



Universidad Nacional
SAN LUIS GONZAGA



Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional

Esta licencia permite a otras distribuir, combinar, retocar, y crear a partir de su obra de forma no comercial y, a pesar que son nuevas obras deben siempre rendir crédito y ser no comerciales, no están obligadas a licenciar sus obras derivadas bajo los mismos términos.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>



UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
EVALUACIÓN DE ORIGINALIDAD



AT 2025-FFBB-040

CONSTANCIA

El que suscribe, deja constancia que se ha realizado el análisis con el software de verificación de similitud al documento cuyo título de **Informe final de tesis** es:

Actividad antioxidante y polifenoles totales del extracto etanólico del fruto de *Pernettya prostrata* "macha-macha"

Presentado por:

CAHUANA QUISPE CARLOS

Bachiller del nivel **PREGRADO** de la Facultad de **FARMACIA Y BIOQUÍMICA**. El resultado obtenido es **7%** por el cual se otorga el calificativo de:

APROBADO, según Reglamento de Evaluación de la Originalidad.

Con Código de Matricula: 20163829

Se adjunta al presente el reporte de evaluación con el software de verificación de originalidad.

Ica, 20 de mayo de 2025

Dr. PEÑA GALINDO JULIO JOSE
DIRECTOR DE LA UNIDAD DE INVESTIGACION
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



UNIVERSIDAD NACIONAL "SAN LUIS GONZAGA"

VICERRECTORADO DE INVESTIGACION

Facultad de Farmacia y Bioquímica



Actividad antioxidante y polifenoles totales del extracto etanólico del
fruto de *Pernettya prostrata* "macha-macha"

Línea de Investigación:
Salud Pública y Conservación del Medio Ambiente

AUTOR

BACH. CAHUANA QUISPE CARLOS

Ica-Perú

2025

DEDICATORIA

Dedico con todo mi corazón este trabajo a mi MADRE por su apoyo incondicional y por motivarme a seguir adelante, a mis HERMANOS por ser una parte importante de mi vida .

AGRADECIMIENTO

A Dios por darme las fuerzas necesarias para seguir adelante y alcanzar mi meta, lograr ser un profesional.

A la vez quiero agradecer a mi asesor de tesis; a los docentes que me apoyaron en el transcurso de realizar el presente trabajo de investigación.

Índice

Índice de tablas	v
Índice de figuras	vi
Resumen	vii
Abstract	viii
I. Introducción	9
II. Estrategia metodológica	25
2.1.1 Tipo de Investigación	25
2.1.2 Nivel de Investigación	25
2.1.3. Diseño de Investigación	25
2.2 Lugar de Investigación	25
2.3 Materiales de Trabajo	25
2.4. Hipótesis y variables	28
2.4.1. Hipótesis	28
2.4.2. Variables	29
2.5. Población, muestra y muestreo	30
2.6. Métodos, Técnicas y procedimiento de recolección de muestras	30
2.7. Técnicas y procesamiento de información	37
2.8. Técnicas de procesamiento, análisis e interpretación	38
2.9. Aspectos éticos	38
III. Resultados	39
IV. Discusión	34
V. Conclusiones	50
VI. Recomendaciones	51
VII. Referencias bibliográficas	52
VIII. Anexos	54

Índice de tablas

Tabla 1. Tipo de antioxidantes	19
Tabla 2. Parámetros fisicoquímicos de caracterización el extracto etanólico del fruto maduro de <i>Pernettya prostrata</i> , (macha-macha)	40
Tabla 3. Metabolitos secundarios del extracto etanólico del fruto de <i>Pernettya prostrata</i> , (macha-macha)	41
Tabla 4. Lectura de absorbancia de las diluciones patrón de trolox por el método de DPPH	42
Tabla 5. Determinación de la capacidad antioxidante de las diluciones del extracto etanólico del fruto de <i>Pernettya prostrata</i> , (macha-macha) por el método DPPH	43
Tabla 6. Valores de absorbancia de las diluciones patrón de trolox por el método CUPRAC	44
Tabla 7. Determinación de la capacidad antioxidante de las diluciones del extracto etanólico del fruto de <i>Pernettya prostrata</i> , (macha-macha) por el método CUPRAC	45
Tabla 8. Valores de absorbancia de las soluciones estándares de ácido gálico para la cuantificación de polifenoles	46
Tabla 9. Determinación de polifenoles totales de las diluciones del extracto etanólico del fruto de <i>Pernettya prostrata</i> , (macha-macha)	47

Índice de figuras

Figura 1. Planta de <i>Pernettya prostrata</i> “macha-macha” al estado natural	15
Figura 2. Especie <i>Pernettya prostrata</i> “macha-macha” en estado de floración.	17
Figura 3. Zona de distribución de la especie en Latinoamérica	18
Figura 4. Antioxidantes presentes en alimentos	20
Figura 5. Principales mecanismos de acción de antioxidantes	21
Figura 6. Tipos de Radicales libres	22
Figura 7. Fuentes de formación de radicales libres.	23
Figura 8. Ubicación de la provincia de Sucre en el departamento de Ayacucho	30
Figura 9. Zona de recolección de la especie vegetal	31
Figura 10. Correlación entre las concentraciones de trolox en mM y % de inhibición del radical DPPH	42
Figura 11. Correlación entre las concentraciones de extracto en mg/mL y % de inhibición del radical DPPH	43
Figura 12. Curva de calibración del patrón para la establecer la actividad antioxidante por el método CUPRAC	44
Figura 13. Curva entre concentración del extracto etanólico del fruto de <i>Pernettya prostrata</i> , (macha-macha)	45
Figura 14. Curva de cuantificación de ácido gálico para la cuantificación de polifenoles totales	46
Figura 15. Curva entre concentración de extracto etanólico de la especie y los ug de ácido gálico equivalentes	47
Figura 16. Recolección en campo del fruto de la especie <i>Pernettya prostrada</i>	57
Figura 17. Secado triturado y macerado de la especie <i>Pernettya prostrada</i>	58
Figura 18. Obtención de extracto y puesta a concentrar (secado)	59
Figura 19. Extracto etanolico seco del fruto de <i>Pernettya prostrada</i> (macha-macha)	60
Figura 20. Determinación de metabolitos secundarios	61
Figura 21. Otros metabolitos secundarios	62
Figura 22. Determinación de actividad antioxidante	63
Figura 23. Certificación botánica de la especie	64

RESUMEN

La especie *Pernettya prostrata* “macha-macha”, es un arbusto que crece a lo largo de Latinoamérica, en los bosques húmedos alto andinos, produciendo un fruto con propiedades toxicas cuando se consume en cantidad, de los que existen escasos estudios sobre los aspectos fitoquímicos y de actividades biológicas, muchos de los cuales reportan resultados contradictorios. El objetivo principal del presente trabajo fue establecer el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante por dos métodos del extracto etanólico del fruto de la especie. Se realizo las determinaciones de un screening fitoquímico para la presencia de metabolitos secundarios, polifenoles totales por el método de Folin Ciocalteu y la actividad antioxidante por el método del radical DPPH y el método CUPRAC. Como resultado del screening se obtuvo la presencia de compuestos tipos taninos, flavonoides y triterpenos y/o esteroides en diversas fracciones, con respecto a la actividad antioxidante por el método DPPH revelo un IC₅₀ de 4,10mg el cual fue equivalente a 0,706mM de trolox; mientras que por el método CUPRAC muestra una actividad antioxidante equivalente a 17,93 mM de trolox. Para el contenido de polifenoles totales reporto un valor de 6,08 ug AGE/mg de extracto; lo que nos permite concluir que el extracto etanólico de fruto de la especie presenta *Pernettya prostrata* “macha-macha” una actividad antioxidante media siendo más activo el método de DPPH y bajo contenido de polifenoles.

Palabras clave: *Pernettya prostrata*, actividad antioxidante, DPPH, CUPRAC, polifenoles

ABSTRACT

The species *Pernettya prostrata* “macha-macha” is a shrub that grows throughout Latin America, in the humid high Andean forests, producing a fruit with toxic properties when consumed in quantity, of which there are few studies on the phytochemical aspects and biological activities, many of which report contradictory results. The main objective of the present work was to establish the content of phenolic compounds and the antioxidant activity by two methods of the ethanolic extract of the fruit of the species. Phytochemical screening determinations were carried out for the presence of secondary metabolites, total polyphenols by the Folin Ciocalteu method and antioxidant activity by the DPPH radical method and the CUPRAC method. As a result of the screening, the presence of tannin-type compounds, flavonoids and triterpenes and/or steroids in various fractions was obtained, with respect to the antioxidant activity by the DPPH method, an IC₅₀ of 4.10mg was revealed, which was equivalent to 0.706mM of trolox; while by the CUPRAC method it shows an antioxidant activity equivalent to 17.93 mM of trolox. For the total polyphenol content, I report a value of 6.08ug AGE/mg of extract; which allows us to conclude that the ethanolic extract of the fruit of the species *Pernettya prostrata* “macha-macha” has medium antioxidant activity with the DPPH method being more active and low polyphenol content.

Keywords: *Pernettya prostrata*, antioxidant activity, DPPH, CUPRAC, polyphenols

I. INTRODUCCION

El Perú es uno de los países con mayor diversidad de especies vegetales medicinales, tanto autóctonas con introducidas muchas de las cuales han sido usadas y siguen siendo usadas hasta la actualidad para el tratamiento de diversas dolencias, convirtiéndose como primera alternativa remedios para los problemas de la salud (1). Conociendo la vasta flora medicinal con la que contamos, se hacen necesarios estudios para establecer las bases científicas que permitan respaldar o negar las aplicaciones de muchas de estas especies vegetales empleadas en la medicina popular (2). La Organización Mundial de la Salud (OMS) advierte que alrededor de un 70% a 80 % de la población en los países en desarrollo no poseen acceso o no pueden conseguir medicamentos para las múltiples enfermedades que padecen; razón por la cual, para tratar sus males o enfermedades emplean las diversas alternativas de la medicina tradicional, con especialmente énfasis en los recursos vegetales terapéuticos, como consecuencia en estos momentos una gran diversidad de estos recursos vegetales, están volviendo hacer usados y otros tantos probados para el tratamiento de diversas enfermedades; lo que ha llevado a los sistemas de salud en muchos países hayan incorporado el área de medicina complementaria en donde se hace hincapié al uso de las plantas medicinales como una alternativa en las terapias (3). Cada día, va obteniéndose mayor interés de la ciencia en la extracción de principios o compuestos activos de las especies vegetales, lo que se observa en un mayor incremento de patentes y comercialización de productos o medicamentos a base de estos; lo cual está permitiendo que la investigación en que este campo de operación tome mayor relevancia.

