



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS

ESCUELA PROFESIONAL DE NUTRICION

EVALUACIÓN FITOQUÍMICA Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE *IN VITRO* DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Nostoc commune* (Cushuro)

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE
LICENCIADO EN NUTRICIÓN**

AUTOR:

Sánchez Sebastián Luis Alberto

ASESOR:

Dr. Jorge Luis Díaz Ortega

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Promoción de la Salud y Desarrollo Sostenible

TRUJILLO – PERÚ

2018

PÁGINA DEL JURADO

Mg. Lilia Rodríguez Hidalgo
Presidente.

Mg. Gaby Felipe Bravo
Secretario.

Dr. Jorge Luis Díaz Ortega
Vocal.

DEDICATORIA

A mis queridos padres

Wilder y Marlina

Por su amor, paciencia, consejos y sobre todo el esfuerzo brindado durante todos estos años, también por la confianza brindada y siempre estar presente ahí cuando más los necesitabas, miles de gracias.

A mis Hermanos

Jhon Agustin

Paul Denis

Ales Frank

Por su apoyo brindado a cada momento difícil, por hacer cada día más alegre con sus bromas y hacerme salir de los problemas.

A mi linda enamorada Jhilda

Por hacer mis días mucho más felices y especiales, por todo su gran amor, confianza y apoyo incondicional que me brinda. Gracias Dios por permitirme conocer a la chica más linda y espectacular del mundo.

A mi gran abuelito Leonardo

Por siempre apoyarme en los momentos que lo necesitaba, por sus consejos y palabras. Después de tu partida todo cambio, te extraño mucho pero sé que desde el cielo nos cuidas, te amo y gracias por todo mi viejito lindo.

AGRADECIMIENTO

A mis familiares y amigos por estar siempre a mi lado además por la motivación que de ellos he recibido para salir adelante cada día de mi vida.

A los profesores Jorge y Margarita

Por su apoyo en la ejecución del presente trabajo de investigación, brindándome su asesoría profesional.

A los señores miembros del jurado

Mi especial agradecimiento por su tiempo brindado y su ayuda en la elaboración de este trabajo de investigación.

DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD

Yo Sánchez Sebastián Luis Alberto con Documento Nacional de Identidad N° 46134641 a efecto de cumplir con las disposiciones vigentes consideradas en el Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo, Facultad de Ciencias Médicas, Escuela Profesional de Nutrición, declaro bajo juramento que toda la documentación que acompaño es veraz y auténtica.

Así mismo, declaro también bajo juramento que todos los datos e información que se presenta en la presente tesis son auténticos y veraces.

En tal sentido asumo la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión tanto de los documentos como de información aportada por lo cual me someto a lo dispuesto en las normas académicas de la Universidad César Vallejo.

Trujillo, Noviembre del 2018

PRESENTACIÓN

Señores miembros del Jurado:

En cumplimiento del Reglamento de Grados y Títulos de la Universidad César Vallejo presento ante ustedes la Tesis titulada “**EVALUACIÓN FITOQUÍMICA Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE *IN VITRO* DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE *Nostoc commune* (Cushuro)**”, la misma que someto a vuestra consideración y espero que cumpla con los requisitos de aprobación para obtener el título Profesional de Licenciado en Nutrición

ÍNDICE

DEDICATORIA	iii
AGRADECIMIENTO	iv
DECLARATORIA DE AUTENTICIDAD	v
PRESENTACIÓN	vi
ÍNDICE	vii
RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Realidad Problemática	1
1.2 Trabajos previos	3
1.3 Teorías relacionadas al tema	4
1.4 Formulación del Problema	8
1.5 Justificación del estudio	9
1.6 Hipótesis	9
1.7 Objetivos	9
II. MÉTODO	10
2.1 Diseño de Investigación	10
2.2 Variables, Operacionalización	10
2.3 Población y muestra	11
2.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad	16
2.5 Métodos de análisis de datos	17
III. RESULTADOS	18
IV. DISCUSIÓN	19
V. CONCLUSIONES	24
VI. RECOMENDACIONES	25
VII. REFERENCIAS	26
ANEXOS	31

RESUMEN

En el presente trabajo de investigación tuvo como objetivo el determinar el perfil fitoquímico y capacidad antioxidante *in vitro* del extracto etanólico de *Nostoc commune* (Cushuro). Se preparó el extracto etanólico de *Nostoc commune* (Cushuro) proveniente de la Laguna Cushuro de la ciudad de Huamachuco y se demostró mediante el análisis fitoquímico la presencia de metabolitos secundarios tales como, triterpenos y esteroides (Ensayo de Lieberman – Burchard), saponinas (Ensayo de la espuma), compuestos fenólicos (Ensayo del cloruro férrico), flavonoides (Ensayo de Shinoda) y antocianidinas (Ensayo de antocianidinas). Además se determinó la concentración de compuestos fenólicos por el método de Folin-Ciocalteu, presentando 2.562 ± 0.051 mg equivalente de ácido gálico (EAG) por gramo de muestra seca.

Y finalmente se determinó el Coeficiente de Inhibición para reducir en un 50% la concentración del radical DPPH (IC₅₀) por parte del extracto etanólico de *Nostoc commune*, encontrándose valores de 476.393 y 0.006 expresados en ug/mL de sólidos solubles y ug/mL EAG.

Palabras claves: *Nostoc commune*, extracto etanólico, compuestos fenólicos totales, perfil fitoquímico, capacidad antioxidante.

ABSTRACT

The present research work had a objective determine the phytochemical profile and the in vitro antioxidant capacity of the ethanolic extract of the commune of Nostoc (Cushuro). The ethanolic extract of the commune of Nostoc (Cushuro) from the Cushuro Lagoon of the city of Huamachuco, it was prepared and the presence of metabolites such as triterpenes and steroids (Lieberman Test - Burchard), saponins (Foam test), phenolic compounds (ferric chloride test), flavonoids (Shinoda test) and anthocyanidins (anthocyanidin assay). The concentration of phenolic compounds was also determined by the Folin-Ciocalteu method, presenting 2.562 ± 0.051 mg gallic acid equivalent (EAG) per gram of sample.

Finally, the Inhibition Coefficient was determined to reduce by 50% the concentration of the DPPH radical (IC₅₀) by the ethanolic extract of Nostoc commune, finding values of 476.393 and 0.006 expressed in ug / mL of soluble solids and ug / mL EAG .

Key words: Nostoc commune, ethanolic extract, total phenolic compounds, phytochemical profile, antioxidant capacity.

I. INTRODUCCION

1.1. Realidad problemática

En la evolución de muchas patologías, junto con el proceso de inflamación y la consecuente remodelación de los tejidos, se produce un desequilibrio entre los agentes oxidantes y antioxidantes, denominado estrés oxidativo. Este proceso oxidativo es un evento dinámico y complejo, caracterizada por un desbalance entre la síntesis formación de radicales libres y la disponibilidad y acción de los agentes antioxidantes endógenos, lo que puede ocasionar una serie de transformaciones fisiológicas y bioquímicas que contribuyen al deterioro y muerte celular^{1,2}.

Los radicales libres son compuestos que tiene dentro de su estructura química un electrón desapareado o libre que los hacen sumamente reactivos, y es por ello que buscan capturar un electrón de compuestos estables vecinos con la finalidad de lograr su estabilidad electroquímica. Cuando el radical libre logro capturar el electrón que necesitaba, el compuesto estable que lo perdió se transforma en un nuevo radical libre por quedar con un electrón libre, generando una serie de reacciones en cadena lo que conlleva a la degeneración de las células. Dentro de los radicales libres de mayor importancia biológica, se encuentran el anión radical superóxido ($O_2^{\cdot-}$), óxido nítrico ($\cdot NO$), radical hidroperoxilo (HO_2^{\cdot}), radical hidroxilo ($\cdot OH$), radical peroxilo (RO_2^{\cdot}), radical dióxido de nitrógeno ($\cdot NO_2$) y radical alcoxilo (RO^{\cdot})^{3,4}.

El proceso del estrés oxidativo y la proliferación de los radicales libres se han implicado tanto en la patogenia como en la cronificación de muchas enfermedades tales como la arterioesclerosis, problemas cardiovasculares, hipertensión arterial y diabetes. Es posible también que en otros procesos como las enfermedades fibrosantes, la úlcera péptica, ciertos cánceres, e incluso el proceso natural del envejecimiento, intervengan de manera directa los radicales libres⁵.

Los tratamientos antioxidantes así como los alimentos ricos o enriquecidos en sustancias antioxidantes, parecen evitar o por lo menos disminuir el declive funcional del organismo causado por el estrés oxidativo. La efectividad o fracaso de estos tratamientos se pueden

deber a diversos factores: la iniciación temprana o tardía del tratamiento, intervenciones en poblaciones o en pequeños grupos con alto riesgo, unión de intervenciones profilácticas con curativas, así como, prevención primaria y secundaria de muchas patologías, dosis inadecuadas, utilización de una sola sustancia antioxidante o una mezcla de dos antioxidantes o más, evaluación con parámetros objetivos de laboratorio, con variables biológicas y clínicas⁶.

Para las problemáticas mencionadas anteriormente se están buscando nuevas formas de terapia alternativa, por lo que hoy en día se hace de interés el desarrollo y descubrimientos de nuevas fuentes de productos, y uno de ellos son las algas.

El término “algas” se ha utilizado por mucho tiempo para denotar a todos los microorganismos productores de O₂ como resultado de la fotosíntesis. Esta clasificación es exclusiva para microorganismos eucariotas fotosintéticos, los cuales contienen clorofila en la membrana fotosintética de sus cloroplastos subcelulares⁷.

