



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE NUTRICIÓN**

Efecto in Vitro del extracto hidroalcohólico del fruto de *Rubus idaeus*
(Frambuesa) sobre radicales libres

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE PROFESIONAL DE:
Licenciado en Nutrición**

AUTORES:

La Riva Rubio, Cecilia del Rosario (orcid.org/0000-0003-0690-8637)
Rodríguez Leon, Diego Ismael (orcid.org/0000-0001-8185-5219)

ASESOR:

Dr. Díaz Ortega, Jorge Luis (orcid.org/0000-0002-6154-8913)

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN:

Promoción de Salud y Desarrollo Sostenible

LÍNEA DE RESPONSABILIDAD SOCIAL UNIVERSITARIA:

Promoción de la salud, nutrición y salud comunitaria

TRUJILLO – PERÚ

2023

DEDICATORIA

“Todo tiene su tiempo, y todo lo que se quiere debajo del cielo tiene su hora”

Eclesiastés 3:1

Agradecemos a Dios quien nos supo guiar por este camino lleno de enseñanzas y no desmayar en las adversidades.

A nuestras familias

A mis padres Rodríguez Agreda Jaime Fernando y León Zarate Amparo Soledad, asimismo a mi hermano Rodríguez León Luis Fernando, por sus consejos, comprensión, amor y apoyo incondicional en los momentos difíciles, por enseñarme a valorar cada una de las cosas que Dios nos brinda.

A mis padres Luis La Riva Alvarado y Leslie Rubio Meza quienes fueron mi motivo para esforzarme día a día, por su apoyo incondicional y por sus enseñanzas que guardo siempre en mi mente y mi corazón. A mi hermana Caterine La Riva Rubio por su compañía, consejos y por ser mi ejemplo como hermana mayor.

AGRADECIMIENTO

Agradecemos a Dios por bendecirnos durante nuestra formación académica, y a nuestra familia por el apoyo constante a lo largo de este camino.

Agradecemos a nuestro asesor el Dr. Jorge Diaz el cual a través de sus enseñanzas se logró realizar nuestro trabajo de investigación.

A nuestros docentes, quienes con sus conocimientos, su paciencia, motivación, aportaron en nuestra formación académica.

Índice de contenidos

Carátula	
Dedicatoria.....	ii
Agradecimiento.....	iii
Índice de contenidos	iv
Índice de tablas	v
Índice de figuras	vi
Resumen.....	vii
Abstract	viii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO.....	3
III. METODOLOGÍA.....	11
3.1. Tipo y diseño de investigación	11
3.2. Variables y operacionalización	12
3.3. Población y muestra	13
3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	14
3.5. Procedimientos	14
3.6. Método de análisis de datos	20
3.7. Aspectos éticos	20
IV. RESULTADOS.....	21
V. DISCUSIÓN	24
CONCLUSIONES.....	28
RECOMENDACIONES	28
REFERENCIAS.....	29
ANEXOS	38

Índice de tablas

TABLA 1. Contenido de antocianinas totales <i>Rubus idaeus</i> (frambuesa)	21
TABLA 2. IC50 del extracto hidroalcohólico del fruto <i>Rubus Idaeus</i> (frambuesa) y Vitamina C.....	23
TABLA 3. Captación de radicales hidroxilo promedio por el extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Rubus Idaeus</i> (frambuesa)	23
TABLA 4. Captación de radicales hidroxilo promedio por la vitamina C	23

Índice de figuras

Figura 1. Porcentaje de inhibición DPPH vs Concentración del extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Rubus Idaeus</i> (frambuesa)	21
Figura 2. Porcentaje de inhibición DPPH por diferentes concentraciones de vitamina C.....	22
Figura 3. Comparación de la captación de los radicales hidroxilo por diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico del fruto <i>Rubus Idaeus</i> (frambuesa) frente a patrones de Vitamina C.....	24

RESUMEN

La presente investigación tuvo por objetivo determinar mediante un estudio in vitro el efecto del extracto hidroalcohólico del fruto de *Rubus Idaeus* (frambuesa) sobre radicales libres. Para ello primero se determinó el contenido de antocianinas del extracto hidroalcohólico de frambuesa por el método PH diferencial y se obtuvo un contenido de antocianinas de 24.01 ± 0.52 mg/100 mg. También se determinó la capacidad para inhibir radicales libres de DPPH donde utilizaron concentraciones del extracto hidroalcohólico de frambuesa a 25, 50, 75, 150, 300, 450, 600 $\mu\text{g/ml}$, y con las absorbancias medidas en el espectrofotómetro a 517 nm se obtuvo la concentración inhibitoria media IC50 de 929.78 $\mu\text{g/ml}$, así también se realizó para vitamina C a concentraciones de 0.01mM, 0.02mM, 0.05mM y 0.2mM se obtuvo un IC50 de 0.14 $\mu\text{M/L}$. Por último, el extracto hidroalcohólico de frambuesa a concentraciones de 5, 50, 150, 300, $\mu\text{g/ml}$ se obtuvieron porcentajes de inhibición de radical hidroxilo en promedios 2.70%, 9.13%, 17.37%, 15.70% respectivamente y las mismas concentraciones para la vitamina C se obtuvieron porcentajes de inhibición de radical hidroxilo en promedios 22.91%, 53.42%, 72.28% y 93.29% respectivamente. Con los resultados obtenidos se llega a la conclusión de que el efecto antioxidante de la frambuesa es gracias a las antocianinas que contiene, aunque su capacidad antioxidante (eliminación de radicales libres) es menor al compararla con la vitamina C y con otros tipos de frutos y frambuesa provenientes de otros lugares.

Palabras clave: Antioxidantes, antocianinas, radicales libres (DeCS/MeSH).

ABSTRACT

The objective of this investigation was to determine through an in vitro study the effect of the hydroalcoholic extract of the fruit of *Rubus Idaeus* (raspberry) on free radicals. For this purpose, the anthocyanin content of the hydroalcoholic extract of raspberry was first determined by the differential pH method and an anthocyanin content of 24.01 ± 0.52 mg/100 mg was obtained. The capacity to inhibit DPPH free radicals was also determined using concentrations of the raspberry hydroalcoholic extract at 25, 50, 75, 75, 150, 300, 450, 600 $\mu\text{g/ml}$, and with the absorbances measured in the spectrophotometer at 517 nm, the mean inhibitory concentration IC_{50} of 929.78 $\mu\text{g/ml}$, as well as for vitamin C at concentrations of 0.01mM, 0.02mM, 0.05mM and 0.2mM, an IC_{50} of 0.14 $\mu\text{M/L}$ was obtained. Finally, the hydroalcoholic extract of raspberry at concentrations of 5, 50, 150, 300, $\mu\text{g/ml}$ percentages of hydroxyl radical inhibition were obtained in averages 2.70%, 9.13%, 17.37%, 15.70% respectively and the same concentrations for the vitamin C hydroxyl radical inhibition percentages were obtained in averages 22.91%, 53.42%, 72.28% and 93.29% respectively. The results obtained lead to the conclusion that the antioxidant effect of raspberry is due to the anthocyanins it contains, although its antioxidant capacity (elimination of free radicals) is lower when compared with vitamin C and with other types of fruit and raspberries from other places.

Keywords: Antioxidants, anthocyanins, free radicals (DeCS/MeSH).

I. INTRODUCCIÓN

La frambuesa con su nombre científico *Rubus Idaeus*, también llamada Fupenzi en China, es un matorral cultivado en territorios de zonas templadas de todas las partes del mundo.^{1,2} El consumo de diversos alimentos nos ayuda a mejorar nuestra salud, en particular el consumo de frutos rojos como arándanos, frambuesa, mora, etc., tienen esta propiedad antioxidante gracias a los flavonoides, se define como complejos químicos que el organismo emplea a fin de suprimir a los radicales libres,³ también ayuda al organismo a combatir el envejecimiento celular y a prevenir diferentes enfermedades crónicas,⁴ siendo estos motivos por los que la demanda de frambuesas ha experimentado un crecimiento significativo en Europa y América del Norte,⁵ y se ha convertido en una fruta popular en China.⁶ Existen variedades de frambuesas, siendo las rojas la variedad más consumida⁷; Las antocianinas despiertan especial interés en estas frutas, debido a que estos compuestos proporcionan el distintivo color rojo-púrpura y poseen propiedades bioactivas.⁸

La frambuesa (*Rubus Idaeus L.*) tiene gran demanda en el mercado mundial este cultivo se caracteriza por sus grandes propiedades nutritivas. En los últimos 5 años hasta el 2014 la producción había incrementado miles de toneladas en todo el mundo,⁹ siguiendo una tendencia de aumento hasta la actualidad.

Las frambuesas rojas, están tomando más importancia en diferentes aplicaciones, debido a sus beneficios hay un mayor aumento en su consumo y en la integración dentro de una dieta balanceada,¹⁰ como beneficios se ha descubierto que permite un tránsito intestinal más rápido, una menor absorción de glucosa,¹¹ disminuye la acumulación de lípidos,¹²⁻¹⁴ disminuye el envejecimiento,¹⁵ trayendo así diversas mejoras para la salud y bienestar.¹⁶ La frambuesa entera y los extractos se han estudiado por su potencial terapéutico para mejorar los biomarcadores de enfermedades y las condiciones patológicas.^{17,18} Diferentes publicaciones de investigación describen la composición nutricional y fitoquímicos presentes en la frambuesa y el potencial que tienen hacia las patologías crónicas¹⁹ como son ECV, diabetes mellitus, cáncer, sobrepeso corporal y neurodegeneración.^{3,20} Así también las probables utilidades para la salud por la ingesta de frambuesa incluyen una mejor respuesta a la insulina, glucosa y metabolismo de los lípidos, así como

propiedades antioxidantes y antiinflamatorias.²¹ Estas bioactividades se han relacionado con la prevención de muchas patologías humanas, como las mencionadas anteriormente.⁴

Como producto de fuentes externas o del propio metabolismo celular puede haber un aumento significativo de radicales libres, causando efectos negativos en la salud relacionados al cáncer. Por otro lado, los compuestos antioxidantes pueden reducir el daño oxidativo y por lo tanto también una reducción de tumores y efectos en las etapas del cáncer.²²

Ahora, tras los eventos ocurridos por la pandemia de COVID-19 con el daño directo y secuelas en las personas que fueron afectadas por la enfermedad, así como el aumento de enfermedades crónicas como el cáncer, es notable que la sociedad está tomando mayor conciencia acerca del cuidado preventivo de su salud, siendo importante mantener una dieta balanceada que ayude a este fin. Como parte importante de la dieta diaria, el consumo de frutas es de vital importancia, siendo los frutos rojos como la frambuesa una buena opción debido a su gran valor nutricional,^{23,24,16} y sus propiedades antioxidantes con beneficios contra las enfermedades crónicas como el cáncer.^{3,20}

Para conocer a detalle las propiedades beneficiosas de la frambuesa es necesario realizar diversos estudios en laboratorio, pueden ser estudios In vitro y también estudios In vivo para cuantificar el nivel de provecho que tiene y estimar el impacto positivo en el ser humano. Estas propiedades pueden variar según las condiciones del lugar donde ha crecido el producto y según la forma de alistarlo hasta llegar al consumidor final.

Muchas de las siembras de frambuesa no han sido estudiadas aún, desconociéndose con precisión las potenciales propiedades que beneficiarían a la población que la consume, por esto es importante darlo a conocer a través de esta investigación y sobre el impacto que tiene sobre estas patologías, en especial por su efecto antioxidante y paralelamente promover el consumo y cultivo de este fruto en nuestro país.

Dado lo mencionado anteriormente, esta investigación ofrece un estudio in vitro sobre la influencia de la frambuesa sobre la concentración de radicales libres, dando a conocer así su potencial como antioxidante y anticancerígeno, mostrando

datos precisos de estos beneficios que podrán ser difundidos ante los productores de frambuesa y la población consumidora.

De acuerdo a lo descrito con anterioridad, se formulará el problema de investigación: ¿Cuál es el efecto del extracto hidroalcohólico del fruto de *Rubus Idaeus* (frambuesa) sobre radicales libres, en un estudio in vitro?

Objetivo general:

Determinar mediante un estudio in vitro el efecto del extracto hidroalcohólico del fruto de *Rubus Idaeus* (frambuesa) sobre radicales libres.