Las diferentes condiciones climáticas y geográficas que presenta el país permiten que podamos describir una gran y diversificada flora, lo cual convierte a nuestro país en uno de los países más megadiversos del planeta (3, 4), estos diferentes nichos ecológicos conllevan a las diversas constituciones de los metabolitos en las diferentes especies vegetales, muchos de ellos con conocidas propiedades antioxidantes. Un sin número de investigaciones tienen como objetivo la indagación de nuevas fuentes de compuestos fenólicos con propiedades antioxidantes naturales, con el propósito de ser usados en la industria farmacéutica, alimentaria y de los cosméticos; ya que estos recursos antioxidantes se consideran esenciales para el cuidado de la salud, para combatir el estrés oxidativo ocasionado por la presencia de radicales libres, que ocasionan en nuestro organismo una serie de enfermedades degenerativas (5). Los compuestos fenólicos son metabolitos esenciales en el metabolismo de las plantas y actúan como agentes protectores frente a condiciones adversas tales como: condiciones de estrés; infecciones, radiaciones UV, presencia de patógenos, el envejecimiento celular entre otros. Los antioxidantes se definen como un grupo de moléculas cuya función, en concentraciones mínimas en relación a la sustancia oxidable, es que evitan o retrasan formidablemente el

proceso oxidativo de los sustratos. Casi todas los compuestos orgánicos o inorgánicos que se hallan en las células vivas del organismo se pueden considerar como un sustrato oxidable, tales como proteínas, lípidos, hidratos de carbono y las moléculas de ADN (6, 7).

Últimamente, el grado de los efectos que originan los radicales libres y su conveniente correlación con el envejecimiento celular están en un constante incremento. Los radicales libres son reconocidos como compuestos químicos que se constituyen en los directos vectores causales del estrés oxidativo, etapa que está directamente relacionada con el envejecimiento celular y ciertos procesos fisiopatológicos que se exhiben en diversas enfermedades cardiovasculares, neurodegenerativas, cataratas y determinados tipos de cáncer. La labor de los antioxidantes radica en impedir que otras moléculas reaccionen con las especies reactivas de oxígenos (ROS), reaccionando más rápido ellos con estos radicales libres producidos, que con otros compuestos o moléculas que estuvieran en un microambiente; el antioxidante ofrenda su propio entorno estructural para reprimir cambios en moléculas esenciales del tipo: ADN, lípidos, proteínas, etc, que cumplen funciones vitales (6)

En base a todo lo expuesto, es la razón principal por la cual planteamos la realización de la presente investigación “Actividad antioxidante y polifenoles totales del extracto etanólico del fruto de *Pernettya prostrata Cav* “macha-macha”.

1.1 Descripción de la realidad problemática.

En el Perú y en muchos países en desarrollo como ya se ha indicado, un considerable porcentaje de la población carece de los medios o recursos económicos para acceder a los medicamentos comerciales, por lo que muchas veces recurre al empleo de la medicina tradicional a los recursos que esta ostenta; así como, en nuestras zonas andinas o alto andinas se hace usos de plantas medicinales como principal ayuda o quizás su única opción para combatir distintas enfermedades; sin embargo, la gran mayoría de estas especies vegetales utilizadas, no cuentan con suficientes estudios como para poder respaldar o negar el uso terapéutico que se les atribuyen según el uso tradicional o ancestral.

La especie botánica en estudio *Pernettya prostrata Cav.* DC. es una planta nativa, utilizada por los pobladores andinos como infusiones de sus hojas para dolores osteomusculares, dolores de cabeza y algunas referencias como somnífero; sin embargo, en el caso del fruto se consume como un fruto silvestre. Existen diversos estudios sobre las hojas y su composición de metabolitos secundarios, pero sobre el fruto son escasos y algunos contradictorios, lo único cierto es que todos manifiestan que hay presencia de un gran número de compuestos fenólicos, compuestos estos relacionados con actividad antioxidante cuya función es neutralizar a los radicales libres. También se debe tener en consideración que estos

tipos de metabolitos secundarios son muy variados dentro de una misma especie debido a las diversas condiciones agroclimáticas en donde se desarrolla la planta. No habiendo encontrado reporte de estudios del fruto de esta especie de la zona, amerita y fundamenta que se efectúe el estudio de la actividad antioxidante y polifenoles del fruto de *Pernettya prostrata* “macha-macha”.

Formulación del Problema

Problema General

¿Cuál es el potencial antioxidante y polifenoles totales del extracto etanólico del fruto de *Pernettya prostrata* “macha-macha”?

Problemas Específicos.

- ¿Cuál de los métodos utilizados presentara mayor potencial antioxidante en el extracto etanólico del fruto de *Pernettya prostrata* “macha-macha”?
- ¿Cuál será el contenido de polifenoles totales del extracto etanólico del fruto de *Pernettya prostrata* “macha-macha”?
- ¿Qué Compuestos bioactivos tendrá el extracto etanólico del fruto de *Pernettya prostrata* “macha-macha”?

1.2 Antecedentes de la Investigación

Habiendo realizado la búsqueda y revisión bibliográfica de estudios de la especie *Pernettya prostrata* “macha-macha” se han encontrado estudios los cuales nos sirvieron como referencia o punto de partida para el estudio que hemos llevado a cabo:

Antecedentes nacionales:

- Carrasco Sauñe, E. (2022). En su trabajo de tesis: Evaluación del contenido de polifenoles totales, antocianinas y capacidad antioxidante de los frutos maduros de Macha-macha (*Pernettya prostrata*), en diferentes estados de conservación (fresco, seco y congelado). Se concluyó que a pesar de que los datos muestran poca concentración de estos compuestos bioactivos en las muestras de macha-macha (fresco, seco y congelado) no desvalora su consumo y puede formar parte de nuestra ración diaria y en la industria alimentaria, además podrían estar compuestos de otras propiedades que aún no fueron

estudiados como son las vitaminas, ácidos, flavonoides, taninos, quercetinas, ácidos hidroxifilícos, etc. (9)

- Juro Valenzuela, Andrés; Sánchez Merino, Li Betty (2021). En su trabajo de investigación “*Pernettya prostrata* (cav): revisión de un fruto silvestre de interés farmacéutico”; concluyeron que hace falta realizar estudios de toxicidad a profundidad ya que solo encontraron pocos estudios, esto sería con la finalidad de proporcionar un sustento seguro de esta planta en adultos como en niños. Porque los productos naturales pueden presentar efectos secundarios ante un uso inadecuado. (10)
- Díaz Paico, L. Y., & Braul Porras, E. G. (2018). En su trabajo de tesis titulado, Cuantificación de vitamina C y evaluación de la capacidad antioxidante del fruto de *Pernettya prostrata* (Cav.) DC. (macha macha) frente al radical 2, 2-difenil-1-picrilhidrazilo. Tiene como finalidad determinar el contenido de vitamina C y a la vez calcular el potencial antioxidante del fruto de *Pernettya prostrata* “macha – macha”. Para evaluar el porcentaje de vitamina C utilizaron el ensayo de Tillmas que fue cambiado por Besse y King y la actividad antioxidante se procedió con el método de captación del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) y concluyeron que si existe actividad antioxidante (11).
- Surco Bellido, H. (2018). En su trabajo de tesis titulado: Actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos y flavonoides de *Pernettya prostrata* (Cav.) DC. “macha macha”, Ayacucho 2018. Este trabajo tiene como objetivo cuantificar fenoles totales, flavonoides totales y evaluar la actividad antioxidante de “*Pernettya prostrata*”. Se llevó a cabo un estudio fitoquímico siguiendo las directrices de Miranda y Cuellar. Se determinaron los fenoles totales usando el método Folin-Ciocalteu, se identificaron los flavonoides totales mediante el ensayo de Peixoto, y se evaluó la actividad antioxidante utilizando el método DPPH (12).
- Pastor Cabanillas, M. E. (2020). En su trabajo de investigación titulado: Contenido de flavonoides totales de los frutos de *Gaultheria myrsinoides* Kunth "macha macha" y *Vaccinium floribundum* Kunth" mortillo2. El objetivo principal fue evaluar el contenido de flavonoides totales en los frutos de *Gaultheria myrsinoides* Kunth (macha macha) y *Vaccinium floribundum* Kunth (mortillo). Este trabajo concluyo que el contenido de flavonoides totales varía significativamente entre ambas especies, siendo considerablemente mayor (3.79 veces más) en el fruto de *Gaultheria myrsinoides* Kunth "macha macha" en comparación con *Vaccinium floribundum* Kunth "mortillo" (13).

Antecedentes Internacional :

- Rincón Aguilar, C. M., Patiño Ladino, O. J., Plazas González, E. A., Bulla Nieto, M. E., Rozo Torres, G., & Puyana Hegedus, M. (2014). En su trabajo titulado “Estudio químico preliminar y evaluación de la actividad antioxidante, anti alimentaria y tóxica, de la especie *Pernettya prostrata* (Ericaceae)”; entre sus objetivos fue determinar el análisis fitoquímico preliminar y la evaluación de algunas propiedades biológicas de extractos y fracciones de la especie *P. prostrata*, concluyeron que esta especie, mediante el aislamiento e identificación de dos sustancias nuevas y la determinación de la actividad antioxidante de algunos extractos y fracciones. (14)
- Romero-Saritama, José Miguel, & Cueva-Ojeda, Daniela Natali. (2020). En su trabajo de investigación titulado, Tamaño de semillas y germinación de *Pernettya prostrata* (Ericaceae): una especie del páramo andino. Entre sus objetivos principales fue evaluar tamaño de semillas y la conducta germinativa imperceptible de *Pernettya prostrata*, localizada en el desierto al sur del Ecuador. (15)
- Cortés, J.(2009) . En su tesis titulada: Estudio químico de frutos de *Pernettya prostrata* (Cavan) Sleumer su evaluación en la producción de hipercalcemia. La finalidad del trabajo fue descubrir elementos del tipo andromedotoxina y asimismo se entrega el fruto de *Pernettya prostrata* a ratas, para observar su efecto en el incremento de calcio en sangre (16).
- Middleton DJ, Wilcock CC. (1990) . En su trabajo de investigación titulado: Un examen crítico del estatus de *Pernettya* como género distinto de *Gaultheria*. Llegaron a una conclusión que la familia *Pernettya* no es conveniente a la familia de *Gaultheria* como para conservar el género aislado (17).
- Mezey, K. (1943). En su trabajo de investigación titulado: Envenenamiento por *Pernettya prostrata* var. *pentlandii* (Reventadera). Toxicología, farmacología y tratamiento. Llegaron a la conclusión que la actividad nociva de la especie provoca una intensa activación del nervio vago, la cual puede ser completamente neutralizada con la administración de cantidades adecuadas de atropina y el manejo de los casos de intoxicación implica remover la planta a través de lavados gástricos e intestinales, además de administrar purgantes.(18)