El uso de algas como fuente potencial de compuestos bioactivos de alto valor y con fines terapéuticos en la medicina y beneficios nutricionales en la industria como son los carotenoides, compuestos fenólicos, vitaminas antioxidantes, esteroides, ácidos grasos insaturados y exopolisacáridos que pueden cumplir un rol importante en la prevención de enfermedades cardiovasculares⁸.

Sanna *et al.* evidenciaron que el extracto de 9 especies de algas (8 cianobacterias y una alga verde) tenía actividad antioxidante y anticancerígena; que pueden usarse como colorantes aditivos para diferentes productos alimenticios (naturales, no tóxico) en lugar de las sustancias colorantes sintéticas que pueden ser cancerígenas⁹. La actividad antioxidante de las microalgas se debe en gran parte a sus compuestos fenólicos intracelulares como extracelulares según Mohammad *et al.*, los cuales evaluaron la actividad antioxidante de 5 especies de microalgas¹⁰.

Entonces la importancia de los compuestos bioactivos como ingredientes funcionales ha sido bien reconocida debido a la efectividad en la promoción de la salud y en la reducción del

riesgo de enfermedad; este hecho implica su potencial como ingrediente funcional en los productos alimenticios, los productos farmacéuticos y los cosmeceúticos¹¹.

La Cordillera de los Andes es lugar de numerosos lagos, lagunas, quebradas, manantiales, canales, ríos y diversos ambientes húmedos donde es muy frecuente encontrar al borde de la superficie o sumergidas en ellas, colonias de textura gelatinosa de forma esférica, de color verde azulados o verde parduzco que son Cyanophyta o algas azul-verdes y corresponden a diferentes especies de nostoc que existen en el Perú¹². En el Perú podemos encontrar las siguientes especies: *nostoc commune vauch*, *nostoc phaericum vauch*, *nostoc pruniforme*, *nostoc parmelioides* y *nostoc verrucosum vauch*¹³.

Una de las especies más comunes en el Perú es el *nostoc commune*, que son algas globosas de color verde oliváceo, verde nilo o verde parduzco que forman colonias esféricas de tamaño variable desde el microscopio hasta macroscópicas con la superficie del talo liso y de consistencia gelatinosa. Reciben el nombre de “coshuro”, “cossuro”, “ovas de los ríos”, “ururupa”, entre otros dependiendo la zona geográfica donde se encuentren. Este tipo de algas en el Perú las podemos encontrar en el Departamento de Ancash, Cajamarca, La Libertad, Junín, Pasco, Arequipa, Cuzco, Apurímac y Puno¹³.

Los metabolitos y sus efectos a favor de la salud están siendo estudiadas en todas las variedades de nostoc; se ha evidenciado que tienen propiedades antioxidantes, anticancerígenas antivirales, antifúngicas y antibacterianas¹⁴. El contenido de estos metabolito o compuestos bioactivos variara en función a la ubicación y especie del nostoc¹⁵.

1.2. Trabajos Previos

1.2.1 Internacional

Yue et al¹⁶ en su trabajo titulado; optimización para la extracción de polisacáridos de *Nostoc commune* y sus actividades antioxidantes y antibacterianas, refieren que los polisacáridos extraídos de *N. commune* ejercieron una fuerte capacidad de eliminación de radicales 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo, pero una débil captación de radical superóxido débil y de radicales hidroxilo.

1.2.2 Nacional

Chávez¹⁷ en su trabajo titulado “Composición química y actividad antioxidante in vitro del extracto acuoso de *Nostoc sphaericum*”, determinó la concentración de polifenoles totales de *Nostoc sphaericum* (Cushuro) proveniente del departamento de Junín-Perú, exactamente de la laguna Cushurococha; encontrándose que la cantidad, por muestra liofilizada, de 2.98mg EAG/g; así también encontró, el valor de IC50 entre 10-15 ug/mL para el radical ABTS.+ (Ácido 2,2'-azinobis (3etilbenzotiazolín)-6-sulfónico); concluyendo así que la muestra es una fuente de antioxidantes.

1.3. Teorías relacionadas al tema

El Nostoc es uno de los alimentos de mayor accesibilidad en las comunidades andinas, ya que su consumo data de tiempos inmemoriales y proporciona una buena cantidad de nutrientes. Este producto se consume principalmente en las comunidades de Ecuador, Bolivia y Perú; es muy económico de adquirir y todos los años se recolectan durante los meses de diciembre y marzo, que son temporadas de lluvias. Además este producto se le puede considerar como una fuente rica en proteínas y minerales como el calcio¹⁸.

El nostoc es una colonia de cianobacterias de color verde azulado o verde oliva, este color se debe a la presencia de clorofila y el azul se debe al pigmento llamado ficocianina, ambos relacionados con el proceso de la fotosíntesis. Tienen la forma de uvas traslucidas y de consistencia gelatinosa con un diámetro de 10 hasta 25 mm. Estas cianobacterias atrapan el nitrógeno del aire y las fijan en su interior, es allí que se pueden emplear como abono natural. Se encuentran a más de 3000 m sobre el nivel del mar a temperaturas muy bajas, son muy resistentes a la radiación y pueden rehidratarse con las lluvias. Esta especie ha sobrevivido millones de años, existiendo en zonas con climas extremos¹⁸.

Al nostoc también se le conoce como coshuro, cussuro, ovas de rio, ururupsha, ururupa, rachapa, llullucha, murmunta, jugadores y sharapa¹².

Según su taxonomía se encuentra clasificada como¹⁸:

- Reino: Eubacteria

- Filum: Cyanobacteria
- Clase: Cyanophyceae
- Subclase: Nostocophycidae
- Orden: Nostocales;
- Familia: Nostocaceae;
- Género: Nostoc
- Especies: *N. commune*, *N. desertorum*, *N. edaphicum*, *N. elliposporum*, *N. entophyllum*, *N. flagelliforme*, *N. indistinguenda*, *N. linckia*, *N. muscorum*, *N. paludosum*, *N. piscinale*, *N. punctiforme*, *N. sphaericum*, *N. trichormus*, *N. calcicola*, *N. cycadae*, *N. lichenoides*

El hábitat natural donde forman colonias gelatinosas esféricas son por el borde de la superficie o sumergidos en lagunas, charcos, quebradas, manantiales, ríos, aconales mezclados con otras especies de nostoc¹².

Según su composición química-bromatológica, en 100 gramos de producto tiene 242 Kcal; además en relación a los macronutrientes presenta 29g de proteínas, 0.5 de grasas y 46.9g de carbohidratos. Dentro de los micronutrientes contiene 147mg de calcio, 64mg de fosforo y 83.6mg de hierro¹⁹.

El nitrógeno que capturan del ambiente lo transforman en aminoácidos, los cuales sirven para la formación de proteínas que le da su calidad alimentaria de fácil digestión; además contiene hidratos de carbono en diferentes proporciones, llegando hasta un 50%. Todo esto nos demuestra que el nostoc es un alimento muy valioso que agrega proteínas a los platos andinos así como calcio para proteger la dentadura y la fuerza de los huesos según la tradición incaica. Es una buena fuente de fosforo, hierro y vitamina A entre otros¹⁸.

Una de las especies en mención es el *Nostoc commune*, que son algas globosas de color verde oliváceo, verde nilo o verde parduzco que forman colonias esféricas de tamaño variable desde el microscopio hasta macroscópicas con la superficie del talo liso y de consistencia gelatinosa; desde un milímetro hasta los 8 cm de diámetro. Tricomas

uniseriadas, rectos o curvos simples o reunidos en número variable, dentro de una vaina común de consistencia gelatinosa¹².

Para obtener información sobre los principios activos de la drogas son necesarios los métodos fisicoquímicos. El ensayo fitoquímico se pueden agrupar en primer lugar en métodos cualitativos que tiene como objetivo la detección e identificación de los diferentes metabolitos que componen la droga. En segundo lugar tenemos a los métodos cuantitativos que tiene por objetivo cuantificar, es decir, determinar en qué cantidad se encuentran dichos metabolitos en la droga. En todos estos ensayos es primordial disponer de drogas patrón y principios activos patrón que sirven como referencia para comparar la droga investigada²⁰.

Las microalgas son uno de los componentes importantes en las cadenas alimentarias de los ecosistemas acuáticos y se han utilizado para el consumo humano como alimento y como medicamentos. La gran diversidad de compuestos sintetizados a partir de diferentes vías metabólicas de algas marinas frescas y marinas proporciona fuentes prometedoras de ácidos grasos, esteroides, carotenoides, polisacáridos, lectinas, aminoácidos similares a micosporina, compuestos halogenados, policétidos, toxinas, agar agar, ácido algínico y carragenano. La biomasa de microalgas se considera un sistema antioxidante multicomponente, que generalmente es más efectivo debido a las interacciones entre diferentes componentes antioxidantes. Las microalgas son ricas en vitaminas; tienen la capacidad de acumular α - / β -tocoferol / α -tocotrienol (vitamina E) y fenoles solubles en grasa con propiedades antioxidantes. La vitamina E tiene una amplia gama de aplicaciones. Se usa para tratar el cáncer, la enfermedad cardíaca, la enfermedad ocular, la enfermedad de Alzheimer, la enfermedad de Parkinson y otras afecciones médicas²¹.