Objetivos específicos:

- Determinar el contenido de antocianinas del extracto hidroalcohólico del fruto de *Rubus Idaeus* (frambuesa).
- Determinar el efecto del extracto hidroalcohólico del fruto *Rubus Idaeus* (frambuesa) en la inhibición de radicales libres DPPH y determinar la concentración inhibitoria media IC50 comparado con la Vitamina C.
- Evaluar la actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico del fruto de *Rubus Idaeus* (frambuesa) sobre el radical hidroxilo •OH comparado con la vitamina C.

En la presente investigación la hipótesis planteada es la siguiente: El extracto hidroalcohólico del fruto de *Rubus Idaeus* (frambuesa) tiene un efecto de disminución de radicales libres, en un estudio in vitro.

II. MARCO TEÓRICO

ANTECEDENTES:

Diversos estudios referentes a la actividad antioxidante y capacidad para eliminar radicales libres de frutos como la frambuesa forman una base para continuar con toda una línea de investigación alrededor de este fruto.

Salinas, et al.²⁵ En su investigación, se analizó el contenido de ácido elágico libre y las antocianinas en la frambuesa (*Rubus idaeus L*) de la variedad "Autumn Bliss" en diversos grados de madurez y de diferentes procedencias. Estos compuestos se determinaron utilizando la técnica de Cromatografía Líquida de Alta Resolución en fase inversa (RP-HPLC). Dentro de sus resultados se determinó que el color rojo

presente en la frambuesa es por las antocianinas, que son compuestos glicosilados derivados de cianidina y pelargonidina, de estos compuestos depende la intensidad de color. Según el grado de maduración que tuvieron 3 grupos evaluados, determinaron que los grupos inmaduros solo presentaron 4 antocianinas, en cambio el grupo maduros se presentaron hasta 8 antocianinas, de las antocianinas las que obtuvieron mayor porcentaje fue la cianidina 3-soforosido y cianidina3-(2-glucosilrutinosido). Cabe resaltar que estos resultados se dieron en la frambuesa en estado maduro por eso da a notar el color rojo intenso.

Szymanowsk, et al.²⁶ en su investigación consiste en determinar la capacidad antioxidante de la frambuesa utilizando 6 muestras (extracto crudo de frambuesa, fracción fenólica de frambuesa, fracción rica en antocianinas de frambuesa, jugo de extracto crudo, jugo de fracción fenólica y jugo de fracción rica en antocianinas) las cuales fueron analizadas con 3 diferentes métodos como el 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH), poder quelante Fe (que mide el EDTA ácido etilendiaminotetraacético) y poder reductor férrico (que mide el TE trolox equivalente). La mayor actividad antioxidante se determinó para el extracto crudo de pulpa de frambuesa (RCE) en todos los métodos utilizados, siendo: 588,9 μM equivalente de Trolox (TE)/100g para DPPH, 16,9 mg de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA)/100 g para poder quelante de Fe y 1912,0 μM TE/100g para poder reductor férrico.

Shi, et al.²⁷ evaluaron proantocianidinas aisladas de frambuesa en forma de eluatos de acetona al 10%, 30%, 50% y 70% de concentración denominados D1, D2, D3 y D4 respectivamente. Entre ellos, el componente D2 (polimerización promedio 4,4) mostró mayor actividad antioxidante total, realizándose luego una comparación con la vitamina C. En el método de reducción de iones de hierro, se observó que una concentración de 0,15 mg/ml tuvo un efecto en la reducción de los iones de hierro, la vitamina C a la dosis de 0,15 mg/ml redujo a los iones hierro equivalente al 48,63% del D2. En cuanto al método DPPH a una concentración 0,05 mg/ml, se obtuvo tasas de eliminación de DPPH de más del 92% para D2 y 79% para vitamina C. En el método de radicales hidroxilos, se evidenció que a una concentración de 0,1 mg/ml, el compuesto D2 eliminó más del 90% de los radicales libres, mientras que la vitamina C solo eliminó el 57%.

Kim, et al.²⁸ experimentaron con tres tipos de frambuesas entre ellas Golden Harvest (amarilla), Canby (roja), donde aplicaron 3 diferentes métodos de análisis que son: poder antioxidante reductor férrico (FRAP), la actividad depuradora de radicales 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) y por último el método depurador de radicales del ácido 2,2-azinobis-(3-etilbenzo-tiazolina-6-sulfónico (ABTS). Como resultado indican que en el método FRAP la actividad antioxidante de la frambuesa roja Canby fue mayor que la frambuesa amarilla Golden Harvest. Esto se relacionó con la capacidad de fenoles absolutos y antocianinas. Luego se obtuvo que la eliminación de radicales DPPH de la frambuesa amarilla Golden Harvest fue la más alta, a diferencia del primer método donde fue la más baja. Finalmente, en el método ABTS al igual que el método DPPH, se observó que la actividad antioxidante de este tipo de frambuesa amarilla Golden fue superior a la frambuesa roja Canby.

Basak, et al.²⁹ demostraron la eliminación de radicales DPPH de dos tipos de muestras, *Rubus Lineatus* (RLE) y *Rubus Treutleri* (RTE) donde los extractos de frutas de las dos muestras mostraron una alta actividad de supresión de radicales DPPH. Los productos IC50 de RLE y RTE son 41.40 ± 0.59 y 60,13 ± 0,41 mg/mL respectivamente. A una concentración de 200 mg/mL, se observó que el porcentaje de inhibición mostrado por RLE y RTE fue 92.73 ± 0.39% y 85.50 ± 0.13%, que fueron más que el ácido ascórbico estándar que muestra un valor 58.5 ± 0.02%. El radical libre DPPH toma un electrón para estabilizarse, lo que reacciona con cualquier agente reductor y cambia el color de la solución. El color disminuye con el aumento de la cantidad de antioxidantes. A partir de los resultados anteriores, se puede observar que los extractos de frutas son ricos en antioxidantes, lo que provoca una disminución en el color de la solución a medida que aumenta la concentración del extracto.

BASES TEÓRICAS

Las frambuesas rojas (*Rubus Idaeus*) son del género *Rubus* y contiene aproximadamente 740 especies, que se clasifican en 15 subgéneros. Las frambuesas pertenecen al subgénero *Idaeobatus*, estas incluyen a las frambuesas europeas.³⁰

La frambuesa que corresponde al linaje Rosaceae y es un matorral con tallo oculto semileñoso, levantado, arduo. Cada año arroja vástagos, las cuales se despliegan en el primer período y en el segundo periodo florecen, maduran y sucumben, siendo cambiados por recientes vástagos. El fruto alimenticio es una mezcla de la unión de drupelas. Las cañas de la frambuesa se distribuyen en primocañas las cuales son vegetativas y floricañas entra en una etapa de floración y fructificación.³¹

Hay variedades de primocañas que pueden florecer y fructificar, y son las más interesantes porque no hay que esperar hasta un año para empezar a crecer. La segunda categoría clasifica las cañas por su erección y hábito de crecimiento rastrero, y es la caña vertical más importante. Una tercera clasificación de las frambuesas, basada en hábitos de producción, es cultivo en floricañas (segundo año de verano) y cultivo en primocañas (primer año de "otoño").³¹

La frambuesa es apta para climas moderados con inviernos definidos (5 a 20 °C), mientras las altas temperaturas afectan la fotosíntesis y el desarrollo, las bajas temperaturas están asociadas a la florescencia, que precisa de 700 a 1200 horas de frío en invierno. Para ello se recomienda un suelo profundo, rico y bien drenado, es muy perceptible a la inundación de raíces. En este sentido, se recomienda un suelo de estructura franco o limosa, con un pH ligeramente ácido y una conductividad inferior a 1,2 dS/m.³¹

Hay dos tipos de variedades de frambuesa: refloricientes (remontantes) y no refloricientes. Las refloricientes obtienen dos cosechas al año, importante es su primera cosecha en la parte apical de la caña (tallo) y la segunda se obtiene en las yemas, además necesitan menos horas frío. Por otro lado, las variaciones no refloricientes se desarrollan el primer año y fructifican en el siguiente año.³¹

En la actualidad las investigaciones muestran que el fruto *Rubus Idaeus* tiene gran cantidad de antioxidantes fenólicos bioactivos. Estos tienen una alta capacidad para suprimir los radicales libres de oxígeno, impiden la oxidación y el crecimiento de bacterias patógenas e impiden el crecimiento de ciertas líneas de células cancerosas. Existe evidencia de que el fruto *Rubus Idaeus* y otras bayas pueden tener un efecto beneficioso sobre varios tipos de cáncer. Diferentes estudios han

evidenciado que los efectos anticancerígenos de los compuestos bioactivos de las bayas son gracias a su capacidad para resistir, reducir y reparar el deterioro provocado por el estrés oxidativo y la inflamación. También, las sustancias químicas bioactivas de las bayas normalizan las enzimas metabólicas cancerígenas y exógenas, diversos factores de crecimiento y transcripción, las citocinas inflamatorias y los caminos de señalización subcelular para la proliferación de células cancerosas, la apoptosis y la angiogénesis tumoral. Los fitoquímicos de las bayas también pueden sensibilizar las células tumorales a los agentes de quimioterapia al inhibir las vías que conducen a la resistencia al tratamiento, y el consumo de frutas de las bayas puede brindar protección contra la toxicidad relacionada con el tratamiento.³⁰

En términos de valor nutricional, las frutas de color rojo, como *Rubus Idaeus* (frambuesa) contienen vitaminas (C, E, K), minerales (Ca, Mg, P, K, Mn, Cu y Fe), también contiene fibra soluble, azúcares, ácido cítrico y compuestos fenólicos,^{23,24,16} también tienen un bajo índice glucémico, una menor cantidad de carbohidratos y una cantidad considerable de fibra dietética.³²

Como parte de su composición química, la frambuesa contiene muchos compuestos bioactivos valiosos, como polifenoles, proantocianidinas, flavonoides, fibra dietética, ácidos grasos poliinsaturados (PUFA), tocoles y fitoesteroles.^{33,17} Se ha determinado que compuestos como las proantocianidinas tienen antioxidantes,³⁴ con efectos hipolipemiantes reductores del colesterol,³⁵ y potenciadores del sistema inmunitario.³⁶ La variedad de fitoquímicos es procedente de los alcaloides, fenoles, terpenos y glucósidos. Los fenoles son el componente bioquímico más importante en el *Rubus Idaeus* (frambuesa) para la medicina tradicional. Dentro de los compuestos fenólicos del *Rubus Idaeus* están los flavonoides que proporcionan capacidad antioxidante, compuestos como flavonas, isoflavonas, catequinas y la pigmentación azul, rojo, púrpura que se da por las antocianinas.³⁰

En la composición fenólica en la frambuesa, estos son metabolitos secundarios que aparecen más en las plantas y tienen un desempeño fisiológico importante. Los perfiles de compuestos bioactivos pueden cambiar según las condiciones, como la etapa de crecimiento y la variedad de frambuesa. Se ha encontrado que las antocianinas y los elagitaninos son los principales aportadores del efecto

antioxidante en las frambuesas y otras plantas del género *Rubus*. Las antocianinas se localizan esencialmente en las vacuolas de las células vegetales. En las frambuesas, los identificados en concentraciones más altas son: cianidina-3- O - soforósido, cianidina-3- O - glucosilrutinosido y cianidina-3- O – glucósido. Referente a los elagitaninos, se han identificado: sanguin H-6 y lambertianin C, en cantidades considerables en las frambuesas. Los elagitaninos se clasifican como taninos hidrolizables dado que liberan ácido gálico y elágico cuando se hidrolizan. El ácido gálico y los restos de hexahidroxidifenoilo múltiple (HHDP) son las subunidades centrales en la estructura química de los elagitaninos.³⁷

Las frambuesas contienen altas concentraciones de ácido elágico, derivado del ácido gálico, a diferencia de otras frutas. Este compuesto se puede encontrar en diferentes formas, ya sea libre, glicosilada o como elagitaninos. Su importancia radica en su potencial capacidad para suprimir tumores en las glándulas mamarias, lo que sugiere propiedades con potencial anticancerígeno.²⁵