1.3 Justificación e Importancia.

Se considera alimentos funcionales aquel que además de aportar los nutrientes, poseen algunos otros compuestos que ayuden a prevenir o tratar alguna dolencia. La generación de radicales libres se ha asociado a diversas enfermedades degenerativas y procesos cancerígenos; razón por la cual, en los últimos años se ha incrementado la búsqueda y consumo de especies vegetales con propiedades antioxidantes debido a los beneficios que los antioxidantes ofrecen a las personas, basados en múltiples estudios y reseñas en los cuales aseguran que los alimentos y/o productos que contienen propiedades antioxidantes y son considerados alimentos funcionales ayudan a controlar los radicales libres y por ende el estrés oxidativo que se originan a nivel celular (3-7). En la Provincia de Sucre, Departamento de Ayacucho, se utiliza la especie *Pernettya prostrata* tanto las partes aéreas como el fruto, en base a los conocimientos tradicionales transmitidos a través de generaciones para algunas dolencias relacionales a la actividad antioxidantes y antiinflamatoria; pero también se han reportado casos de intoxicaciones, los estudios realizados sobre sus propiedades son contradictorios, por lo que creemos que, no hay una base fuerte de conocimiento científico que respalde su uso; así como, considerar quizás que dosis o cantidad que se consume pueda ser verdaderamente beneficiosa o dañina para la salud. Al existir escaso y contradictorio conocimiento sobre las propiedades terapéuticas de las partes aéreas de *Pernettya prostrata*, se decidió investigar el potencial antioxidante y los compuestos polifenoles que pudiera tener la especie tomando como base conocimientos de estudios preliminares de actividades realizadas, para fortalecer las bases científicas para este y otros futuros estudios que respalden o esclarezca los usos que la medicina tradicional le atribuye.

1.4 Objetivos de la Investigación.

Objetivo General

- Evaluar el potencial antioxidante y polifenoles totales en el extracto etanólico del fruto de *Pernettya prostrata* “macha-macha”

Objetivo Específico

- Identificar el método antioxidante que presenta mayor potencial en el extracto etanólico del fruto de *Pernettya prostrata* “macha-macha”.
- Cuantificar los polifenoles totales presentes en el extracto etanólico del fruto de *Pernettya prostrata* “macha-macha”

- Identificar los compuestos bioactivos del extracto etanólico del fruto de *Pernettya prostrata* “macha-macha”

1.5 Marco Teórico

1.5.1 *Pernettya prostrata* “macha-macha”

Descripción botánica

Es una especie de la familia Ericaceae, un arbusto pequeño, erecto o postrado, que llega hasta 50 cm de altura y 1m de ancho; de hojas apiñadas, simples, alternas, coriáceas, elípticas a oblongas de hasta 17 mm de largo por 7 mm de ancho, con la margen crenada y ligeramente revoluta, de haz lustroso verde oscuro y el envés de color verde claro, ápice obtuso a subagudo, a veces mucronado y base redonda a carneada. Flores axilares de 5-6 mm de largo, solitarias extendiendo a agruparse al final de las ramas, pequeñas, hermafroditas, globosas, tubulares y de color rosado blanquecino a rosado encendido, ovario supero, pedicelos glabrescentes o con pelos secretorios rojos; de cáliz de 2-3,6 mm de largo, verde claro; corola urceolada – cilíndrica de 5.6- 6.8 mm de largo. Posee 10 estambres. Fruto es una baya, pequeña, subglobosa, carnosa y de color morado al madurar (9,12).



Figura 1. Planta de *Pernettya prostrata* “macha-macha” al estado natural.

Clasificación taxonómica

Según las diversas referencias consultadas, la taxonomía pudiera llevar a confusión en cuanto a la especie ya que existen muchas registradas; sin embargo, algunas de ellas no han sido aceptadas, se llegan a establecer de acuerdo a las coincidencias la presente.

Reino: Plantae

Filo: Tracheophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Ericales

Familia: Ericaceae

Tribu: Gaultherieae

Género: *Pernettya* (*Gaultheria* Kalm ex L)

Especie: *Pernettya prostrata* (Cav) DC.

Sinonimia: *Gaultheria myrsinoides* Kunth,

Andromeda prostrata (*Pernettya prostrata*)

Pernettya cavanillesiana (*Pernettya prostrata*)

Pernettya densa (*Pernettya prostrata*)

Pernettya pentandlii (*Pernettya prostrata*)

Pernettya prostrata var. *pentlandlii* (*Pernettya prostrata*)

Pernettya prostrata var. *purpurea* (*Pernettya prostrata*)

Pernettya purpurea (*Pernettya prostrata*)

Nombre común: Perú: macha macha; Ecuador: “mortiño, “manzana” o “moridera”; Colombia: Uvito de páramo (Caldas); Borrachero, Mortiño cimarrón, Uvito de monte (Antioquia); Maíz de perro, reventadera, borrachero y mortino venenoso (18-21)



Figura 2. Especie *Pernettya prostrata* “macha-macha” en estado de floración

Habitad y distribución.

El hábitat frecuente de este género son los bosques nublados, subpáramo y páramo, así como los bosques nublados alto andinos. Esta especie pertenece a la familia Ericaceae está distribuida a nivel mundial, tiene 125 géneros y 4500 especies. El género *Pernettya* se halla distribuido principalmente en Oceanía y América. En Oceanía se encuentra especialmente en Tasmania y Nueva Zelanda. En América se encuentre desde el sur de México hasta el extremo noreste de Argentina (16-20). En Latinoamérica Colombia es uno de los países que presenta mayor número de especies de esta familia, con aproximadamente 22 géneros y 270 especies formalmente reconocidas, en el Perú se encuentra 22 géneros y 132 especies (20). En la familia Ericaceae los metabolitos secundarios más distintivos son flavonoides, taninos y terpenos; algunos compuestos aislados en los extractos de las especies que la conforman han presentado propiedades biológicas promisorias como antioxidante, antiinflamatoria, antimicótica, insecticida, y actividad anti-VIH. De los frutos y hojas de la especie *P. furens* se

hallaron compuestos de tipo sesquiterpenicos, y de la especie *P. prostrata* se encuentra la presencia de amirina, ácido ursólico, uvaol, ácido felúrico, ácido caféico, quercitrina y quercetina (15,18).



Figura 3. Zona de distribución de la especie en Latinoamérica

Usos de la especie

Gracias a la sabiduría y conocimientos ancestrales; es decir, costumbres de los pueblos cuyos saberes fueron transmitidos a través de generaciones se pueden conocer algunos usos de esta familia a la cual pertenece esta especie vegetal.

La familia Ericaceae es empleada en la medicina herbales china tradicional y se usa ampliamente para el tratamiento de artritis reumatoide, dolor, hinchazones, trauma crónico, traqueítis, vértigo y resfriado porque contiene algunos salicilatos, lígnanos, flavonoides, triterpenoides, diterpenoides, cumarinas y esteroides. En Cuba, la familia Ericaceae presenta entre los metabolitos secundarios más resalantes a flavonoides, taninos y terpenos. Algunas especies han presentado propiedades biológicas como antioxidante, antiinflamatoria, insecticida, antimicótica. Cuando se consume en cierta cantidad causa intoxicación debido a la presencia de andrometoxina o grayanotoxina. En Panamá la especie *pernettya prostrata* (cav.) DC., emplean para dolores osteomusculares y como somnífero. En Ecuador se usa por sus propiedades hipotensoras, narcóticas y psicomimeticos; los indígenas pertenecientes a la cultura Saraguros y Shuar emplean infusiones de sus hojas para fuertes dolores de

cabeza y los frutos como alucinógenos. En Bolivia se emplea como somnífero y emético en intoxicaciones alimentarias, reumatismo. En las islas Galápagos comentan que el fruto de *Pernettya prostrata* (cav.) DC, son dulces y sabrosos. En México mencionan que son tóxicas para mulas y ovejas, las que se emborrachan si comen los frutos y mueren con frecuencia. También las hojas de *Pernettya prostrata* presentan actividad antileishmaniana en ensayos in vitro (11-20).

1.5.2 Capacidad Antioxidante

La capacidad antioxidante se define como la acción de un elemento o sustancia para inhibir el proceso de degradación oxidativa generada por los radicales libres en ciertas moléculas diana.

Antioxidante.- sustancia o elemento que tiene la capacidad de prevenir o retardar la oxidación de un sustrato, entendiendo como sustrato a las moléculas dianas sobre las que actúa a nivel del organismo (lípidos, hidratos de carbono, proteínas e incluso el ADN). Un antioxidante debe ser competente para reaccionar con los radicales libres inactivándolos o bloqueándolos evitar el deterioro ocasionado por el proceso oxidativo acumulado (8-10).

Tabla 1. Tipos de antioxidantes

Antioxidantes enzimáticos	Ubicación celular	Propiedades antioxidantes
Mn superóxido dismutasa	Mitocondria	Dismuta radicales peróxido
Cu-Zn superóxido dismutasa	Citosol	Dismuta radicales superóxido
GHS peroxidasa	Citosol y mitocondria	Remueve H ₂ O ₂ y hidroperóxidos orgánicos
Catalasa	Citosol y mitocondria	Remueve H ₂ O ₂
Antioxidantes no enzimáticos		
Vitamina E	Compuestos fenólicos solubles en lípidos; localizada en membranas.	Principal antioxidante que disrumpe la cadena de peroxidación lipídica.
Vitamina C (ácido ascórbico)	Soluble en agua; localizada en citosol.	Neutraliza una amplia variedad de ROS en fase acuosa; regenera vitamina E.
GSH	Citosol y mitocondria.	
Ácido lipoico	Tiol endógeno; localizado tanto en la fase acuosa como en la lipídica	Interviene en el reciclado de vitamina C; puede ser buen sustituto de GSH.
Ubiquinonas	Derivados de quinona soluble en lípidos; localizadas en membrana.	Las formas reducidas son antioxidantes eficientes.
Carotenoides	Soluble en lípidos; localizados principalmente en membranas.	Antioxidantes; reducen la peroxidación lipídica.

En la alimentación actual se suele emplear complementos con propiedades antioxidantes, debido a que se le atribuye beneficios a la salud, esto está sustentado en resultados de estudios epidemiológicos y clínicos que están demostrando que existe una estrecha relación entre el consumo de una dieta rica en antioxidantes, estilo de vida y prevención de ciertas enfermedades degenerativas, entre otros (8,15).



