Leer las absorbancias llevando a cero el espectrofotómetro con el blanco
de reactivo. El color resultante es estable por a lo menos treinta minutos.

CÁLCULOS

$$\text{Factor} = \frac{\text{Concentración estándar}}{\text{Abs. estándar}}$$

$$\text{Triglicéridos (mg/dL)} = \text{Factor} \times \text{Abs. Muestra}$$

2.11. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para los ensayos de determinación de antocianinas, se halló el promedio, desviación estándar y coeficiente de variación de las mediciones realizadas. Para observar si existen diferencias significativas, entre las muestras de los extractos, se realizaron análisis estadísticos con la prueba t de student a un nivel de significancia del 95% ($p < 0.05$).

Para determinar la efectividad de la inducción al estado hiperlipemiente, así como la del tratamiento se realizó la prueba de ANOVA (Análisis de Varianza) con un nivel de significancia del 95% ($p < 0.05$) para evaluar si existe variabilidad de los niveles de Colesterol Total y Triglicéridos de cada grupo durante el estudio, así como una comparación entre los grupos en cada fase del estudio. Para esto se realizó el Test de Tuckey.

Los análisis estadísticos se hicieron en el programa Minitab v.2018.

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS

Como se mencionó en el capítulo anterior se utilizó 50g de cada fruto se preparó el extracto asistido por ondas ultrasónicas durante 10 minutos, luego se llevó a la centrifuga durante 5 minutos a 8000 rpm y se enjuago con etanol entre 5 a 8 veces aproximadamente hasta obtener un precipitado incoloro-blanquesino, lo que indicó la extracción total de antocianinas.

El gasto de etanol se explica en la siguiente Tabla N° 13:

TABLA N° 13: Gasto de etanol para la extracción total.

Extracto	Gasto de etanol (mL)
<i>Fragaria ananassa</i>	225
<i>Vaccinium corymbosum</i>	345

FUENTE: Elaboración propia.

Finalmente se concentró el extracto al recuperar el sobrenadante con ayuda del Rotavapor, y se dejó en la campana de extracción para disminuir el exceso de etanol y finalmente se obtuvo los volúmenes indicados en la Tabla N°14:

TABLA N° 14: Concentración final de extracto.

Extracto	Volumen final (mL)
<i>Fragaria ananassa</i>	15
<i>Vaccinium corymbosum</i>	18

FUENTE: Elaboración propia.

Determinación de la concentración final del extracto:

Aplicando la fórmula presentada en el capítulo anterior en el punto “2.2”, para la determinación de la concentración final del extracto (g/mL), se obtuvo los siguientes resultados:

Fragaria ananassa: 3.33 g/mL

Vaccinium corymbosum: 2.78 g/mL

2. CUANTIFICACIÓN DE ANTOCIANINAS:

Para la cuantificación de antocianinas se realizó las diluciones del extracto obtenido con los buffers a pH 1 y pH 4.5 como se mencionó en el Capítulo anterior y en la Tabla N° 15 se presentan los valores promedio de las absorbancias leídas por duplicado en tres días seguidos.

TABLA N° 15: Absorbancia de las diluciones.

Extracto / días	Día 1		Día 2		Día 3	
	510 nm	700 nm	510 nm	700 nm	510 nm	700 nm
<i>Fragaria ananassa</i> pH 1	0.3022	0.0251	0.2866	0.0234	0.2864	0.0238
<i>Fragaria ananassa</i> pH 4.5	0.0823	0.0386	0.0826	0.0312	0.0853	0.0377
<i>Vaccinium corymbosum</i> pH 1	1.7602	0.0416	1.7285	0.0398	1.7666	0.0432
<i>Vaccinium corymbosum</i> pH 4.5	0.3264	0.0802	0.3181	0.0787	0.3352	0.0797

FUENTE: Elaboración propia.

En la Tabla N° 16, se calculó la absorbancia corregida (“A”), donde “A” se obtuvo sustrayendo el valor corregido obtenido a pH 1 del valor corregido obtenido a pH 4,5; más detallado en la siguiente fórmula:

$$A = (A_{510nm} - A_{700nm})_{pH1.0} - (A_{510nm} - A_{700nm})_{pH4.5}$$

TABLA N° 16: Absorbancia corregida.

Extracto / días	Día 1	Día 2	Día 3
<i>Fragaria ananassa</i>	0.2334	0.2118	0.2150
<i>Vaccinium corymbosum</i>	1.4724	1.4493	1.4679

FUENTE: Elaboración propia.

Luego de desarrollada la cuantificación de antocianinas por duplicado y durante tres días seguidos de los extractos de *Fragaria ananassa* (fresa) y *Vaccinium corymbosum* (arándano), los resultados fueron expresados en mg/100g teniendo como referencia la cianidina-3-glucósido con el uso de la fórmula explicada en el capítulo anterior en el punto “2.3.2”.

La concentración promedio de antocianinas encontradas en los extractos de *Fragaria ananassa* (fresa) y *Vaccinium corymbosum* (arándano) se puede observar en la Tabla N°17:

TABLA N° 17: Determinación de la concentración de antocianinas durante 3 días consecutivos.

Extracto / días	Día 1 (mg/100g)	Día 2 (mg/100g)	Día 3 (mg/100g)	Promedio (mg/100g)	Desviación estándar
<i>Fragaria ananassa.</i>	31.18	28.29	28.72	29.40	1.56
<i>Vaccinium corymbosum.</i>	393.40	387.23	392.20	390.94	3.27

FUENTE: Elaboración propia.

Se pudo observar en la Figura N°21, que la cantidad de antocianinas del extracto de *Vaccinium corymbosum* (arándano) fue bastante mayor que de la *Fragaria ananassa* (fresa).

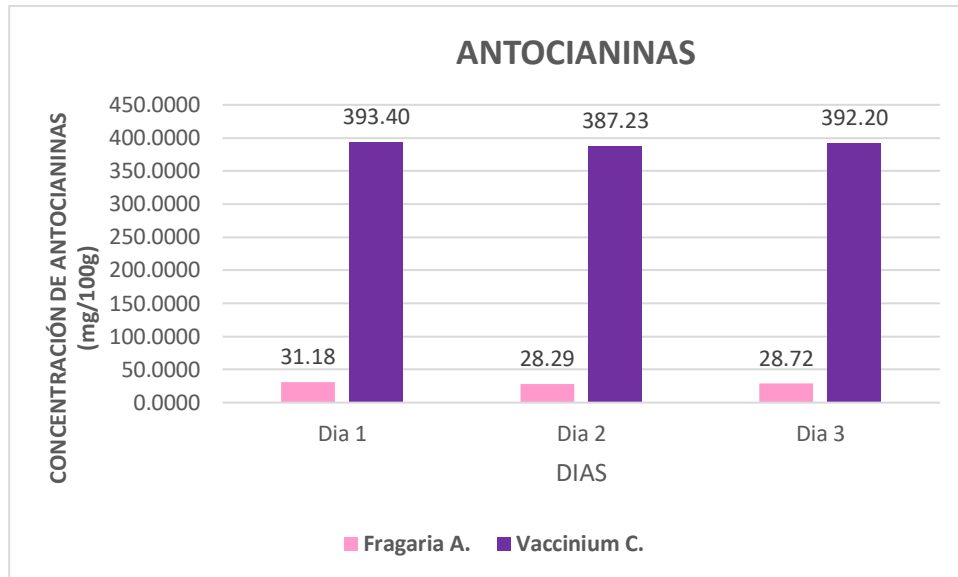


FIGURA N° 21: Comparación de las concentraciones de antocianinas durante tres días seguidos de los extractos de *Fragaria ananassa* y *Vaccinium corymbosum*.

Se realizó una evaluación estadística con la prueba de t-student de los valores de antocianinas/100g de cianidina-3-glucósido encontrados en los extractos de *Fragaria ananassa* y *Vaccinium corymbosum* como se observa en la Tabla N°18:

TABLA N° 18: Estimación de la diferencia.

Diferencia de promedios	IC de 95% para la diferencia
-361.55	(-370.55; -352.54)

FUENTE: Elaboración propia.

Prueba t-student:

Hipótesis nula: $H_0: \mu_1 - \mu_2 = 0$

Hipótesis alterna $H_1: \mu_1 - \mu_2 \neq 0$

Valor T: -172.80

Grados de libertad: 2

Valor p: 3.36×10^{-9}

Se pudo observar que el valor p es 3.36×10^{-9} , mientras que el valor T es -172.80 por lo que se acepta la Hipótesis alterna que nos indica que existe una diferencia altamente significativa en un nivel de confianza del 95% entre los resultados de la cantidad de antocianinas encontrados en ambos extractos donde el extracto de *Vaccinium corymbosum* es aproximadamente 13 veces mayor que el del extracto de *Fragaria ananassa*.

Juan Edson Villanueva en el año 2010, realizó la determinación de antocianinas en la cáscara de *Myrciaria dubia* (camu-camu), el estudio fue realizado en la UNAS, Huanuco, Perú, y sus resultados fueron de 46.42 mg.L^{-1} expresados en cianidina-3-glucósido, que realizando la conversión para compararlo con lo hallado en el presente proyecto es igual a 4.462 mg/100g . De acuerdo a estos resultados, la cantidad de antocianinas encontradas en el extracto de *Fragaria ananassa* fue de 29.40 mg/100g que comparado con el *Myrciaria dubia* (camu-camu) es aproximadamente 7 veces mayor que este último, mientras que la cantidad de antocianinas encontradas en el extracto de *Vaccinium corymbosum* fue de 390.94 mg/100g que comparado con lo encontrado en la cáscara de camu-camu es aproximadamente 84 veces mayor en su contenido de antocianinas, esto puede ser debido a que ellos tomaron muestra de la cáscara y en el presente proyecto se trabajó tanto con la cáscara como con la pulpa del fruto. (49)

Camacho Valencia Dongo en el año 2013, realizó un estudio para evaluar el contenido de antocianinas por el método del pH diferencial del *Rubus robustus* (zarzamora), el estudio fue realizado en la UCSM, Arequipa, Perú, donde los resultados fueron de 52 mg/100g expresados en cianidina-3-glucosido de *Rubus robustus* liofilizado. De acuerdo a éstos resultados, los extractos de *Fragaria ananassa* (29.40 mg/100g) presentó menor cantidad de antocianinas comparado con el *Rubus robustus* (zarzamora) liofilizado, en cambio el *Vaccinium corymbosum* (390.94 mg/100g) presentó resultados muy superiores de antocianinas al del *Rubus robustus* (zarzamora) liofilizado. (39)

3. DETERMINACIÓN DE FENOLES TOTALES.

Se preparó inicialmente la gráfica de calibración con ácido gálico durante tres días seguidos en un rango de concentración de 10-60 ppm obteniendo absorbancias promedio en un rango de 0.1491 - 0.8528, con un Coeficiente de variación menor al 5%, lo cual indicó una homogeneidad de los resultados, dichos resultados se pueden observar en la Tabla N°19:

TABLA N° 19: Resultados de absorbancia de las gráficas de calibración.

ppm mg/L	Día 1	Día 2	Día 3	Promedio	Desviación	C.V.
10	0.1520	0.1498	0.1454	0.1491	0.0034	2.2544
20	0.3214	0.3145	0.3130	0.3163	0.0045	1.4164
30	0.4430	0.4326	0.4156	0.4304	0.0138	3.2137
40	0.5824	0.5712	0.5491	0.5676	0.0169	2.9855
60	0.8602	0.8574	0.8408	0.8528	0.0105	1.2296

FUENTE: Elaboración propia.

Con los datos conseguidos se relacionó las absorbancias con los estándares en un plano de coordenadas obteniendo que la gráfica de calibración es lineal puesto que el valor R^2 es igual a 0.9981 que es mayor a 0.99; como se pudo observar en la figura N° 22.

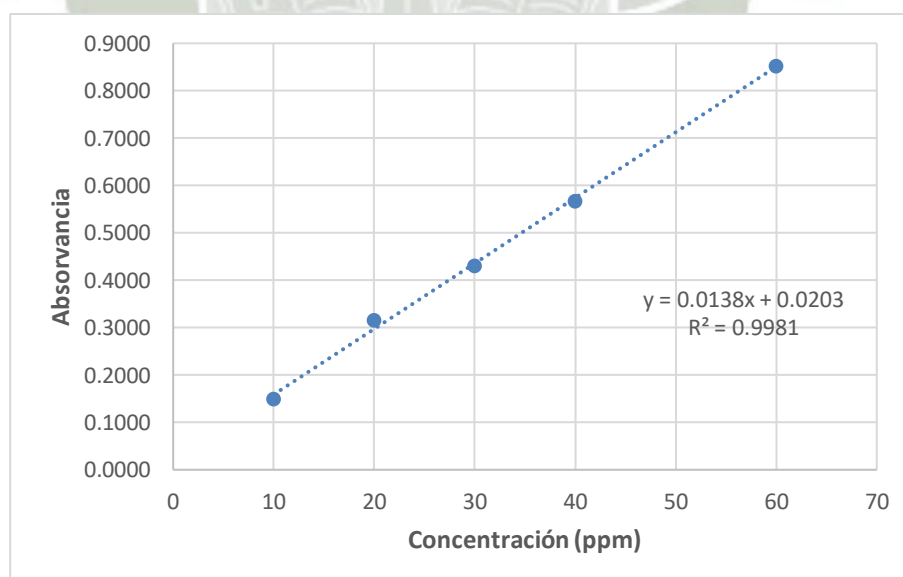


FIGURA N°22: Gráfica de calibración.

3.1. ANÁLISIS DE MUESTRA

Seguidamente se relacionaron las lecturas de las muestras previamente diluidas como fue comentado en el capítulo anterior en el punto “2.4.3”, los cuales mostraron absorbancias plasmadas en la Tabla N°20:

TABLA N° 20: Promedio de las absorbancias durante tres días seguidos.

Extracto	Día 1	Día 2	Día 3	Promedio	Desviación estándar	C.V.
<i>Fragaria ananassa</i>	0.6908	0.7001	0.6878	0.6978	0.0048	0.6929
<i>Vaccinium corymbosum</i>	0.1885	0.1959	0.1929	0.1924	0.0037	1.9466

FUENTE: Elaboración propia.

En las absorbancias encontradas durante los análisis de los extractos realizados se pudo encontrar un coeficiente de variación inferior a 5% lo cual indicó una buena homogeneidad de los resultados.

3.2. LÍMITES DE DETECCIÓN

Para la determinación de los límites de detección y cuantificación se realizó el siguiente cálculo llevando la concentración a 0.

Para calcular **Y_{bl}** se lleva la concentración igual a 0.

$$y = 0.0138 (0) + 0.0203$$

$$\mathbf{Y_{bl} = 0.0203}$$

Con la desviación estándar obtenida para cada nivel de concentración trabajado se calculó la recta correspondiente a la concentración con la desviación estándar como se observa en la Figura N°23.