El término "antocianinas" nace de la unión de las palabras griegas "anthos" que significa "flor" y "kyanos" que se refiere al color "azul". Estas sustancias se consideran una subclase de los flavonoides y también se conocen como flavonoides azules. Estos compuestos son de origen vegetal, no contienen nitrógeno y pertenecen al amplio grupo de los flavonoides que se encuentran ampliamente distribuidos en la naturaleza. Estas sustancias son responsables de proporcionar colores como rojo, anaranjado, azul y púrpura, estas las podemos encontrar en diversas frutas y flores como la frambuesa roja, azul y negra, zarzamora, cereza, ciruela, mora azul, uva azul y negra. Generalmente, las antocianinas se encuentran en la cáscara o piel de estas. También se pueden encontrar en la parte voluminosa o carnosas.³⁸

Las antocianinas son pigmentos que se disuelven en agua y son fácilmente visibles para el ser humano. En su estructura, consiste en un núcleo de flavon, que consiste en dos anillos aromáticos enlazados por una unidad de tres carbonos. La cantidad de grupos hidroxilo y metilo presentes en el anillo "B" de la molécula determina la antocianidina, que es la forma aglicona de las antocianinas. Podemos señalar que las tres primeras antocianidinas son más frecuentes en frutas, mientras que las

restantes se encuentran principalmente en flores. Las frutas rojas, especialmente las bayas y uvas rojas, los cereales, el maíz morado, los vegetales y el vino tinto son fuentes fundamentales de antocianinas.³⁹

El estudio de las antocianinas ha ganado importancia debido a sus propiedades farmacológicas y terapéuticas al ser consumidas. Diversas investigaciones han demostrado su papel en la reducción de enfermedades coronarias, así como su potencial anticancerígeno, antitumoral, antiinflamatorio y antidiabético. Estos efectos se deben a que las antocianinas están asociadas con su acción antioxidante. De igual modo, Wang y Lin (2000) en su investigación, pudieron comprobar que la mayoría de las frutas ricas en antocianinas tienen una clara actividad antioxidante frente a la presencia de radicales libres como el peróxido de hidrógeno, los radicales peróxidos, el superóxido y el hidroxilo.³⁹

La vitamina C, o ácido ascórbico, es una vitamina hidrosoluble que se forma a partir del metabolismo de la glucosa. Funciona como un agente reductor y desempeña un papel fundamental en la formación de fibras de colágeno mediante el proceso de hidroxilación de la prolina y la lisina. Además, juega un papel crucial en la protección del cuerpo contra el daño provocado por los radicales libres. Los humanos no son capaces de producir ácido ascórbico, debido a la falta de la enzima gulonolactona oxidasa. Los leucocitos y los niveles de vitamina C en el plasma demuestran el consumo de esta vitamina a través de la dieta diaria y los depósitos en el cuerpo. Algunos alimentos ricos en esta vitamina, se encuentran en la papa, tomate, yuca, en referencia a cítricos tenemos los más conocidos entre mandarinas, naranjas, limones y limas.⁴⁰

Una cualidad destacada de la vitamina C es su habilidad para funcionar como un agente reductor de gran potencia, lo que le confiere una notable capacidad antioxidante para contrarrestar los efectos perjudiciales de los radicales libres. También se ha observado que en ciertas condiciones fisiológicas puede comportarse como un compuesto oxidante peligroso al generar radicales libres. Se ha comprobado que esta vitamina tiene la capacidad de interactuar con metales de transición, como el cobre y el hierro, lo que conduce a la formación de compuestos

intermedios que pueden generar radicales hidroxilos. Estos radicales, altamente reactivos, pueden ocasionar daño en molecular.⁴¹

Los radicales libres son moléculas que se mantienen con un electrón en desaparejo en la órbita externa. Normalmente son inestables y reactivos estamos hablando de los radicales libres. Dentro de estos tenemos a los de oxígeno, como superóxido, hidroxilo, peroxilo ($\text{RO}_2 \bullet$), alcoxilo ($\text{RO} \bullet$) e hidroperoxilo ($\text{HO}_2 \bullet$). De nitrógeno tenemos, el óxido nítrico y el dióxido de nitrógeno ($\bullet \text{NO}_2$). Entre estos dos ejemplos de radicales libres pueden llegar cambiar en distintas especies reactivas no radicales, está el peróxido de hidrogeno, el ácido hipocloroso (HOCl), el ácido hipobromoso (HOBr) y el peroxinitrito (ONOO^-). Los radicales libren, tiene gran importancia en la vida y la evolución biológica, relacionado sus resultados sobre los organismos. Debemos tener en cuenta, el efecto que tienen los radicales libres funcionan como moléculas reguladoras y de señalización a niveles fisiológicos, y como oxidantes son altamente perjudiciales y citotóxicos a niveles patológicos.⁴²

Diferentes investigaciones sobre los radicales libres y especies reactivas lo asocian a nuestro equilibrio homeostático, para el estrés oxidativo se emplea moléculas radicales y no radicales por lo que son agentes oxidantes. También se considera que el estrés oxidativo se manifiesta en diversas enfermedades asociadas, en las cuales varía la función celular, ayudando al progreso de enfermedades degenerativas y/o crónicas como la aterosclerosis, cardiomiopatías, enfermedades neurológicas y cáncer. Los efectos negativos para la salud están asociados con un aumento superior al normal en la concentración de radicales libres. Este desequilibrio puede surgir del metabolismo celular normal in situ o de fuentes externas. Las ROS y el ARN pueden volverse cancerígenos porque interfieren en el aumento y funcionabilidad de las células. Además, los antioxidantes poseen una capacidad destacada para donar electrones y disminuir los ROS en las células. Por lo tanto, tienen efectos anticancerígenos al afectar diferentes etapas de la carcinogénesis. El crecimiento tumoral reducido se asocia con una dieta suplementada con antocianinas, flavonoides y taninos hidrolizables.²²

La acción descontrolada de la oxidación en nuestro cuerpo se conoce como actividad oxidante, y esto ocurre debido a una producción elevada de radicales libres, los cuales son agentes oxidantes que pueden originarse tanto por factores

externos como internos del organismo. Por lo tanto, la actividad antioxidante de una sustancia o partícula pueden llegar a prevenir o reducir la oxidación de células el cual se da mediante el mecanismo de acción de diferentes compuestos, permitiendo la disminución en la degeneración de células relacionadas con diversas enfermedades.⁴³

Cuando la generación de radicales libres excede la cabida antioxidante del organismo humano, se produce un estado de ROS, el cual puede ser el origen de diversas enfermedades como la psoriasis, además de estar relacionado con condiciones como el cáncer, diabetes mellitus y aterosclerosis. A pesar de que el organismo humano dispone de un sistema antioxidante que incluye tanto sustancias enzimáticas como no enzimáticas, su capacidad suele verse superada por los compuestos que generan radicales libres, lo que conduce al desarrollo de estrés oxidativo. Para contrarrestar los efectos dañinos de los radicales libres, es fundamental incorporar en nuestra dieta frutas y verduras que posean una elevada capacidad antioxidante. Estos alimentos son ricos en diversos compuestos beneficiosos como antocianinas, vitamina C, polifenoles, flavonoides, β -caroteno, licopeno, entre otros compuestos.⁴¹

III. METODOLOGÍA

3.1. Tipo y diseño de investigación:

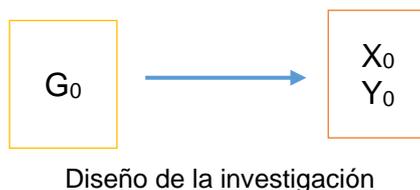
Tipo de estudio:

La investigación es básica, mediante la comprensión de hechos observables, relaciones entre los entes, y de los aspectos relevantes de los fenómenos se dirige a un conocimiento completo.⁴⁴

El nivel de la investigación es transversal descriptiva, donde los datos se obtienen en un tiempo único, y cuyo propósito es describir variables y analizar su interrelación e incidencia en un solo momento establecido.⁴⁵

El diseño de la investigación es: No experimental.

La investigación se representa por el siguiente gráfico:



Donde:

G₀: Extracto hidroalcohólico del Fruto *Rubus Idaeus* en estado maduro

X₀: Contenido de antocianinas

Y₀: Actividad antioxidante en porcentaje de inhibición de DPPH

3.2. Variables y operacionalización:

Contenido de antocianinas:

Definición conceptual: Las antocianinas son los principales aportadores del efecto antioxidante en las frambuesas y otras plantas del género *Rubus*.³⁷ Las antocianinas son responsables de la gama de colores que abarcan desde el rojo hasta el azul en varias frutas, vegetales y cereales.⁸

Definición operacional: El método del pH-diferencial permite la estimación alternativa del contenido de antocianinas totales. Esta concentración se determina con la absorbancia a un pH diferencial. Estas Moléculas dan dos bandas de absorción en la región UV (260-280 nm) y la región visible (490-550 nm).⁴⁶

Indicadores: mg/100g

Concentración de radicales libres:

Definición conceptual: Los radicales libres son átomos individuales o grupales con un electrón desapareado o libre por lo cual son altamente reactivos y captan un electrón de moléculas más estables para así lograr la estabilidad electroquímica.²²

Definición operacional: La concentración inhibitoria media máxima (IC₅₀) representa la eficacia de un compuesto para atenuar la función biológica/bioquímica,⁴⁷ para este estudio la eliminación de radicales libres.

El porcentaje de captación de radicales libres se obtiene al mezclar 2 sustancias (radical e inhibidor). Aquí se tiene como elemento inhibidor al extracto de frambuesa y la Vitamina C, y como radical libre al radical hidroxilo •OH.

Esto se determinó mediante 2 métodos: método DPPH y método de eliminación de radicales hidroxilos. Para ambos se comparará su efecto con la vitamina C.

Indicadores:

- DPPH: IC50 µg/mL
- Radical hidroxilo: % de captación de radicales hidroxilos

Escala de medición:

- Cuantitativa de razón

3.3. Población y muestra

Población: Fruto de *Rubus Idaeus* (frambuesa) en estado maduro adecuado para el consumo, se recolectó en la provincia de Virú, del departamento de la Libertad.

Muestra: En el presente estudio se utilizó 500 gr de fruto de *Rubus Idaeus* (frambuesa) en estado maduro y buenas condiciones, recolectadas en la Provincia de Virú, del departamento de la Libertad, con coordenadas de latitud -8.447978, y longitud -78.724904.

Criterios inclusión

- El fruto debe presentar características organolépticas aceptables.
- El fruto no debe presentar plagas o microorganismos patógenos.
- Fruto libre de golpes o magulladuras.

Criterios de exclusión

- Frutos con magulladuras.
- Frutos que no presentan características organolépticas adecuadas.

3.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos:

Para la recolección de datos se aplicó la técnica de la observación, empleando el método DPPH para determinar la concentración inhibitoria media (IC₅₀) y el método de eliminación de radicales libres de hidroxilo (\bullet OH) que fue empleado para determinar el efecto del extracto de frambuesa para eliminar radicales hidroxilo comparado con el efecto de la Vitamina C.

Como instrumento se utilizaron tablas de recolección de datos donde se registraron las concentraciones de las muestras preparadas y los resultados de los análisis como el contenido de antocianinas, los indicadores de concentración inhibitoria media (IC₅₀) y porcentaje de captación de radicales hidroxilos.

3.5. Procedimientos:

Clasificación taxonómica de *Rubus Idaeus* “Frambuesa”

La validación taxonómica se realizó en el Herbarium Truxillense de la Facultad de Ciencias Biológicas - Universidad Nacional de Trujillo. (Anexo 2)

Recolección de las muestras

Se recolectó 2.5 Kg del fruto de *Rubus Idaeus* en el mes de abril del 2023 procedente de Virú - La Libertad. El fruto se empaquetó en un recipiente de plástico forrado con papel blanco y una caja de cartón para así evitar los golpes del fruto hasta llegar a la ciudad de Trujillo.

Preparación de la muestra⁴⁸

Se realizó la selección y se pesaron 500 g de frambuesa en estado maduro (completamente rojas), luego se procedió a retirar impurezas lavándolas con agua de caño, y luego desinfectando con hipoclorito de sodio diluido (1 ml de NaClO₄% en 1 litro de agua potable), dejando ahí por un lapso de 10 minutos. Por último, para retirar los residuos del hipoclorito de sodio se enjuagaron con agua destilada.

Preparación del extracto etanólico

Los frutos de frambuesa desinfectados se trituraron en un mortero, seguidamente se colocó en recipientes de vidrio ámbar para macerar con 200 ml de etanol al 80%, se agitó durante 15 minutos y luego se almacenó en completa oscuridad a temperatura ambiente durante 7 días.