Figura 4. Antioxidantes presentes en alimentos

Beneficios de los antioxidantes

Los antioxidantes presentes en algunos alimentos ofrecen diversos beneficios para la salud, como ralentizar o bloquear algunos radicales libres que causan daños a las células del organismo, lo que está determinado por la reactividad química; el acceso hasta el sitio de reacción y la estabilidad de los productos originados después del proceso de estabilización de radicales libres. En lo relativo a la prevención de ciertas dolencias o males que afectan a las personas tales como: diversos tipos cáncer, diabetes, enfermedades autoinmunes, mal del Párkinson, cataratas, envejecimiento, enfermedades degenerativas de la piel, ojos y el cerebro, relacionadas con el incremento de las especies oxidantes y una disminución considerable de los mecanismos de detoxificación de ellas; algunas vías o mecanismos por los cuales actuarían son: Favorecimiento de la contención de las transformaciones liberadas durante el ataque de

los radicales libres; contribuir a inmovilización de los cambios malignos causados por los radicales libres mediante la adición β caroteno, lo que previene que éstos agredan el material hereditario en las células (8).

Métodos y Mecanismos de acción de los antioxidantes

Para determinar la capacidad antioxidante de un compuesto, existen métodos directos e indirectos, aunque también se pueden clasificar por el mecanismo de acción por el cual ocurre el proceso antioxidante. Los métodos indirectos advierten la capacidad del antioxidante para estabilizar algún radical libre, igualmente se considera que estos métodos logran medir la habilidad de donación de hidrógenos. Mientras que, los métodos directos establecen el efecto del antioxidante sobre inhibición de una fase del proceso de degradación oxidativa de un sistema (5,6).

Los antioxidantes van a desactivar los radicales libres utilizando de preferencia uno de los dos mecanismos conocidos, uno que está basado en la transferencia de átomos de hidrogeno (HAT), los cuales deducen la capacidad para lograr la estabilización de un radical libre a través de la transferencia de átomos de hidrogeno, aquí se encuentran métodos como el DPPH; el otro mecanismo es el basado en la transferencia de electrones simples (SET), aquí hallamos los métodos como FRAP y ABTS, estos métodos miden la capacidad de un antioxidante para transferir un electrón y reducir al compuesto diana (5,6, 8).

1 Transferencia de un átomo de hidrógeno (HAT)



2 Transferencia de un electrón (SET)



Figura 5. Principales mecanismos de acción de antioxidantes

1.5.3 Radicales Libres

Los radicales libres son especies moleculares que se producen cada día en nuestro organismo, tienen como característica de ser altamente reactivos, ya que poseen un electrón libre (no apareado); son muy necesarios para realizar determinadas funciones esenciales y mantener el estado de salud; Aunque sólo subsisten durante un tiempo muy fugaz antes de interactuar con otra molécula y captar u otorgar un electrón para conseguir la estabilidad. Al hacerlo, originan un nuevo radical desde la sustancia con la cual reaccionaron. La principal manera por la cual se puede inactivar un radical libre, y finalizar con la reacción en cadena que estos originan, es la interacción con otra molécula de radical libre, para que ambos electrones desapareados establezcan un par en una u otra de las moléculas iniciales. Este suceso es extraño, debido al tiempo de vida media breve que caracteriza a un radical libre individual y las bajas concentraciones en que se hallan a nivel de los tejidos. Los radicales libres más nocivos para los sistemas biológicos, son aquellos producidos por el oxígeno (denominados como especies reactivas de oxígeno ROS), principalmente hidroxilo, superóxido y perhidroxilo. El daño en los tejidos originado por los radicales de oxígeno se suele denominar daño oxidativo (5,8).

PRINCIPALES ESPECIES REACTIVAS DERIVADAS DEL OXÍGENO (ROS) Y DEL NITRÓGENO (RNS)			
RADICALES LIBRES		ESPECIES REACTIVAS NO-RADICALES	
SUPERÓXIDO	$O_2^{\cdot -}$	PERÓXIDO HIDRÓGENO	H_2O_2
HIDROXILO	HO^{\cdot}	HIDROPERÓXIDOS	$ROOH$
ALCOXI	RO^{\cdot}	HIPOCLORITO	ClO^{\cdot}
PEROXI	ROO^{\cdot}	OXÍGENO SINGLETE	1O_2
CARBONATO	$CO_3^{\cdot -}$	OZONO	O_3
OXIDO NÍTRICO	NO^{\cdot}	PEROXINITRITO	$ONOO^{\cdot}$
DIOXIDO NÍTRICO	NO_2^{\cdot}		$NO^{\cdot} O_2^{\cdot -}$

Figura 6. Tipos de Radicales libres

Las especies reactivas de oxígeno (ROS por sus siglas en inglés) es un término colectivo, ampliamente utilizado, que involucra a todas aquellas especies reactivas que, siendo o no radicales libres, concentran su reactividad en un átomo de oxígeno, por una reducción química parcial. En este grupo se hallan los peróxidos de hidrógeno (H_2O_2), producidos cuando el Oxígeno es reducido con dos electrones, y las clases reactivas del oxígeno, que involucran a los superóxidos y al radical hidroxilo ($OH\cdot$) (6,7)

Las ROS cumplen un rol importante e incuestionable en los diferentes procesos fisiológicos de todo organismo aerobio, ya que participan en un extenso rango de funciones biológicas, como en la señalización celular y en la enzimología; pero el exceso, pueden originar efectos tóxicos. Las ROS son resultados del propio metabolismo y son fundamentales en la biosíntesis de los compuestos biológicamente esenciales, en el proceso de producción de energía y en el proceso fagocitario; este último fundamental dentro del sistema inmunológico. También desempeñan un rol básico y trascendental para la interrelación y funcionamiento de las células. Últimamente se ha incrementado la certeza que revelan que las ROS logran ser las generadoras de diversos padecimientos como, enfermedades coronarias, degenerativas e incluso el cáncer, y el envejecimiento. La labor del radical hidroxilo frente a las grasas insaturadas es la generación de la cascada oxidativa, fiel daño provocado por radicales a nivel de ADN (21,22)



Figura 7. Fuentes de formación de radicales libres.

1.5.5 Estrés Oxidativo

El organismo humano posee mecanismos naturales o endógenos para conservar las concentraciones normales de ROS, algunos de ellos son: las enzimas antioxidantes como la superóxido dismutasa, glutatión peroxidasa y catalasa, además de atrapadores de radicales libres tales como: el glutatión reducido, el β -caroteno y la vitamina C; Sin embargo puede presentarse un desequilibrio entre las rutas de generación y consumo de ROS, lo que se conoce con Estrés oxidativo (23).

El estrés oxidativo es un estado fisiológico procedente de diferentes procesos patológicos o bajo indiscutibles condiciones como por ejemplo el proceso de envejecimiento. En esta condición diversos factores de crecimiento y citosinas; así como, algunas enzimas entre la que sobresale NADPH oxidasa en los neutrófilos crean ROS como mediadores en la señalización. El estrés oxidativo también asociado con los procesos de oxidación/reducción de grupos sulfhídricos (-SH) de los residuos de cisteína en lugares catalíticos determinados de algunas proteínas que transitan como detectoras de dicho estado. Estas proteínas transforman su estructura al reducir u oxidar los grupos sulfhídricos y pasar a -S-S-, por lo que se tendrían que activar diversas rutas de señalización o liberación de algunos factores de transcripción que se promueven y son capaces de provocar translocación a nivel nuclear (8,9,23).

II. ESTRATEGIA METODOLOGICA

2.1 Tipo, Nivel y Diseño de la Investigación

2.1.1 Tipo de Investigación:

La presente investigación permitió obtener y conocer información esencial sobre la presencia de compuestos secundarios presentes en el fruto de la especie vegetal en estudio, los cuales se adquirieron mediante el proceso de maceración con alcohol de 96° y sus posteriores ensayos analíticos (24)

2.1.2 Nivel de Investigación:

La investigación es descriptiva porque nos permitió describir y explicar la relación existente entre compuestos secundarios determinados en el screening con la actividad antioxidante y polifenoles determinados (24).

2.1.3 Diseño de Investigación:

Analítico -experimental. se fundamentó en la recopilación de datos obtenidos mediante la aplicación de diversos procedimientos analíticos propios de la investigación, los mismos que se utilizaron en conocer la presencias de ciertos compuestos y cuantificar otros como la actividad antioxidante, en los cuales hablamos de pruebas controladas como son los estándares que permite luego comprender y cuantificar la relación causal (24).

2.2 Lugar de Investigación:

Universidad Nacional San Luis Gonzaga, Facultad de Farmacia y Bioquímica, departamento de Ciencias Químicas, laboratorio de análisis instrumental y laboratorio de química general.

2.3 Materiales de Trabajo

2.3.1 Materiales de Laboratorio:

- Probetas 50 ml, 100 ml y 250 mL
- Fiolas de 50, 100, 200 y 500 mL

- Matraces
- Agitadores de vidrio
- Vasos de precipitados
- Placa de reacción
- Peras de decantación
- Placas de reacción
- Embudos
- Tubos de ensayo
- Gradillas
- Espátulas
- Vasos de precipitado
- Soporte metálico universal
- Pesa filtro o luna de reloj
- Pinzas metálicas
- Pipetas de 5 y 10 mL
- Micropipetas de 100uL
- Micropipetas de 1000uL
- viales
- Propipetas
- frasco goteros
- placa Petri
- Crisol
- Pinza de metal
- Aro de Soporte

2.3.2 Equipos de Laboratorio:

- Balanza Analítica
- pHmetro
- Horno mufla
- Estufa
- Rotavapor
- Bomba de vacío
- Ventilador
- Espectrofotómetro Ultravioleta-Visible
- Baño ultrasonido
- cocinilla eléctrica
- Agitador magnético
- Refractómetro

2.3.3 Reactivos

- Agua destilada
- Alcohol 96°
- Alcohol 70°
- Metanol
- Cloroformo
- Diclorometano
- Ácido Clorhídrico
- Amoniacó
- Acetato de sodio
- Ácido acético glacial

- Ácido nítrico
- Tricloruro férrico
- 2,2- diphenyl-1-picrylhydrazil (DPPH)
- Metanol
- 2,4,6- tripiridyl-s-triazida (TPTZ)
- Buffer fosfato
- Trolox Hoffmann
- ABTS
- Persulfato de sodio
- Acetato de cobre
- Neocuprina
- Acetato de amonio

2.3.4 Otros

- Papel toalla
- Papel higiénico
- Mascarillas
- Guantes quirúrgicos
- Papel Tissue
- Papel filtro
- Paños yes
- Marcado indeleble

2.4 Hipótesis y Variables.

2.4.1 Hipótesis

a. General:

El extracto etanólico del fruto de *Pernettya prostrata* “macha-macha” presentara un apreciable potencial antioxidante y alto valor de polifenoles totales.

b. Especificas

- El método DPPH y CUPRAC presentarán mayor potencial antioxidante en el extracto etanólico del fruto de *Pernettya prostrata* “macha-macha”.
- El extracto etanólico del fruto de *Pernettya prostrata* “macha-macha” presentara polifenoles totales en concentraciones significativas.
- Los compuestos bioactivos responsables del potencial antioxidante del extracto etanólico del fruto de *Pernettya prostrata* “macha-macha” serían los polifenoles totales.