Las cianobacterias se han identificado como organismos importantes debido a su aislamiento de productos naturales novedosos y bioquímicamente activos. La mayoría de las cianobacterias, como Spirulina, Anabaena, Nostoc y Oscillatoria, producen numerosas variedades de metabolitos secundarios y compuestos bioactivos. Las péptidas sintetasas están presentes y son comunes en las cianobacterias y están implicadas en la biosíntesis de ciertos compuestos bioactivos cianobacterianos (por ejemplo, microcistinas). La criptoficina 1 es un producto natural que se aisló inicialmente de las algas verde-azul Nostoc sp., Que se

ha demostrado que es potente en un amplio espectro de actividad antitumoral en modelos preclínicos *in vitro* e *in vivo*. Las cianobacterias producen una ficotoxina bioactiva altamente efectiva. Tiene una amplia gama de valores terapéuticos, que incluyen propiedades citotóxicas, antitumorales, antibióticas, antifúngicas, inmunosupresoras y neurotóxicas, que ofrecen un gran potencial para la explotación biotecnológica. Dichos compuestos de toxinas son producidos principalmente por dinoflagelados y cianobacterias. Las cianobacterias, como las especies *Microcystis*, *Anabaena*, *Oscillatoria* y *Nostoc*, producen las toxinas de algas de agua dulce más comunes, como microcistinas, homo y anatoxina-a y saxitoxinas²¹.

El proceso del estrés oxidativo se da cuando se rompe el equilibrio entre la síntesis o formación de especies reactivas de oxígeno o nitrógeno y los agentes de defensa antioxidante, que trae como consecuencia una serie de cambios fisiológicos y bioquímicos que producen un deterioro y una posterior muerte de la célula. La existencia del oxígeno como molécula principal en la composición de la atmósfera, así como la radiación UV del sol, entre otros, promueven efectos oxidativos en todos los seres vivos y es por ello el desarrollo de mecanismos de defensa antioxidante para contrarrestar los efectos dañinos promovidos por los factores ambientales en las que nos desenvolvemos²².

Todos los procesos de óxido-reducción tienen una gran distribución dentro del metabolismo celular; como por ejemplo en la transformación de los nutrientes y por ende la obtención de energía almacenada en sus enlaces involucran procesos de óxido-reducción que acontece en el proceso de la cadena respiratoria que se da dentro de la mitocondria durante el cual se hace un consumo de oxígeno. Pero durante este proceso también se produce la oxidación de muchas moléculas a través de reacciones consecutivas que no hace uso directo del oxígeno. La oxidación viene a ser la eliminación de electrones y no solo a la adición de átomos de oxígeno, y el proceso de reducción viene a ser la adición de electrones. Las moléculas orgánicas están constituidas por carbono e hidrógeno, es decir se encuentran reducidas (tiene muchos electrones), posteriormente después de su metabolismo se transforman hasta CO_2 y H_2O , moléculas que han donado electrones y por ende son moléculas muy oxidadas. Esta es la forma más estable y es por ellos que este proceso es energéticamente favorable²².

En el cuerpo humano se sintetizan continuamente moléculas con electrones no apareados en su último orbital electrónico, estas moléculas se denominan “radicales libres”. Estas moléculas por lo general muestran una gran agresividad oxidativa celular; su inestabilidad en su estado energético los transforma en muy reactivos y de vida media corta. Estos radicales libres generan una serie de reacciones de transferencia de electrones con moléculas vecinas, que a su vez se transforman también en radicales libres, y tan solo cesa su actividad en el caso reaccionen dos radicales libres entre sí mismos. La interacción de los radicales libres con su entorno produce un grave daño oxidativo con repercusiones sobre el desarrollo de muchas enfermedades, en las diferentes disciplinas médicas como la Nefrología, la Neurología, la Cardiología, la Oftalmología, la Gastroenterología, entre otras²².

Una sustancia o compuesto antioxidante es aquella que a concentraciones pequeñas y en presencia de un sustrato oxidable, retrasa o previene la oxidación del mismo, produciendo una inhibición de la tasa de oxidación. El cuidado de la salud implica en gran medida a la existencia de sistemas eficaces de defensa antioxidantes que actúen contra el daño ocasionado por los radicales libres. Además los radicales libres desempeñan papeles importantes en diferentes procesos como en la hipertrofia muscular, los compuestos antioxidantes actúan evitando aquellos incrementos excesivos de radicales libres que podrían generar efectos dañinos sobre el organismo. En tal sentido existen enzimas antioxidantes que catalizan la ruptura de radicales libres, pero a nivel intracelular. Cada una de estas enzimas antioxidantes ejerce una función determinada en un lugar específico. Así, por ejemplo la catalasa (CAT) actúa en los peroxisomas de la célula; el beta caroteno actúa en el núcleo y así como en la membrana celular y la vitamina E en el retículo endoplásmico²².

1.4. Formulación del problema

¿Cuál es el perfil fitoquímico y la capacidad antioxidante in vitro del extracto etanólico de *Nostoc commune* (Cushuro)?

1.5. Justificación del estudio

Por todo lo mencionado anteriormente, en los últimos años para enfrentar a los grandes problemas de salud que aqueja a nuestra sociedad y por ende a nuestro país, se ha venido

explorando en la naturaleza, buscando nuevos metabolitos bioactivos. Por otro lado, el surgimiento de nuevas enfermedades en el mundo moderno cuya base es el estrés oxidativo, han generado la necesidad de evaluar diversos compuestos naturales con actividad antioxidante como una alternativa en el tratamiento de enfermedades crónico-degenerativas, buscando atenuar nuestra problemática en la salud. En este sentido, se tiende a desarrollar diversas estrategias para investigar los componentes que actúen como agentes terapéuticos que pueden ser empleados en la prevención y tratamiento de algunas enfermedades y que sean de fácil obtención; es por ello que ha cobrado importancia el estudio de las algas, ya que son abundantes en los ecosistemas marinos y fluviales de nuestro país. Dentro de esta gran variedad de algas, encontramos al nostoc el cual presenta metabolitos que están siendo investigados y que tienen gran importancia y repercusión clínica ya que pueden ser útiles para explorar agentes potenciales para la industria alimentaria. En el presente trabajo se evaluará la actividad antioxidante de *Nostoc commune*, una de las especies más comunes y abundantes que se encuentran en nuestro país y es consumida de manera habitual por los pobladores de algunas regiones de los andes.

1.6. Hipótesis

Implícita

1.7. Objetivos

General

- Determinar el perfil fitoquímico y capacidad antioxidante *in vitro* del extracto etanólico de *Nostoc commune* (Cushuro).

Específicos

- Determinar el perfil fitoquímico en el extracto etanólico de *Nostoc commune* (Cushuro)

- Determinar el contenido de compuestos fenólicos totales de *Nostoc commune* (Cushuro)
- Determinar la capacidad antioxidante *in vitro* del extracto etanólico de *Nostoc commune* (Cushuro)

II. MÉTODO

2.1. Diseño de investigación

Descriptivo, transversal

G -----> O1 y O2

Donde:

G: Extractos etanólico

O1: Evaluación fitoquímico

O2: Capacidad antioxidante

2.2. Variables y Operacionalización

Variables:

- Evaluación Fitoquímico
- Capacidad antioxidante

Operacionalización

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA DE MEDICIÓN
Evaluación Fitoquímico	Tiene como objetivo detectar, identificar y cuantificar los	Se realizó el Ensayo Fitoquímico por reacciones de	Catequinas Baljet Lieberman Espuma	Presencia (+) No presencia (-)	Cualitativa-nominal

	diferentes metabolitos que componen una droga ²⁰ .	coloración y precipitación	Cloruro férrico Borntranger Kedde Shinoda Antocianidinas Dragendorff Mayer Wagner		
Capacidad antioxidante	Efecto de una sustancia que previene o retrasa la oxidación de un compuesto oxidable ²² .	Se determinó la Concentración inhibitoria media (IC50) por el método del DPPH		IC50 (ug/mL)	Cuantitativa- Razón

2.3. Población y Muestra

2.3.1. Población

Nostoc commune (Cushuro) de la laguna de Cushuro del distrito de Huamachuco, provincia Sánchez Carrión, región La Libertad.

2.3.2. Muestra

5 kg de *Nostoc commune* (Cushuro) recolectadas de la laguna de Cushuro del distrito de Huamachuco, provincia Sánchez Carrión, región La Libertad.

2.3.2. Procedimientos

2.3.2.1 Recolección de las muestras

Se recolectaron 5 kilogramos de *Nostoc commune* (Cushuro) en Octubre del 2018 de la laguna de Cushuro ubicada a 4000 m.s.n.m. del distrito de Huamachuco, provincia Sánchez Carrión, región La Libertad. Luego se trasladaron las muestras en un cooler hasta el Laboratorio de Ciencias médicas de la Universidad Cesar Vallejo.

2.3.2.2. Identificación botánica

Las muestras de ejemplares de la especie de *Nostoc commune* (Cushuro) fueron secadas, preparadas y finalmente llevadas al Herbarium Truxillense de la Universidad Nacional de Trujillo para su identificación y verificación taxonómica, siendo depositada con el código N° 59630 (ANEXO N°1).

2.3.2.3. Preparación de la muestra²³

Las muestras de *Nostoc sphaericum* (Cushuro) fueron seleccionadas, separando las sustancias extrañas (pajas, piedras) y las algas rotas. Luego se lavaron con agua de caño, seguido de una desinfección utilizando hipoclorito de sodio a una concentración de 200 ppm durante 1 minuto. Posteriormente se realizó un enjuague con suficiente agua destilada estéril, esto es para retirar los residuos de hipoclorito. Luego se sometió a un proceso de escurrido a temperatura ambiente en un colador y después se llevaron a secar en estufa a 40 °C hasta obtener un peso constante.

2.3.2.4. Preparación de los extractos²³

Las muestras secas fueron molidas en un mortero y luego se pasaron a través del tamiz N° 0.7. De estas muestras se pesó una porción de 25 g por separado y luego se vertió en un matraz, después se le añadió 150 mL de etanol a 96° GL para su extracción por maceración por 7 días.

El producto se filtró con papel filtro Whatman N°4 y por último en papel Whatman N°2. Obteniéndose un extracto purificado libre de gérmenes.