Pasado ese tiempo, el producto se filtró con papel filtro Whatman N° 41 en vasos de precipitación, luego se midió y anotó el volumen obtenido.

Determinación de contenido de antocianinas

El método utilizado para analizar la concentración de antocianinas fue el método de pH diferencial. Inicialmente, se prepararon dos soluciones: una solución de cloruro de potasio (KCl) 0,025 M con un pH de 1,0, y la otra solución de acetato de sodio 0,4 M con un pH de 4,5. A continuación, se diluyó 1 ml de muestra de extracto hidroalcohólico de frambuesa (*Rubus idaeus*) con 4 ml de agua destilada. Asimismo, se prepara un blanco utilizando 1 ml de etanol al 80% y 4 ml de agua destilada.

Se llevó un cabo de dos ensayos utilizando tubos de ensayo. En el primer ensayo, se colocaron 0,3 ml de la dilución del extracto hidroalcohólico de frambuesa (*Rubus idaeus*) en cada tubo y se agregaron 0,6 ml de buffer KCl 0,025 M con un pH de 1, repetir tres veces. De manera similar, se realizó otro ensayo utilizando 0,6 ml de buffer acetato de sodio 0,4 M con un pH de 4,5.

En el segundo conjunto de tubos de ensayo, se agregaron 0.6 ml de la dilución del extracto hidroalcohólico de frambuesa (*Rubus idaeus*) en cada tubo, seguido de la adición de 1.2 ml de buffer KCl 0.025 M con un pH de 1, repetido tres veces. De manera similar, se realizó otro ensayo utilizando 1.2 ml de buffer de acetato de sodio 0.4 M con un pH de 4.5.

Se obtuvo una solución de etanol al 80% diluido como blanco para ambos tampones. Todas las soluciones, incluyendo las muestras de extracto, se colocan en un espectrofotómetro Kynkel Modelo kV 1200 para medir las absorbancias en el rango de onda de 510 a 700 nm en los buffers pH 1 y pH 4.5. Este procedimiento se repite para cada muestra de extracto.

La absorbancia (A) se calculó de la forma siguiente:

$$A = (A_{\lambda_{vis-max}} - A_{\lambda 700})_{pH1} - (A_{\lambda_{vis-max}} - A_{\lambda 700})_{pH4.5} \quad \text{Ec. 1}$$

$$A = (A_{500} - A_{700})_{pH1.0} - (A_{500} - A_{700})_{pH4.5}$$

La concentración de antocianinas totales se obtuvo de la siguiente ecuación:

$$\text{Antocianinas totales (mg/L)} = (A * PM * FD * 1000)/(e * 1) \quad \text{Ec. 2}$$

Donde:

A: Absorbancia de la muestra antes calculada

PM: Significa peso molecular de antocianina como glucósido de acianidina (449,2)

FD: Es el factor de dilución que se utilizó en la ejecución (15)

ϵ : Es el coeficiente de extinción molar (26900)

l: Grosor de cubeta (1 cm)

1000: Es el factor de conversión de gramos a miligramos

Evaluación de la actividad antioxidante por el método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)⁴⁹

Se diluyó el extracto hidroalcohólico en 25, 50, 75, 150, 300, 450, 600 $\mu\text{g/ml}$ de concentración. Se procedió a mezclar en etanol 1,0 mL de las diluciones con 0,5 mL de una solución de 0,3 mM de DPPH (Lab. Merck, Sigma Aldrich, Alemania) y se dejó reaccionar durante 30 minutos a temperatura ambiente; Seguidamente se midió la absorbancia de la mezcla a 517 nm.

Preparación de distintas concentraciones del extracto hidroalcohólico del fruto de *Rubus Idaeus* (frambuesa) para DPPH

	25 ug/ml	50 ug/ml	75 ug/ml	150 ug/ml	300 ug/ml	450 ug/ml	600 ug/ml
Solución Madre del extracto hidroalcohólico de <i>Rubus Idaeus</i> (frambuesa) (ml)	0.167	0.33	0.5	1	2	3	4
Etanol 80% (ml)	9.833	9.67	9.5	9	8	7	6
TOTAL (ml)	10	10	10	10	10	10	10

Para determinar la capacidad antioxidante de cada muestra se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Actividad antioxidante (\%)} = \left(\frac{AC - AM - AB}{AC} \right) \times 100$$

Donde:

- AC es la absorbancia del blanco del reactivo (DPPH + etanol)
- AM es la absorbancia de la muestra + DPPH
- AB es la absorbancia del blanco (muestra + etanol)

Evaluación de la actividad antioxidante por el método DPPH para Vitamina C⁵⁰

Adicional al procedimiento que ya se mencionó, también se realizó una curva de vitamina C para la expresión de la actividad antioxidante del extracto en equivalente de vitamina C.

En primer lugar, se tomaron 0.009 gr de vitamina C, la cual se diluyó en 100 ml de agua destilada. Seguidamente se prepararon 4 patrones de vitamina C de concentraciones de 0.01mM, 0.02mM, 0.05mM y 0.2mM:

Preparación de soluciones patrón de vitamina C

Concentraciones	0.01mM	0.02 mM	0.05 mM	0.2mM
Vitamina C (ml)	2	4	10	40
Agua destilada (ml)	98	96	90	60
Total	100	100	100	100

Una vez realizado esto, se extrajo de 1ml de cada concentración y se le agregó 0.5 ml de la solución de DPPH al 0.3 mM, anteriormente preparada. Se dejó reaccionar media hora a temperatura ambiente y al finalizar se midió la absorbancia a una onda de 517 nm.

Para la determinación de la actividad antioxidante se utilizó la siguiente fórmula:

$$\text{Actividad antioxidante (\%)} = \left(\frac{AI - AF}{AI} \right) \times 100$$

Donde:

AF: Absorbancia de la mezcla de 1 ml de la muestra + 0.5 ml de DPPH.

AI: Absorbancia del blanco del reactivo a partir de la mezcla de 0.5 ml de DPPH + 1 ml de etanol.

Determinación de la concentración inhibitoria media (IC50)

Con los datos obtenidos se graficó una recta con el % de captura de DPPH versus la concentración de la dilución $\mu\text{g/mL}$ del extracto etanólico de *Rubus Idaeus* y de la vitamina C.

Para calcular el valor de IC_{50} se utiliza la intersección y la pendiente de la línea obtenida por regresión lineal, con la siguiente ecuación:

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

Donde:

IC50: Cantidad de muestra necesaria para reducir en un 50% la concentración inicial del radical hidroxilo o radical DPPH (μL)

b: Intersección de la línea de regresión lineal

m: Pendiente de la línea de regresión lineal

Ensayo de eliminación de radicales libres de hidroxilo ($\bullet\text{OH}$)²⁷

Se prepararon las muestras de extracto hidroalcohólico en 5, 50, 150, 300 $\mu\text{g/ml}$ de concentración. Para el radical hidroxilo se utilizaron dos mililitros de solución de 6 mmol L^{-1} de FeSO_4 sulfato de hierro (Lab. Merck, Sigma Aldrich, Alemania), 2 ml de muestra y 2 ml de 6 mmol L^{-1} H_2O_2 peróxido de hidrógeno (Lab. Merck, Sigma Aldrich, Alemania) se mezcló y agitó bien y se dejó en reposo durante 10 min. Se añadió a la mezcla dos mililitros de 6 mmol L^{-1} de $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_3$ ácido salicílico (Lab. Merck, Sigma Aldrich, Alemania), se agitó bien y se dejó en reposo durante 10 min. Seguidamente se midió la absorbancia de la mezcla a 625 nm. El etanol al 80% se usó como control. Las pruebas se realizaron 4 veces.

Para la tasa de captación de radicales hidroxilos se utilizó la fórmula:

$$(\%) = \left(\frac{A_0 - (A_i - A_j)}{A_0} \right) \times 100$$

Donde:

- A_0 representa la absorbancia del grupo de control
- A_i muestra la absorbancia del grupo tratamiento
- A_j representa la absorbancia de la muestra analizada (extracto hidroalcohólico).

Ensayo de eliminación de radicales libres de hidroxilo (\bullet OH) con vitamina C²⁷

Agregado al procedimiento anterior, se realizó una para la curva de vitamina C para la expresión de la actividad antioxidante del extracto en equivalente de vitamina C. Se prepararon 4 concentraciones de vitamina C de 300 ug/ml, 150 ug/ml, 50 ug/ml, 5ug/ml. En la forma de preparación en primer lugar para la concentración de 300 ug/ml se pesó 0.003 gr de vitamina C en una balanza analítica, la cual se diluyó en 10 ml de agua destilada, luego se sustrajo 5 ml de la solución, y se agregó 5 ml de agua destilada para la concentración 150 ug/ml, luego se sustrajo nuevamente de la primera concentración 1.67 ml de solución y se agregó 8.33 ml de agua destilada para la concentración 50 ug/ml, de esta última concentración se sustrajo 1 ml de solución y se agregó 9 ml de agua destilada para la concentración 5 ug/ml.

Una vez realizado esto, se siguió el procedimiento anterior del radical hidroxilo, agregando en nuevos tubos 2 mililitros de solución de 6 mmol L⁻¹ de FeSO₄ sulfato de hierro, 2 ml de muestra de concentración de vitamina C y 2 ml de 6 mmol L⁻¹ H₂O₂ peróxido de hidrógeno se mezcló y agitó bien y se dejó en reposo durante 10 min. Se añadió a la mezcla dos mililitros de 6 mmol L⁻¹ de C₇H₆O₃ ácido salicílico, se agitó bien y se dejó en reposo durante 10 min. Seguidamente se midió la absorbancia de la mezcla a 625 nm.

3.6. Método de análisis de datos:

Para los valores de la eliminación de radicales libres se procesaron en el programa Microsoft Excel 2020. Se utilizó la técnica de regresión lineal obteniendo la ecuación de la curva y recta con la dispersión de datos; Con la pendiente e intercepto correspondiente a la ecuación de la recta se determinó la concentración media inhibitoria IC₅₀ del extracto hidroalcohólico frente al DPPH, este dato se comparó con el IC₅₀ de la vitamina C frente al DPPH. Para el método de radical hidroxilo se compararon los porcentajes de inhibición de radicales hidroxilo del extracto de frambuesa con la Vitamina C.

3.7. Aspectos éticos:

Para la presente investigación se está sujeto al “código de ética en investigación” de la Universidad César Vallejo,⁵¹ resaltando que la investigación es original, la información utilizada de otros autores está correctamente citada y los resultados son veraces. También se mantiene respeto a la biodiversidad y promueve la protección del medio ambiente al no afectarlo negativamente, según los principios del derecho ambiental de la precaución y prevención, señalados por Friant-Perrot,⁵² cumpliendo así con esos principios y asegurar la conservación y uso sostenible del ecosistema de donde obtenemos los alimentos de sustento diario.

IV. RESULTADOS

TABLA 1. Contenido de antocianinas totales *Rubus idaeus* (frambuesa)

MUESTRA	Concentración mg/L	Contenido de Antocianinas mg/100g
1	139.27	23.56
2	141.27	23.90
3	145.28	24.58
Promedio	141.94	24.01
Desviación Estándar	3.06	0.52

La tabla N°1 nos indica que el contenido de antocianinas totales del *Rubus idaeus* (frambuesa) en extracto, es 24.01 ± 0.52 mg/100 mg.