2.4.2 Variables

V. Independiente		
Variable	Indicador	Índice
Extracto etanólico del fruto de <i>Pernettya prostrata</i> “macha-macha”.	Metabolitos secundarios.	Reacciones de coloración y precipitación.
	Parámetros fisicoquímicos.	Sólidos totales, sólidos solubles, pH, cenizas.
V. Dependiente		
Variable	Indicador	Índice
Actividad Antioxidante.	Método DPPH	IC ₅₀
	Método CUPRAC	TEAC
Polifenoles totales	Método de Folin Ciocalteu	ug EAG/mg

2.5 Población y Muestra

2.5.1 Población:

Frutos maduros de la especie *Pernettya prostrata* “macha-macha” de la Provincia de Sucre, Departamento de Ayacucho,



Figura 8. Ubicación de la provincia de Sucre en el departamento de Ayacucho

2.5.2 Muestra:

Extracto etanólico de los frutos maduros de la especie *Pernettya prostrata* “macha-macha”

2.6 Métodos, técnicas y procedimientos para la recolección de datos

2.6.1 Recolección y clasificación de la muestra vegetal

La especie vegetal *Pernettya prostrata*, en estado de madures del fruto fueron recolectadas en el Departamento de Ayacucho, Provincia de Sucre, Anexo de Poma, la recolección se efectuó en las primeras horas de la mañana, utilizando una tijera simple y bolsas de papel Kraft, una cantidad aproximada de 5 a 6 kilos, posteriormente los frutos fueron transportados al laboratorio de Química General de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional “San Luis Gonzaga”. Una porción de frutos maduros de la especie vegetal fue enviada al Museo de Historia Natural de

la UNMSM para su respectiva clasificación taxonómicamente. (8,25).



Figura 9. Zona de recolección de la especie vegetal

2.6.2 Tratamiento de la muestra vegetal

- ✓ Selección: Consistió en la separación de los frutos maduros de la planta “macha-macha”, aquí descartamos las partes que estaban en mal estado o putrefactas; lo restante lo añadimos a una bolsa de papel Kraft.
- ✓ Limpieza: Se procedió a eliminar todo tipo de partes no deseadas o impurezas u otras materias orgánicas, con la finalidad de que no cause alteraciones o reacciones indeseadas durante el proceso.
- ✓ Secado: Sobre la mesa de trabajo del laboratorio se colocaron papel Kraft, luego sobre este se distribuyeron los frutos, teniendo en consideración que la muestra se debe secar bajo sombra, fuera de la luz directa del sol para que no interfiera o altere su composición, esta etapa se realizó por un periodo de tiempo de 20 días dándole constante movimientos para que el secado sea homogéneo.
- ✓ Conservación: Se guardó la muestra en bolsas confeccionadas de papel Kraft hasta su subsiguiente etapa del estudio.

2.6.3 Obtención del extracto etanólico

Maceración (25) Es uno de los métodos de extracción que consiste en dejar a reposo los frutos maduros, con una porción del solvente, cuyo objetivo es la difusión en contacto droga - solvente de compuestos bioactivos en un periodo de 15 días, se removerá continuamente con el fin de una mayor extracción, después se filtrará para eliminar impurezas y se evaporará el solvente, asignando como resultado el extracto seco.

2.6.4 Screening Fitoquímico:

Etapa para detectar la presencia de los principios activos de las plantas, están comprendido dentro de los denominados “metabolitos secundarios”, que son compuestos de estructuras químicas diversas y relativamente complejas, de distribución específica y característica de ciertas especies botánicas. Al ocuparse del estudio de especies vegetales, el screening fitoquímico o tamizaje es la etapa inicial de los estudios fitoquímicos, que nos permiten la identificación cualitativa de los principales compuestos químicos que se encuentran presentes en las plantas mismas o en los extractos obtenidos de estas, lo que nos ubica en la extracción y/o fraccionamiento, para el posterior aislamiento e investigación de los grupos de mayor interés (25,26).

Obtención de Fracciones

Desde el extracto crudo obtenido, se verificó el fraccionamiento correspondiente con solventes de diferentes polaridades. Primeramente, se aparta una pequeña porción del extracto crudo al que se le llamo **Fracción A** .(8,26)

Una considerable porción del extracto crudo se disolvió con solución de HCl al 1% (2x20 mL), filtrándose en cada vez y se obtuvo dos partes:

Insoluble: La cual se lavó con agua hasta pH neutro, posteriormente se disolvió con 5 mL de diclorometano, luego de secar los residuos con sulfato de sodio anhidro, se filtró, este filtrado vino a formar **la Fracción B** del extracto (8, 26).

Solución ácida: que se obtuvo de filtrar, se alcalinizo con amoníaco diluido, y extrajo con dos porciones de 100 mL de diclorometano obteniéndose dos fases:

- **Diclorometánica:** la fase diclorometánica primero se lavó con 10 mL de agua destilada, posteriormente se procedió a secar con sulfato de sodio anhidro, filtra para así obtener **la Fracción C** del extracto.
- **Acuosa:** Esta solución se saturó con 5 g sulfato de sodio anhidro y luego se extrajo con 100 mL de la mezcla diclorometano:etanol (3:2) en 2 raciones. Obteniéndose dos fases:

Fase Orgánica: (Diclorometanol-etanol) se lavó con 2 porciones de 10 mL de solución

de sulfato de sodio anhidro, juntando las porciones acuosas, la fase orgánica se deshidrato con de sulfato de sodio anhidro 1g. Se filtro y esto formo la denominada **Fracción D.** (8,26).

Fase Acuosa: Se unieron todos los residuos acuosos procedentes de los lavados de las diferentes fases orgánicas constituyendo **la Fracción E.**

Aparte, se mezcló 1g de extracto crudo de la especie con un volumen de 20 mL de agua destilada se disolvió e hirvió por 15 minutos. Se filtro caliente por papel filtro y llevo a volumen de 10 mL, se enfrió, esto constituye la **Fracción F.**

En las diferentes fracciones separadas se procedió a ejecutar las reacciones de coloración o precipitación para la identificar los grupos funcionales y/o grupos de metabolitos secundarios en el extracto etanólico (8,26)

Reacciones sobre las fracciones:

FRACCION A

Detección de Taninos:

- 1. Reacción gelatina-Sal.-** En tres tubos de ensayo se le adiciono 0.5 mL de solución de extracto crudo. En el 1° tubo se agregó 1 mL de solución de NaCl 5%, al 2° se adiciono 1 ml de solución de gelatina 1% y al 3° tubo una mezcla de las soluciones de gelatina y sal, la observación de precipitado en el tubo 3°; así como, en ambos tubos 1° y 2° indico la presencia de taninos (8,26)
- 2. Reacción de Cloruro Férrico.-** En un tubo de ensayo se depositó 0,5 mL de la solución de la fracción A y se agregó unas gotas de la solución acuosa de $FeCl_3$ 1% . La reacción resulto positiva a la aparición color azul-verdoso.

Detección de Flavonoides

- 1. Reacción de Shinoda.-** Se coloca una porción de la Fracción A en un tubo de ensayo, agrego unas pocas limaduras de magnesio y HCl concentrado 3 gotas. El cambio de color indico que la reacción fue positiva cuando resultaron tonos de color rojo-anaranjado.(8,26)

Detección de Aminoácidos

- 1. Reacción de Ninhidrina.-** Se dispusieron tiras de papel filtro y con una pipeta capilar se colocaron:
 1. Una gota de Fracción A, y una gota de ninhidrina al 2% en acetona.
 2. Blanco: Solución de ninhidrina al 2%.

Las tiras fueron secadas a temperatura ambiente, luego se colocaron en estufa hasta la aparición de una coloración marrón en el blanco.

La reacción resulto positiva cuando el papel de la muestra exhibo un color azul violáceo.(8,26)

FRACCION B

Detección de Triterpenoides y/o Esteroides: (8,26)

1. **Reacción de Liebermann Burchard:** Se Tomo 1 mL de la fracción y se adiciono unas gotas 5 de ácido acético, seguidamente agrego 3 mL de la mezcla anhídrido acético/ácido sulfúrico (50:1).

La aparición de colores entre verdes, azul verdoso indico reacción positiva.

Detección de Antraquinonas:

1. **Reacción de Bornträger:** Se disolvió una porción de la fracción B en diclorometano, a la cual se adiciono 5 mL de solución de NaOH 5% , agitando suavemente. La reacción fue positiva a la aparición de un color rojo en la fase acuosa (8).

FRACCION C (8,26)

Detección de Triterpenoides y/o Esteroides:

Se efectúo al igual como se mostró en la fracción B.

Detección de Alcaloides

En 4 tubos de ensayo independientes se colocó 2 mL de Fracción C y 1 mL de solución de HCl 1% e inmediatamente se adiciono a lo siguiente:

- ✓ **Blanco:** no se adiciona nada y se toma como referencia de observación
- ✓ **Dragendorff:** Se adiciono 2-4 gotas de reactivo y observo la formación de precipitado anaranjado.
- ✓ **Mayer:** Se adiciono 2 - 4 gotas de reactivo respectivo y observo presencia de precipitado blanco.
- ✓ **Hager:** Se adiciono 2 - 4 gotas de reactivo y revelado la aparición un precipitado amarillo.

FRACCION D

Una porción se llevó a sequedad y luego se redisolvió en 2,5 mL de etanol, ejecutando las siguientes reacciones:

Detección de Flavonoides:

Reacción de Shinoda., como se reveló anteriormente

Detección de Leucoantocianidinas y catequinas:

1. **Reacción de Rosenheim:** se tomó 0,2 mL de la fracción D, adicionando 0,1 mL de HCl concentrado, luego se llevó por 10 minutos a 100 °C. Se enfrió, y se agregó 2 mL de agua y 0,4 mL de alcohol amílico, agitando suavemente y observando aparición de color en la fase amílica.

La aparición de color rosado débil indicó reacción positiva, presencia de antocianidinas. (8,26)

Detección de Cardenólidos:

Se ejecutó la reacción de Kedde que proporcionó resultado negativo.