2.3.2.5. Determinación de solidos solubles

Se tomó dos gotas del extracto etanólico filtrado sobre el refractómetro, obteniéndose así el porcentaje de sólidos solubles en la muestra.

2.3.2.6. Determinación de metabolitos secundarios^{24,25}

Mediante los ensayos de reacciones de coloración y precipitación se determinaron los metabolitos secundarios del extracto etanólico.

- **Ensayo de catequinas**

Para realizar este ensayo, se agregó 1 gota del extracto alcohólico, con la ayuda de un capilar sobre un papel filtro. Además sobre la mancha se añadió una solución de carbonato de sodio. La presencia de una mancha verde carmelita a la luz ultravioleta, ha de indicar un ensayo positivo.

- **Ensayo de Baljet**

Se añadió 1 mL del reactivo de Baljet, considerándose un resultado positivo la presencia de una coloración o precipitado rojo (++ y +++) respectivamente.

- **Ensayo de Liebermann-Burchard**

Para ello, el solvente alcohólico se evaporará en baño de agua y el contenido restante se redisolvió con 1 mL de cloroformo. Después se añadió 1 mL de anhídrido acético y se mezcló bien. Por la pared del tubo de ensayo se dejó caer de II a III gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar.

Un ensayo positivo se ha de reconocer por un cambio rápido de coloración:

1. Rosado azulado demasiado rápido.
2. Verde intenso observable aunque rápido.
3. Verde oscuro al final de la reacción.

- **Ensayo de la espuma**

El extracto alcohólico se diluyó con cinco veces su volumen en agua y se agitó fuertemente por 5 a 10 minutos aproximadamente.

Se considera un resultado positivo si apareciese espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de altura y persistente por más de 2 minutos.

- **Ensayo del cloruro férrico**

A una muestra del extracto alcohólico se le añadió III gotas de una solución de tricloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica, un resultado positivo puede dar la siguiente: coloración rojo vino, verde intenso y azulado

- **Ensayo de Borntrager**

Para realizar este ensayo, el solvente se evaporó en baño de agua y el residuo se redisolvió en 1mL de cloroformo. Se agregó 1mL de hidróxido de sodio, hidróxido de potasio o amonio al 5%. Después se agitó, mezclando las fases y se dejó reposar hasta su posterior separación. Si la fase acuosa alcalina (superior) se coloreara de rosado o rojo, el ensayo se considerará positivo.

- **Ensayo de Kedde**

Para realizar el ensayo se tomó una muestra del extracto alcohólico se mezcló con 1mL del reactivo y se dejó reposar aproximadamente por 5 a 10 min. En un ensayo positivo se desarrollará una coloración violácea, persistente durante 1 a 2 h.

- **Ensayo de Shinoda**

Se tomó una muestra del extracto alcohólico y se diluyó con 1mL de ácido clorhídrico concentrado con un pedacito de cinta de magnesio metálico. Después de la reacción se esperó durante 5 minutos, luego se añadió 1mL de alcohol amílico, y se mezclaron las fases y se dejó reposar hasta que se separen.

Se considera un resultado positivo cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, carmelita o rojo; intenso en todos los casos.

- **Ensayo de antocianidinas**

Se calentó 2 mL del extracto alcohólico por 10 minutos con 1 mL de HClcc., y se dejó enfriar y después se añadió 1 mL de agua y 2 mL de alcohol amílico. Posteriormente se agitó y se dejó separar las dos fases. La aparición de color rojo a marrón en la fase amílica será indicativa de un ensayo positivo.

- **Ensayo de Dragendorff**

Para realizar el ensayo se evaporó el solvente de una pequeña muestra del extracto alcohólico y después el residuo se redisolvió con 1 mL de ácido clorhídrico al 1%. Con la solución acuosa ácida se realizó el ensayo, se añadió III gotas del reactivo

de Dragendorff, si existiera: opalescencia se ha de considerar (+), turbidez definida (++) , precipitado (+++).

- **Ensayo de Mayer**

El ensayo se ejecutó según la forma descrita anteriormente, hasta obtener una solución ácida. Se añadió luego, una pizca de cloruro de sodio en polvo, se agitó y filtró. Después se añadió II o III gotas de la solución reactiva de Mayer, y si observase: opalescencia (+), turbidez definida (++) , precipitado coposo (+++).

- **Ensayo de Wagner**

Se partió similar que en los casos anteriores de la solución ácida, y posteriormente se añadió II ó III gotas del reactivo y se clasifico los resultados teniendo en cuenta lo anterior.

2.3.2.7. Evaluación actividad antioxidante

Contenido de fenoles totales (CFT) ²⁶

Curva patrón de ácido gálico

El contenido de polifenoles se determinó mediante el método de Folin-Ciocalteu desarrollado por Dewanto et al. El ensayo se realizó de la siguiente manera: se midió 125 μ L de la solución patrón de ácido gálico, se le adicionó 0,5 mL de H₂O destilada y 125 μ L del reactivo de Folin-Ciocalteu; se dejó reaccionar por 6 min y se agregó 1,25 mL de una solución de Na₂CO₃ al 7 %, por último se agregó agua destilada para ajustar a 3 mL de solución total, y se dejó reposar por 90 min. Las soluciones patrón y un blanco se llevaron a un espectrofotómetro para realizar las lecturas de las absorbancias a la longitud de onda de 760 nm.

Medida del contenido en polifenoles totales del extracto etanólico de *Nostoc sphaericum* (Cushuro)

Luego, cada extracto del vegetal a evaluar se diluyó con agua destilada en la proporción 1:5 y se determinó el contenido de polifenoles totales de la misma forma como se hizo con los patrones de ácido gálico. Después por interpolación de las absorbancias de los

extractos en la curva del ácido gálico se logró determinar el contenido de polifenoles totales. Todas las determinaciones se realizaron por triplicado.

2.3.2.8. Evaluación de la actividad antioxidante por el método DPPH ²⁷

Se prepararon diluciones del extracto etanólico hasta obtener concentraciones de 25, 50, 150, 300 µg/mL. Se mezcló 1,0 mL de cada una de las diluciones con 0,5 mL de una solución 0,3 mM de DPPH en etanol y se dejó reaccionar a temperatura ambiente por 30 minutos; al finalizar de los cuales se midió la absorbancia de la mezcla a 517 nm. Todas las pruebas se realizaron por triplicado. Se calculara el porcentaje de radicales DPPH capturados, con la siguiente formula:

$$\% \text{ de captura de radcales DPPH} = \frac{\text{Abs. control} - \text{Abs. muestra}}{\text{Abs. control}} \times 100$$

Determinación de la concentración inhibitoria media (IC50)

Se graficó una recta obtenida por el porcentaje de captura de DPPH versus la concentración de cada una de las diluciones del extracto etanólico de *nostoc commune* expresada en µg/mL).

Se utilizó el intercepto y la pendiente de la línea de regresión lineal para calcular el valor de IC50, aplicando la siguiente fórmula.

$$IC_{50} = \frac{50 - b}{m}$$

Donde:

IC₅₀ : cantidad necesaria de la muestra para reducir en un 50% la concentración inicial del radical DPPH

b : Intercepto de línea de regresión lineal

m : Pendiente de la línea de regresión lineal

2.4 Técnica e instrumentos de recolección de datos, validez y confiabilidad

2.4.1 Técnica de recolección de datos

Observación de Campo

2.4.2 Instrumento de recolección de datos

Guía de observación de campo

2.5 Métodos de análisis de datos

Para la presente investigación utilizó tablas de resumen de indicadores como media aritmética, desviación estándar y asimismo se usaron gráficos y tablas adecuadas para presentar los resultados de la presente investigación. Para los valores obtenidos de la capacidad antioxidante fueron procesados en el programa Microsoft Office Excel 2013; y se realizó el análisis de correlación de variables mediante el método de Pearson, utilizando el nivel de significancia del 95% ($p < 0.05$).

III. RESULTADOS

TABLA N°1: Perfil Fitoquímico del extracto etanólico de *nostoc commune* (coshuro)

Ensayo	Fitoconstituyente	Resultado Cualitativo
Ensayo de Catequinas	Catequinas	-
Ensayo de Baljet	Compuestos lactónicos	-
Ensayo de Liebermann-Burchard	Triterpenos y Esteroides	+
Ensayo de la espuma	Saponinas	+
Ensayo del cloruro férrico	Compuestos fenólicos	+
Ensayo de Borntranger	Quinonas	-
Ensayo de Kedde	Glucósidos cardiotónicos	-
Ensayo de Shinoda	Flavonoides	+
Ensayo de Antocianidinas	Antocianidinas	+
Ensayo de Dragendorff	Alcaloide	-
Ensayo de Mayer	Alcaloide	-
Ensayo de Wagner	Alcaloide	-

Fuente: Datos obtenidos por el investigador.

Leyenda:

+: Positivo

- : Negativo

TABLA N°2: Concentración de compuestos fenólicos totales del *nostoc commune* (coshuro)

Extracto	Compuestos fenólicos
	mg EAG/g muestra
Etanólico	2.562 ± 0.051

Fuente: Datos obtenidos por el investigador.

TABLA N°3: Coeficiente de Inhibición al 50% (IC50) del extracto etanólico de *nostoc commune* (coshuro)

Extracto	Coeficiente de Inhibición al 50% (IC50)	
	ug/mL de solidos solubles	ug/mL de EAG
Etanólico	476.393	0.006

Fuente: Datos obtenidos por el investigador.