Para la determinación de **S_{bl}** se tiene que relacionar la Concentración con la Desviación Estándar y nos dió la siguiente ecuación:

$$y = 0.0002x + 0.0039$$

Finalmente se determinó el cálculo de la Desviación Estándar de la absorbancia a la concentración 0:

$$y = 0.0002 (0) + 0.0039$$

$$S_{bl} = 0.0039$$

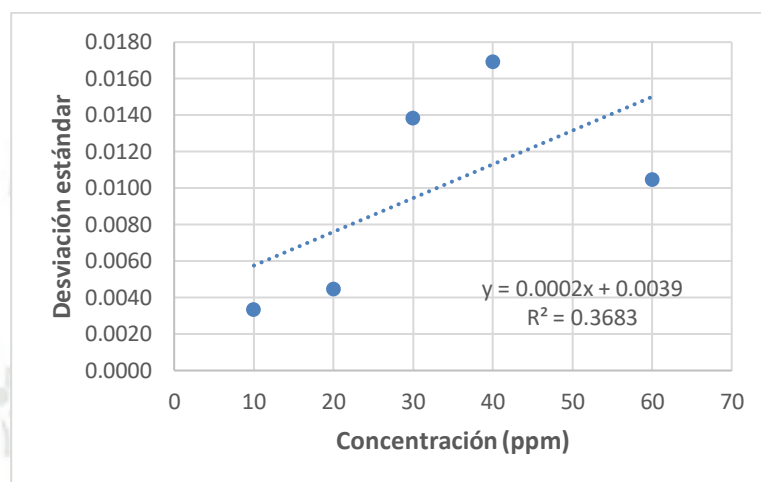


FIGURA N° 23: Concentración vs la desviación estándar.

Determinación de los Límites de detección:

$$LDD = \frac{Y_{bl} + 3 S_{bl}}{b} \times \frac{1}{\sqrt{n}}$$

$$LDD = \frac{0.0203 + 3(0.0039)}{0.0138} \times \frac{1}{\sqrt{5}}$$

$$LDD = 1.04 \text{ ppm}$$

Determinación de los Límites de Cuantificación:

$$LDQ = \frac{Y_{bl} + 10 S_{bl}}{b} \times \frac{1}{\sqrt{n}}$$

$$LDQ = \frac{0.0203 + 10(0.0039)}{0.0138} \times \frac{1}{\sqrt{5}}$$

$$LDQ = 1.92 \text{ ppm}$$

El límite de detección obtenido fue de 1.04ppm lo que nos indica que a esta concentración el analito puede ser detectado por el espectrofotómetro.

El límite de cuantificación obtenido fue de 1.92ppm lo que nos indica que a esta concentración el analito puede ser cuantificado.

3.3. RESULTADO DE LA MUESTRA

Realizando los cálculos obtenemos los resultados de fenoles totales de los extractos de *Fragaria ananassa* y *Vaccinium corymbosum* en equivalentes de Ácido gálico como se puede observar en la Tabla N° 21:

TABLA N° 21: Cuantificación de fenoles totales por el método Folin - Ciocalteu.

Extracto	Equivalente de Ácido gálico/50g de fruto
<i>Fragaria ananassa.</i>	368.21mg
<i>Vaccinium corymbosum.</i>	1122.39mg

FUENTE: Elaboración propia.

Se pudo observar que la cantidad de fenoles totales de *Vaccinium corymbosum* fue aproximadamente 3 veces mayor que de la *Fragaria ananassa*.

Juan Edson Villanueva en el 2010, en la UNAS, Huánuco, Perú realizó un estudio de fenoles totales, en la cáscara de *Myrciaria dubia* (camu-camu), y encontró resultados que fueron de 6.02 mg GAE/g, lo cual equivale a 301mg GAE/50g de fruto, de acuerdo a estos resultados los extractos de *Fragaria ananassa* y el *Vaccinium corymbosum* presentaron mayor cantidad de fenoles totales que el de *Myrciaria dubia* (camu-camu). (49)

4. DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE CUPRAC.

Se preparó inicialmente la gráfica de calibración con ácido ascórbico durante tres días seguidos en un rango de concentración de 0.01 - 0.08mmol/L obteniendo absorbancias promedio en un rango de 0.1354 - 1.4905, con un Coeficiente de variación menor al 5%, lo cual indicó una homogeneidad de los resultados, dichos resultados se pueden observar en la Tabla N°22:

TABLA N° 22: Resultados de absorbancia de las gráficas de calibración de ácido ascórbico.

cc mmol/L	Día 1	Día 2	Día 3	Promedio	Desviación	CV
0.01	0.1372	0.1334	0.1356	0.1354	0.0019	1.4091
0.02	0.3163	0.3301	0.3283	0.3249	0.0075	2.3090
0.04	0.7237	0.6786	0.7021	0.7015	0.0226	3.2156
0.06	1.0848	1.0120	1.0645	1.0538	0.0376	3.5651
0.08	1.5300	1.4553	1.4863	1.4905	0.0375	2.5179

FUENTE: Elaboración propia.

Con los datos conseguidos se relacionó las absorbancias con los estándares en un plano de coordenadas obteniendo nuestra curva de calibración es lineal puesto que el valor R^2 es 0.9987 que es mayor a 0.99; como se pudo observar en la Figura N° 24.

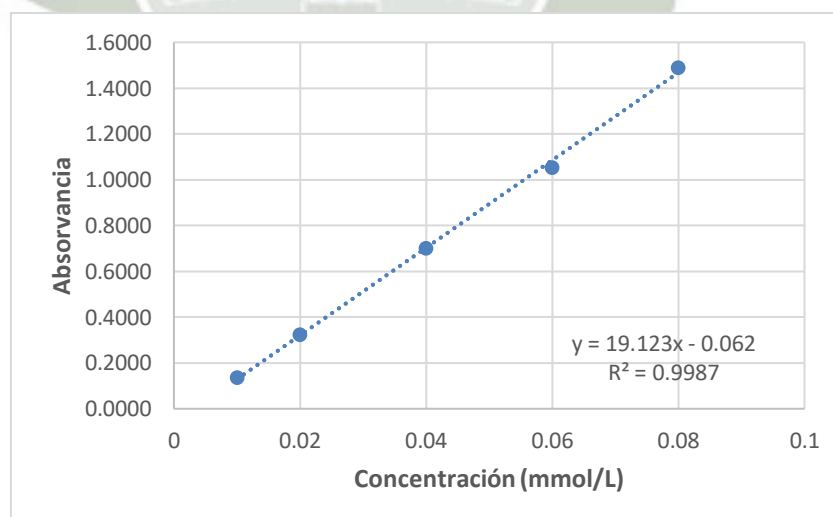


FIGURA N° 24: Gráfica de calibración.

4.1. ANÁLISIS DE MUESTRA

Seguidamente se relacionaron las lecturas de las muestras previamente diluidas como fue comentado en el capítulo anterior en el punto “2.5.2”, los cuales mostraron absorbancias plasmadas en la Tabla N°23:

TABLA N° 23: Promedio de las absorbancias durante tres días seguidos.

Extracto	Día 1	Día 2	Día 3	Promedio	Desviación estándar	C.V.
<i>Fragaria ananassa</i>	0.8908	0.8930	0.8841	0.8893	0.0046	0.5213
<i>Vaccinium corymbosum</i>	0.2884	0.2861	0.2859	0.2868	0.0014	0.4844

FUENTE: Elaboración propia.

En las absorbancias encontradas durante los análisis de los extractos realizados se pudo encontrar un coeficiente de variación inferior a 5% lo cual indicó una buena homogeneidad de los resultados.

4.2. LÍMITES DE DETECCIÓN

Para la determinación de los límites de detección y cuantificación se realizó el siguiente cálculo llevando la concentración a 0.

Para calcular **Y_{bl}** se lleva la concentración igual a 0.

$$y = 19.123 (0) - 0.062$$

$$\mathbf{Y_{bl} = 0.062}$$

Con la desviación estándar obtenida para cada concentración trabajada se calculó la recta correspondiente a la concentración vs la desviación estándar como se observa en la Figura N° 25.

Para la determinación de **S_{bl}** se tiene que relacionar la Concentración con la Desviación Estándar y nos dió la siguiente ecuación:

$$y = 0.5583x - 0.002$$

Finalmente determinamos el cálculo de la Desviación Estándar de la absorbancia a la concentración 0:

$$y = 0.5583 (0) - 0.002$$

$$S_{bl} = 0.002$$

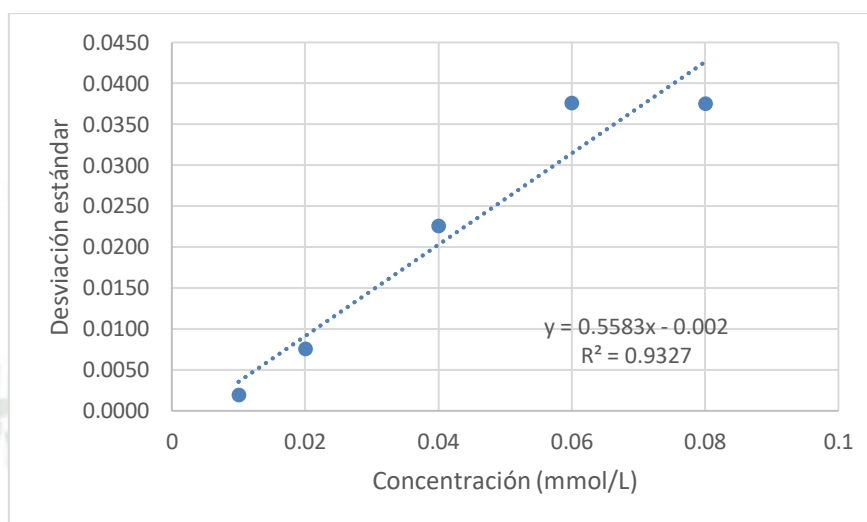


FIGURA N° 25: Concentración vs la desviación estándar.

Determinación de los Límites de detección:

$$LDD = \frac{Y_{bl} + 3 S_{bl}}{b} \times \frac{1}{\sqrt{n}}$$

$$LDD = \frac{0.062 + 3(0.002)}{19.123} \times \frac{1}{\sqrt{5}}$$

$$LDD = 0.0016 \text{ mmol/L}$$

Determinación de los Límites de Cuantificación:

$$LDQ = \frac{Y_{bl} + 10 S_{bl}}{b} \times \frac{1}{\sqrt{n}}$$

$$LDQ = \frac{0.062 + 10(0.002)}{19.123} \times \frac{1}{\sqrt{5}}$$

$$LDQ = 0.0019 \text{ mmol/L}$$

El límite de detección obtenido fue de 0.0016mmol/L lo que nos indica que a esta concentración el analito puede ser detectado por el espectrofotómetro.

El límite de cuantificación obtenido fue de 0.0019mmol/L lo que indicó que a esta concentración el analito puede ser cuantificado.

4.3. RESULTADO DE LA MUESTRA

Realizando los cálculos obtenemos los resultados de la capacidad antioxidante de los extractos de *Fragaria ananassa* y *Vaccinium corymbosum* en equivalentes de Ácido Ascórbico como se puede observar en la Tabla N° 24:

TABLA N° 24: Capacidad antioxidante por el método CUPRAC.

Extracto	Equivalente de Ácido ascórbico/50g de fruto
<i>Fragaria ananassa.</i>	0.0747mmol
<i>Vaccinium corymbosum.</i>	0.3276mmol

FUENTE: Elaboración propia.

Como se pudo observar la capacidad antioxidante del *Vaccinium corymbosum* es aproximadamente 4 veces mayor que de la *Fragaria ananassa*.

Cristal Danae Mixcan Martinez en el año 2015, en la UCSM, Arequipa, Perú determinó la capacidad antioxidante mediante el método de CUPRAC en diez clones mejorados de papa nativa (*Solanum tuberosum* sp.) de la región cusco donde la mayor capacidad antioxidante que se encontró en uno de sus clones fue de 42.85umol de ácido ascórbico/100g de muestra, que es igual a 0.0214 mmol/50g de muestra teniendo menor capacidad antioxidante que la *Fragaria ananassa* y el *Vaccinium corymbosum*.(50)

5. EVALUACIÓN DEL EFECTO HIPOLIPEMIANTE

5.1. EVALUACIÓN DE LA INDUCCIÓN A LA HIPERLIPIDEMIA Y TRATAMIENTO DE LOS DIVERSOS GRUPOS (COLESTEROL TOTAL)

Se realizó el análisis estadístico de cada grupo de estudio durante el proceso de inducción a la hiperlipidemia (Basal-día 30) y posteriormente se evaluó la eficacia de cada tratamiento que comenzó el día 31.

5.1.1. Grupo 1: Blanco negativo.

TABLA N° 25: Grupo 1: Blanco negativo.

Grupo 1	COLESTEROL TOTAL (mg/dL)			
N° Rata / Días	Basal	30	45	60
1	72.00	114.00	116.00	115.00
2	68.00	115.00	114.00	112.00
3	65.00	112.00	115.00	114.00
4	73.00	120.00	118.00	116.00
5	69.00	117.00	119.00	118.00
n	5	5	5	5
\bar{x}	69.40	115.60	116.40	115.00
s	3.21	3.05	2.07	2.24
Valor F	370.57			
Valor p	5.4×10^{-15}			
Tuckey	B	A	A	A
	Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.			

FUENTE: Elaboración propia.

Se realizó el análisis de varianza en un nivel de confianza al 95% donde se encontró que el valor $p < 0.01$, lo que indicó que existe diferencia altamente significativa como se observa en la Tabla N°25.

Luego se realizó el análisis estadístico por el método de Tukey donde se encontró que la toma de muestra Basal difiere significativamente de los demás días en un nivel de confianza al 95%, y que los niveles de Colesterol

Total se incrementaron en un 66.57% durante la inducción a la hiperlipidemia, lo que demostró que la inducción a la hiperlipidemia tuvo éxito, mientras que en las tomas de muestra del día 30, 45 y 60 no existe diferencia significativa, lo cual indicó que los niveles de Colesterol Total se mantuvieron a pesar de la dieta, sin disminuir ni incrementarse de manera significativa.

5.1.2. Grupo 2: *Fragaria ananassa* 1.5 mg/g/día

TABLA N° 26: Grupo 2: *Fragaria ananassa* 1.5 mg/g/día

Grupo 2 N° Rata / Días	COLESTEROL TOTAL (mg/dL)			
	Basal	30	45	60
1	76.00	121.00	104.00	63.00
2	65.00	113.00	97.00	59.00
3	68.00	115.00	101.00	64.00
4	72.00	118.00	99.00	62.00
5	59.00	109.00	92.00	57.00
n	5	5	5	5
\bar{x}	68.00	115.20	98.60	61.00
s	6.52	4.60	4.51	2.92
Valor F	141.26			
Valor p	1×10^{-11}			
Tuckey	C	A	B	C
	Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.			

FUENTE: Elaboración propia.

Se realizó el análisis de varianza en un nivel de confianza al 95% donde se encontró que el valor $p < 0.01$, lo que indicó que existe diferencia altamente significativa como se observa en la Tabla N°26.

Luego se realizó el análisis estadístico por el método de Tukey donde se encontró que la toma de muestra Basal difiere significativamente de la del día 30 en un nivel de confianza al 95%, y que los niveles de Colesterol Total se incrementaron en un 69.41% durante la inducción a la

hiperlipidemia, lo que demostró que la inducción a la hiperlipidemia tuvo éxito.

Finalmente se observó que hay diferencia significativa entre el día 30 al 45 y al día 60, y que los niveles de Colesterol Total disminuyeron en un 47.05%, demostrando que el extracto de *Fragaria ananassa* en dosis de 1.5mg/kg/día si tiene efecto hipocolesteromiante, logrando alcanzar al final del tratamiento niveles de Colesterol Total incluso menores que los de la muestra Basal, pero sin ser significativamente diferente a esta en un nivel de confianza del 95%.

5.1.3. Grupo 3: *Fragaria ananassa* 3 mg/g/día

TABLA N° 27: Grupo 3: *Fragaria ananassa* 3 mg/g/día.