Detección de Esteroides y/o Triterpenoides:

Mediante la reacción de Liebermann Burchard antes señalada.

Detección de Alcaloides:

Mediante las reacciones de Mayer, Dragendorff, Hager antes mencionadas.

FRACCIÓN E

Detección de Flavonoides:

Mediante la reacción de Shinoda que resultó positiva.

Detección de Leucoantocianidinas:

Mediante la reacción de Rosenheim que dio negativa.

FRACCIÓN F

Detección de Saponinas

1. **Prueba de Espuma.-** Se ubicó en dos tubos de ensayo 2,5 mL de la solución del extracto y se sacudió por espacio de un minuto vigorosamente. Se dejó en reposo por 15 minutos y se observó la formación de espuma. La altura de la espuma fue menor de 5 mm, por lo que la reacción fue negativa. (8,26)

2.6.5 Caracterización Físicoquímica del extracto

Sólidos totales.- AOAC 925.03B

Se pesó aproximadamente 2 g del extracto dentro de una placa Petri, la cual previamente se trató a sequedad a 130° en la estufa y enfriada en la campana desecadora para finalmente ser pesada cuando alcanzó la temperatura ambiente. La placa con la muestra se ubicó en la estufa por una hora a la temperatura de 130°C, luego se retiró, se enfrió y se pesó, el residuo se reportó como porcentaje de sólidos totales (8, 27).

Sólidos solubles: AOAC 932.12.

Se estableció por el método refractométrico, para lo cual se preparó una solución al 10%.

previamente se debe haber calibrado el equipo, se realizó la medición directamente en la escala de grados Brix (27).

Cenizas: AOAC 923.03

Se tomo un peso entre 1 a 3 g del extracto dentro de un crisol previamente incinerado a la temperatura de trabajo (550°) y enfriado en un desecador, la muestra pesada se carbonizo en una cocinilla eléctrica y luego se colocó en la mufla a 550° para incineración por un periodo de aproximadamente 6 horas hasta cenizas grises. Se coloco en el desecador, enfrió y peso al alcanzar la temperatura ambiente. Se calculó la ceniza como porcentaje de cenizas totales (8, 27).

pH: AOAC 981.12

Se determinó mediante método electrométrico (pH metro). Se disolvió 1 g del extracto en 10 ml de agua destilada en vaso precipitado de 25 ml. Previamente se calibro el potenciómetro con los buffers pH 7 y pH 4; luego se sumerge el electrodo y se procedió esperar la estabilización de la lectura y se toma el resultado (27).

2.6.6 Determinación de la actividad antioxidante

2.6.6.1 Método 2,2-Difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)

La capacidad antioxidante del extracto se efectuó a través del método descrito por Brand-Willians et al., con algunas pequeñas modificaciones.

Preparación del radical DPPH:

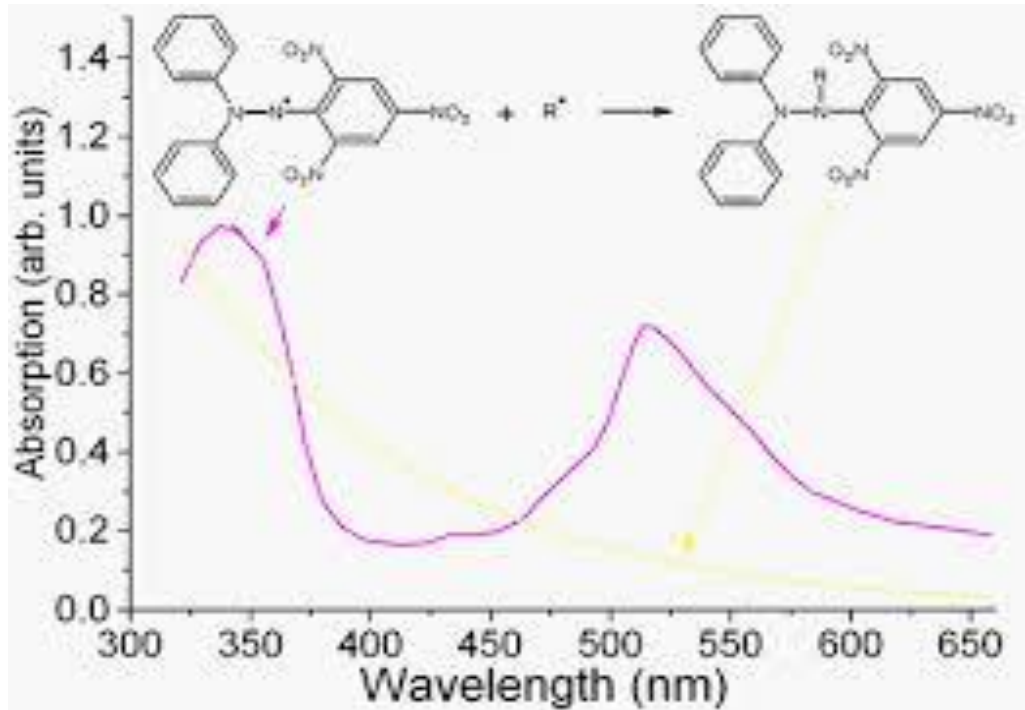
A partir del reactivo DPPH, se pesó 3,1 mg disolviéndose en 100 mL de etanol 96° en un fiola volumétrica. Esta solución se trasladó a baño ultrasonido llevándola a la completa disolución, para posteriormente probar que la absorbancia estuviera entre 0,9 y 1,1 medida a una longitud de onda de 517 nm.

Preparación de la muestra:

A partir de un peso 0,0784 g del extracto se añadió 5 mL de etanol trasladándolo a un baño ultrasonido hasta dilución completa; de esta dilución se realizó una serie de cinco diluciones por duplicado.

Determinación. - En viales de color ámbar identificado se tomó 2,9 mL de la solución de DPPH preparada, se agregó 100uL de cada una de las diluciones efectuadas, se agito, y luego se dejó reposando en oscuridad por 30 min. Transcurrido este tiempo, las muestras se leyeron en el espectrofotómetro de UV/VIS a 517 nm. empleando el etanol como blanco de referencia.

Los resultados se expresaron como porcentaje de inhibición, luego nos permitió establecer el valor IC₅₀, definido como la concentración de la muestra que origina una inhibición del 50% de la absorbancia inicial del reactivo DPPH preparado. (28, 8).



Espectro de absorción de radical DPPH

2.6.6.3 3 Determinación de actividad antioxidante por método CUPRAC

Este método tiene la capacidad de medir simultáneamente los antioxidantes lipofílicos e hidrofílicos, a través de la reducción y quelación del ion cobre Cu^{I} producido en la mezcla de reacción. Los reactivos que se utilizan son:

- Solución buffer acetato de amonio 1M de pH 7
- Solución etanólica de Neocuproina $7,5 \times 10^{-3}\text{M}$
- Solución acuosa de cloruro de cobre dihidratado $1.2 \times 10^{-2}\text{M}$
- Solución de patrón. (trolox)

Para la determinación se coloca 05 tubos de ensayos independientes en los cuales se añade 1mL de la solución buffer acetato de amonio, 1 mL de la solución de neocuproína, 1 ml de la solución de cloruro de cobre, en cada tubo se agrega 0,25 ml de cada dilución del extracto preparado o las diluciones de diversas concentración del patrón respectivo, se mezclan vigorosamente y se dejan reposo a temperatura ambiente en protegido de la luz directa por 30 minutos y luego se lee su absorbancia a 450 nm. se prepara una curva de calibración con los patrones utilizados para expresar los valores de la capacidad antioxidante como equivalente del patrón (trolox) (29).

2.6.7 Determinación de polifenoles totales

Método de Folin Ciocalteu .- Es una técnica colorimétrica y cuantitativa que emplea el poder reductor de una mezcla ácido fosfotúngstico y ácido fosfomolibdico denominado reactivo de Folin-Ciocalteu (agente oxidante). Es una reacción de óxido reducción a través de la transferencia de electrones de compuestos fenólicos que reducen al complejo anterior formado por óxidos de tungsteno y de molibdeno, presentando una absorbancia máxima a 760 (29-31).

Los polifenoles totales se suelen expresar como equivalentes de ácido gálico (mg AGE/). Para lo cual se realizó una recta de calibrado con el patrón ácido gálico.

Determinación. - la muestra de extracto se disolvió 5ml de etanol y luego se realizó una dilución de 1: 5 con agua destilada, seguidamente se preparó una serie de diluciones sucesivas. En vial se adiciona 100 ul de las diluciones de la muestras o estándares, se agregó 250 ul el reactivo de Folin Ciocalteu (1:1) se agita y después de transcurrido 5 minutos se adiciona 1250 ul de la solución de carbonato de sodio (20% p/v) se agita y se deja incubar en oscuridad. Después de 30 minutos de reacción se midió la absorbancia a 760 nm. Los valores de las diluciones se llevan en la recta para establecer el equivalente de ácido gálico.

2.6 Técnicas de procesamiento de la información

➤ Recolección de datos analíticos

Se estableció en los cuadernos de trabajos adonde se registraron los resultados logrados de las aplicaciones de los diferentes procesos analíticos empleadas en cada caso.

➤ Procesamiento de datos

Los datos fueron procesados en el Programa Microsoft Excel 2018 y se expresan como promedios y su correspondiente desviación a partir de los cuales se convirtieron a los gráficos referentes.

2.7 Técnicas de Análisis e interpretación de la información

Los datos derivados durante los diversos procesos analíticos en la determinación de la actividad antioxidante y los compuestos fenólicos fueron procesados a través técnicas de análisis estadísticas paramétricas como: promedio y desviación estándar de cada ensayo,

y técnicas no paramétricas: coeficiente de correlación que nos permitió lograr valores según el método aplicado.

2.8 Aspectos éticos

En la presente indagación se ha cuidado todos los aspectos éticos relevantes que implica un trabajo de investigación universitario para adoptar un grado o título profesional obviando, todos aquellos elementos o situaciones que pudieran someterse a interés particulares que lleven a una adulteración de los objetivos del estudio. Razón por lo que se ha pasado lo más adecuadamente posible la citación, consciente de ellos asumimos las responsabilidades que de ello emanen.