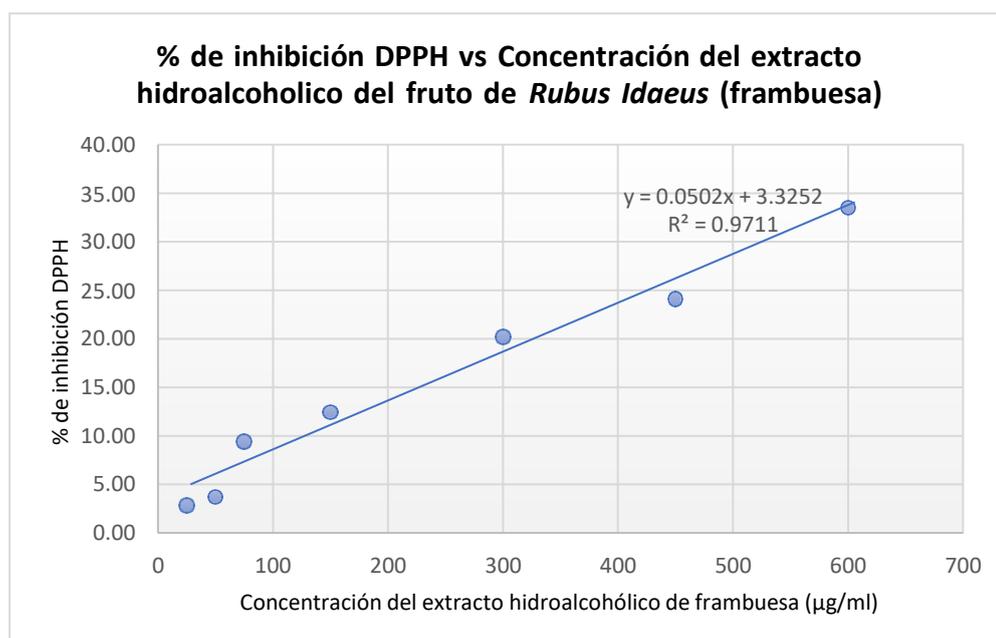


Figura 1. Porcentaje de inhibición DPPH vs Concentración del extracto hidroalcohólico del fruto de *Rubus idaeus* (frambuesa)

$$IC_{50} = \frac{50 - b}{m} = \frac{50 - 3.3252}{0.0502} = 929.78 \mu\text{g/ml}$$

En la **Figura 1** se muestra la gráfica en Excel del porcentaje de inhibición DPPH vs la concentración del extracto hidroalcohólico de frambuesa, teniendo así la ecuación de la recta para calcular la concentración inhibitoria media IC50.

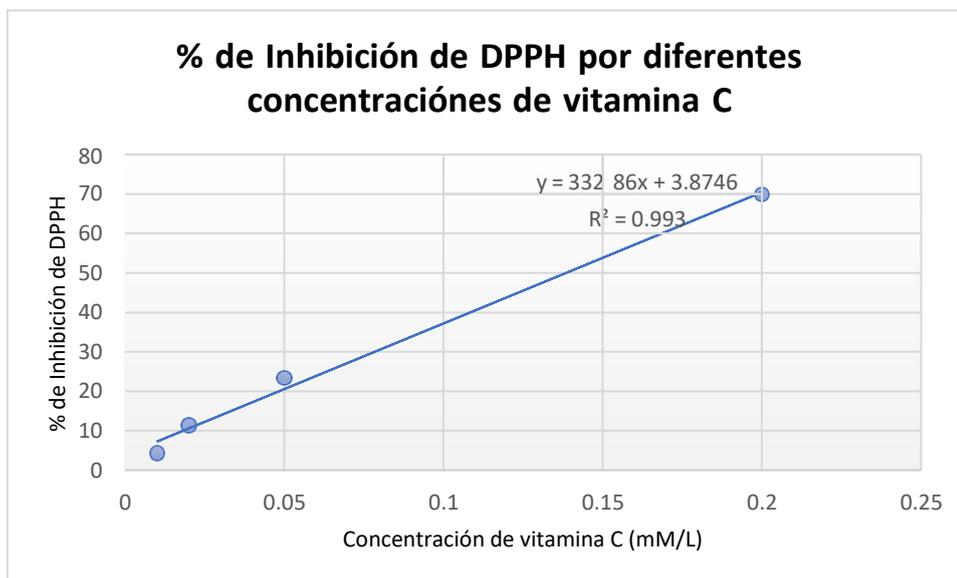


Figura 2. Porcentaje de inhibición DPPH por diferentes concentraciones de vitamina C

$$IC_{50} = \frac{50 - b}{m} = \frac{50 - 3.8746}{332.86} = 0.1386 \approx 0.14 \mu M/L$$

En la **Figura 2** se muestra la gráfica en Excel del porcentaje de inhibición de DPPH vs la concentración de Vitamina C, teniendo así la ecuación de la recta para calcular la concentración inhibitoria media IC50.

TABLA 2. IC50 del extracto hidroalcohólico del fruto *Rubus Idaeus* (frambuesa) y Vitamina C

Ensayo	Ecuación de la recta	IC50
Método DPPH para extracto de frambuesa	$y = 0.0502x + 3.3252$ $R^2 = 0.9711^a$	929.78 µg/ml
Método DPPH para vitamina C	$y = 332.86x + 3.8746$ $R^2 = 0.993^b$	0.14 µM/L*

*es equivalente a 24,66 ug de vitamina C /mL.

a: ver figura 1 b: ver figura 2

TABLA 3. Captación de radicales hidroxilo promedio por el extracto hidroalcohólico del fruto de *Rubus Idaeus* (frambuesa)

Concentración del extracto hidroalcohólico del fruto <i>Rubus Idaeus</i> (µg/ml)	Tasa de captación de radicales hidroxilo promedio (%)	Desviación estándar
5	2.6975	1.52910
50	9.1250	4.34011
150	17.3725	12.54468
300	15.6975	12.48986

Los datos obtenidos de los ensayos en laboratorio para la actividad antioxidante de la Vitamina C sobre el radical hidroxilo se muestran en la **TABLA 4.**

TABLA 4. Captación de radicales hidroxilo promedio por la vitamina C

Concentración de la vitamina C (µg/ml)	Tasa de captación de radicales hidroxilo (%)
5	22.91
50	53.42
150	72.28
300	93.29

En la **Figura 3** se muestra la gráfica conjunta en Excel del porcentaje de inhibición de radicales hidroxilo ($\bullet\text{OH}$) por el extracto de frambuesa y por la vitamina C.

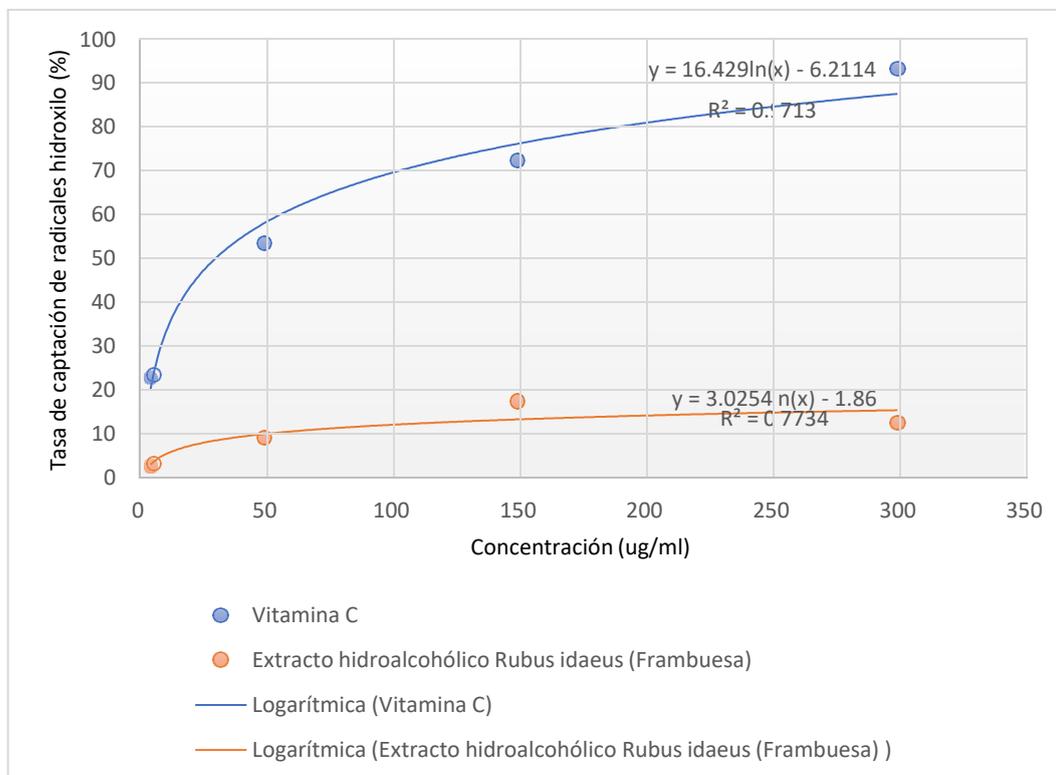


Figura 3. Comparación de la captación de los radicales hidroxilo por diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico del fruto *Rubus Idaeus* (frambuesa) frente a patrones de Vitamina C

V. DISCUSIÓN

Szymanowski, et al.²⁶ en su estudio mencionan que, entre varios tipos de muestras, la mayor actividad antioxidante se obtiene para el extracto crudo de pulpa de frambuesa, y Salinas, et al.²⁵ muestran que para el grupo evaluado en estado maduro la frambuesa presenta hasta el doble de antocianinas. Por lo cual en el presente estudio se optó por utilizar el extracto hidroalcohólico crudo de frambuesa en estado maduro para estimar la actividad antioxidante y así obtener resultados más notables.

Mejía.⁵³ en su investigación obtuvo 51.6 ± 0.231 mg/100g de antocianinas en el extracto de frambuesa a 35°C, y en el presente estudio se obtuvo a 23°C un contenido promedio de antocianinas 24.01 ± 0.52 mg/100g en el extracto hidroalcohólico del fruto *Rubus Idaeus* (frambuesa), siendo de menor valor para la frambuesa proveniente de Virú. Referente al método usado en ambos estudios, una diferencia que se observó en el antecedente, es que utilizó como solvente una solución de metanol – agua (20:80) con frambuesa triturada todo colocado en un matraz en un sistema de extracción por reflujo, acotando que dependiendo del solvente utilizado puede ser (etanol, metanol, acetona, agua destilada, etc) para la extracción de antocianinas varía entre varios factores, incluido las propiedades de la muestra vegetal. Además, el metanol tiene buena capacidad de extracción y estabilidad de las antocianinas lo que permite obtener resultados consistentes, teniendo cuenta también que es tóxico y debe ser manejado con precaución.⁵⁴

Referente a Salinas, et al. en su estudio indica el perfil de antocianinas presente en el fruto *Rubus Idaeus* (frambuesa) según su grado de madurez. Se encontró a través del método Cromatográfico HPLC, la presencia de 8 antocianinas, en las cuales destaca la cianidina y perlargonidina, son flavonoides con propiedades antioxidante, tiene actividad antiinflamatoria, antimicrobiana, en caso específico con la frambuesa le da esa coloración rojiza que se encuentra generalmente en la piel de las frutas y bayas, estas antocianinas presentes en la frambuesa tienen propiedades antioxidantes, incluyendo la protección contra el estrés oxidativo y riesgo de enfermedades.²⁵

En los resultados la investigación para el método DPPH se obtuvo un IC₅₀ de 929.78 µg/ml siendo equivalente a 0.14mM/L de Vitamina C o 24,66 µg de vitamina C /mL, por lo que el poder antioxidante es bajo en este caso. En otros investigaciones la actividad antioxidante es expresada en otros antioxidantes diferentes a Vitamina C, así tenemos que, Szymanowsk, et al.²⁶ en su estudio obtuvieron que a través de una muestra de extracto de pulpa de frambuesa 588,9 µM equivalente de Trolox (TE)/100g para DPPH, y Shi, et al.²⁷ con proantocianidinas aisladas de frambuesa en forma de eluatos de acetona al 30%, con una concentración de 50 µg/ml obtuvo un 92% de eliminación de DPPH, notándose un menor poder antioxidante de la frambuesa proveniente de Virú, pero

sigue siendo importante la actividad inhibitoria de radicales libres en ambos estudios. Respecto al segundo antecedente se observó que utilizaron una muestra aislada (muestra seca), teniendo en cuenta que este procedimiento el eluato de acetona 30% se destilo a 40 °C al vacío y el concentrado se pasó a liofilizar hasta convertirlo en polvo a -40°C al vacío. Los solventes utilizados en estos caso como (etanol, metanol, acetona), brindar una expresión en las antocianinas presentes en la fruta, en este caso en específico la técnica de liofilización da muchos beneficios en el resultado final de análisis y característica de la antocianina, pues con este método se preserva la estructura molecular y reduce la degradación de compuestos sensibles al calor y la oxidación como las antocianinas, también a mantener la integridad y concentración de componentes bioactivos presentes en la frambuesa.⁵⁵ Además de las antocianinas mencionadas anteriormente presentes en la frambuesa, también existen otros compuestos importantes que brindan a este fruto esa actividad antioxidante, como los compuestos fenólicos entre estos, están los flavonoles los más comunes en este fruto son quercetin-3-glucósido y el kaempferol, tiene propiedades antioxidantes y beneficio cardiovascular, también estan ácidos fenólicos, como el ácido gálico, el ácido cafeico y el ácido elagico, este último en específico es un polifenol que se encuentra en la frambuesa, según estudios realizados ayudarían a prevenir el daño celular.³⁷

Al comparar la frambuesa con otros frutos en cuanto a su capacidad para inhibir de radicales DPPH, Zumaran,⁵⁶ obtuvo para el zumo de fresa (*fragaria vesca*) un IC50 de 655.92 µg/ml, Briceño,⁵⁷ obtuvo para el zumo de zarzamora (*Rubus floribundus Kunth*) en estado maduro un IC50 de 162.52 µg/ml, y en el presente estudio para la frambuesa se obtuvo un IC50 de 929.78 µg/ml, notándose así un menor poder antioxidante de la frambuesa proveniente de Virú en comparación con otras frutas bayas. Respecto al primer antecedente comentado, se identificó en su método de preparación la utilización de metanol al 80%. Mientras que en el segundo antecedente su preparación fue a base de etanol al 80%. La presencia de antocianinas en estos estudios tiene un valor significativo debido a su capacidad de inhibir radicales libres.