Grupo 3	COLESTEROL TOTAL (mg/dL)			
	Basal	30	45	60
N° Rata / Días				
1	67.00	112.00	95.00	57.00
2	70.00	119.00	101.00	63.00
3	79.00	127.00	107.00	65.00
4	74.00	123.00	104.00	61.00
5	69.00	120.00	97.00	58.00
n	5	5	5	5
\bar{x}	71.80	120.20	100.80	60.80
s	4.76	5.54	4.92	3.35
Valor F	165.34			
Valor p	2.99×10^{-12}			
Tuckey	C	A	B	D
	Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.			

FUENTE: Elaboración propia.

Se realizó el análisis de varianza en un nivel de confianza al 95% donde se encontró que el valor $p < 0.01$, lo que indicó que existe diferencia altamente significativa como se observa en la Tabla N°27.

Luego se realizó el análisis estadístico por el método de Tukey donde se encontró que la toma de muestra Basal difiere significativamente de la del día 30 en un nivel de confianza al 95%, y que los niveles de Colesterol Total se incrementaron en un 67.41% durante la inducción a la hiperlipidemia, lo que demostró que la inducción a la hiperlipidemia tuvo éxito.

Finalmente se observó que hay diferencia significativa entre el día 30 al 45 y al día 60, y que los niveles de Colesterol Total disminuyeron en un 49.41%, demostrando que el extracto de *Fragaria ananassa* en dosis de 3mg/kg/día si tiene efecto hipocolesteromiente, logrando alcanzar al final del tratamiento niveles de Colesterol Total incluso menores que los de la muestra Basal, siendo significativamente diferente a esta en un nivel de confianza del 95%.

5.1.4. Grupo 4: *Vaccinium corymbosum* 1.5 mg/g/día.

TABLA N° 28: Grupo 4: *Vaccinium corymbosum* 1.5 mg/g/día.

Grupo 4 N° Rata / Días	COLESTEROL TOTAL (mg/dL)			
	Basal	30	45	60
1	76.00	119.00	101.00	61.00
2	70.00	110.00	95.00	53.00
3	73.00	116.00	96.00	55.00
4	66.00	113.00	99.00	57.00
5	69.00	114.00	91.00	54.00
n	5	5	5	5
\bar{x}	70.80	114.40	96.40	56.00
s	3.83	3.36	3.85	3.16
Valor F	267.13			
Valor p	7.13×10^{-14}			
Tuckey	C	A	B	D
	Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.			

FUENTE: Elaboración propia.

Se realizó el análisis de varianza en un nivel de confianza al 95% donde se encontró que el valor $p < 0.01$, lo que indicó que existe diferencia altamente significativa como se observa en la Tabla N°28.

Luego se realizó el análisis estadístico por el método de Tukey donde se encontró que la toma de muestra Basal difiere significativamente de la del día 30 en un nivel de confianza al 95%, y que los niveles de Colesterol Total se incrementaron en un 61.58% durante la inducción a la hiperlipidemia, lo que demostró que la inducción a la hiperlipidemia tuvo éxito.

Finalmente se observó que hay diferencia significativa entre el día 30 al 45 y al día 60, y que los niveles de Colesterol Total disminuyeron en un 51.05%, demostrando que el extracto de *Vaccinium corymbosum* en dosis de 1.5mg/kg/día si tiene efecto hipocolesteromiente, logrando alcanzar al final del tratamiento niveles de Colesterol Total incluso menores que los de la muestra Basal, siendo significativamente diferente a esta en un nivel de confianza al 95%.

5.1.5. Grupo 5: *Vaccinium corymbosum* 3 mg/g/día.

Se realizó el análisis de varianza en un nivel de confianza al 95% donde se encontró que el valor $p < 0.01$, lo que indicó que existe diferencia altamente significativa como se observa en la Tabla N°29.

Luego se realizó el análisis estadístico por el método de Tukey donde se encontró que la toma de muestra Basal difiere significativamente de la del día 30 en un nivel de confianza al 95%, y que los niveles de Colesterol Total se incrementaron en un 68.06% durante la inducción a la hiperlipidemia, lo que demostró que la inducción a la hiperlipidemia tuvo éxito.

Finalmente se observó que hay diferencia significativa entre el día 30 al 45 y al día 60, y que los niveles de Colesterol Total disminuyeron en un 55.70%, demostrando que el extracto de *Vaccinium corymbosum* en dosis

de 3mg/kg/día si tiene efecto hipocolesteromiante, logrando alcanzar al final del tratamiento niveles de Colesterol Total incluso menores que los de la muestra Basal, siendo significativamente diferente a esta en un nivel de confianza del 95%.

TABLA N° 29: Grupo 5: *Vaccinium corymbosum* 3 mg/g/dia.

Grupo 5 N° Rata / Días	COLESTEROL TOTAL (mg/dL)			
	Basal	30	45	60
1	75.00	124.00	106.00	52.00
2	69.00	117.00	99.00	50.00
3	65.00	114.00	97.00	56.00
4	72.00	121.00	104.00	54.00
5	79.00	129.00	108.00	56.00
n	5	5	5	5
\bar{x}	72.00	121.00	102.80	53.60
s	5.39	5.87	4.66	2.61
Valor F	196.96			
Valor p	7.12×10^{-13}			
Tuckey	C	A	B	D
	Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.			

FUENTE: Elaboración propia.

5.1.6. Grupo 6: *Fragaria ananassa* – *Vaccinium corymbosum* 3/3 mg/g/día (Sinergismo).

Se realizó el análisis de varianza en un nivel de confianza al 95% donde se encontró que el valor $p < 0.01$, lo que indicó que existe diferencia altamente significativa como se observa en la Tabla N°30.

Luego se realizó el análisis estadístico por el método de Tukey donde se encontró que la toma de muestra Basal difiere significativamente de la del día 30 en un nivel de confianza al 95%, y que los niveles de Colesterol Total se incrementaron en un 63.01% durante la inducción a la hiperlipidemia, lo que demostró que la inducción a la hiperlipidemia tuvo éxito.

Finalmente se observó que hay diferencia significativa entre el día 30 al 45 y al día 60, y que los niveles de Colesterol Total disminuyeron en un 59.33%, demostrando que el extracto de *Fragaria ananassa*+*Vaccinium corymbosum* en dosis de 3/3mg/kg/día si tiene efecto hipocolesteromiante, logrando alcanzar al final del tratamiento niveles de Colesterol Total incluso menores que los de la muestra Basal, siendo significativamente diferente a esta en un nivel de confianza del 95%.

TABLA N° 30: Grupo 6: *Fragaria ananassa* – *Vaccinium corymbosum* 3/3 mg/g/día (Sinergismo).

Grupo 6	COLESTEROL TOTAL (mg/dL)			
	Basal	30	45	60
N° Rata / Días				
1	69.00	115.00	91.00	52.00
2	74.00	121.00	96.00	50.00
3	72.00	117.00	95.00	47.00
4	77.00	124.00	99.00	48.00
5	73.00	118.00	93.00	45.00
n	5	5	5	5
\bar{x}	73.00	119.00	94.80	48.40
s	2.92	3.54	3.03	2.70
Valor F	485.30			
Valor p	6×10^{-16}			
Tuckey	C	A	B	D
	Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.			

FUENTE: Elaboración propia.

5.1.7. Grupo 7: Blanco positivo

Se realizó el análisis de varianza en un nivel de confianza al 95% donde se encontró que el valor $p < 0.01$, lo que indicó que existe diferencia altamente significativa como se observa en la Tabla N°31.

Luego se realizó el análisis estadístico por el método de Tukey donde se encontró que la toma de muestra Basal difiere significativamente de la del día 30 en un nivel de confianza al 95%, y que los niveles de Colesterol

Total se incrementaron en un 66.58% durante la inducción a la hiperlipidemia, lo que demostró que la inducción a la hiperlipidemia tuvo éxito.

Finalmente se observó que hay diferencia significativa entre el día 30 al 45 y al día 60, y que los niveles de Colesterol Total disminuyeron en un 62.15%, demostrando que el tratamiento farmacológico con Atorvastatina en dosis de 0.06mg/kg/día si tiene efecto hipocolesteromiante, logrando alcanzar al final del tratamiento niveles de Colesterol Total incluso menores que los de la muestra Basal, siendo significativamente diferente a esta en un nivel de confianza del 95%.

TABLA N° 31: Grupo 7: Blanco positivo (Atorvastatina 0.06 mg/kg/día)

Grupo 7	COLESTEROL TOTAL (mg/dL)			
N° Rata / Días	Basal	30	45	60
1	78.00	125.00	96.00	50.00
2	75.00	128.00	93.00	46.00
3	75.00	123.00	95.00	48.00
4	68.00	116.00	88.00	43.00
5	72.00	121.00	90.00	45.00
n	5	5	5	5
\bar{x}	73.60	122.60	92.40	46.40
s	3.78	4.51	3.36	2.70
Valor F	386.24			
Valor p	3.9×10^{-15}			
Tuckey	C	A	B	D
	Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.			

FUENTE: Elaboración propia.

5.2. EVALUACIÓN INTERGRUPOS (COLESTEROL TOTAL)

Se realizó el análisis de varianza para ver si existe diferencia significativa entre los niveles finales de Colesterol Total de los grupos y con la prueba de Tuckey

para determinar si existe diferencia significativa entre cada tratamiento en un nivel de confianza al 95%.

TABLA N° 32: Evaluación final del tratamiento.

COLESTEROL TOTAL (mg/dL) Día 60		
Grupos	\bar{x}	Tuckey
Grupo 1	115.00	A
Grupo 2	61.00	B
Grupo 3	60.80	B
Grupo 4	56.00	C
Grupo 5	53.60	C
Grupo 6	48.40	D
Grupo 7	46.40	D
Valor F	347.18	
Valor p	p<0.01	
Tuckey	Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes	

FUENTE: Elaboración propia.

Se realizó el análisis de varianza en un nivel de confianza al 95% donde se encontró que el valor $p < 0.01$, lo que indicó que existe diferencia altamente significativa como se observa en la Tabla N°32.

Para determinar si realmente los extractos utilizados poseen actividad hipocolesteromiante se analiza si existe una diferencia significativa entre los grupos que recibieron tratamiento y el grupo blanco (-), y con el grupo control (+) para medir el efecto hipolipemiente de los extractos.

Finalmente, a los 30 días de tratamiento la diferencia de medias de los grupos tratados en comparación con el grupo blanco (-) es altamente significativa ($p < 0.01$), pero además se encontró que entre los grupos de tratamiento también hubo diferencias significativas:

Se observó que entre los grupos 2 y 3 no hubo diferencia significativa, lo que indicó que no existió una diferencia significativa del efecto hipocolesteromiante del extracto de *Fragaria ananassa* en las dosis que fueron administradas.

Seguidamente se observó que entre los grupos 4 y 5 tampoco hubo diferencia significativa, lo que indicó que no existió una diferencia significativa del efecto hipocolesteromiante del extracto de *Vaccinium corymbosum* en las dosis que fueron administradas.

También se observó que existe diferencia significativa entre los grupos 5 y 3 lo que demostró que un extracto fue más efectivo que el otro, en este caso el extracto de *Vaccinium corymbosum* fue el más efectivo como se puede observar en la Figura N°26.

Finalmente se observó que si existe diferencia significativa entre el grupo 6 que fue el que recibió el tratamiento sinérgico con los demás grupos, así como también fue el que tuvo el mejor efecto hipocolesteromiante como se puede observar en la Figura N°26, lo que demostró la existencia de la actividad sinérgica entre los extractos de *Fragaria ananassa* y *Vaccinium corymbosum*, además que no existe diferencia significativa entre los grupos 6 y 7.



FIGURA N° 26: Niveles de COLESTEROL TOTAL al final de tratamiento de los distintos grupos de estudio.

Al final del tratamiento se obtuvieron niveles de Colesterol Total menores que los del estado basal, con excepción del grupo blanco (-) que mantuvo sus niveles altos de Colesterol Total lo que demostró la efectividad que poseen los extractos de *Fragaria ananassa* y *Vaccinium corymbosum*, así como de su efecto sinérgico en la actividad hipocolesteromiante.

5.3. EVALUACIÓN DE LA INDUCCIÓN A LA HIPERLIPIDEMIA Y TRATAMIENTO DE LOS DIVERSOS GRUPOS (TRIGLICÉRIDOS)

Se realizó el análisis estadístico de cada grupo de estudio durante el proceso de inducción a la hiperlipidemia (Basal-día 30) y posteriormente se evaluó la eficacia de cada tratamiento que comenzó el día 31.

5.3.1. Grupo 1: Blanco negativo.

TABLA N° 33: Grupo 1: Blanco negativo.

Grupo 1	TRIGLICÉRIDOS (mg/dL)			
N° Rata / Días	Basal	30	45	60
1	36.00	69.00	68.00	68.00
2	43.00	73.00	71.00	69.00
3	38.00	70.00	72.00	74.00
4	41.00	72.00	75.00	73.00
5	37.00	68.00	67.00	67.00
n	5	5	5	5
\bar{x}	39.00	70.40	70.60	70.20
s	2.92	2.07	3.21	3.11
Valor F	150.32			
Valor p	6.25×10^{-12}			
Tuckey	B	A	A	A
	Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.			

FUENTE: Elaboración propia.

Se realizó el análisis de varianza en un nivel de confianza al 95% donde se encontró que el valor $p < 0.01$, lo que indicó que existe diferencia altamente significativa como se observa en la Tabla N°33.

Luego se realizó el análisis estadístico por el método de Tukey donde se encontró que la toma de muestra Basal difiere significativamente de los demás días en un nivel de confianza al 95%, y que los niveles de Triglicéridos se incrementaron en un 80.51% durante la inducción a la hiperlipidemia, lo que demostró que la inducción a la hiperlipidemia tuvo éxito, mientras que en las tomas de muestra del día 30, 45 y 60 no existe diferencia significativa, lo cual indicó que los niveles de Triglicéridos se mantuvieron a pesar de la dieta, sin disminuir ni incrementarse de manera significativa.

5.3.2. Grupo 2: *Fragaria ananassa* 1.5 mg/g/día.

TABLA N° 34: Grupo 2: *Fragaria ananassa* 1.5 mg/g/día.

Grupo 2 N° Rata / Días	TRIGLICÉRIDOS (mg/dL)			
	Basal	30	45	60
1	33.00	59.00	56.00	45.00
2	35.00	71.00	63.00	550.00
3	40.00	73.00	67.00	59.00
4	33.00	68.00	60.00	54.00
5	39.00	64.00	58.00	48.00
n	5	5	5	5
\bar{x}	36.00	67.00	60.80	51.20
s	3.32	5.61	4.32	5.45
Valor F	40.10			
Valor p	1.14×10^{-7}			
Tuckey	C	A	A	B
	Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.			

FUENTE: Elaboración propia.

Se realizó el análisis de varianza en un nivel de confianza al 95% donde se encontró que el valor $p < 0.01$, lo que indicó que existe diferencia altamente significativa como se observa en la Tabla N°34.

Luego se realizó el análisis estadístico por el método de Tukey donde se encontró que la toma de muestra Basal difiere significativamente de la del

día 30 en un nivel de confianza al 95%, y que los niveles de Triglicéridos se incrementaron en un 86.11% durante la inducción a la hiperlipidemia, lo que demostró que la inducción a la hiperlipidemia tuvo éxito.

Finalmente se observó que no existe diferencia significativa después de 15 días de tratamiento, pero si hay diferencia significativa entre el día 30 al día 60 en un nivel de confianza del 95%, y que los niveles de Triglicéridos disminuyeron en un 23.58%, demostrando que el extracto de *Fragaria ananassa* en dosis de 1.5mg/kg/día si tiene efecto hipolipemiente, luego de 30 días de tratamiento.