III. RESULTADOS

Tabla 2. Parámetros fisicoquímicos de caracterización el extracto etanólico del fruto maduro de *Pernettya prostrata*, (macha-macha)

Parámetros	Resultados	Unidades
Solidos totales	90,3 ± 1,39	g/100g
Humedad	9,65 ± 0,34	g/100g
Solidos solubles	6,4 ± 0,36	° Brix
pH	4,20 ± 0,14	--
Cenizas	2,37 ± 0,22	g/100g
Color	Marron-pardo	--
Olor	Suigéneris	--
Aspecto	Pasta densa	--

Los valores son promedios de tres repeticiones

Tabla 3. Metabolitos secundarios del extracto etanólico del fruto de *Pernettya prostrata*, (macha-macha)

Fracciones obtenidas	Metabolito secundario	Reacción de Identificación	Resultados	
A	Reacción Flavonoide	Shinoda	+	
	Taninos	Gelatina	+	
		Cloruro férrico	+	
		Ninhidrina	-	
B	Reacción Esteroides/Triterpenos	Liebermann Burchard	+	
	Flavonoides	Shinoda	+	
	Quinonas	Borntrager	-	
	C	Reacción Triterpenos/esteroides	Liebermann Burchard	+
Lactonas sesquiterpenicas		Kedde	-	
		Reacción Alcaloides	Hager	+
			M. Mayer	+
D	Reacción Alcaloides	Drangedorff	+	
		Hager	-	
		M. Mayer	-	
	Reacción Flavonoides	Shinoda	+	
	Reacción Leucoantocianidinas	Rosenheim	+	
		Liebermann	-	
E	Reacción Triterpenos/esteroides	Burchard	-	
	Reacción Flavonoides	Shinoda	+	
	Reacción Saponinas	Espuma	-	

Nota: Para considerar positivos taninos deben dar positivas las dos reacciones.

Tabla 4. Lectura de absorbancia de patrón de trolox por el método de DPPH

trolox mM	Abs1	Abs2	Prom	% Inh
1,04	0,244	0,264	0,254	74,3
0,52	0,609	0,626	0,618	37,4
0,26	0,807	0,834	0,821	16,9
0,13	0,915	0,936	0,926	6,2
0,065	0,956	0,960	0,958	2,9
0,032	--	--	--	--
Blanco	0,987			

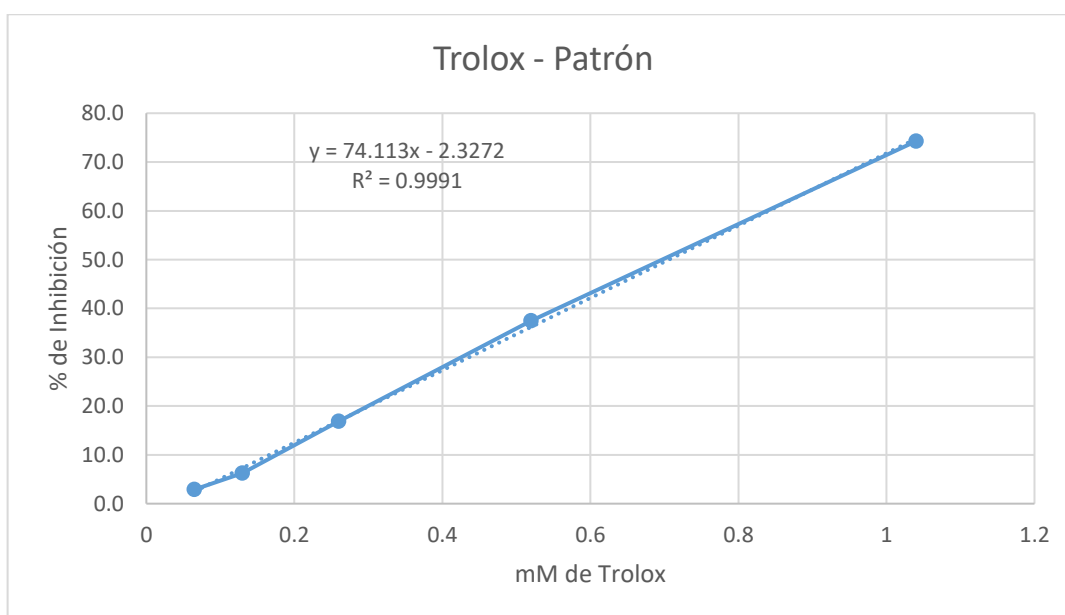


Figura 10. Correlación entre las concentraciones de trolox en mM y % de inhibición del radical DPPH

IC 50= 0,706 mM de trolox

Tabla 5. Determinación de la capacidad antioxidante de las diluciones del extracto etanólico del fruto de *Pernettya prostrata*, (macha-macha) por el método DPPH.

Extracto mg/mL	Abs1	Abs2	Abs Prom	% Inh
6,02	0,299	0,292	0,296	69,9
3,01	0,584	0,586	0,585	40,5
1,508	0,750	0,771	0,765	22,1
0,754	0,844	0,856	0,850	13,4
0,378	0,900	0,902	0,901	8,43
Blanco	0,984			

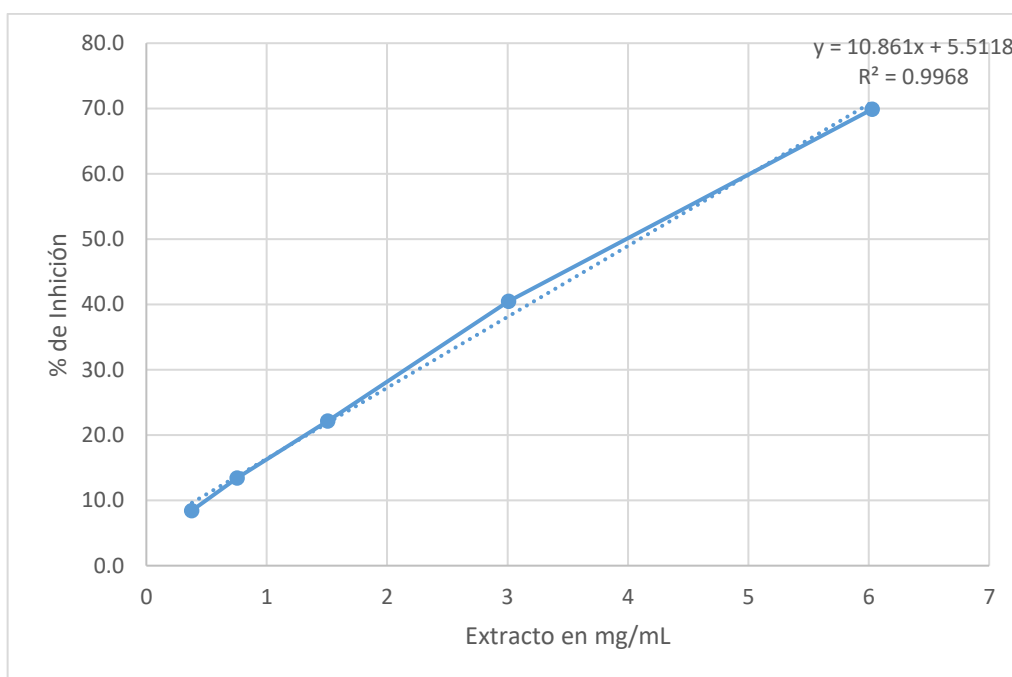


Figura 11. Correlación entre las concentraciones de extracto en mg/mL y % de inhibición del radical DPPH

IC50 = 4,10 mg

0,706 mM de trolox equivalente a 4,10 mg/mL de extracto

Tabla 6. Valores de absorbancia de las diluciones patrones de trolox por el método CUPRAC

mM Trolox	Abs 1	Abs2	Promedio
0,1	0,205	0,196	0,201
0,25	0,372	0,371	0,372
0,3	0,486	0,483	0,485
0,5	0,652	0,649	0,651
0,6	0,842	0,842	0,842
0,8	1,122	1,127	1,125

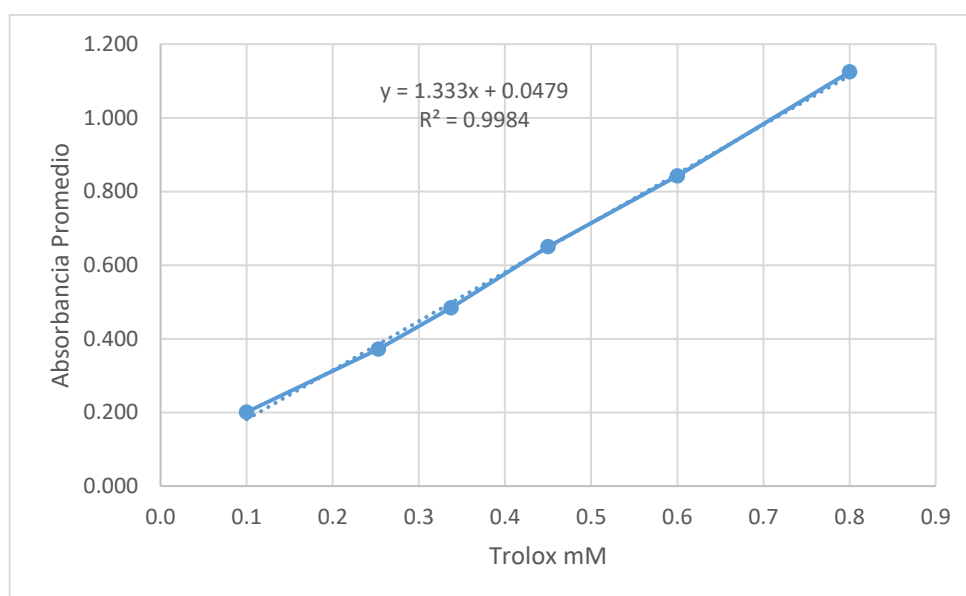


Figura 12. Curva de calibración del patrón para la establecer la actividad antioxidante por el método CUPRAC

Tabla 7. Determinación de la capacidad antioxidante de las diluciones del extracto etanólico del fruto de *Pernettya prostrata*, (macha-macha) por el método CUPRAC

Extracto mg/mL	Abs1	Abs2	Prom	TEAC
8,2	0,632	0,642	0,642	0,45
4,1	0,348	0,352	0,350	0,24
2,0	0,178	0,177	0,178	0,11
1,0	0,101	0,101	0,101	0,056
0,5	0,054	0,056	0,055	0,02