En los resultados la investigación para el método de Radical Hidroxilo el mayor porcentaje de inhibición de radicales libres promedio fue de 17.37 % para una

concentración de 150 µg/ml y a mayor concentración la inhibición de radicales va disminuyendo; Por otro lado, Shi, et al.²⁷ experimentaron con proantocianidinas aisladas de frambuesa liofilizada (muestra seca) en forma de eluato de acetona al 30% y eliminó más del 90% de los radicales hidroxilo presentes, notándose un menor poder antioxidante para la frambuesa frente al radical hidroxilo.

Como parte del estudio con el método del radical hidroxilo se utilizó vitamina C para comparar su efecto inhibitorio con el extracto de frambuesa, donde en las 4 concentraciones evaluadas (5 µg/ml, 50 µg/ml, 150 µg/ml y 300) se observa en la **Figura 3** una mayor tasa de captación de radicales hidroxilo para la Vitamina C, y es menor para el extracto de frambuesa.

Las limitaciones que se presentaron durante la presente investigación son por la procedencia del fruto (Virú-La Libertad), también el fruto utilizado es frambuesa cultivada por una empresa, del tipo *Rubus Idaeus* (frambuesa roja), pero existen otras especies como frambuesa silvestre, frambuesa negra, frambuesa púrpura, entre otros.⁵⁸ Otra limitación del estudio es el estado de maduración en el que se utilizó la frambuesa. Según Zoffoli, et al, la frambuesa roja tiene 6 estados de maduración⁵⁹ (Anexo 12), y en el presente estudio se utilizó frambuesa en el estado C5. Por todas estas condiciones el estudio está enmarcado y si se cambiara algo también las propiedades de la frambuesa y valor nutricional podrían variar dando resultados distintos.

En cuando a la realización del ensayo en laboratorio y obtención de datos se tuvo la limitación de realizarse en base a las concentraciones del extracto en µg/ml. En otros estudios como el de Szymanowsk, et al. se realizaron en base al Trolox equivalente²⁶, por lo cual tuvimos que buscar referencias de estudios donde se utilicen µg/ml.

CONCLUSIONES

Se encontró un contenido 24.01 ± 0.52 mg/100 mg de antocianinas en el extracto hidroalcohólico del fruto *Rubus Idaeus* (frambuesa) en estudio.

Asimismo, en el extracto hidroalcohólico del fruto *Rubus Idaeus* (frambuesa) se obtuvo 929.78 µg/ml equivalente a 0.14mM/L (24,66 µg/ml) de Vitamina C para reducir en un 50% (IC50) la concentración del radical DPPH.

Para radical hidroxilo se observó que la mayor actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico del fruto *Rubus Idaeus* (frambuesa) fue de 17.37% en una concentración de 150 µg/ml y menor con respecto a la vitamina C que fue de 93.29% en una concentración de 300 µg/ml.

RECOMENDACIONES

Se recomienda realizar experimentos para la determinación de la actividad antioxidante de la frambuesa a distintos estados de maduración para determinar en qué estado tienen mayor poder antioxidante.

Los datos del laboratorio pueden variar si no se realizan a tiempos exactos o con las cantidades imprecisas. Por lo cual se recomienda tener experiencia o entrenamiento previo antes de realizar las pruebas en laboratorio, o contar con la guía de un especialista para así obtener resultados más precisos del experimento.

Se recomienda que el extracto hidroalcohólico a utilizar sea lo más fresco posible (dentro de los 30 días desde su preparación), debido a que naturalmente se va descomponiendo y su poder antioxidante va disminuyendo conforme pasa el tiempo.

REFERENCIAS

1. Giuffrè A, Louadj L, Rizzo P, Poiana M, y Sicaria V. Packaging and storage condition affect the physicochemical properties of red raspberries (*Rubus idaeus* L., cv. Erika). *Food Control*. 2019. March [cited: 2022 october 10]; 97: [8 p.]. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.10.027>.
2. Hidalgo G, y Almajano M. Red fruits: Extraction of antioxidants, phenolic content, and radical scavenging determination: A review. *Antioxidants*. 2017. January [cited: 2022 october 10]; 6(1): [8 p.]. Available from: <https://doi.org/10.3390/antiox6010007>.
3. Wu L, Yang j, Wang C, Lia N, Liu Y, Duan A, et al. Chemical compositions of raspberry leaves influenced by growth season, cultivars and leaf position. *Scientia Horticulturae*. 2022. October [cited: 2022 october 10]; 304: [10 p.]. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2022.111349>.
4. Kshatriya D, Liab X, Giunta G, Yuan B, Zhao D, Simon J, et al. Phenolic-enriched raspberry fruit extract (*Rubus idaeus*) resulted in lower weight gain, increased ambulatory activity, and elevated hepatic lipoprotein lipase and heme oxygenase-1 expression in male mice fed a high-fat diet. *Nutrition Research*. 2019. August [cited: 2022 october 10]; 68: [14 p.]. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2019.05.005>.
5. FreshPlaza. [Online].; 2019 [cited 2022 Octubre 10. Available from: <https://www.freshplaza.com/article/9136082/overview-global-berry-market/>.
6. Hallmann E, Ponder A, Aninowski M, Narangerel T, y Leszczyńska J. The Interaction between Antioxidants Content and Allergenic Potency of Different Raspberry Cultivars. *Antioxidants*. 2020. [cited: 2022 october 10]; 9(3): [12 p.]. Available from: <https://doi.org/10.3390/antiox9030256>.
7. Burton B, Sandhu A, y Edirisinghe I. Red Raspberries and Their Bioactive Polyphenols: Cardiometabolic and Neuronal Health Links. *Advances in*

- Nutrition. 2016. January [cited: 2022 october 10]; 7: [21 p.]. Available from: <https://doi.org/10.3945/an.115.009639>.
8. Valdés A, Maestre S, Butsko M, Prats M, y Beltrán A. Authentication of “Adelita” raspberry cultivar based on physical properties, antioxidant activity and volatile profile. *Antioxidants*. 2020. July [cited: 2022 october 10]; 9(7): [13 p.]. Available from: <https://doi.org/10.3390/antiox9070593>.
 9. FAOSTAT. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). [Online].; 2014. [cited 2022 Noviembre 3. Available from: <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>.
 - 10 United States Department of Health and Human Services (DHHS). National Diabetes Statistics Report. Washington DC, USA.; 2020. [cited: 2022 october 10].
 - 11 Mudgil D. Fiber's Interaction Between Gut Microflora, Sugar Metabolism, Weight Control and Cardiovascular Health. ACADEMIC PRESS. 2017. July [cited: 2022 october 10]; [24 p.]. Available from: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-805130-6.00003-3>.
 - 12 Leu S, Chen Y, Tsai Y, Hung Y, Hsu C, Lee Y, et al. Raspberry ketone reduced lipid accumulation in 3T3-L1 cells and ovariectomy-induced obesity in Wistar rats by regulating autophagy mechanisms. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2017. November [cited: 2022 october 10]; 65: [7 p.]. Available from: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b03831>.
 - 13 Leu S, Tsai Y, Chen W, Hsu C, Lee Y, y Cheng P. Raspberry ketone induces brown-like adipocyte formation through suppression of autophagy in adipocytes and adipose tissue. *The Journal of Nutritional Biochemistry*. 2018. June [cited: 2022 october 10]; 56: [9 p.]. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2018.01.017>.
 - 14 Tsai Y, Yang B, Peng W, Lee Y, Yen M, y Cheng P. Heme oxygenase-1 mediates anti-adipogenesis effect of raspberry ketone in 3T3-L1 cells.

- Phytomedicine. 2017. July [cited: 2022 october 10]; 31: [6 p.]. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2017.05.005>.
- 15 Oh Y, Shin S, Kim S, Lee K, Shin J, y Park K. Comparison of antiaging, anti-melanogenesis effects, and active components of Raspberry (*Rubus occidentalis* L.) extracts according to maturity. *Journal of food biochemistry*. 2020. September [cited: 2022 october 10]; 44(11): [10 p.]. Available from: <https://doi.org/10.1111/jfbc.13464>.
- 16 Simmonds M, y Preedy V. *Nutritional composition of fruit cultivars*. primera ed.: Academic Press; 2015. [cited: 2022 october 10].
- 17 Noratto G, Chew B, y Atienza L. Red raspberry (*Rubus idaeus* L.) intake decreases oxidative stress in obese diabetic (db/db) mice. *Food Chemistry*. 2017. [cited: 2022 october 10]; 227: [9 p.]. Available from: [10.1016/j.foodchem.2017.01.097](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.01.097).
- 18 Kowalska K, Olejnik A, Zielińska J, y Olkowicz M. Raspberry (*Rubus idaeus* L.) fruit extract decreases oxidation markers, improves lipid metabolism and reduces adipose tissue inflammation in hypertrophied 3T3-L1 adipocytes. *J. Funct. Foods*. 2019. November [cited: 2022 october 10]; 62: [8 p.]. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2019.103568>.
- 19 Derrick S, Kristo A, Reaves S, y Sikalidis A. *Effects of Dietary Red Raspberry Consumption on Pre-Diabetes and Type 2 Diabetes Mellitus Parameters*. MDPI. 2021. September [cited: 2022 october 10]; 18(17): [8 p.]. Available from: <https://doi.org/10.3390/ijerph18179364>.
- 20 Figueira M, Camara M, Direito R, Rocha J, Serra A, Duarte C, et al. Chemical characterization of a red raspberry fruit extract and evaluation of its pharmacological effects in experimental models of acute inflammation and collagen-induced arthritis. *Food & Function*. 2014. [cited: 2022 october 10]; 5(12): [10 p.]. Available from: <https://doi.org/10.1039/C4FO00376D>.

- 21 Calvano A, Izuora K, Oh E, Ebersole J, Lyons T, y Basu A. Dietary berries, insulin resistance and type 2 diabetes: An overview of human feeding trials. *Food & Function*. 2019. September [cited: 2022 october 10]; 10(10): [16 p.]. Available from: <https://doi.org/10.1039/C9FO01426H>.
- 22 Guija H, Guija E. Radicales libres y sistema antioxidante. *Horizonte Médico* [Internet]. 2023. Junio [citado el 17 de julio de 2023];23(2): [9 pp.]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.24265/horizmed.2023.v23n2.12>
- 23 De Souza V, Pereira P, Da Silva T, De Oliveira L, Pio R, y Queiroz F. Determination of the bioactive compounds, antioxidant activity and chemical composition of Brazilian blackberry, red raspberry, strawberry, blueberry and sweet cherry fruits. *Food Chemistry*. 2014. August [cited: 2022 october 10]; 156(1): [6 p.]. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.01.125>.
- 24 Stojanov D, Milošević T, Mašković P, Milošević N, Glišić I, y Paunović G. Influence of organic, organo-mineral and mineral fertilisers on cane traits, productivity and berry quality of red raspberry (*Rubus idaeus* L.). *Scientia Horticulturae*. 2019. June [cited: 2022 october 10]; 252: [8 p.]. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.04.009>.
- 25 Salinas Y., Almaguer G., Peña G., Ríos R. Ácido elágico y perfil de antocianinas en frutos de frambuesa (*Rubus idaeus* L.) con diferente grado de maduración. Chapingo. Serie horticultura. 2009. Enero [citado: 18 de noviembre del 2022]; 15(1): [8 pp.]. Disponible en: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1027-152X2009000100014.
- 26 Szymanowska U, Baraniak B, y Bogucka A. Antioxidant, anti-inflammatory, and postulated cytotoxic activity of phenolic and anthocyanin-rich fractions from Polana Raspberry (*Rubus idaeus* L.) fruit and juice—In Vitro Study. *Molecules*. 2018. July [cited: 2022 october 12]; 23(7): [17 p.]. Available from: <https://doi.org/10.3390/molecules23071812>.