5.3.3. Grupo 3: *Fragaria ananassa* 3 mg/g/día

TABLA N° 35: Grupo 3: *Fragaria ananassa* 3 mg/g/día.

Grupo 3	TRIGLICÉRIDOS (mg/dL)			
	Basal	30	45	60
N° Rata / Días				
1	39.00	74.00	63.00	53.00
2	32.00	69.00	52.00	41.00
3	35.00	68.00	60.00	46.00
4	34.00	71.00	59.00	48.00
5	36.00	65.00	55.00	50.00
n	5	5	5	5
\bar{x}	35.20	69.40	57.80	47.60
s	2.59	3.36	4.32	4.51
Valor F	80.21			
Valor p	7.41×10^{-10}			
Tuckey	D	A	B	C
	Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.			

FUENTE: Elaboración propia.

Se realizó el análisis de varianza en un nivel de confianza al 95% donde se encontró que el valor $p < 0.01$, lo que indicó que existe diferencia altamente significativa como se observa en la Tabla N°35.

Luego se realizó el análisis estadístico por el método de Tukey donde se encontró que la toma de muestra Basal difiere significativamente de la del día 30 en un nivel de confianza al 95%, y que los niveles de Triglicéridos se incrementaron en un 97.16% durante la inducción a la hiperlipidemia, lo que demostró que la inducción a la hiperlipidemia tuvo éxito.

Finalmente se observó que hay diferencia significativa entre el día 30 al 45 y al día 60 en un nivel de confianza del 95%, y que los niveles de Triglicéridos disminuyeron en un 31.44%, demostrando que el extracto de *Fragaria ananassa* en dosis de 3mg/kg/día si tiene efecto hipolipemiente.

5.3.4. Grupo 4: *Vaccinium corymbosum* 1.5 mg/g/día.

TABLA N° 36: Grupo 4: *Vaccinium corymbosum* 1.5 mg/g/día.

Grupo 4	TRIGLICÉRIDOS (mg/dL)			
	Basal	30	45	60
N° Rata / Días				
1	38.00	74.00	68.00	48.00
2	36.00	65.00	60.00	40.00
3	30.00	68.00	54.00	36.00
4	42.00	70.00	63.00	48.00
5	34.00	66.00	55.00	35.00
n	5	5	5	5
\bar{x}	36.00	68.60	60.00	41.40
s	4.47	3.58	5.79	6.31
Valor F	44.42			
Valor p	5.54×10^{-8}			
Tukey	B	A	A	B
	Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.			

FUENTE: Elaboración propia.

Se realizó el análisis de varianza en un nivel de confianza al 95% donde se encontró que el valor $p < 0.01$, lo que indicó que existe diferencia altamente significativa como se observa en la Tabla N°36.

Luego se realizó el análisis estadístico por el método de Tukey donde se encontró que la toma de muestra Basal difiere significativamente de la del día 30 en un nivel de confianza al 95%, y que los niveles de Triglicéridos se incrementaron en un 90.51% durante la inducción a la hiperlipidemia, lo que demostró que la inducción a la hiperlipidemia tuvo éxito.

Finalmente se observó que no existe diferencia significativa después de 15 días de tratamiento, pero si hay diferencia significativa entre el día 30 al día 60 en un nivel de confianza del 95%, y que los niveles de Triglicéridos disminuyeron en un 41.11%, demostrando que el extracto de *Vaccinium corymbosum* en dosis de 1.5mg/kg/día si tiene efecto hipolipemiante luego de 30 días de tratamiento, logrando alcanzar al final del tratamiento niveles de Triglicéridos que no difieren significativamente de la muestra Basal en un nivel de confianza del 95%.

5.3.5. Grupo 5: *Vaccinium corymbosum* 3 mg/g/día.

TABLA N° 37: Grupo 5: *Vaccinium corymbosum* 3 mg/g/día.

Grupo 5 N° Rata / Días	TRIGLICÉRIDOS (mg/dL)			
	Basal	30	45	60
1	37.00	74.00	57.00	42.00
2	32.00	65.00	53.00	38.00
3	30.00	63.00	52.00	37.00
4	35.00	71.00	50.00	34.00
5	41.00	77.00	59.00	43.00
n	5	5	5	5
\bar{x}	35.00	70.00	54.20	38.80
s	4.30	5.92	3.70	3.70
Valor F	63.21			
Valor p	4.33×10^{-9}			
Tuckey	C	A	B	C
	Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.			

FUENTE: Elaboración propia.

Se realizó el análisis de varianza en un nivel de confianza al 95% donde se encontró que el valor $p < 0.01$, lo que indicó que existe diferencia altamente significativa como se observa en la Tabla N°37.

Luego se realizó el análisis estadístico por el método de Tukey donde se encontró que la toma de muestra Basal difiere significativamente de la del día 30 en un nivel de confianza al 95%, y que los niveles de Triglicéridos se incrementaron en un 100% durante la inducción a la hiperlipidemia, lo que demostró que la inducción a la hiperlipidemia tuvo éxito.

Finalmente se observó que hay diferencia significativa entre el día 30 al 45 y al día 60, y que los niveles de Triglicéridos disminuyeron en un 44.57%, demostrando que el extracto de *Vaccinium corymbosum* en dosis de 3mg/kg/día si tiene efecto hipolipemiente, logrando alcanzar al final del tratamiento niveles de Triglicéridos que no difieren significativamente que los de la muestra Basal en un nivel de confianza del 95%.

5.3.6. Grupo 6: *Fragaria ananassa* – *Vaccinium corymbosum* 3/3 mg/g/día (Sinergismo).

Se realizó el análisis de varianza en un nivel de confianza al 95% donde se encontró que el valor $p < 0.01$, lo que indicó que existe diferencia altamente significativa como se observa en la Tabla N°38.

Luego se realizó el análisis estadístico por el método de Tukey donde se encontró que la toma de muestra Basal difiere significativamente de la del día 30 en un nivel de confianza al 95%, y que los niveles de Triglicéridos se incrementaron en un 99.44% durante la inducción a la hiperlipidemia, lo que demostró que la inducción a la hiperlipidemia tuvo éxito.

Finalmente se observó que hay diferencia significativa entre el día 30 al 45 y al día 60, y que los niveles de Triglicéridos disminuyeron en un 58.90%, demostrando que el extracto de *Fragaria ananassa*+*Vaccinium corymbosum* en dosis de 3/3mg/kg/día si tiene efecto hipolipemiente, logrando alcanzar al final del tratamiento niveles de Triglicéridos incluso

menores que los de la muestra Basal, pero sin ser significativamente diferente a esta en un nivel de confianza del 95%.

TABLA N° 38: Grupo 6: *Fragaria ananassa* – *Vaccinium corymbosum* 3/3 mg/g/día (Sinergismo).

Grupo 6	TRIGLICÉRIDOS (mg/dL)			
	Basal	30	45	60
N° Rata / Días				
1	38.00	72.00	58.00	38.00
2	31.00	71.00	55.00	36.00
3	37.00	68.00	56.00	37.00
4	38.00	71.00	58.00	33.00
5	34.00	73.00	60.00	30.00
n	5	5	5	5
\bar{x}	35.60	53.60	57.40	34.80
s	3.05	1.67	1.95	3.27
Valor F	228.03			
Valor p	2.46×10^{-13}			
Tuckey	C	A	B	C
	Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.			

FUENTE: Elaboración propia.

5.3.7. Grupo 7: Blanco positivo 0.06 mg/kg/día.

Se realizó el análisis de varianza en un nivel de confianza al 95% donde se encontró que el valor $p < 0.01$, lo que indicó que existe diferencia altamente significativa como se observa en la Tabla N°39.

Luego se realizó el análisis estadístico por el método de Tukey donde se encontró que la toma de muestra Basal difiere significativamente de la del día 30 en un nivel de confianza al 95%, y que los niveles de Triglicéridos se incrementaron en un 80.30% durante la inducción a la hiperlipidemia, lo que demostró que la inducción a la hiperlipidemia tuvo éxito.

Finalmente se observó que hay diferencia significativa entre el día 30 al 45 y al día 60, y que los niveles de Triglicéridos disminuyeron en un

47.90%, demostrando que el tratamiento farmacológico con Atorvastatina en dosis de 0.06mg/kg/día si tiene efecto hipolipemiente, logrando alcanzar al final del tratamiento niveles de Triglicéridos incluso menores que los de la muestra Basal, pero sin ser significativamente diferente a esta en un nivel de confianza del 95%.

TABLA N° 39: Grupo 7: Blanco positivo 0.06 mg/kg/día.

Grupo 7 N° Rata / Días	TRIGLICÉRIDOS (mg/dL)			
	Basal	30	45	60
1	41.00	71.00	54.00	35.00
2	43.00	73.00	52.00	37.00
3	34.00	68.00	49.00	34.00
4	44.00	76.00	58.00	44.00
5	36.00	69.00	54.00	36.00
n	5	5	5	5
\bar{x}	39.60	71.40	53.40	37.20
s	4.39	3.21	3.29	3.96
Valor F	88.04			
Valor p	3.68×10^{-10}			
Tuckey	C	A	B	C
	Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.			

FUENTE: Elaboración propia.

5.4. EVALUACIÓN INTERGRUPOS (TRIGLICÉRIDOS)

Se realizó el análisis de varianza para ver si existe diferencia significativa entre los niveles finales de Triglicéridos de los grupos y con la prueba de Tuckey para determinar si existe diferencia significativa entre cada tratamiento en un nivel de confianza al 95%.

Se realizó el análisis de varianza en un nivel de confianza al 95% donde se encontró que el valor $p < 0.01$, lo que indicó que existe diferencia altamente significativa como se observa en la Tabla N°40.

TABLA N° 40: Evaluación final del tratamiento.

TRIGLICÉRIDOS (mg/dL) Día 60		
Grupos	\bar{x}	Tuckey
Grupo 1	70.20	A
Grupo 2	51.20	B
Grupo 3	47.60	B-C
Grupo 4	41.40	C-D
Grupo 5	38.80	D
Grupo 6	34.80	D
Grupo 7	37.20	D
Valor F	37.23	
Valor p	p<0.01	
Tuckey	Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes	

FUENTE: Elaboración propia.

Para determinar si realmente los extractos utilizados poseen actividad hipolipeminate se analiza si existe una diferencia significativa entre los grupos que recibieron tratamiento y el grupo blanco (-), y con el grupo control (+) para medir el efecto hipolipemiente de los extractos.

Finalmente, a los 30 días de tratamiento la diferencia de medias de los grupos tratados en comparación con el grupo blanco (-) es altamente significativa (p<0.01), pero además se encontró que entre los grupos de tratamiento también hubo diferencias significativas:

Se observó que entre los grupos 2 y 3 no hubo diferencia significativa, lo que indicó que no existió una diferencia significativa del efecto hipolipemiente del extracto de *Fragaria ananassa* en las dosis que fueron administradas.

Seguidamente se observó que entre los grupos 4 y 5 tampoco hubo diferencia significativa, lo que indicó que no existió una diferencia significativa del efecto hipolipemiente del extracto de *Vaccinium corymbosum* en las dosis que fueron administradas.

También se observó que existe diferencia significativa entre los grupos 5 y 3 lo que demostró que un extracto fue más efectivo que el otro, en este caso el extracto de *Vaccinium corymbosum* fue el más efectivo como se puede observar en la Figura N°27.

Finalmente se observó que si existe diferencia significativa entre el grupo 6 que fue el que recibió el tratamiento sinérgico con los grupos 2 y 3 que recibieron el extracto de *Fragaria ananassa*, además que el grupo 6 fue el único que tuvo resultados un tanto mejores que los del grupo 7 que fue el control positivo como se puede observar en la Figura N°27, lo que demostró la existencia de la actividad sinérgica entre los extractos de *Fragaria ananassa* y *Vaccinium corymbosum*, además que no existe diferencia significativa entre los grupos 5, 6 y 7.

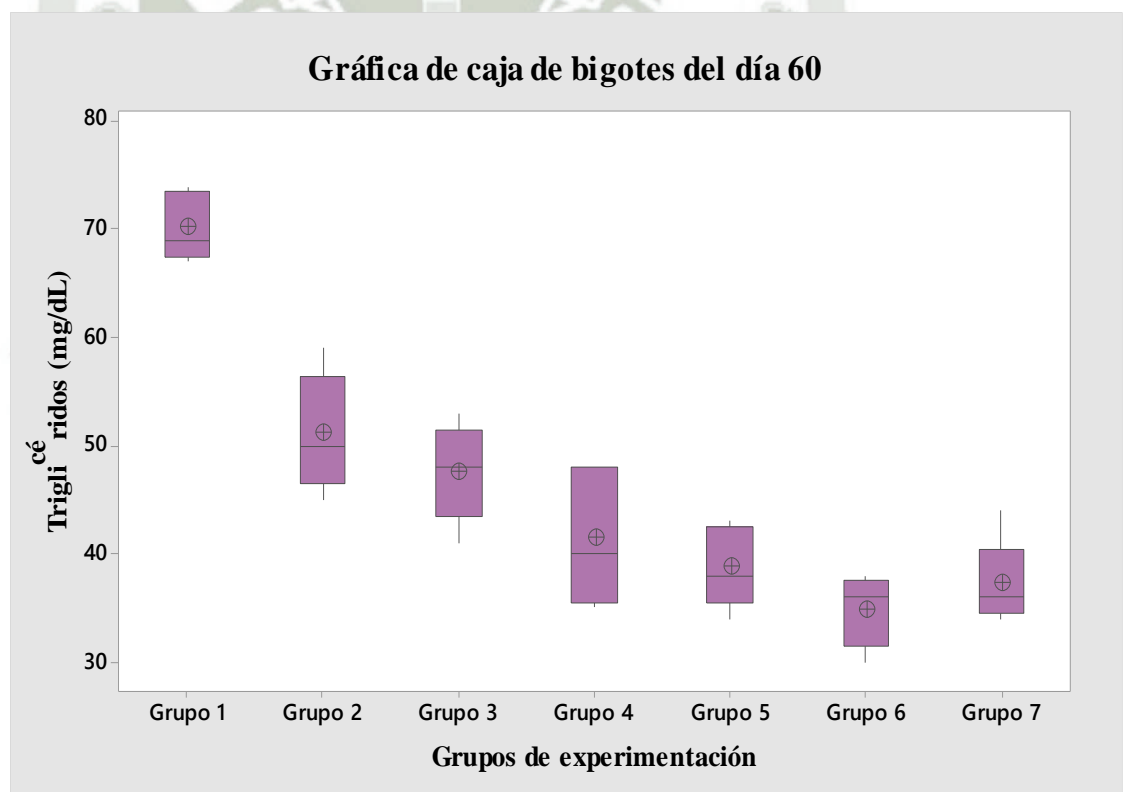
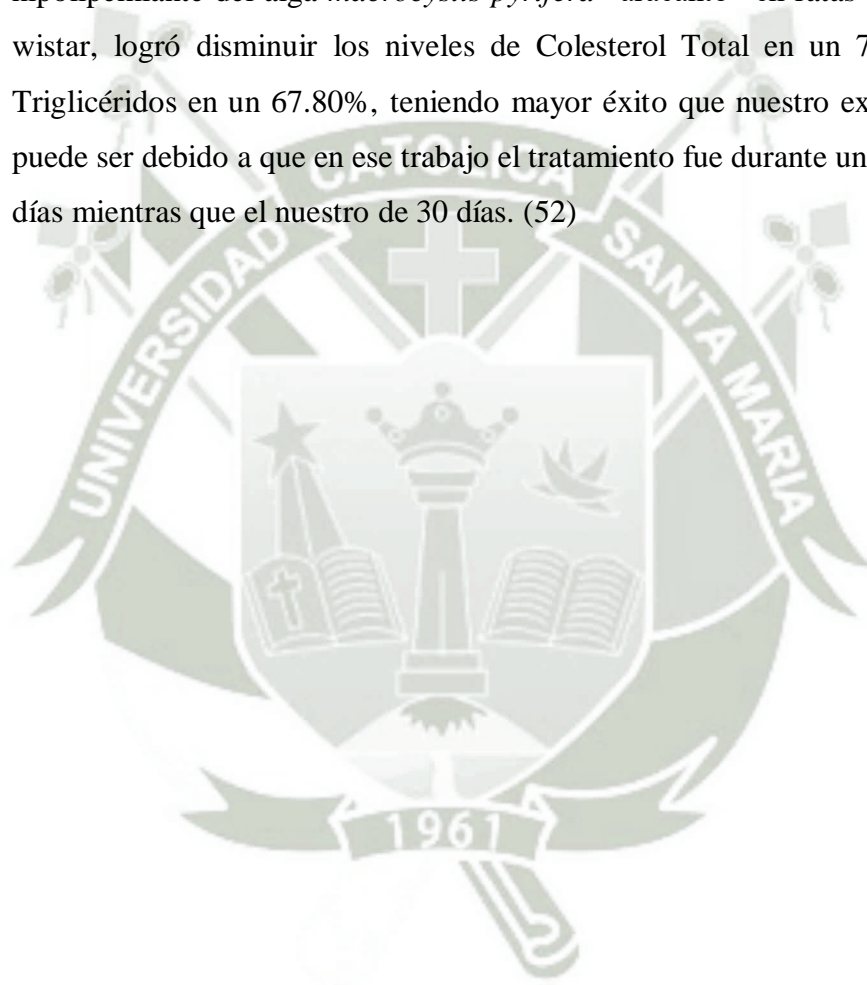


FIGURA N° 27: Promedios de TRIGLICÉRIDOS de los distintos grupos durante el estudio.