IV. DISCUSIÓN

El proceso oxidativo se realiza contantemente en las células de nuestro cuerpo, pero este proceso debe ser controlado con una adecuada protección antioxidante ya sea endógena o exógena. Entre los antioxidantes exógenos, encontramos a los que ingerimos comúnmente en la dieta, como por ejemplo las vitaminas y compuestos fenólicos, que por diferentes mecanismos neutralizan a los radicales libres²⁸.

El Nostoc commune, es una cianobacteria macroscópica, que por muchos años ha sido apreciada como un alimento saludable y una medicina tradicional en todo el mundo. La evidencia científica acumulada ha demostrado que posee una serie de actividades fisiológicas y farmacológicas notablemente protectoras, basadas principalmente en estudios con animales e *in vitro*²⁸.

Antes de iniciar la valoración de uno o más principios activos presentes de una droga, es necesario un “screening fitoquímico, también llamado marcha o tamizaje fitoquímico, que

permita determinar de manera cualitativa los principales grupos constituyentes químicos de una droga, a partir del cual pueda orientarse las extracciones y/o fraccionamientos de mayor interés por el investigador²⁴.

El estudio fitoquímico comenzó con la obtención del extracto etanólico (Anexo N°2), el cual se dividió en fracciones para la realización de los ensayos fitoquímicos. En la tabla N°1 donde se observa los resultados de la marcha fitoquímica del extracto etanólico de *Nostoc commune* (Cushuro), demostrando la presencia de triterpenos y esteroides (Ensayo de Lieberman – Burchard), saponinas (Ensayo de la espuma), compuestos fenólicos (Ensayo del cloruro férrico), flavonoides (Ensayo de Shinoda) y antocianidinas (Ensayo de antocianidinas) (Anexo N°3).

Los terpenos son en su mayoría hidrocarburos que se encuentran en gran parte como componentes de los aceites esenciales. El bloque de construcción es una unidad de isopreno de cinco carbonos ($\text{CH}_2\text{C}(\text{CH}_3)\text{CHCH}_2$). Los hidrocarburos terpénicos tienen una fórmula molecular de $(\text{C}_5\text{H}_8)_n$, donde n dicta el número de unidades involucradas. Los hidrocarburos terpénicos se clasifican según el número de unidades de isopreno. Además otro metabolito identificado son las saponinas, que son un grupo de compuestos glucósidos anfifílicos de los esteroides y triterpenos que se encuentran en las plantas y algunos organismos marinos^{29, 30}.

Jaki Birgit et al³¹. encontraron un metabolito extracelular con un esqueleto diterpenoide, 8 - [(5-carboxi-2-hidroxi) bencil]-2-hidroxi-1,1,4a,7,8-pentametil-1,2,3,4,4a,6,7,8,8a, 9,10,10a-dodecahidrofenantreno, este metabolito fue aislado del medio de cultivo de la cianobacteria terrestre *Nostoc commune* Vaucher mediante aislamiento bioguiado. La molécula fue identificada como noscomina; su estructura química se determinó mediante métodos espectroscópicos, principalmente Resonancia Magnética Nuclear y espectrometría de masas.

El término “compuestos fenólicos” abarca a todos los compuestos que poseen dentro de su estructura varios grupos funcionales fenol, nombre popular del hidroxibenceno (anillo aromático unido al grupo funcional hidroxilo); estos compuestos son metabolitos secundarios

de las plantas y algas. En la naturaleza existen más de ocho mil compuestos fenólicos identificados y se clasifican como ácidos fenólicos, flavonoides y taninos³².

Los flavonoides representan más de la mitad de los ocho mil compuestos fenólicos identificados en la naturaleza. Los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular de quince átomos de carbono, dispuestos en una configuración C₆-C₃-C₆; su estructura química consiste de dos anillos aromáticos A y B, unidos por un carbono puente, mayormente en forma de anillo heterocíclico C. Las variaciones del anillo C dan como resultado las principales clases de flavonoides, como por ejemplo los flavonoles, flavonas, flavanoles (o catequinas), isoflavonas, flavanonas, flavononoles y antocianinas³³.

Las antocianinas son pigmentos púrpuras, azules o rojos que se encuentran en flores frutos y tubérculos; estos compuestos se encuentran dentro de los flavonoides, aunque tiene una carga positiva en el átomo de oxígeno del anillo C de la estructura fundamental de los flavonoides. La antocianina se deriva del flavonol y tiene estructura básica del ion flavilio (2-fenilcromenilio), que es la falta de oxígeno de una cetona en la posición 4 y su estabilidad dependerá del pH, la luz, la temperatura, iones metálicos, enzimas, oxígeno y su estructura³⁴.

También se debe tener presente que la distribución de estos metabolitos varía a medida que los factores culturales cambian durante el crecimiento, como el lugar de origen, la luz, la temperatura y los niveles nutricionales²⁸.

Los compuestos fenólicos son compuestos biológicamente activas y existes muchos estudios científicos *in vitro*, en modelos animales e intervenciones en seres humanos, que demuestran que estos compuestos proporcionan una serie de beneficios para la salud previniendo diversas enfermedades degenerativas, como el cáncer y las enfermedades cardiovasculares haciendo énfasis en su capacidad antioxidante³⁵.

El contenido de compuestos fenólicos totales se determinó con el reactivo de Folin-Ciocalteu, usando como estándar el ácido gálico para la elaboración de una curva estándar $Y = 0.0548x + 0.0686$; $R^2 = 0.9624$, donde “Y” es la absorbancia a 760 nm y “X” es la concentración de

fenoles totales contenidos en la muestra (Anexo N°4). En la tabla N°2 se evidencia el valor encontrado de compuestos fenólicos totales que fue de 2.562 ± 0.051 mg EAG/g de muestra seca de *nostoc commune*. Estos datos son similares a los reportados por Chávez¹⁷, quien encontró una concentración de compuestos fenólicos totales de 2.98 mg EAG/g de muestra liofilizada de *Nostoc sphaericum* (Cushuro) de la laguna Cushurococha del departamento de Junín-Perú.

Para la evaluación de la capacidad antioxidante se utilizó el método del DPPH, el fundamento de este método desarrollado por Brand-Willams et al, se basa en que este radical, 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH) tiene un electrón desapareado y tiene una coloración azul-violeta, decolorándose hacia amarillo pálido por reacción con una sustancia con efecto antioxidante; la absorbancia es medida espectrofotométricamente a 517 nm. La diferencia de absorbancias, permite obtener el porcentaje de captación de radicales libres²⁷.

En la Tabla N°3 se observa el Coeficiente de Inhibición para reducir en un 50% la concentración del radical DPPH (IC50) por parte del extracto etanólico de *Nostoc commune*, encontrándose valores de 476.393 y 0.006 expresados en ug/mL de solidos solubles y ug/mL EAG. Con respecto al porcentaje de inhibición del extracto etanólico de *nostoc commune* con el reactivo del DPPH, donde se evidencia que conforme se incrementa la concentración, mayor será el porcentaje de inhibición; pero sin diferencia estadística significativa entre los datos (Prueba de Pearson, Anexo N°) $p > 0.05$. (Anexo N°5)

Yue et al¹⁶ refieren que los polisacáridos extraídos de *N. commune* ejercieron una fuerte capacidad de eliminación de radicales 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo, pero una débil captación de radical superóxido débil y de radicales hidroxilo. También Ishihara et al³⁶ encontraron que esta especie tenía la capacidad de capturar radicales libres, por lo que desempeña un papel importante en los mecanismos tolerantes al estrés como la radiación ultravioleta y el estrés oxidativo.

El efecto antioxidante es explicado por la presencia de compuestos fenólicos en el extracto etanólico de *Nostoc commune*. La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos estará influenciada por su estructura química, en particular al número y a las posiciones de los

grupos hidroxilo y la naturaleza de las sustituciones en los anillos aromáticos. Es por ello que la estructura de los compuestos fenólicos es un determinante clave en la eliminación de radicales libres y actividad quelante de metales; esto se conoce como relación estructura-actividad (SAR)³⁷.

El SAR de los flavonoides es más complicada debido a la complejidad de las moléculas. El grado de hidroxilación y las posiciones de los grupos –OH en el anillo B, en el caso particular de una estructura orto-dihidroxilo del anillo B (grupo catecol) da como resultado una mayor actividad, ya que le da una mayor estabilidad al radical aroxilo por deslocalización electrónica. Además un doble enlace entre C₂ y C₃ conjugado con el grupo 4-oxo en el anillo C o un doble enlace entre C₂ y C₃ combinados con un 3-OH en el anillo C, ambos mejoran la capacidad de eliminar los radicales libres³⁷.

La actividad antioxidante de la antocianina se debe al doble enlace conjugado con el grupo ceto de su estructura, además la estructura del anillo B glicosilado de la antocianina contribuye a la alta actividad antioxidante, donde la orto-hidroxilación y la metoxilación incrementan sustancialmente la actividad antioxidante³⁴.

Los estudios descritos demuestran que *N. commune* posee una actividad antioxidante beneficiosa y efectiva, e identifica compuestos que son potencialmente responsables de estos efectos. Sin embargo, cabe mencionar que los resultados diferentes o incluso contrarios dependerán del tipo de extracto obtenido dado que podrían deberse a diferentes métodos y sistemas de reacción para la prueba²⁸.

V. CONCLUSIÓN

- Se demostró mediante el análisis fitoquímico del extracto etanólico de *Nostoc commune* (Cushuro) proveniente de la ciudad de Huamachuco la presencia de

metabolitos secundarios tales como, triterpenos y esteroides (Ensayo de Lieberman – Burchard), saponinas (Ensayo de la espuma), compuestos fenólicos (Ensayo del cloruro férrico), flavonoides (Ensayo de Shinoda) y antocianidinas (Ensayo de antocianidinas).