- 27 Shi H, Zhou X, He X, Ding R, Wang R, Wang W, et al. Extraction optimization of raspberry proanthocyanidins and determination of its antioxidant activities in vitro. *Food and Agricultural Immunology*. 2021. December [cited: 2022 october 12]; 31(1): [19 p.]. Available from: <https://doi.org/10.1080/09540105.2021.1968799>.
- 28 Kim J, Moon Y, y Kwak E. Comparison of PhenolicComposition,Content,and Antioxidant ActivityinRaspberries and Blackberries. *Horticultural Science and Technology*. 2018. February [cited: 2022 november 7]; 36(1): [13 p.]. Available from: <https://doi.org/10.12972/kjhst.20180013>.
- 29 Basak M, Dutta S, y Chowdhury M. Wild raspberry: Antioxidant fruits from Eastern Himalaya. *Journal of Food Biochemistry*. 2018. May [cited: 2022 november 7]; 42(5): [16 p.]. Available from: <https://doi.org/10.1111/jfbc.12560>.
- 30 Hummer K. *Rubus Pharmacology: Antiquity to the Present*. American society for horticultural science. 2010. November; 45(11): [5 p.]. Available from: <https://doi.org/10.21273/HORTSCI.45.11.1587>.
- 31 INTAGRI. El Cultivo de la Frambuesa - Serie Frutillas Núm. 13 - Artículos Técnicos de INTAGRI. [Online].; 2017. [cited 2022 November 3]. Available from:<https://www.intagri.com/articulos/frutillas/el-cultivo-de-la-frambuesa#:~:text=Principalmente%20se%20adapta%20a%20climas,Suelo>.
- 32 González R, Edwards C, y Crozier A. Colonic Catabolism of Ellagitannins, Ellagic Acid, and Raspberry Anthocyanins: In Vivo and In Vitro Studies. *Drug Metab*. 2011. September [cited: 2022 october 10]; 39(9): [8 p.]. Available from: <https://dmd.aspetjournals.org/content/39/9/1680>.
- 33 Saad N, Louvet F, Tarrade S, Meudec E, Grenier K, Landolt C, et al. Enzyme-Assisted Extraction of Bioactive Compounds from Raspberry (*Rubus idaeus* L.) Pomace. *Journal of food science*. 2019. May [cited: 2022 october 10]; 84(6): [9 p.]. Available from: <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14625>.

- 34 Chen L, Li K, Liu Q, Quiles J, Filosa R, Kamal M, et al. Protective effects of raspberry on the oxidative damage in HepG2 cells through Keap1/Nrf2-dependent signaling pathway. *Food and Chemical Toxicology*. 2019. [cited: 2022 october 10]; 133: [8 p.]. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.110781>.
- 35 Tu L, Sun H, Tang M, Zhao J, Zhang Z, Sun X, et al. Red raspberry extract (*Rubus idaeus* L shrub) intake ameliorates hyperlipidemia in HFD-induced mice through PPAR signaling pathway. *Food and Chemical Toxicology*. 2019. [cited: 2022 october 10]; 133: [10 p.]. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2019.110796>.
- 36 Kim J, Kim Y, Kim T, Li W, Mun J, Jeon H, et al. Unripe Black Raspberry (*Rubus coreanus* Miquel) Extract and Its Constitute, Ellagic Acid Induces T Cell Activation and Antitumor Immunity by Blocking PD-1/PD-L1 Interaction. *Foods (Basilea, Suiza)*. 2020. [cited: 2022 october 10]; 9(11): [8 p.]. Available from: <https://doi.org/10.3390/foods9111590>.
- 37 Lopez A., Valencia I., González F., Sánchez A., Garcia L., Garcia R. Antioxidant, Anti-Inflammatory and Cytotoxic Activity of Phenolic Compound Family Extracted from Raspberries (*Rubus idaeus*): A General Review. *Antioxidants*. 2022. May [cited: 2022 november 18]; 11(6): [20 p.]. Available from: <https://doi.org/10.3390/antiox11061192>.
- 38 Fernández R, Lizana XC. Antocianinas en *Solanum tuberosum*: Una revisión. *Agro Sur [Internet]*. 2020 [citado el 17 de julio de 2023];48(2): [8 p]. Disponible en: <http://146.83.217.169/index.php/agrosur/article/view/6105>
- 39 De La Rosa X, García I, Hernandez J, Morales J, Quiroz J. Antocianinas, propiedades funcionales y potenciales aplicaciones terapéuticas. *Revista Boliviana de Química [Internet]*. 2022. Diciembre [citado el 17 de julio de 2023];39(5): [9 p.]. Disponible en: http://www.scielo.org.bo/scielo.php?pid=S025054602022000500001&script=sci_arttext

- 40 Villagrán M, Muñoz M, Díaz F, Troncoso C, Celis C, Mardones L. Una mirada actual de la vitamina C en salud y enfermedad. *Revista Chilena de Nutrición* [Internet]. 2019.Diciembre [citado el 17 de julio de 2023];46(6): [9]. Disponible en:
https://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S071775182019000600800&script=sci_arttext
- 41 Guija H, Guija E, Ponce J, Inocente M, Camarena L. Generación de radicales libres por efecto de vitamina C sobre un jarabe antianémico de sulfato ferroso. *Horizonte Médico (Lima)*. 2018. Diciembre [citado: 12 de junio del 2023]; 18(4): [7 p.]. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.24265/horizmed.2018.v18n4.05>.
- 42 Ortiz J, Medina L. Estrés oxidativo ¿un asesino silencioso? *Educacion química* [Internet]. 2020.Febrero [citado el 17 de julio de 2023];31(1): [11 p]. Disponible en: <https://www.revistas.unam.mx/index.php/req/article/view/69709>
- 43 Kuskoski E, Asuero A, Troncoso A, Mancini-Filho J, y Fett R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 2006. Febrero [citado: 2022 november 10]; 25(4): [7 p.]. Disponible en: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612005000400016>.
- 44 CONCYTEC. Ley que modifica diversos artículos de la ley 28303, ley marco de ciencia, tecnología e innovación tecnológica; y de la ley 28613, ley del consejo nacional de ciencia, tecnología e innovación tecnológica república Cdl, editor. Perú: El Peruano; 2018.
- 45 Sampieri H, Fernández C, y Baptista P. Metodología de la investigación. Sextaed. Interamericana Editores SAdCV, editor. México: Mc Graw Hill; 2014.
- 46 Giusti M, Wrolstad R. Acylated anthocyanins from edible sources and their applications in food systems. *Biochemical Engineering Journal*. 2003. June [cited: 2023 June 05]; 14(3): [9 pp.] Available from:
[https://doi.org/10.1016/S1369-703X\(02\)00221-8](https://doi.org/10.1016/S1369-703X(02)00221-8).

- 47 Hendriks B. Functional pathway pharmacology: chemical tools, pathway knowledge and mechanistic model-based interpretation of experimental data. *Current Opinion in Chemical Biology*. 2010. August [cited: 2022 november 7]; 14(4): [8 p.]. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2010.06.167>.
- 48 Jurado B, Aparcana I, Villarreal L, Ramos E, Calixto M, y Hurtado P. 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. *Revista de la Sociedad Química del Perú*. 2016. Agosto; 82(3): [8 p.]. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1810-634X2016000300003&script=sci_abstract.
- 49 Doroteoa V, Díaz C, Terry C, y Rojas R. Compuestos fenólicos y actividad antioxidante in vitro de 6 plantas peruanas. *Revista de la Sociedad Química del Perú*. 2013. Marzo [citado: 10 de noviembre del 2022]; 79(1): [8 pp.]. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2013000100003.
- 50 Nossa D, Talero Y, Rozo W. Determinación del contenido de polifenoles y actividad antioxidante de los extractos polares de comfrey (*Symphytum officinale* L.). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 2016. Noviembre [citado: 17 de octubre 2023]; 21(2): [8 pp.]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962016000200001.
- 51 Vicerrectorado de Investigación UCV. Código de Ética en Investigación. 2020. [citado el 07 de noviembre del 2022]; [16 pp.]. Código de Ética de obligatorio cumplimiento para todos aquellos que realizan investigación en la Universidad César Vallejo.
- 52 Friant-Perrot M. Curso de derecho agroalimentario. 2005. Edición Lexis Nexis.
- 53 Mejía D. Extracción y cuantificación de antocianinas en frambuesa (*Rubus idaeus* L.) a diferentes temperaturas y tiempos de extracción. Tesis de grado.

Cajamarca: Universidad Nacional de Cajamarca, Escuela Académico Profesional De Ingeniería En Industrias Alimentarias; 2016. Disponible en: <http://hdl.handle.net/20.500.14074/1725>

- 54 Carmona J, Morales T, Mussatto S, Catillo D, Ríos L. Propiedades químicas, estructurales y funcionales de la lechuguilla (agave lechuguilla Torr.) Revista Mexicana de Ciencias Forestales [Internet]. 2017. Agosto [citado el 17 de julio de 2023];8(42): [23 p]. Disponible en: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S200711322017000400100&script=sci_arttext
- 55 Lacuesta S. Efecto de la temperatura de liofilización en los compuestos bioactivos y capacidad antioxidante del zumo de naranja y su coproducto. Tesis de grado. Valencia: Universidad Politécnica de Valencia. 2021. Disponible en: <https://acortar.link/OmhyPd>
- 56 Zumaran V. Efecto del tiempo y el color del envase en el contenido de antocianinas y capacidad antioxidante en el zumo de fresa (fragaria vesca) almacenados a refrigeración. Tesis de grado. Trujillo: Universidad César Vallejo, Facultad de Ingeniería; 2018.
- 57 Briceño V. Contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante del fruto de Rubus Floribundus Kunth "Zarzamora" en diferentes estadios de maduración. Tesis de grado. Trujillo: Universidad César Vallejo, Escuela profesional de nutrición; 2019.
- 58 De Vilane P. Tipos de frambuesas [Internet]. Pazo de Vilane. 2020 [citado el 17 de julio de 2023]. Disponible en: <https://pazodevilane.com/cronicas-galinerito/tipos-de-frambuesas/>
- 59 Zoffoli J, Naranjo P, Leiva F. Nuevas Técnicas para Prolongar el Tiempo Poscosecha de Frambuesas. VII Seminario de Berries. Santiago, Chile: Asociación de Empresas de Alimentos de Chile; 2010.