Pauccara Hilario, Tania Verónica en el año 2015, realizó la evaluación del efecto hipolipemiante de los extractos de las semillas de *Salvia hispánica L.* (chía) administrado en animales de experimentación, luego de 30 días de tratamiento logró disminuir los niveles de Colesterol Total en un 30.99% y los de Triglicéridos en un 27.98%, siendo nuestros extractos más efectivos que este en el mismo periodo de tiempo. (51)

Valdivia Tejada, Laura Alejandra en el año 2013, determinó el efecto hipolipemiante del alga *macrocystis pyrifera* “aracanto” en ratas de la variedad wistar, logró disminuir los niveles de Colesterol Total en un 72%, y los de Triglicéridos en un 67.80%, teniendo mayor éxito que nuestro extracto, lo cual puede ser debido a que en ese trabajo el tratamiento fue durante un periodo de 45 días mientras que el nuestro de 30 días. (52)



CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES

1. Se pudo obtener un extracto con una concentración final en el caso de la *Fragaria ananassa* de 3.33 g/mL y del *Vaccinium corymbosum* de 2.78 g/mL.
2. La cantidad de antocianinas totales obtenidas en el extracto de *Vaccinium corymbosum* fue de 390.94mg/100g de cianidina-3-glucosido siendo aproximadamente 13 veces mayor que el hallado en el extracto de *Fragaria ananassa* que fue de 29.40mg/100g de cianidina-3-glucósido.
3. La cantidad de fenoles totales encontrados en el extracto de *Vaccinium corymbosum* fue de 1122.39mg GAE/50g de fruto el cual fue aproximadamente 3 veces mayor que el del extracto de *Fragaria ananassa* que fue de 368.21mg GAE/50g de fruto.
4. La capacidad antioxidante del extracto de *Vaccinium corymbosum* fue de 0.3276mmol de ácido ascórbico/50g de fruto lo que fue aproximadamente 4 veces mayor que el del extracto de *Fragaria ananassa* que fue 0.0747mmol de ácido ascórbico/50g de fruto.
5. Luego de 30 días de dieta hiperlipídica se logró el incremento en el nivel de Colesterol Total en un 66.07% y Triglicéridos en un 90.25% de los grupos de ratas, por lo cual concluimos que una dieta hiperlipídica en este caso compuesta de sesos de cordero, yemas de huevo y harina logra un efecto hiperlipemiente significativo en un período de 30 días.
6. Después de recibir el tratamiento a dos dosis diferentes del extracto de *Fragaria ananassa* se determinó que no existe diferencia significativa en la disminución del Colesterol Total y Triglicéridos, teniendo un efecto un tanto mayor el grupo 3 que fue el que recibió la mayor dosis con una disminución del Colesterol Total en un 49.41% y de Triglicéridos en un 31.44%.
7. Después de recibir el tratamiento a dos dosis diferentes del extracto de *Vaccinium corymbosum* se determinó que no existe diferencia significativa en

la disminución del Colesterol Total y Triglicéridos, teniendo un efecto un tanto mayor el grupo 5 que fue el que recibió la mayor dosis con una disminución del Colesterol Total en un 55.70% y Triglicéridos en un 44.57%, obteniendo mejores resultados que los del extracto de *Fragaria ananassa*.

8. Además, se pudo encontrar un mayor efecto hipolipemiante en el grupo que se trabajó con los dos extractos de manera sinérgica, logrando una disminución del 59.33% de Colesterol Total y Triglicéridos en un 58.90% además que difirió significativamente de los demás grupos lo que confirmó la actividad sinérgica en la disminución de Colesterol Total y Triglicéridos de los extractos de *Fragaria ananassa*+*Vaccinium corymbosum*.



RECOMENDACIONES

1. Confirmando el efecto hipolipemiante de ambos extractos, y más aún cuando trabajan de manera sinérgica, se recomienda la elaboración de preparados magistrales e incluso industriales de estos dos frutos para reducir los niveles Colesterol y Triglicéridos de los pacientes hiperlipemiantes, u en su defecto su actividad antioxidante.
2. Realizar estudios liofilizados con los extractos de *Fragaria ananassa* y *Vacciniun corymbosum* y compararlo con este estudio.
3. Fomentar el consumo de la fresa, y sobre todo del arándano que no es muy consumido por nuestra población para así tener una población más sana.



REFERENCIAS

1. Organización Panamericana de la Salud. Enfermedades producidas por radicales libres. Rev Panam Salud Pública. 1997;1(5):399–400.
2. Aguilera-Otíz M, Reza-Vargas M del C, Chew-Madinaveita RG, Meza-Velázquez JA. Propiedades Funcionales De Las Antocianinas. Biotecnia [Internet]. 2011;13(2):16. Available from: <http://biotecnia.ojs.escire.net/index.php/biotecnia/article/view/81>
3. Garzón GA. Las antocianinas como colorantes naturales y compuestos bioactivos: Revisión. Acta Biol Colomb. 2008;13(3):27–36.
4. Cosavalente Burgos, Kevin Steve Ruiz Reyes SG, Ganoza Yupanqui ML. Antocianinas totales y capacidad antioxidante in vitro de extractos de diferente grado etanólico del fruto de *Vacciniumcorymbosum* “Arándano.” Ucv-Scientia [Internet]. 2016;8(1):44–8. Available from: <http://revistas.ucv.edu.pe/index.php/UCV-SCIENTIA/article/view/1008/790>
5. Patrocinante P, Patrocinante PC-. Universidad Austral de Chile. 2007;
6. Agricola USO, El EN, Cañete VDE, Gonzales RL. La Molina. 2018;
7. Coba M. RESCATE DE *Fragaria chiloensis* var. Huachi ESPECIE DE FRUTILLA EN PELIGRO DE EXTINCIÓN, A TRAVÉS DE LA TÉCNICA DE CULTIVO IN VITRO UTILIZANDO MERISTEMOS Y HOJAS. Dep Ciencias La Vida Ing En Biotecnol. 2009;28–32.
8. *Fragaria ananassa* | Sistema Nacional Argentino de Vigilancia y Monitoreo de plagas.
9. Doctoral T, Laso GC. Universidad de Córdoba facultad de ciencias departamento de bioquímica y biología molecular. 2012;
10. Ministerio de Agricultura Alimentación y Medio Ambiente. Fresa. Fresa. 2013;243–4.
11. Caracterización y procesado de kiwi y fresa cultivados por diferentes sistemas. - Google Libros.
12. Comer fresas ayuda a bajar el colesterol malo - Buena Salud.
13. Empresarial VDEF. Cámara de Comercio de Bogotá. 2015;1–50.
14. Romero CA. El Arándano en el Perú y el mundo. Minist Agric y Riego. 2016;1:1–42.

15. Gobierno de Cantabria C. El Arándano. 2011;28.
16. Vaccinium corymbosum''. Trop Missouri Bot Gard.
17. Blauwe bes (Vaccinium corymbosum) | MijnTuin.org.
18. Propiedades del Arándano.
19. En B, Bioquímica FY. Io Ca Fa Ac Ca Fa Ac. 2013;
20. Venereo Gutiérrez JR. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. Rev Cuba Med Mil. 2002;31(2):126–33.
21. Rosales R. Radicales libres y antioxidantes. 2011;482–6.
22. De Tursi Ríspoli L, Vázquez Tarragón A, Vázquez Prado A, Sáez Tormo G, Ismail AM, Gumbau Puchol V. Estrés oxidativo; estudio comparativo entre un grupo de población normal y un grupo de población obesa mórbida. Nutr Hosp. 2013;28(3):671–5.
23. Anales de medicina interna. Arán Ediciones, S.A;
24. Kuskoski EM, Asuero AG, Troncoso AM, Mancini-Filho J, Fett R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. Ciência e Tecnol Aliment. 2005;25(4):726–32.
25. Dabrowska CC, Mir MSM, Medicina S De, Hospital U. Vitaminas y antioxidantes.
26. Naturales A, Pace MV. Alumna. 2010;
27. Ciappini MC, Stoppani FS, Martinet R, Alvarez MB. Actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos y flavonoides en mieles de tréboles , eucalipto y alfalfa. Rev Cienc Tecnol. 2013;15(19):7.
28. Apak R, Guclu K, Demirata B, Ozyurek M, Celik SE, Bektasoglu B, et al. Comparative Evaluation of Various Total Antioxidant Capacity Assay Applied to Phenolic Compounds with The CUPRAC Assay. Molecules. 2007;12(Ii):1496–547.
29. Bohorquez Fajardo R. Determinación de actividad antioxidante de extractos de hojas deDiplostephium phlycoides (Kunth) Wedd. 2016;69.
30. Tobergte DR, Curtis S. Determinación De La Actividad Antioxidante Por Dpph Y Abts De 30 Plantas Recolectadas En La Ecoregion Cafetera Jennifer. Vol. 53, Journal of Chemical Information and Modeling. 2013. 1689-1699 p.
31. Angélica M, Escorza Q, Víctor J, Salinas C. La Capacidad Antioxidante Total. Bases Y Aplicaciones*. Rev Educ Bioquímica. 2009;28(3):89–101.

32. Herrador SG. Medida de los fenoles totales y de la capacidad antioxidante y antirradicalaria de los hongos comestibles *Marasmius oreades*, *Lactarius deliciosus* y *Macrolepiota procera* y su degradación a diferentes tiempos y temperaturas. *Univ Valladolid*. 2014;15–7.
33. Creus EVAG. Compuestos fenólicos. 2004;23:80–4.
34. García E, Fernández I, Fuentes A. Determinación de polifenoles totales por el método de Folin- Ciocalteu. *Univ politécnica Val*. 2015;1:2–8.
35. Jurado Teixeira B, Aparcana Ataurima I, Villarreal Inca L, Ramos Llica E, Calixto Cotos M, Hurtado Manrique P, et al. Evaluación del contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante de los extractos etanólicos de los frutos de aguaymanto (*Physalis peruviana* L.) de diferentes lugares del Perú. *Rev la Soc Química del Perú*. 2016;82(3):272–9.
36. Tenorio López FA, del Valle Mondragón L, Pastelín Hernández G. Los flavonoides y el sistema cardiovascular: pueden ser una alternativa terapéutica? *Arch Cardiol México*. 2006;76 Suppl 4:33–45.
37. Enríquez S. Extracción, identificación y estudio de la capacidad antioxidante de pigmentos tipo antocianina presentes en el fruto de la mora (*Rubus urticaefolius* poir R.). 2014;21–3.
38. Leyva Daniel DE. Determinacion De Antocianinas, Fenoles Totales Y Actividad Antioxidante En Licores Y Frutos De Mora. 2009;1–80.
39. Martínez-Cruz N del S, Arévalo-Niño K, Verde-Star MJ, Morales CRM, Oranday-Cárdenas A, Adriana Núez-González M, et al. Antocianinas y actividad anti radicales libres de *rubus adenotrichus* Schltld (zarzamora). *Rev Mex Ciencias Farm*. 2011;42(4):66–71.
40. División de Salud de las Personas Departamento de Programas de las Personas Programa Salud del Adulto 2000.
41. F., Brites LG, L. Boero, T. Meroño SR. Clasificación y diagnóstico bioquímico de las dislipemias. *Fepreva*. 2010;3:150–67.
42. Juan M. Parreño Tipián1 EGP. Colesterol y Triglicéridos y su Relación con el ÍNDICE DE MASA CORPORAL en Pacientes Adultos en Lima Metropolitana. *Rev Investig la Univ Norbert Wiener*. 2010;1(October 2008):59–74.
43. Universidad de Santander UDES. Colesterol Y Trigliceridos. 2017;

44. Tipos de colesterol Hipercolesterolemia y dislipemia ¿ Cuáles son los niveles normales de colesterol y triglicéridos ? Como bajar el colesterol : tratamiento y prevención.
45. Fernández-aguilar O, García-ulloa AC, Torres-viloria A, Zacarías-castillo R. Aspectos terapéuticos de las estatinas y su participación multiorgánica. Rev Enterol y Nutr Enterol y Nutr. 2008;16(3):120–7.
46. Villareal J. Resinas Intercambiadoras De Iones. 2013;9. Available from: <http://www2.udec.cl/~analitic/Interc-iones.pdf>
47. Muñoz AM, Alvarado-Ortiz C, Encina C. Fitoesteroles y fitoestanoles : Propiedades saludables. Horizote Med [Internet]. 2011;11(2):93–100. Available from: http://www.medicina.usmp.edu.pe/medicina/horizonte/2011_2/Art6_Vol11_N2.pdf
48. Luna JM, Garau MC, Negre A, March J, Martorell A. Baleares. Compos Fenólica Y Act Antioxidante Variedades Minor Vid Las Islas Balear. 2010;336–8.
49. Villanueva-tiburcio JE, Condezo-hoyos LA, Asquiere ER. en la cáscara de camu-camu (*Myrciaria dubia* McVaugh). Ciência e Tecnol Aliment. 2010;30(1):151–60.
50. Percy Hansel Cárdenas Vargas MG en Comunicación y Marketing. Universidad Católica de Santa María. 2015;1:89.
51. De Enfermería F, Paz TI, Nevhenka G, Valdivia M, Para Optar El A, Profesional De T. Universidad Católica De Santa María. 2014; Available from: <http://tesis.ucsm.edu.pe/repositorio/bitstream/handle/UCSM/3137/60.1332.EN.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
52. Tejada V, Alejandra L, Optar P, Título EL. AREQUIPA-PERÚ. 2013;