- Se encontró la concentración de compuestos fenólicos totales de *nostoc commune*, siendo este de 2.562 ± 0.051 mg EAG/g de muestra seca
- Se determinó el Coeficiente de Inhibición para reducir en un 50% la concentración del radical DPPH (IC50) por parte del extracto etanólico de *Nostoc commune*, encontrándose valores de 476.393 y 0.006 expresados en ug/mL de solidos solubles y ug/mL EAG respectivamente.

VI. RECOMENDACIONES

- Realizar extractos de *Nostoc commune* (Cushuro) con solventes de diferentes polaridades.
- En investigaciones futuras se podría realizar la evaluación antioxidante de *Nostoc commune* (Cushuro) in vivo.
- Realizar estudios para determinar la dosis por el cual el extracto de *Nostoc commune* (Cushuro) se convierte en toxico.
- Estudiar efectos terapéuticos del *Nostoc commune* (Cushuro) y determinar su dosis terapéutica.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ramírez M., García F. y Villamor J. Papel del estrés oxidativo en las enfermedades respiratorias y su monitorización. *Medicina Clínica*. [Publicación en línea] 2006. setiembre [Citado 12 de enero del 2018]. 127(10): 386-396. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-medicina-clinica-2-resumen-papel-del-estres-oxidativo-las-13092440>
2. Díaz M. y González M. El estrés oxidativo en las enfermedades neurológicas: ¿causa o consecuencia?. *Neurología*. . [Publicación en línea] 2014. octubre [Citado 12 de enero del 2018]. 29(8): 451-452. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-neurologia-295-articulo-el-estres-oxidativo-las-enfermedades-S0213485313002090>
3. Martínez G. Especies reactivas del oxígeno y balance redox, parte I: aspectos básicos principales especies reactivas del oxígeno. *Rev Cubana Farm. Cuba*. [Publicación en línea] 2005 [Citado 12 de enero del 2018]; 39 (3). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152005000300009
4. Avello M. y Suwalsky M. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea (Concepción)*. [Publicación en línea] 2006 [Citado 12 de enero del 2018]; 494. Disponible en: https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0718-04622006000200010
5. Paredes F. y Roca J. Influencia de los radicales libres en el envejecimiento celular. *Offarm*. [Publicación en línea] 2002 [Citado 12 de enero del 2018]; 21(7): 96-100. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-influencia-los-radicales-libres-el-13034834>
6. Rodríguez T. et al. Estrés oxidativo: genética, dieta y desarrollo de enfermedades. *Cuba* [Publicación en línea] 2015 [Citado 12 de enero del 2018]; 19(4). Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1560-43812015000400009
7. Brooks GF, Carroll KC, Butel JS y Morse SA. *Microbiología médica de Jawetz, Melnick y Adelberg*. 19° ed. México: Manual Moderno, S.A; 2008.
8. Raposo MF y Morais AM. Microalgae for the prevention of cardiovascular disease and stroke. *Life Sciences* [Publicación en línea] 2015. marzo [Citado 12 de enero del

- 2017]. 125: 32-41. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S002432051400767X>
9. Sanaa MM, Soha SM, Emad AS y Ghada IM. Aqueous extracts of microalgae exhibit antioxidant and anticancer activities. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine* [Publicación en línea] 2012. agosto [Citado 12 de enero del 2017]. 2(8): 608–615. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2221169112601063>
 10. Mohammad H y Younes G. Evaluation of antioxidant properties of some naturally isolated microalgae: Identification and characterization of the most efficient strain. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. [Publicación en línea] 2016. octubre [Citado 12 de enero del 2018]. 8: 263-269. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878818116302158>
 11. Li Y, Wijesekara I, Li Yong y Kim S. Phlorotannins as bioactive agents from brown algae. *Process Biochemistry*. [Publicación en línea] 2011. diciembre [Citado 12 de enero del 2018]; 46(12): 2219-2224. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359511311003254>
 12. Aldave A. *Microalgas Alimentaria en el Perú*. [Tesis para optar el grado de Doctor en Farmacia y Bioquímica]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo; 1976.
 13. Aldave A. *Algas toda una vida*. 1°ed. Perú: Universidad Cesar Vallejo; 2003.
 14. Shalaby E. Algae as promising organisms for environment and health. *Plant Signaling & Behavior* [Publicación en línea] 2011. Setiembre [Citado 12 de enero del 2017]; 6(9): 1338–1350. Disponible en: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.4161/psb.6.9.16779?scroll=top&needAccess=true>
 15. Teminaa M, Rezankovab H, Rezankac T y Dembitsky V. Diversity of the fatty acids of the Nostoc species and their statistical analysis. *Microbiological Research*. [Publicación en línea] 2007. 26 de setiembre [Citado 12 de enero del 2017]; 162(4): 308-321. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0944501306000115>
 16. Yue Q, Shuang Y, Jie W, Tingting S, Jing Z. y Zhanyong W. Optimization for the extraction of polysaccharides from Nostoc commune and its antioxidant and

- antibacterial activities. Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers. [Publicación en línea] 2015. julio [Citado 12 de enero del 2018]. 52: 14-21. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1876107015000474>
17. Chávez L. Composición química y actividad antioxidante in vitro del extracto acuoso de *Nostoc sphaericum* (Cushuro), laguna Cushurococha-Junín. [Tesis para optar el grado de Licenciada en Nutrición]. Lima: Universidad Mayor de San Marcos; 2014.
 18. Ponce E. Nostoc: un alimento diferente y su presencia en la precordillera de Arica. [Citado 12 de enero del 2018]. 32: 115-118. Disponible en: <https://scielo.conicyt.cl/pdf/idesia/v32n2/art15.pdf>
 19. Ministerio de Salud. CENTRO NACIONAL DE ALIMENTACIÓN Y NUTRICIÓN INSTITUTO NACIONAL DE SALUD. TABLAS PERUANAS DE COMPOSICIÓN DE ALIMENTOS.2009
 20. Kuklinski C. Farmacognosia: Estudio de las drogas y sustancias medicamentosas de origen natural. Ed. Omega
 21. Sathasivam et al. Microalgae metabolites: A rich source for food and medicine. Saudi Journal of Biological Sciences. [Publicación en línea] 2017. Julio [Citado 28 de marzo del 2018].3.Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1319562X17302784>
 22. Galván C. et al. Antioxidantes y ejercicio físico: funciones de la melatonina. Revista Andaluza de Medicina del Deporte. [Citado 12 de enero del 2018]. 1: 61-72. Disponible en: <http://www.elsevier.es/es-revista-revista-andaluza-medicina-del-deporte-284-articulo-antioxidantes-ejercicio-fisico-funciones-melatonina-13127529>
 23. Migdalia M. Métodos de análisis de drogas y extractos. La Habana: Universidad de La Habana. Instituto de Farmacia y Alimentos; 1996.
 24. Lock de Ugaz O. Investigación Fitoquímica Métodos de Estudios de Productos Naturales. Lima: Fondo Editorial PUCP; 1994.
 25. Gracia C, Correa E, Rojas N. Estudio fitoquímico preliminar y evaluación antimicrobiana de algunas plantas superiores colombianas. Rev Colom Ciencias quim Farm. 1995; 23(1):42-48.

26. Dewanto V, Wu X, Adom K, Hai R. Thermal Processing Enhances the Nutritional Value of Tomatoes by Increasing Total Antioxidant Activity. *J. Agric. Food Chem.* 2002; 50(10):3010-4.
27. Castañeda C. B. Ramos LL. E. Ibáñez V. L. Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. *Revista Horizonte Médico.* 2008 Julio; 8(1).
28. Li Zhuoyu y Guo Min. Healthy efficacy of *Nostoc commune* Vaucher. *Oncotarget.* [Publicación en línea]. 2018 Mar 6; [Citado 12 de enero del 2018]. 9(18): 14669–14679. Disponible en: [http://www.oncotarget.com/index.php?journal=oncotarget&page=article&op=view&path\[\]=23620&path\[\]=74371](http://www.oncotarget.com/index.php?journal=oncotarget&page=article&op=view&path[]=23620&path[]=74371)
29. Aldred Elaine M. *Pharmacology A Handbook for Complementary Healthcare Professionals.* [en línea]. Inglaterra. Copyright Elsevier Ltd. 2009. [Citado 15 de noviembre del 2018]. Capítulo 22. Terpenes. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780443068980000220>
30. Yang You, Laval Stephane y Yu Biao. *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry.* Inglaterra. Copyright Elsevier Inc. 2014. [Citado 15 de noviembre del 2018]. Capítulo 2. Chemical Synthesis of Saponins. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128001288000029>
31. Birgit Jaki, Jimmy Orjala, y Otto Sticher. A Novel Extracellular Diterpenoid with Antibacterial Activity from the Cyanobacterium *Nostoc commune*. *Journal Natural Products.* [Publicación en línea]. 1999. [Citado 15 de noviembre del 2018]. 62 (3): 502–503. Disponible en: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/np980444x>
32. Mercado Gilberto. et al. Compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante de especias típicas consumidas en México. *Nutrición Hospitalaria.* 2013; 28(1):36-46.
33. Nagendran Balasundrama, Kalyana Sundram y Samir Samman. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry.* [Publicación en línea] 2006. [Citado 15 de noviembre del 2018]. 99(1): 191-203. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814605006242>
34. Hock Eng Khoo, Azrina Azlan, Sou Teng Tang y See Meng Lim. Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the