ANEXOS

ANEXO 1

Operacionalización de variables

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADORES	ESCALA
Contenido de antocianinas	Las antocianinas son uno de los principales aportadores del efecto antioxidante en las frambuesas y otras plantas del género Rubus	El método del pH-diferencial permite la estimación alternativa del contenido de antocianinas totales. Esta concentración se se determina con la absorbancia a un pH diferencial, en la región UV y la región visible.	Método de pH diferencial	Contenido de antocianinas mg/100g	Cuantitativa de razón
Concentración de radicales libres	Los radicales libres son átomos individuales o grupales con un electrón desapareado libre por lo cual son altamente reactivos y captan un electrón de moléculas más estables para así lograr la estabilidad electroquímica.	La concentración inhibitoria media máxima (IC50) representa la eficacia de un compuesto para atenuar la función biológica/bioquímica (para este estudio la eliminación de radicales libres).	Método DPPH y Vitamina C	Concentración inhibitoria media IC50 µg/mL	Cuantitativa de razón
		El porcentaje de captación de radicales libres se obtiene al mezclar 2 sustancias (radical e inhibidor). Aquí se tiene como elemento inhibidor al extracto de frambuesa y la Vitamina C, y como radical libre al radical hidroxilo •OH.	Método de eliminación de radicales libre de hidroxilo (•OH) y Vitamina C	% de captación de radicales hidroxilos	Cuantitativa de razón

ANEXO 2



Muestra de planta de frambuesa en herbario HUT

ANEXO 3

**Etanol al 80 % para la preparación del extracto hidroalcohólico de *Rubus
Idaeus (frambuesa)***

$$V1=X$$

$$C1=96^\circ$$

$$V2=500 \text{ ml}$$

$$C2=80^\circ$$

$$C1 \cdot V1 = C2 \cdot V2$$

$$96^\circ \cdot X = 80^\circ \cdot 500 \text{ ml}$$

$$X = 417 \text{ ml}$$

$$500 - 417 = 83 \text{ ml de agua destilada}$$

ETANOL AL 80%

$$C1 \cdot V1 = C2 \cdot V2$$

$$96^\circ \cdot X = 80^\circ \cdot 200 \text{ ml}$$

$$X = 167 \text{ ml (alcohol } 96^\circ)$$

$$200 - 167 = 33 \text{ ml de agua destilada}$$

ANEXO 4

Preparación de solución madre del extracto hidroalcohólico de *Rubus Idaeus* (frambuesa)

Soluciones

Solución 18.8 ° brix → 18.8 % sólidos totales

Entonces:

18.8g sólidos total → 100 ml de solución

X → 1 ml

X = 0.188 gr sólidos totales

Entonces:

150 ug sólido → 1 ml de solución

0.000150 g sólidos totales → 1 ml

1 ml → 0.188 g

X → 0.150 g

X = 0.8 ml contiene 0.150 g

Entonces:

0.8 diluir con etanol al 80% → 100 ml solución (solución madre)

ANEXO 5

Cálculos para la determinación de contenido de antocianinas

Ficha de Recolección de datos para contenido de Antocianinas

MUESTRA	Buffer KCL 0.025 M pH 1		Buffer acetato de sodio 0.4 M pH 4.5.	
	510 longitud	700 longitud	510 longitud	700 longitud
1	0.636	0.015	0.087	0.022
2	0.648	0.019	0.082	0.022
3	0.655	0.016	0.084	0.023

Cálculo de absorbancia de la antocianina

$$A = (A_{510} - A_{700}) \text{ pH } 1,0 - (A_{510} - A_{700}) \text{ pH } 4.5$$

$$A = (0.636 - 0.015) - (0.087 - 0.022)$$

$$A = (0.621 - 0.065)$$

$$A = 0.556$$

Cálculo de la concentración de antocianinas

$$\text{CAT} = (A * PM * FD * 1000) / (\epsilon * l)$$

$$(0.556 * 449.2 * 15 * 1000) / (26900 * 1)$$

$$139.27 \text{ mg/L}$$

Contenido de antocianinas totales por 100 g de muestra fresca

$$139.27 \text{ mg} \rightarrow 1000 \text{ ml}$$

$$X \rightarrow 846 \text{ ml (volumen del extracto hidroalcohólico de } \textit{Rubus Ideaus} \text{)}$$

$$X = 117.82 \text{ mg}$$

$$117.82 \text{ mg} \rightarrow 500 \text{ g (Peso de } \textit{Rubus Idaeus} \text{)}$$

$$Y \rightarrow 100 \text{ g}$$

$$Y = 23.56 \text{ mg}$$

ANEXO 6

Porcentajes de inhibición del DPPH con extracto hidroalcohólico de frambuesa y vitamina C

Porcentaje de inhibición DPPH vs Concentración del extracto hidroalcohólico del fruto de *Rubus Idaeus* (frambuesa)

Nº de muestra	Concentración del extracto hidroalcohólico del fruto <i>Rubus Idaeus</i> (frambuesa) ($\mu\text{g/ml}$)	% de Inhibición del DPPH
1	25	2.82
2	50	3.70
3	75	9.41
4	150	12.42
5	300	20.20
6	450	24.09
7	600	33.50

Porcentaje de inhibición de DPPH por diferentes concentraciones de Vitamina C

Vitamina C	Concentración de vitamina C mM/L	% de Inhibición del DPPH 0,3 mM
1	0.01	4.2
2	0.02	11.3
3	0.05	23.4
4	0.2	69.8

ANEXO 7

Elaboración del extracto hidroalcohólico del fruto de *Rubus Idaeus* (Frambuesa)



Selección, lavado y desinfectado de la frambuesa



Pesado de la fruta – frambuesa



Preparación del extracto hidroalcohólico de frambuesa



Maceración del extracto hidroalcohólico de frambuesa



Filtrado del extracto hidroalcohólico de frambuesa



Volumen total del filtrado



Medición de los grados brix

ANEXO 8

Determinación de la actividad antioxidante del fruto de *Rubus Idaeus* (Frambuesa)



Preparación de la solución del reactivo DPPH



Extracto etanólico del fruto *Rubus Idaeus* (Frambuesa) más la solución del DPPH



Extracto etanólico del fruto *Rubus Idaeus* (Frambuesa) más la solución del DPPH, después de 30 minutos a temperatura ambiente



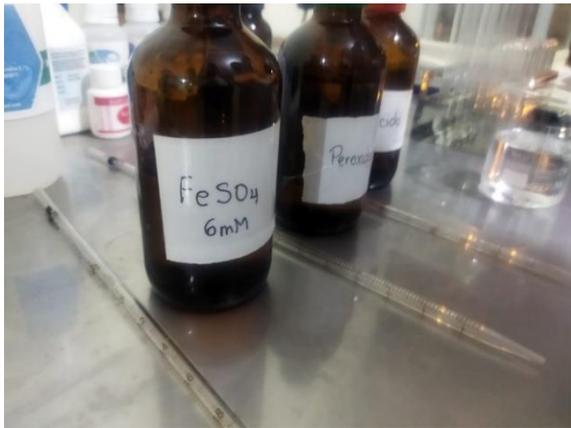
Espectrofotómetro Kynetel kv -1200 para las lecturas de absorbancias a 517 nm

ANEXO 9

Determinación de la actividad antioxidante del fruto de *Rubus Idaeus* (Frambuesa) frente los radicales libres de hidroxilo ($\cdot\text{OH}$)

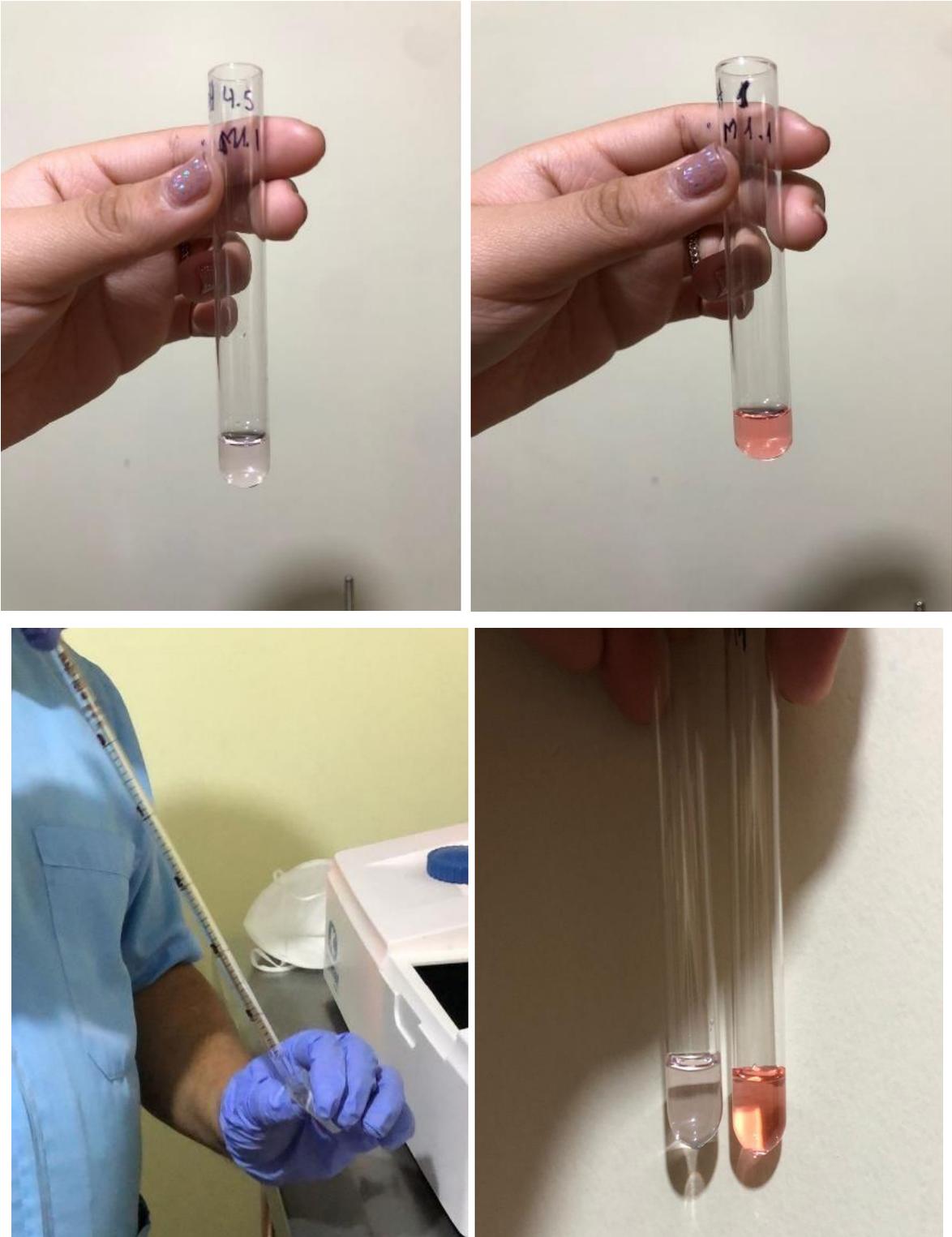


Preparación de reactivo de hidroxilo ($\cdot\text{OH}$)



Extracto etanólico del fruto *Rubus Idaeus* (Frambuesa) más la solución hidroxilo ($\bullet\text{OH}$)

ANEXO 10



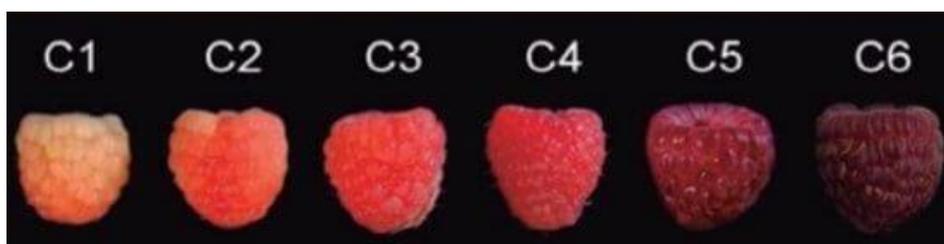
Determinación de contenido de antocianinas del fruto de *Rubus idaeus* (Frambuesa)

ANEXO 11



Determinación de la actividad antioxidante de la vitamina C

ANEXO 12



Estados de maduración de la frambuesa



UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE NUTRICIÓN**

Declaratoria de Autenticidad del Asesor

Yo, DIAZ ORTEGA JORGE LUIS, docente de la FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD de la escuela profesional de NUTRICIÓN de la UNIVERSIDAD CÉSAR VALLEJO SAC - TRUJILLO, asesor de Tesis titulada: "Efecto in Vitro del extracto hidroalcohólico del fruto de Rubus idaeus (Frambuesa) sobre radicales libres", cuyos autores son RODRIGUEZ LEON DIEGO ISMAEL, LA RIVA RUBIO CECILIA DEL ROSARIO, constato que la investigación tiene un índice de similitud de 21.00%, verificable en el reporte de originalidad del programa Turnitin, el cual ha sido realizado sin filtros, ni exclusiones.

He revisado dicho reporte y concluyo que cada una de las coincidencias detectadas no constituyen plagio. A mi leal saber y entender la Tesis cumple con todas las normas para el uso de citas y referencias establecidas por la Universidad César Vallejo.

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 vigentes de la Universidad César Vallejo.

TRUJILLO, 29 de Junio del 2023

Apellidos y Nombres del Asesor:	Firma
DIAZ ORTEGA JORGE LUIS DNI: 18134283 ORCID: 0000-0002-6154-8913	Firmado electrónicamente por: DIAZO el 13-07-2023 18:41:47

Código documento Trilce: TRI - 0559727