ANEXOS

1. PREPARACIÓN DE LA GRÁFICA DE CALIBRACIÓN FOLIN CIOCALTEU

St1; 10ppm:

$$C \times V = C_1 \times V_1$$

$$1000\text{ppm} \times 0.25\text{mL} = C_1 \times 25\text{mL}$$

$$C_1 = 10\text{ppm}$$

St2; 20ppm:

$$C \times V = C_1 \times V_1$$

$$1000\text{ppm} \times 0.5\text{mL} = C_1 \times 25\text{mL}$$

$$C_1 = 20\text{ppm}$$

St3; 30ppm:

$$C \times V = C_1 \times V_1$$

$$1000\text{ppm} \times 0.75\text{mL} = C_1 \times 25\text{mL}$$

$$C_1 = 30\text{ppm}$$

St4; 40ppm:

$$C \times V = C_1 \times V_1$$

$$1000\text{ppm} \times 1\text{mL} = C_1 \times 25\text{mL}$$

$$C_1 = 40\text{ppm}$$

St5; 60ppm:

$$C \times V = C_1 \times V_1$$

$$1000\text{ppm} \times 1.5\text{mL} = C_1 \times 25\text{mL}$$

$$C_1 = 60\text{ppm}$$

2. DETERMINACIÓN DE FENOLES TOTALES

Fragaria ananassa:

$$y = 0.0138(x) + 0.0203$$

$$0.6978 = 0.0138(x) + (0.0203)$$

$$x = 49.0942 \frac{mg}{L}$$

$$\frac{49.0942mg \times 25mL}{1000mL} = 1.227mg$$

$$\frac{1.227mg}{y} = \frac{0.5mL}{10mL}$$

$$y = 24.547mg$$

$$\frac{24.547mg}{z} = \frac{1mL}{15mL}$$

$$z = 368.21 \frac{mg \text{ GAE}}{50g} \text{ de fruto}$$

Vaccinium corymbosum:

$$y = 0.0138(x) + 0.0203$$

$$0.1924 = 0.0138(x) + (0.0203)$$

$$x = 12.4710 \frac{mg}{L}$$

$$\frac{12.4710mg \times 25mL}{1000mL} = 0.3118mg$$

$$\frac{0.3118mg}{y} = \frac{0.5mL}{100mL}$$

$$y = 62.36mg$$

$$\frac{62.36mg}{z} = \frac{1mL}{18mL}$$

$$z = 1122.39 \frac{mg \text{ GAE}}{50g} \text{ de fruto}$$

3. PREPARACIÓN DE REACTIVOS CUPRAC

a) Cloruro de cobre dihidratado $1 \times 10^{-2} M$

(PM=169.54g)

Para preparar 25mL de la solución:

$$1 \times 10^{-2} M = \frac{n}{0.025 L}$$

$$2.5 \times 10^{-4} \times 169.54 g = 0.042385 g$$

$$0.042385 g \text{ a mg} = 42.385 \text{ mg}$$

b) Acetato de Amonio 1M

(PM=77.08g)

Para preparar 25mL de la solución:

$$1 M = \frac{n}{0.025 L}$$

$$0.025 \times 77.08 g = 1.9270625 g$$

$$1.9270625 g \text{ a mg} = 1927.0625 \text{ mg}$$

c) Neocuproína $7.5 \times 10^{-3} M$

(PM=208.26g)

Para preparar 25mL de la solución:

$$7.5 \times 10^{-3} = \frac{n}{0.025 L}$$

$$1.875 \times 10^{-4} \times 208.26 g = 0.03904875 g$$

$$0.03904875 g \text{ a mg} = 39.04875 \text{ mg}$$

d) Ácido Ascórbico $2 \times 10^{-4} M$

(PM=176.12g)

Para preparar 100mL de la solución:

$$2 \times 10^{-4} M = \frac{n}{0.1 L}$$

$$2 \times 10^{-5} \times 176.12 g = 3.5224 \times 10^{-3} g$$

$$3.5224 \times 10^{-3} \text{g a mg} = 3.5224 \text{ mg}$$

4. PREAPRACIÓN DE LA GRÁFICA DE CALIBRACIÓN CUPRAC

St1: Alícuota de 0.25mL:

$$C \times V = C_1 \times V_1$$

$$(2 \times 10^{-4} \text{M}) \times 0.25 \text{mL} = C_1 \times 5 \text{mL}$$

$$C_1 = 0.01 \text{mmol/L}$$

St2: Alícuota de 0.50mL:

$$C \times V = C_1 \times V_1$$

$$(2 \times 10^{-4} \text{M}) \times 0.50 \text{mL} = C_1 \times 5 \text{mL}$$

$$C_1 = 0.02 \text{mmol/L}$$

St3: Alícuota de 1.0mL:

$$C \times V = C_1 \times V_1$$

$$(2 \times 10^{-4} \text{M}) \times 1.0 \text{mL} = C_1 \times 5 \text{mL}$$

$$C_1 = 0.04 \text{mmol/L}$$

St4: Alícuota de 1.50mL:

$$C \times V = C_1 \times V_1$$

$$(2 \times 10^{-4} \text{M}) \times 1.50 \text{mL} = C_1 \times 5 \text{mL}$$

$$C_1 = 0.06 \text{mmol/L}$$

St5: Alícuota de 2.0mL:

$$C \times V = C_1 \times V_1$$

$$(2 \times 10^{-4} \text{M}) \times 2.0 \text{mL} = C_1 \times 5 \text{mL}$$

$$C_1 = 0.08 \text{mmol/L}$$

5. DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE (CUPRAC)

Fragaria ananassa:

$$y = 19.123(x) - 0.062$$

$$0.8893 = 19.123(x) - (0.062)$$

$$x = 0.0497 \frac{\text{mmol}}{\text{L}}$$

$$\frac{0.0497 \text{mmol} \times 5 \text{mL}}{1000 \text{mL}} = 2.49 \times 10^{-4} \text{mmol}$$

$$\frac{2.49 \times 10^{-4} \text{mmol}}{y} = \frac{0.5 \text{mL}}{10 \text{mL}}$$

$$y = 4.98 \times 10^{-3} \text{mmol}$$

$$\frac{4.98 \times 10^{-3} \text{mmol}}{z} = \frac{1 \text{mL}}{15 \text{mL}}$$

$$z = 0.0747 \frac{\text{mmol AA}}{50 \text{g}} \text{ de fruto}$$

Vaccinium corymbosum:

$$y = 19.123(x) - 0.062$$

$$0.2868 = 19.123(x) - (0.062)$$

$$x = 0.0182 \frac{\text{mmol}}{\text{L}}$$

$$\frac{0.0182 \text{mmol} \times 5 \text{mL}}{1000 \text{mL}} = 9.1 \times 10^{-5} \text{mmol}$$

$$\frac{9.1 \times 10^{-5} \text{mmol}}{y} = \frac{0.5 \text{mL}}{100 \text{mL}}$$

$$y = 0.0182 \text{mmol}$$

$$\frac{0.0182 \text{mmol}}{z} = \frac{1 \text{mL}}{18 \text{mL}}$$

$$z = 0.3276 \frac{\text{mmol AA}}{50 \text{g}} \text{ de fruto}$$

6. PREPARACIÓN DEL TRATAMIENTO (DÍA 31-45)

✓ Grupo 2 *Fragaria ananassa* 1.5 mg/g/día

$$1.5 \text{ mg} - 1 \text{ g}$$

$$x \quad - 234 \text{ g}$$

$x = 351 \text{ mg}$ que es igual a 0.351 g de extracto por día.

$$\text{Si: } 1 \text{ mL} - 3.33 \text{ g}$$

$$x \quad - 0.351 \text{ g}$$

$x = 0.11 \text{ mL}$ de extracto diluído en 2 mL de suero fisiológico.

✓ Grupo 3 *Fragaria ananassa* 3.0 mg/g/día

$$3.0 \text{ mg} - 1 \text{ g}$$

$$x \quad - 227 \text{ g}$$

$x = 681 \text{ mg}$ que es igual a 0.681 g de extracto por día.

$$\text{Si: } 1 \text{ mL} - 3.33 \text{ g}$$

$$x \quad - 0.681 \text{ g}$$

$x = 0.21 \text{ mL}$ de extracto diluído en 2 mL de suero fisiológico.

✓ Grupo 4 *Vaccinium corymbosum* 1.5 mg/g/día

$$1.5 \text{ mg} - 1 \text{ g}$$

$$x \quad - 234 \text{ g}$$

$x = 351 \text{ mg}$ que es igual a 0.351 g de extracto por día.

$$\text{Si: } 1 \text{ mL} - 2.78 \text{ g}$$

$$x \quad - 0.351 \text{ g}$$

$x = 0.13 \text{ mL}$ de extracto diluído en 2 mL de suero fisiológico.

✓ **Grupo 5 *Vaccinium corymbosum* 3.0 mg/g/día**

3.0 mg - 1g

x - 235 g

x= 705 mg que es igual a 0.705 g de extracto por día.

Si: 1mL - 2.78 g

x - 0.705 g

x= 0.25 mL de extracto diluído en 2mL de suero fisiológico.

✓ **Grupo 6 Sinergismo 3.0/3.0 mg/g/día**

3.0 mg - 1g

x - 237 g

x= 711 mg que es igual a 0.711 g de extracto por día.

Si: 1mL - 3.33 g

x - 0.711 g

x= 0.21 mL de extracto diluído en 2mL de suero fisiológico.

3.0 mg - 1g

x - 237 g

x= 711 mg que es igual a 0.711 g de extracto por día.

Si: 1mL - 2.78 g

x - 0.711 g

x= 0.26 mL de extracto diluído en 2mL de suero fisiológico.

✓ **Grupo 7 Atorvastatina 0.06 mg/kg/día**

0.06 mg- 1000g

x - 238 g ; entonces: x= 0.01 mg disuelto en 2 mL de suero fisiológico.

7. PREPARACIÓN DEL TRATAMIENTO (DÍA 46-60)

✓ Grupo 2 *Fragaria ananassa* 1.5 mg/g/día

1.5 mg - 1g

x - 232 g

x= 348 mg que es igual a 0.348 g de extracto por día.

Si: 1mL - 3.33 g

x - 0.348 g

x= 0.10 mL de extracto diluido en 2mL de suero fisiológico.

✓ Grupo 3 *Fragaria ananassa* 3.0 mg/g/día

3.0 mg - 1g

x - 225 g

x= 681 mg que es igual a 0.681 g de extracto por día.

Si: 1mL - 3.33 g

x - 0.675 g

x= 0.20 mL de extracto diluido en 2mL de suero fisiológico.

✓ Grupo 4 *Vaccinium corymbosum* 1.5 mg/g/día

1.5 mg - 1g

x - 234 g

x= 351 mg que es igual a 0.351 g de extracto por día.

Si: 1mL - 2.78 g

x - 0.351 g

x= 0.13 mL de extracto diluido en 2mL de suero fisiológico.

✓ Grupo 5 *Vaccinium corymbosum* 3.0 mg/g/día

3.0 mg - 1g

x - 233 g

$x = 699$ mg que es igual a 0.699 g de extracto por día.

Si: 1 mL - 2.78 g

x - 0.699 g

$x = 0.25$ mL de extracto diluido en 2 mL de suero fisiológico.

✓ **Grupo 6 Sinergismo 3.0/3.0 mg/g/día**

3.0 mg - 1g

x - 236 g

$x = 708$ mg que es igual a 0.708 g de extracto por día.

Si: 1 mL - 3.33 g

x - 0.708 g

$x = 0.21$ mL de extracto diluido en 2 mL de suero fisiológico.

3.0 mg - g

x - 236g

$x = 708$ mg que es igual a 0.708 g de extracto por día.

Si: 1 mL - 2.78g

x - 0.708g

$x = 0.26$ mL de extracto diluido en 2 mL de suero fisiológico.

✓ **Grupo 7 Atorvastatina 0.06 mg/kg/día**

0.06mg- 1000g

x - 237 g

$x = 0.01$ mg disuelto en 2 mL de suero fisiológico.

8. RESULTADOS DE ABSORVANCIAS DE pH DIFERENCIAL:

UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA
Cátedra CONCYEC en Química Ambiental

Informe Análisis Concentración

Hora Informe 13/02/2018 10:22:10
Método D:\Alex y Diana\700 nm.MCN
Nombre de Lote D:\Alex y Diana\Análisis Día 1 a 700nm.BCN
Aplicación Conc 5.0.0.999
Operador

Condiciones del Instrumento

Instrumento Cary 60
Nº Versión Intrumento. 2,00
Long.de onda (nm) 700,0
Modo Ordenadas Abs
T Prom (seg) 0,1000
Replicados 3
Media Patrón/Muestra Apag.
Correcciones de peso y volumen Apag.
Tipo Ajuste Lineal
Mín R² 0,95000
Unidades Concentración g/L

Informe Cero

Leer	Abs (700,0 nm)
Cero	-0,0170

Análisis

Tiempo Colección 13/02/2018 10:22:12

Muestra	Conc g/L	F	Media	DE	%DSR	Lecturas
1 Fresa pH 1		U	0,0295	0,00006	0,19593	0,0295
		U				0,0295
		U				0,0294
		U				
2 Fresa pH 1		U	0,0207	0,00015	0,73675	0,0207
		U				0,0209
		U				0,0206
		U				
3 Fresa pH 4.5		U	0,0402	0,00062	1,55348	0,0409
		U				0,0397
		U				0,0400
		U				
4 Fresa pH 4.5		U	0,0370	0,00344	9,27704	0,0351
		U				0,0350
		U				0,0410
		U				
5 Arandano pH 1		U				0,0426

	U			0,0431
	U			0,0420
6 Arandano pH 1	U	0,0426	0,00055	1,29387
	U			0,0452
	U			0,0384
	U			0,0381
	U	0,0406	0,00402	9,89824
7 Arandano pH 4.5	U			0,0754
	U			0,0766
	U			0,0842
	U	0,0787	0,00477	6,06114
8 Arandano pH 4.5	U			0,0817
	U			0,0820
	U			0,0813
	U	0,0817	0,00035	0,43003

Secuencia lectura cancelada

Leyenda Marcas Resultados

U = Sin calibrar

N = No usado en calibración

O = Fuera de rango

R = Lectura repetida



UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA
Cátedra CONCYEC en Química Ambiental

Informe Análisis Concentración

Hora Informe 13/02/2018 10:15:57
 Método D:\Alex y Diana\510 nm.MCN
 Nombre de Lote D:\Alex y Diana\Análisis Día 1 a 510nm.BCN
 Aplicación Conc 5.0.0.999
 Operador

Condiciones del Instrumento

Instrumento Cary 60
 N° Versión Intrumento. 2,00
 Long.de onda (nm) 510,0
 Modo Ordenadas Abs
 T Prom (seg) 0,1000
 Replicados 3
 Media Patrón/Muestra Apag.
 Correcciones de peso y volumen Apag.
 Tipo Ajuste Lineal
 Mín R² 0,95000
 Unidades Concentración g/L