- potential health benefits. *Food Nutr Res.* [Publicación en línea]. 2017. [Citado 15 de noviembre del 2018]. 61(1): 1361779. Disponible en: <https://foodandnutritionresearch.net/index.php/fnr/article/view/1257>
35. Karakaya Sibel. Bioavailability of Phenolic Compounds. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* [Publicación en línea]. 2004. [Citado 15 de noviembre del 2018]. 44(6): 453-464. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/10408690490886683?journalCode=bsn20>
36. Ishihara K. et al. Novel glycosylated mycosporine-like amino acid, 13-O-(β -galactosyl)-porphyra-334, from the edible cyanobacterium *Nostoc sphaericum*-protective activity on human keratinocytes from UV light. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology.* [Publicación en línea] 2017. julio [Citado 12 de enero del 2018]. 172: 102-108. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S101113441730115X?via%3Dihub>
37. Nagendran Balasundrama, KalyanaSundram y SamirSammana. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry.* [Publicación en línea]. 2006. [Citado 15 de noviembre del 2018]. 99(1): 191-203. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814605006242>

ANEXOS

ANEXO N°1
IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA



Figura N° 1: Especie *Nostoc commune* (Cushuro) identificada e ingresada el *Herbarium Truxillense*

ANEXO N°2
PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

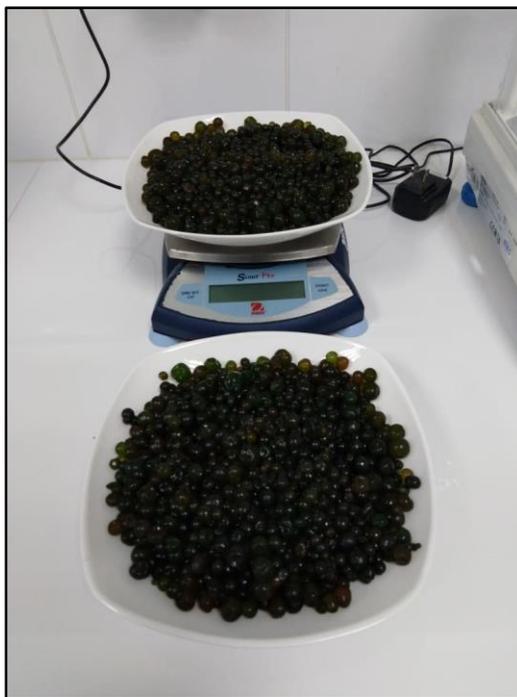


Figura N° 2: Selección y pesado de la muestra de *Nostoc commune* (Cushuro)



Figura N°3: Secado de la muestra de *Nostoc commune* (Cushuro) a 40°C en estufa



Figura N°4: Molienda de la muestra seca de *Nostoc commune* (Cushuro)



Figura N°5: Pesado de la muestra triturada de *Nostoc commune* (Cushuro)



Figura N°6: Preparación del extracto etanólico de *Nostoc commune* (Cushuro)



Figura N°7: Filtrado del extracto etanólico de *Nostoc commune* (Cushuro)

ANEXO N°3

ANÁLISIS FITOQUÍMICO

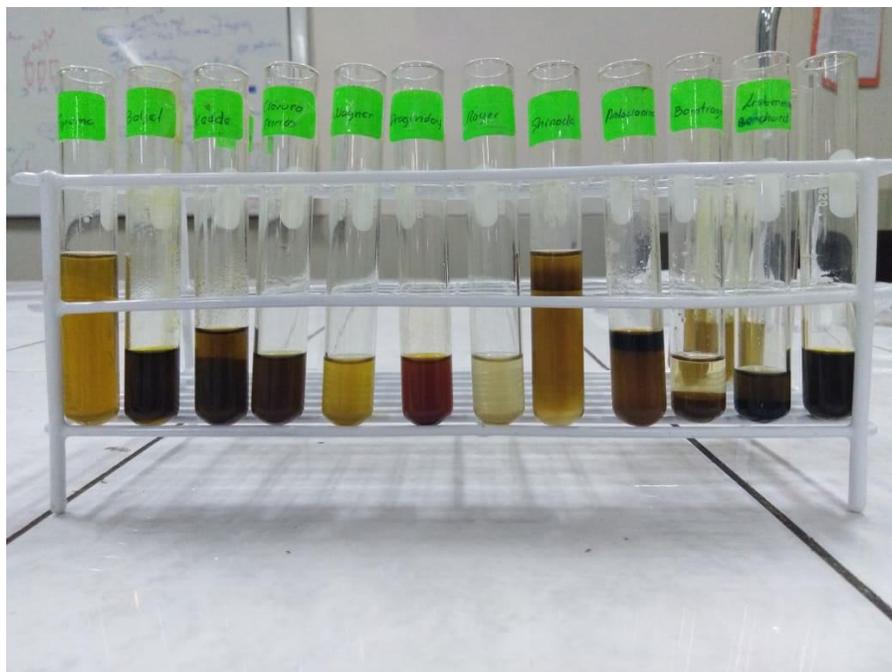


Figura N°8: Marcha fitoquímica del extracto etanólico de *Nostoc commune* (Cushuro)

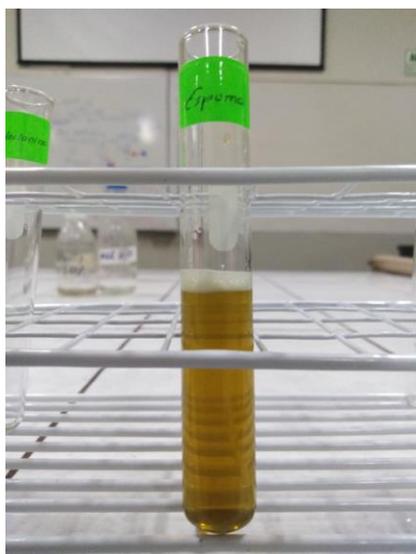


Figura N°9: Ensayo de Espuma (+)



Figura N°10: Ensayo de Liebermann-Burchard (+)

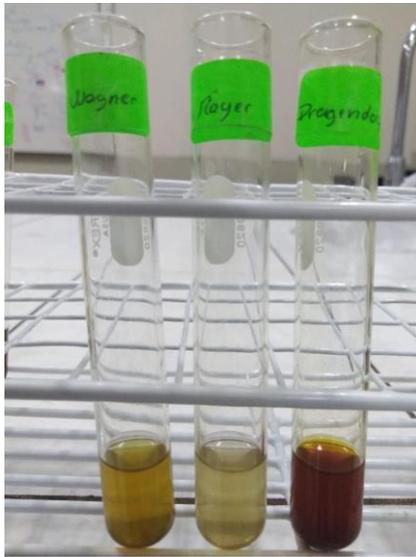


Figura N°11: Ensayo para alcaloides (-)

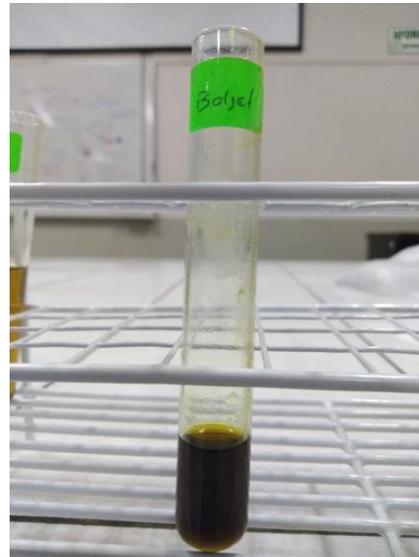


Figura N°12: Ensayo de Baljet (-)



Figura N°12: Ensayo de antocianinas (+)

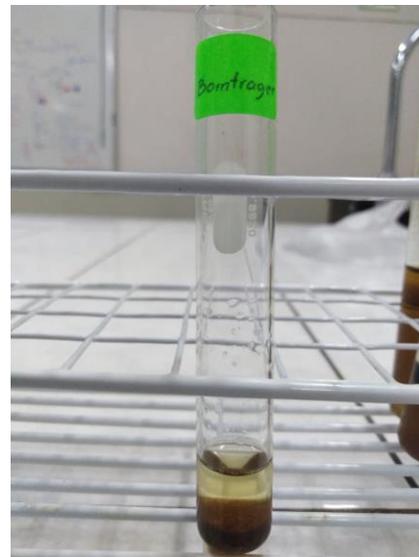


Figura N°13: Ensayo de Borntranger (-)

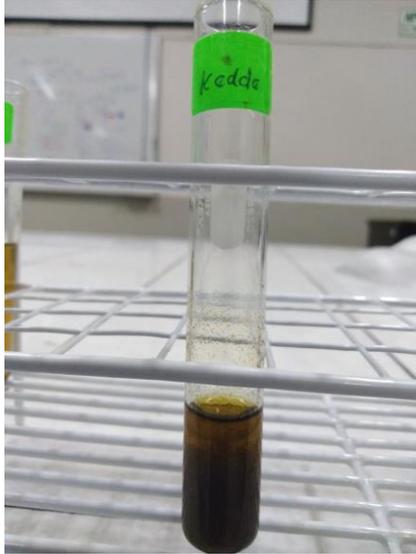


Figura N°14: Ensayo de Kedde (-)

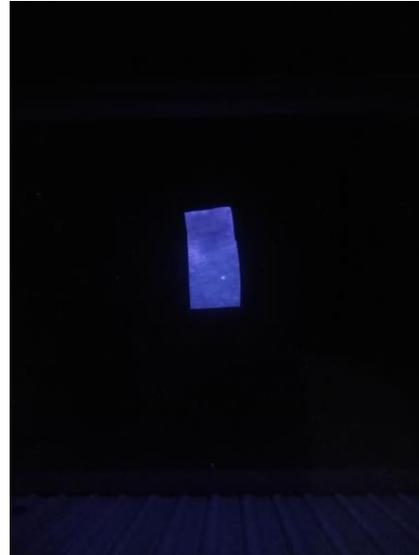


Figura N°14: Ensayo de Catequinas (-)

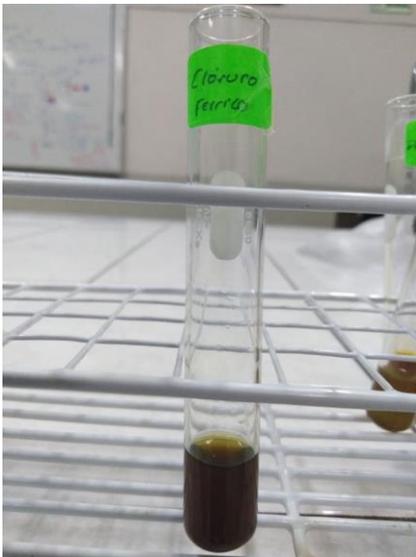


Figura N°15: Ensayo de Cloruro férrico (+)

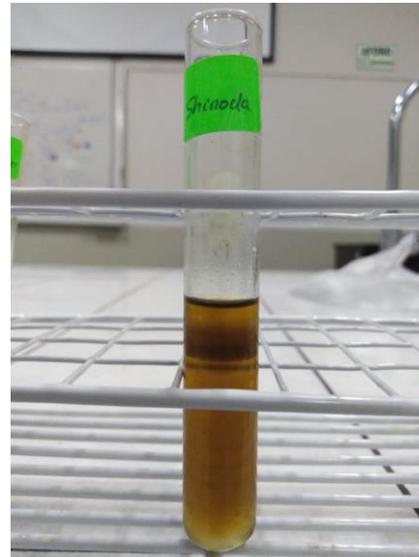


Figura N°15: Ensayo de Shinoda (+)

ANEXO N°4

DETERMINACION DE COMPUESTOS FENOLICOS TOTALES

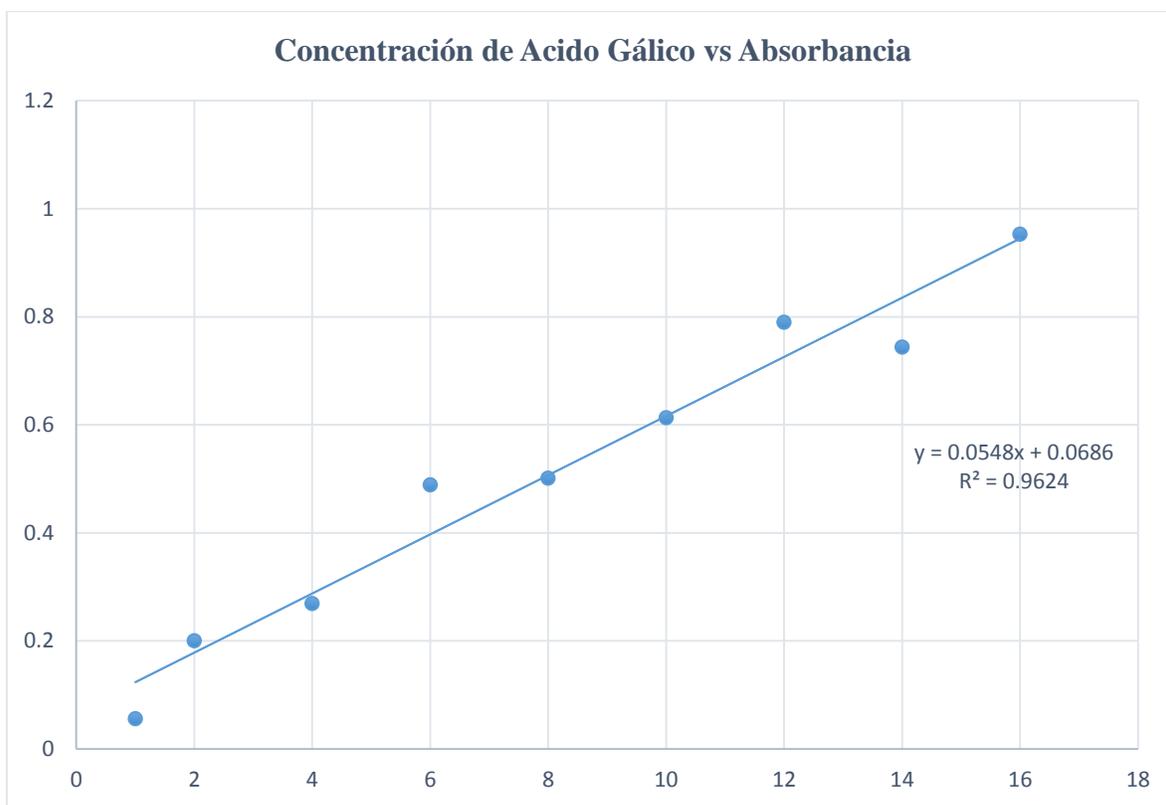


Grafico N°1: Curva de calibración para el contenido de compuestos fenolicos totales

Tabla N°4: Determinación de compuestos fenolicos totales

Extracto	Absorbancia	ug EAG	mg EAG/g muestra
Etanólico	0.450	6.96	2.506
	0.461	7.16	2.578
	0.465	7.23	2.604
	Promedio		2.562
	Varianza		0.003
	Desviación Estándar		0.051

ANEXO N°5

DETERMINACIÓN DEL % DE INHIBICIÓN

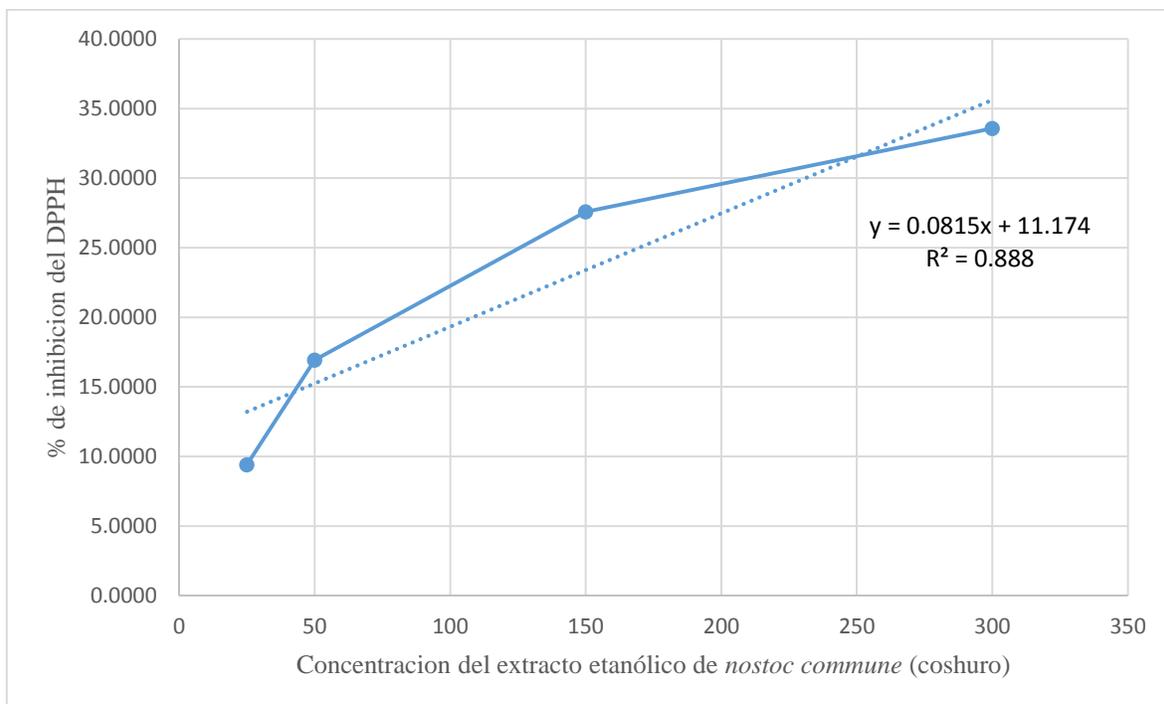
Tabla N°5: Determinación del porcentaje de inhibicio del DPPH

Concentracion	Absorbancia muestra	Absorbancia control	% inhibicion de DPPH	Promedio	Desviacion Estandar
25 ug/mL	0.503	0.557	9.69479	9.3956	0.2742
	0.505	0.557	9.33573		
	0.506	0.557	9.15619		
50 ug/mL	0.460	0.557	17.41472	16.9360	0.4518
	0.463	0.557	16.87612		
	0.465	0.557	16.51706		
150 ug/mL	0.405	0.557	27.28905	27.5883	0.2742
	0.402	0.557	27.82765		
	0.403	0.557	27.64811		
300 ug/mL	0.367	0.557	34.11131	33.5727	0.5386
	0.370	0.557	33.57271		
	0.373	0.557	33.03411		

TABLA N°6: Porcentaje de inhibición de DPPH del extracto etanólico de *nostoc commune* (coshuro)

Concentración	% inhibicion de DPPH
25 ug/mL	9.3956 ± 0.2742
50 ug/mL	16.9360 ± 0.4518
150 ug/mL	27.5883 ± 0.2742
300 ug/mL	33.5727 ± 0.5386

Fuente: Datos obtenidos por el investigador.



p>0.05 (Prueba de Pearson)

Grafico N°2: Porcentaje de Inhibición del extracto etanólico de *nostoc commune* (coshuro)

Tabla N°7: Correlacion de la concentracion y del % de inhibicion de la raccion del extracto etanolico de *nostoc comunne* con el reactivo DPPH

PRUEBA DE PEARSON			
Correlaciones			
		Concentración	% Inhibicion
Concentración	Correlación de Pearson	1	,942
	Sig. (bilateral)		,058
	N	4	4
% Inhibicion	Correlación de Pearson	,942	1
	Sig. (bilateral)	,058	
	N	4	4