Informe Cero

Leer	Abs (510,0 nm)
Cero	-0,0125

Análisis

Tiempo Colección		13/02/2018 10:15:59				
Muestra	Conc g/L	F	Media	DE	%DSR	Lecturas
1 Fresa pH1		U				0,2938
		U				0,2938
		U				0,2932
		U	0,2936	0,00035	0,11798	
2 Fresa pH 1		U				0,3109
		U				0,3108
		U				0,3108
3 Fresa pH 4.5		U	0,3108	0,00006	0,01857	
		U				0,0841
		U				0,0840
4 Fresa pH 4.5		U	0,0839	0,00026	0,31535	
		U				0,0836
		U				0,0808
		U				0,0807
5 Arandano pH 1		U	0,0807	0,00006	0,07151	
		U				1,7373
		U				1,7342
		U				1,7321

6 Arandano pH 1	U	1,7345	0,00262	0,15082	
	U				1,7860
	U				1,7854
	U				1,7863
7 Arandano pH 4.5	U	1,7859	0,00046	0,02566	
	U				0,3117
	U				0,3125
	U				0,3141
8 Arandano pH 4.5	U	0,3128	0,00122	0,39071	
	U				0,3405
	U				0,3401
	U				0,3393
Secuencia lectura cancelada	U	0,3400	0,00061	0,17971	

Leyenda Marcas Resultados

U = Sin calibrar

N = No usado en calibración

O = Fuera de rango

R = Lectura repetida



UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA
Cátedra CONCYEC en Química Ambiental

Informe Análisis Concentración

Hora Informe 14/02/2018 9:30:10
Método D:\Alex y Diana\510 nm.MCN
Nombre de Lote D:\Alex y Diana\Análisis Día 2 a 510nm.BCN
Aplicación Conc 5.0.0.999
Operador

Condiciones del Instrumento

Instrumento Cary 60
Nº Versión Intrumento. 2,00
Long.de onda (nm) 510,0
Modo Ordenadas Abs
T Prom (seg) 0,1000
Replicados 3
Media Patrón/Muestra Apag.
Correcciones de peso y volumen Apag.
Tipo Ajuste Lineal
Mín R² 0,95000
Unidades Concentración g/L

Informe Cero

Leer Abs (510,0 nm)
Cero -0,0108

Análisis

Tiempo Colección		14/02/2018 9:30:12				
Muestra	Conc g/L	F	Media	DE	%DSR	Lecturas
1 Fresa pH1		U				0,2820
		U				0,2820
		U				0,2815
		U	0,2818	0,00029	0,10243	
2 Fresa pH 1		U				0,2914
		U				0,2913
		U				0,2911
3 Fresa pH 4.5		U	0,2913	0,00015	0,05245	
		U				0,0797
		U				0,0800
4 Fresa pH 4.5		U				0,0798
		U	0,0798	0,00015	0,19134	
		U				0,0845
5 Arándano pH 1		U	0,0853	0,00108	1,26495	
		U				1,6972
		U				1,7120
						1,7112

6 Arándano pH 1	U	1,7068	0,00832	0,48767	
	U				1,7519
	U				1,7504
	U				1,7508
7 Arándano pH 4.5	U	1,7510	0,00078	0,04436	
	U				0,3211
	U				0,3214
	U				0,3223
8 Arándano pH 4.5	U	0,3216	0,00062	0,19418	
	U				0,3156
	U				0,3132
	U				0,3137
Secuencia lectura cancelada	U	0,3142	0,00127	0,40305	

Leyenda Marcas Resultados

U = Sin calibrar

N = No usado en calibración

O = Fuera de rango

R = Lectura repetida



UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA
Cátedra CONCYEC en Química Ambiental

Informe Análisis Concentración

Hora Informe 14/02/2018 9:38:16
Método D:\Alex y Diana\700 nm.MCN
Nombre de Lote D:\Alex y Diana\Análisis Día 2 a 700 nm.BCN
Aplicación Conc 5.0.0.999
Operador

Condiciones del Instrumento

Instrumento Cary 60
Nº Versión Instrumento. 2,00
Long.de onda (nm) 700,0
Modo Ordenadas Abs
T Prom (seg) 0,1000
Replicados 3
Media Patrón/Muestra Apag.
Correcciones de peso y volumen Apag.
Tipo Ajuste Lineal
Mín R² 0,95000
Unidades Concentración g/L

Informe Cero

Leer	Abs (700,0 nm)
Cero	-0,0178

Análisis

Tiempo Colección		14/02/2018 9:38:22				
Muestra	Conc g/L	F	Media	DE	%DSR	Lecturas
1 Fresa pH 1		U				0,0239
		U				0,0236
		U				0,0229
		U	0,0235	0,00051	2,18676	
2 Fresa pH 1		U				0,0233
		U				0,0237
		U				0,0229
3 Fresa pH 4.5		U	0,0233	0,00040	1,71674	
		U				0,0319
		U				0,0324
4 Fresa pH 4.5		U	0,0321	0,00025	0,78318	
		U				0,0306
		U				0,0303
		U				0,0297
5 Arándano pH 1		U	0,0302	0,00046	1,51741	
		U				0,0358
		U				0,0357
		U				0,0347

6 Arándano pH 1	U	0,0354	0,00061	1,71830	
	U				0,0471
	U				0,0457
	U				0,0398
7 Arándano pH 4.5	U	0,0442	0,00387	8,76533	
	U				0,0796
	U				0,0808
	U				0,0829
8 Arándano pH 4.5	U	0,0811	0,00167	2,05959	
	U				0,0756
	U				0,0775
	U				0,0754
Secuencia lectura cancelada	U	0,0762	0,00116	1,52169	

Leyenda Marcas Resultados

U = Sin calibrar

N = No usado en calibración

O = Fuera de rango

R = Lectura repetida



UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA
Cátedra CONCYEC en Química Ambiental

Informe Análisis Concentración

Hora Informe 15/02/2018 9:37:37
Método D:\Alex y Diana\510 nm.MCN
Nombre de Lote D:\Alex y Diana\Análisis Día 3 a 510nm.BCN
Aplicación Conc 5.0.0.999
Operador

Condiciones del Instrumento

Instrumento Cary 60
Nº Versión Instrumento. 2,00
Long.de onda (nm) 510,0
Modo Ordenadas Abs
T Prom (seg) 0,1000
Replicados 3
Media Patrón/Muestra Apag.
Correcciones de peso y volumen Apag.
Tipo Ajuste Lineal
Mín R² 0,95000
Unidades Concentración g/L

Informe Cero

Leer Abs (510,0 nm)
Cero -0,0191

Análisis

Tiempo Colección 15/02/2018 9:37:39

Muestra	Conc g/L	F	Media	DE	%DSR	Lecturas
1 Fresa pH1		U				0,2813
		U				0,2791
		U				0,2803
		U	0,2802	0,00110	0,39307	
2 Fresa pH 1		U				0,2925
		U				0,2924
		U				0,2927
3 Fresa pH 4.5		U	0,2925	0,00015	0,05221	
		U				0,0872
		U				0,0864
4 Fresa pH 4.5		U	0,0867	0,00042	0,48002	
		U				0,0872
		U				0,0864
		U				0,0866
5 Arándano pH 1		U	0,0867	0,00042	0,48002	
		U				0,0819
		U				0,0840
		U				0,0859
5 Arándano pH 1		U	0,0839	0,00200	2,38384	
		U				1,7986
		U				1,7983
		U				1,7980

6 Arándano pH 1	U	1,7983	0,00030	0,01668	
	U				1,7319
	U				1,7345
	U				1,7384
7 Arándano pH 4.5	U	1,7349	0,00327	0,18857	
	U				0,3523
	U				0,3510
	U				0,3540
8 Arándano pH 4.5	U	0,3527	0,00115	0,32698	
	U				0,3201
	U				0,3189
	U				0,3140
Secuencia lectura cancelada	U	0,3177	0,00323	1,01729	

Leyenda Marcas Resultados

U = Sin calibrar

N = No usado en calibración

O = Fuera de rango

R = Lectura repetida



UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA
Cátedra CONCYEC en Química Ambiental

Informe Análisis Concentración

Hora Informe 15/02/2018 9:46:11
Método D:\Alex y Diana\700 nm.MCN
Nombre de Lote D:\Alex y Diana\Análisis Día 3 700nm.BCN
Aplicación Conc 5.0.0.999
Operador

Condiciones del Instrumento

Instrumento Cary 60
Nº Versión Instrumento. 2,00
Long.de onda (nm) 700,0
Modo Ordenadas Abs
T Prom (seg) 0,1000
Replicados 3
Media Patrón/Muestra Apag.
Correcciones de peso y volumen Apag.
Tipo Ajuste Lineal
Mín R² 0,95000
Unidades Concentración g/L

Informe Cero

Leer	Abs (700,0 nm)
Cero	-0,0225

Análisis

Tiempo Colección 15/02/2018 9:46:13

Muestra	Conc g/L	F	Media	DE	%DSR	Lecturas
1 Fresa pH 1		U				0,0226
		U				0,0221
		U				0,0221
2 Fresa pH 1		U	0,0223	0,00029	1,29645	
		U				0,0254
		U				0,0249
3 Fresa pH 4.5		U	0,0253	0,00032	1,27225	
		U				0,0360
		U				0,0361
4 Fresa pH 4.5		U	0,0361	0,00015	0,42275	
		U				0,0363
		U				0,0372
5 Arándano pH 1		U	0,0392	0,00235	5,97940	
		U				0,0387
		U				0,0418

6 Arándano pH 1	U	0,0418	0,00126	3,01270	
	U				0,0454
	U				0,0436
	U				0,0449
7 Arándano pH 4.5	U	0,0446	0,00093	2,08176	
	U				0,0821
	U				0,0811
	U				0,0803
8 Arándano pH 4.5	U	0,0812	0,00090	1,11111	
	U				0,0800
	U				0,0793
	U				0,0753
Secuencia lectura cancelada	U	0,0782	0,00254	3,24264	

Leyenda Marcas Resultados

U = Sin calibrar

N = No usado en calibración

O = Fuera de rango

R = Lectura repetida



9. RESULTADOS DE ABOSRVANCIAS FOLIN CIOCALTEU

UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA
Cátedra CONCYEC en Química Ambiental

Informe Análisis Concentración

Hora Informe 19/02/2018 11:30:20
Método D:\Alex y Diana\folin.MCN
Nombre de Lote D:\Alex y Diana\Fenoles 1.BCN
Aplicación Conc 5.0.0.999
Operador A. Idme - D.Rodriguez

Condiciones del Instrumento

Instrumento Cary 60
Nº Versión Intrumento. 2,00
Long.de onda (nm) 765,0
Modo Ordenadas Abs
T Prom (seg) 0,1000
Replicados 3
Media Patrón/Muestra Apag.
Correcciones de peso y volumen Apag.
Tipo Ajuste Lineal
Mín R² 0,95000
Unidades Concentración mg/L

Informe Cero

Leer	Abs (765,0 nm)
Cero	0,0826

Calibración

Tiempo Colección 19/02/2018 11:31:12

Estándar	Conc mg/L	F	Media	DE	%DSR	Lecturas
Patrón1						0,1518
						0,1521
						0,1521
Patrón2	10,0		0,1520	0,00017	0,11395	0,3210
						0,3213
						0,3218
Patrón3	20,0		0,3214	0,00040	0,12576	0,4429
						0,4430
						0,4430
Patrón4	30,0		0,4430	0,00006	0,01303	0,5821
						0,5829
						0,5827
Patrón5	40,0		0,5824	0,00030	0,05151	0,8599
						0,8602
						0,8604

UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA
Cátedra CONCYEC en Química Ambiental

Informe Análisis Concentración

Hora Informe 20/02/2018 10:20:45
Método D:\Alex y Diana\folin.MCN
Nombre de Lote D:\Alex y Diana\Fenoles 2.BCN
Aplicación Conc 5.0.0.999
Operador A. Idme - D.Rodriguez

Condiciones del Instrumento

Instrumento Cary 60
Nº Versión Intrumento. 2,00
Long.de onda (nm) 765,0
Modo Ordenadas Abs
T Prom (seg) 0,1000
Replicados 3
Media Patrón/Muestra Apag.
Correcciones de peso y volumen Apag.
Tipo Ajuste Lineal
Mín R² 0,95000
Unidades Concentración mg/L

Informe Cero

Leer Abs (765,0 nm)
Cero 0,0750

Calibración

Tiempo Colección 20/02/2018 10:20:42

Estándar	Conc mg/L	F	Media	DE	%DSR	Lecturas
Patrón1						0,1496
						0,1499
						0,1500
Patrón2	10,0		0,1498	0,00021	0,13893	0,3143
						0,3145
						0,3146
Patrón3	20,0		0,3145	0,00015	0,04858	0,4326
						0,4326
						0,4327
Patrón4	30,0		0,4326	0,00006	0,01335	0,5710
						0,5713
						0,5713
Patrón5	40,0		0,5712	0,00017	0,03032	1,8572
						1,8574
						1,8576
	60,0		0,8574	0,00020	0,02333	

Ecuación Calib.
Coef. Correlación
Hora Calibración 20/02/2018 10:28:45

Abs =0,01392*Conc -0,01882
0,99861

Análisis

Tiempo Colección		20/02/2018 10:29:01				
Muestra	Conc mg/L	F	Media	DE	%DSR	Lecturas
Fresa		U				0,4669
		U				0,4673
		U				0,4648
		U	0,4663	0,00134	0,28797	
Arandano		U				0,6845
		U				0,6821
		U				0,6767
		U	0,6811	0,00400	0,58655	

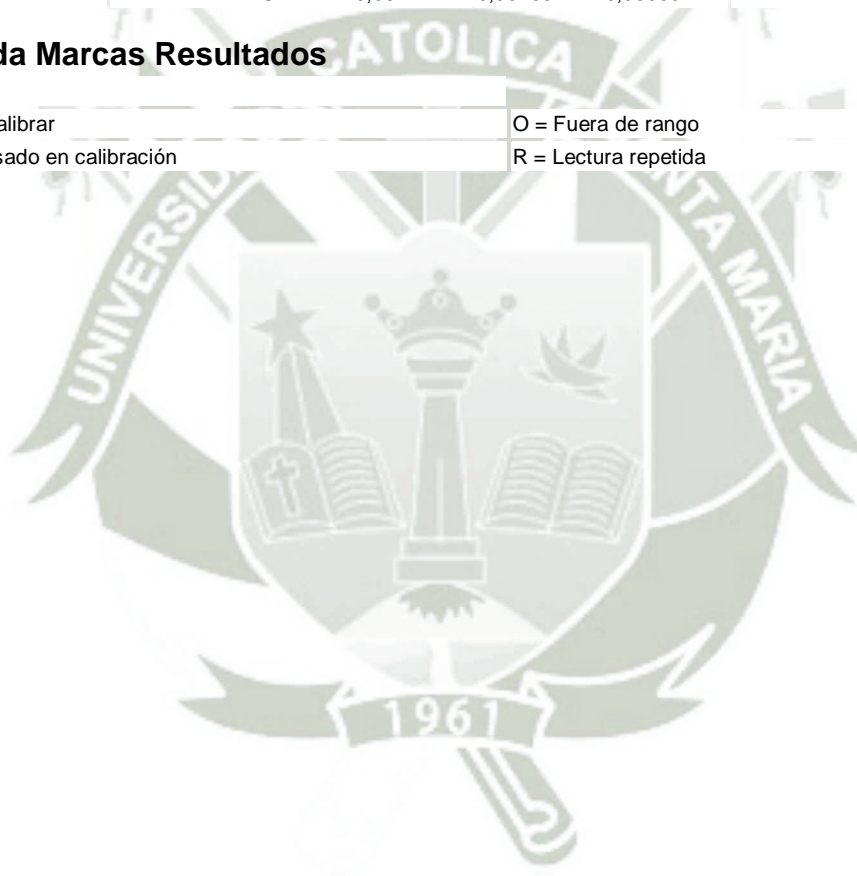
Leyenda Marcas Resultados

U = Sin calibrar

N = No usado en calibración

O = Fuera de rango

R = Lectura repetida



UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA
Cátedra CONCYEC en Química Ambiental

Informe Análisis Concentración

Hora Informe 21/02/2018 10:12:06
Método D:\Alex y Diana\folin.MCN
Nombre de Lote D:\Alex y Diana\Fenoles 3.BCN
Aplicación Conc 5.0.0.999
Operador A. Idme - D.Rodriguez

Condiciones del Instrumento

Instrumento Cary 60
Nº Versión Intrumento. 2,00
Long.de onda (nm) 765,0
Modo Ordenadas Abs
T Prom (seg) 0,1000
Replicados 3
Media Patrón/Muestra Apag.
Correcciones de peso y volumen Apag.
Tipo Ajuste Lineal
Mín R² 0,95000
Unidades Concentración mg/L

Informe Cero

Leer Abs (765,0 nm)
Cero 0,0791

Calibración

Tiempo Colección 21/02/2018 10:14:00

Estándar	Conc mg/L	F	Media	DE	%DSR	Lecturas
Patrón1						0,1451
						0,1455
						0,1456
Patrón2	10,0		0,1454	0,00026	0,18196	0,3127
						0,3130
						0,3132
Patrón3	20,0		0,3130	0,00025	0,08041	0,4155
						0,4155
						0,4157
Patrón4	30,0		0,4156	0,00012	0,02779	0,5490
						0,5492
						0,5492
Patrón5	40,0		0,5491	0,00012	0,02103	0,8406
						0,8409
						0,8409
	60,0		0,8408	0,00017	0,02060	

Ecuación Calib.
Coef. Correlación
Hora Calibración 21/02/2018 10:21:36

Abs =0,01362*Conc 0,01712
0,99663

Análisis

Tiempo Colección 21/02/2018 10:21:54

Muestra	Conc mg/L	F	Media	DE	%DSR	Lecturas
Fresa		U				0,4669
		U				0,4673
		U				0,4648
		U	0,4663	0,00134	0,28797	
Arandano		U				0,6845
		U				0,6821
		U				0,6767
		U	0,6811	0,00400	0,58655	

Leyenda Marcas Resultados

U = Sin calibrar

N = No usado en calibración

O = Fuera de rango

R = Lectura repetida



10. RESULTADOS ABSORVANCIAS CUPRAC

UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA
Cátedra CONCYEC en Química Ambiental

Informe Análisis Concentración

Hora Informe 28/02/2018 14:49:50
 Método D:\Alex y Diana\cuprac.MCN
 Nombre de Lote D:\Alex y Diana\Cuprac oficial 1.BCN
 Aplicación Conc 5.0.0.999
 Operador A. Idme - D: Rodriguez

Condiciones del Instrumento

Instrumento Cary 60
 Nº Versión Intrumento. 2,00
 Long.de onda (nm) 450,0
 Modo Ordenadas Abs
 T Prom (seg) 0,1000
 Replicados 3
 Media Patrón/Muestra Apag.
 Correcciones de peso y volumen Apag.
 Tipo Ajuste Lineal
 Mín R² 0,95000
 Unidades Concentración mmol/L

Informe Cero

Leer	Abs (450,0 nm)
Cero	0,0902

Calibración

Tiempo Colección 28/02/2018 14:50:15

Estándar	Conc mmol/L	F	Media	DE	%DSR	Lecturas
Patrón1						0,1373
						0,1372
						0,1372
Patrón2	0,01		0,1372	0,00006	0,04207	0,3162 0,3162 0,3165
Patrón3	0,02		0,3163	0,00017	0,05476	0,7235 0,7237 0,7239
Patrón4	0,04		0,7237	0,00020	0,02763	1,0846 1,0848 1,0851
Patrón5	0,06		1,0848	0,00025	0,02320	1,5296

UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA
Cátedra CONCYEC en Química Ambiental

Informe Análisis Concentración

Hora Informe 01/03/2018 10:42:49
 Método D:\Alex y Diana\CUPRAC.MCN
 Nombre de Lote D:\Alex y Diana\Cuprac oficial 2.BCN
 Aplicación Conc 5.0.0.999
 Operador A. Idme - D. Rodriguez

Condiciones del Instrumento

Instrumento Cary 60
 N° Versión Intrumento. 2,00
 Long.de onda (nm) 450,0
 Modo Ordenadas Abs
 T Prom (seg) 0,1000
 Replicados 3
 Media Patrón/Muestra Apag.
 Correcciones de peso y volumen Apag.
 Tipo Ajuste Lineal
 Mín R² 0,95000
 Unidades Concentración mmol/L

Informe Cero

Leer Abs (450,0 nm)
 Cero 0,1080

Calibración

Tiempo Colección 01/03/2018 10:43:17

Estándar	Conc mmol/L	F	Media	DE	%DSR	Lecturas
Patrón1						0,1355
						0,1319
						0,1327
Patrón2	0,01		0,1334	0,00189	1,41739	0,3315
						0,3299
						0,3288
Patrón3	0,02		0,3301	0,00136	0,41134	0,6814
						0,6907
						0,6637
Patrón4	0,04		0,6786	0,01372	2,02123	1,0133
						1,0126
						1,0102
Patrón5	0,06		1,0120	0,00163	0,16065	1,4547
						1,4571
						1,4540
	0,08		1,4553	0,00163	0,11172	

Ecuación Calib.
Coef. Correlación
Hora Calibración 01/03/2018 10:46:09

Abs =18,14134*Conc -0,04394
0,99233

Análisis

Tiempo Colección

01/03/2018 10:46:09

Muestra	Conc mmol/L	F	Media	DE	%DSR	Lecturas
Fresa 1						0,9032
						0,9015
						0,8956
			0,9001	0,00399	0,44314	
Fresa 2						0,8872
						0,8856
						0,8849
			0,8859	0,00118	0,13308	
Arandano 1						0,2839
						0,2837
						0,2847
			0,2841	0,00053	0,18626	
Arandano 2						0,2859
						0,2865
						0,2919
			0,2881	0,00330	1,14702	

Leyenda Marcas Resultados

U = Sin calibrar

O = Fuera de rango

N = No usado en calibración

R = Lectura repetida



UNIVERSIDAD CATOLICA DE SANTA MARIA
Cátedra CONCYEC en Química Ambiental

Informe Análisis Concentración

Hora Informe 02/03/2018 10:43:54
 Método D:\Alex y Diana\CUPRAC.MCN
 Nombre de Lote D:\Alex y Diana\Cuprac oficial 3.BCN
 Aplicación Conc 5.0.0.999
 Operador A. Idme - D. Rodriguez

Condiciones del Instrumento

Instrumento Cary 60
 N° Versión Intrumento. 2,00
 Long.de onda (nm) 450,0
 Modo Ordenadas Abs
 T Prom (seg) 0,1000
 Replicados 3
 Media Patrón/Muestra Apag.
 Correcciones de peso y volumen Apag.
 Tipo Ajuste Lineal
 Mín R² 0,95000
 Unidades Concentración mmol/L

Informe Cero

Leer Abs (450,0 nm)
 Cero 0,0986

Calibración

Tiempo Colección 02/03/2018 10:33:23

Estándar	Conc mmol/L	F	Media	DE	%DSR	Lecturas
Patrón1						0,1354
						0,1356
						0,1358
Patrón2	0,01		0,1356	0,00020	0,14749	0,3283
						0,3284
						0,3283
Patrón3	0,02		0,3283	0,00005	0,01758	0,7023
						0,7019
						0,7021
Patrón4	0,04		0,7021	0,00020	0,02845	1,0638
						1,0653
						1,0646
Patrón5	0,06		1,0645	0,00075	0,07050	1,4872
						1,4860
						1,4858
	0,08		1,4863	0,00075	0,05094	

Ecuación Calib.
Coef. Correlación
Hora Calibración 02/03/2018 10:36:09

Abs =19,10801*Conc -0,05913
0,99922

Análisis

Tiempo Colección

02/03/2018 10:36:15

Muestra	Conc mmol/L	F	Media	DE	%DSR	Lecturas
Fresa 1						0,8735
						0,8737
						0,8736
			0,8736	0,00009	0,01145	
Fresa 2						0,8944
						0,8946
						0,8948
			0,8946	0,00020	0,02235	
Arandano 1						0,2864
						0,2862
						0,2861
			0,2862	0,00015	0,05336	
Arandano 2						0,2856
						0,2854
						0,2858
			0,2856	0,00020	0,07003	

Leyenda Marcas Resultados

U = Sin calibrar

O = Fuera de rango

N = No usado en calibración

R = Lectura repetida



11. TABLA DE PESOS DE LOS GRUPOS DURANTE EL ESTUDIO

GRUPOS	Nº/días	PESO (g)				
		Basal	15	30	45	60
Grupo 1	1	228.00	231.00	238.00	236.00	237.00
	2	215.00	217.00	226.00	224.00	226.00
	3	216.00	218.00	228.00	230.00	229.00
	4	227.00	230.00	236.00	234.00	232.00
	5	222.00	226.00	234.00	235.00	234.00
Grupo 2	6	225.00	227.00	235.00	234.00	232.00
	7	224.00	227.00	233.00	232.00	231.00
	8	232.00	235.00	240.00	240.00	241.00
	9	222.00	224.00	232.00	230.00	229.00
	10	216.00	219.00	228.00	225.00	224.00
Grupo 3	11	225.00	228.00	236.00	234.00	232.00
	12	223.00	225.00	235.00	233.00	231.00
	13	221.00	222.00	232.00	230.00	229.00
	14	226.00	227.00	231.00	229.00	228.00
	15	218.00	222.00	232.00	227.00	226.00
Grupo 4	16	231.00	234.00	241.00	238.00	238.00
	17	224.00	226.00	232.00	233.00	232.00
	18	221.00	224.00	233.00	232.00	231.00
	19	224.00	225.00	234.00	237.00	236.00
	20	219.00	221.00	229.00	230.00	229.00
Grupo 5	21	224.00	226.00	234.00	233.00	232.00
	22	218.00	222.00	224.00	223.00	220.00
	23	223.00	226.00	235.00	233.00	230.00
	24	231.00	233.00	234.00	232.00	230.00
	25	240.00	242.00	247.00	246.00	242.00
Grupo 6	26	220.00	221.00	231.00	230.00	226.00
	27	231.00	232.00	242.00	241.00	239.00
	28	221.00	224.00	232.00	231.00	230.00
	29	234.00	236.00	245.00	244.00	241.00
	30	220.00	222.00	236.00	232.00	231.00
Grupo 7	31	234.00	236.00	243.00	243.00	240.00
	32	230.00	232.00	241.00	244.00	243.00
	33	226.00	228.00	237.00	236.00	235.00
	34	219.00	223.00	233.00	231.00	231.00
	35	223.00	224.00	234.00	233.00	230.00

12. TABLA DE COLESTEROL TOTAL DE LOS GRUPOS DURANTE EL ESTUDIO

GRUPOS	Nº/días	COLESTEROL TOTAL (mg/dL)				
		Basal	15	30	45	60
Grupo 1	1	72.00	95.00	114.00	116.00	115.00
	2	68.00	93.00	115.00	114.00	112.00
	3	65.00	89.00	112.00	115.00	114.00
	4	73.00	98.00	120.00	118.00	116.00
	5	69.00	92.00	117.00	119.00	118.00
Grupo 2	6	76.00	106.00	121.00	104.00	63.00
	7	65.00	98.00	113.00	97.00	59.00
	8	68.00	95.00	115.00	101.00	64.00
	9	72.00	101.00	118.00	99.00	62.00
	10	59.00	91.00	109.00	92.00	57.00
Grupo 3	11	67.00	88.00	112.00	95.00	57.00
	12	70.00	95.00	119.00	101.00	63.00
	13	79.00	106.00	127.00	107.00	65.00
	14	74.00	102.00	123.00	104.00	61.00
	15	69.00	94.00	120.00	97.00	58.00
Grupo 4	16	76.00	101.00	119.00	101.00	61.00
	17	70.00	91.00	110.00	95.00	53.00
	18	73.00	95.00	116.00	96.00	55.00
	19	66.00	96.00	113.00	99.00	57.00
	20	69.00	93.00	114.00	91.00	54.00
Grupo 5	21	75.00	105.00	124.00	106.00	52.00
	22	69.00	99.00	117.00	99.00	50.00
	23	65.00	95.00	114.00	97.00	56.00
	24	72.00	102.00	121.00	104.00	54.00
	25	79.00	109.00	129.00	108.00	56.00
Grupo 6	26	69.00	90.00	115.00	91.00	52.00
	27	74.00	98.00	121.00	96.00	50.00
	28	72.00	95.00	117.00	95.00	47.00
	29	77.00	102.00	124.00	99.00	48.00
	30	73.00	97.00	118.00	93.00	45.00
Grupo 7	31	78.00	106.00	125.00	96.00	50.00
	32	75.00	107.00	128.00	93.00	46.00
	33	75.00	102.00	123.00	95.00	48.00
	34	68.00	100.00	116.00	88.00	43.00
	35	72.00	104.00	121.00	90.00	45.00

13. TABLA DE TRIGLICÉRIDOS DE LOS GRUPOS DURANTE EL ESTUDIO

GRUPOS	N°/días	TRIGLICÉRIDOS (mg/dL)				
		Basal	15	30	45	60
Grupo 1	1	36.00	52.00	69.00	68.00	68.00
	2	43.00	59.00	73.00	71.00	69.00
	3	38.00	53.00	70.00	72.00	74.00
	4	41.00	57.00	72.00	75.00	73.00
	5	37.00	54.00	68.00	67.00	67.00
Grupo 2	6	33.00	49.00	59.00	56.00	45.00
	7	35.00	54.00	71.00	63.00	50.00
	8	40.00	56.00	73.00	67.00	59.00
	9	33.00	48.00	68.00	60.00	54.00
	10	39.00	54.00	64.00	58.00	48.00
Grupo 3	11	39.00	59.00	74.00	63.00	53.00
	12	32.00	52.00	69.00	52.00	41.00
	13	35.00	55.00	68.00	60.00	46.00
	14	34.00	51.00	71.00	59.00	48.00
	15	36.00	50.00	65.00	55.00	50.00
Grupo 4	16	38.00	57.00	74.00	68.00	48.00
	17	36.00	49.00	65.00	60.00	40.00
	18	30.00	50.00	68.00	54.00	36.00
	19	42.00	53.00	70.00	63.00	48.00
	20	34.00	48.00	66.00	55.00	35.00
Grupo 5	21	37.00	52.00	74.00	57.00	42.00
	22	32.00	48.00	65.00	53.00	38.00
	23	30.00	45.00	63.00	52.00	37.00
	24	35.00	50.00	71.00	50.00	34.00
	25	41.00	56.00	77.00	59.00	43.00
Grupo 6	26	38.00	55.00	72.00	58.00	38.00
	27	31.00	51.00	71.00	55.00	36.00
	28	37.00	54.00	68.00	56.00	37.00
	29	38.00	55.00	71.00	58.00	33.00
	30	34.00	53.00	73.00	60.00	30.00
Grupo 7	31	41.00	55.00	71.00	54.00	35.00
	32	43.00	59.00	73.00	52.00	37.00
	33	34.00	52.00	68.00	49.00	34.00
	34	44.00	60.00	76.00	58.00	44.00
	35	36.00	53.00	69.00	54.00	36.00