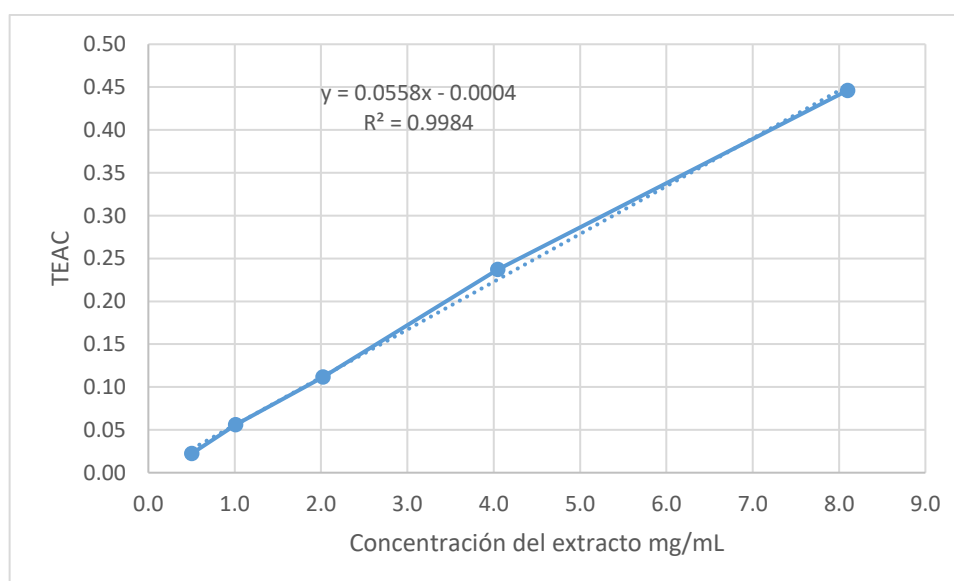


Figura 13. Curva entre concentración del extracto etanólico del fruto de *Pernettya prostrata*, (macha-macha)

**1mM de trolox equivale a 17,93 mg/mL de extracto
Por el método CUPRAC**

Tabla 8. Valores de absorbancia de las soluciones estándares de ácido gálico para la cuantificación de polifenoles

Patrón	Lectura 1	Lectura 2	Promedio lectura
Ácido gálico	absorbancia	absorbancia	absorbancia
mM			
0,25	0,140	0,146	0,143
0,3	0,230	0,235	0,233
0,5	0,428	0,429	0,429
1,1	0,767	0,764	0,766
2,2	1,470	1,462	1,466

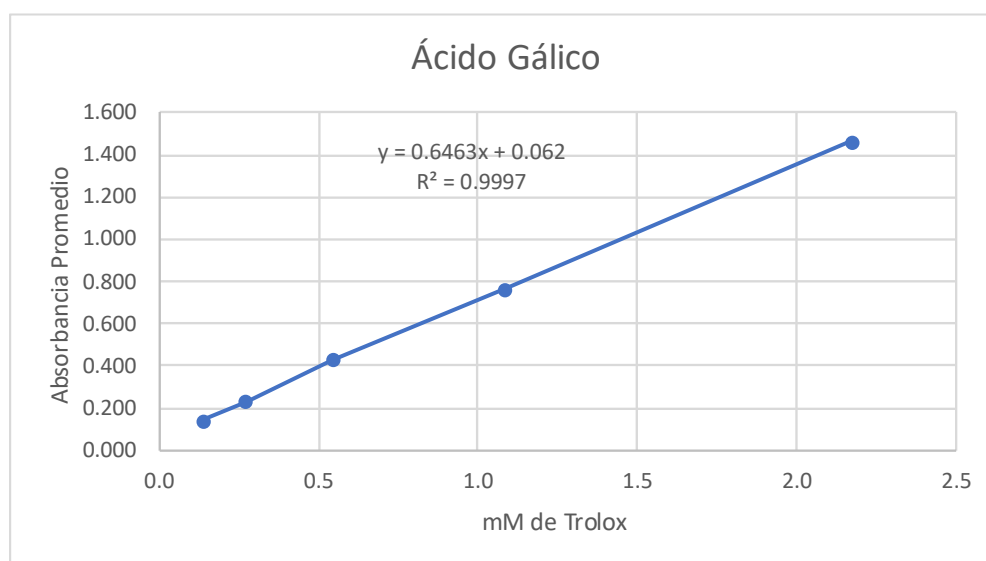


Figura 14. Curva de cuantificación de ácido gálico para la cuantificación de polifenoles totales

Tabla 9. Determinación de polifenoles totales de las diluciones del extracto etanólico del fruto de *Pernettya prostrata*, (macha-macha)

mg/mL de extracto	Abs 1	abs2	Prom	mMGAE/mg
11,9	1,318	1,332	1,325	2,0
6,0	0,692	0,701	0,697	1,0
3,0	0,393	0,386	0,390	0,5
1,5	0,229	0,232	0,231	0,26
0,7	0,119	0,114	0,117	0,08

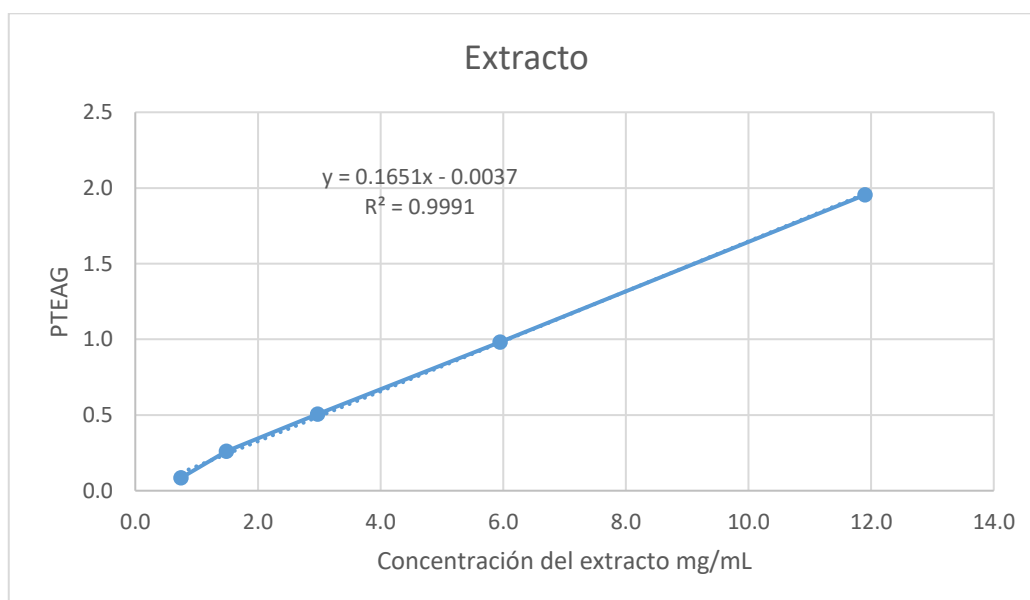


Figura 15. Curva entre concentración de extracto etanólico de la especie y los ug de ácido gálico equivalentes

6,08 mg de extracto equivale a 1 mM GAE

IV. DISCUSION

Siendo el Perú, una región que presenta en su territorio una variedad de microclimas que van desde el zócalo continental, inmensos desiertos, valles interandinos, altos plegamientos rocosos, montañas andinas húmedas hasta una floresta amazónica, es que lo hace de los países más megadiversos del planeta (8). El género *Pernettya* se halla distribuido especialmente en Oceanía y América. En América se distribuye desde el sur de México hasta el extremo noreste de Argentina (22). En el Perú hay reportes de especies en los departamentos de La Libertad, Ancash, Lima, Junín, Huancavelica, Ayacucho y Apurímac. El hábitat de este género en el país son los bosques alto andinos nublados(4), en las especies del género *Pernettya* han sido poco estudiadas a nivel fitoquímico, etnobotánico y de sus propiedades biológicas. La *Pernettya prostrata* es la especie más conocida de este género, que posee frutos rojos o morados que cuando se comen causan intoxicación, en esta especie se reporta la presencia de amirina, ácido ursólico, uvaol, ácido cafeico; ácido telúrico, quercitrina y quercetina (22). La especie vegetal objeto del presente estudio fue recolectada en el Departamento de Ayacucho, Provincia de Sucre, Anexo de Poma, es una especie que es un arbusto se cortó con unas tijeras de podar las partes aéreas formadas por hojas, tallos y frutos, se trasladó hasta las instalaciones de la universidad donde fueron separados los frutos y luego secados y triturados, para ser sometidos a maceración en alcohol de 96 °C por el lapso 15 días, la obtención del extracto etanólico fue luego concentrado en un rotavapor y estufa a temperatura menor a los 40 grados, obteniéndose las características descritas en la tabla 2, pasta viscosa de color negro azulado oscuro, con un contenido de humedad de 9,65 %; y sólidos totales de 90,3%, lo que da un extracto seco y con un alto contenido de compuestos sólidos presentes; asimismo podemos mencionar una apreciable cantidad de sólidos solubles, puesto que en una solución al 10% de extracto se obtuvo un valor de 6,4 lo que representa que del total del extracto un 64% de esos compuestos son solubles en agua, que siendo un fruto no debería extrañar que sus principales componentes sean azúcares; el contenido de cenizas represento un 2,37 %; y un rango ácido de aproximadamente un pH de 4,20; estos parámetros que no se han podido contrastar porque no hay reportes similares pero sirven para establecer una estandarización del extracto obtenido de la especie.

En tabla 3, se muestran los resultados obtenidos del screening fitoquímico del extracto etanólico, la determinación de presencia de grupos de metabolitos secundarios, siguiendo la marcha descrita por Lock 2016 (23), se lograron diferentes fracciones obtenidas con los diferentes solventes o mezclas de ellos de acuerdo a las polaridades de los compuestos presentes para luego ejecutar las reacciones de precipitación y/o coloración según (23). Como se puede apreciar en la tabla la fracción A se consiguió resultado positivo a las

reacciones para compuestos del tipo flavonoides y tanino, siendo negativa la reacción de ninhidrina que indica la presencia de aminoácidos libres; En la fracción B, se obtuvo resultado positivo para las reacciones de Liebermann Burchard y la reacción de Shinoda, es decir presencia de compuestos de naturaleza triterpenoides y/o esteroides, y flavonoides. Tanto la fracciones C dio positiva para alcaloides; sin embargo la fracción D dio negativa las reacciones para identificación de alcaloides (Mayer, Hager y drangedorff) y positiva la reacción para triterpenos y/o esteroides (Liebermann Burchard), igualmente en esta fracción se obtuvo un resultado positivo para flavonoide y leucocianidinas y por último la fracción E, dio positiva a Shinoda, por la prueba de la espuma para saponinas; estos resultados son iguales o son concordantes con muchos estudios donde para la especie refiere presencia de compuestos flavonoides como taninos, quercetinas, ácidos hidroxifilícos (1), de naturaleza esteroides como tipo andromedotoxina (16); debemos recordar que el consumo masivo de esta especie está asociado a propiedades toxicas, asociados a estos últimos tipo de compuestos (16).

En lo referente a la capacidad antioxidante, teniendo en consideración la composición compleja de los extractos vegetales se determinó por dos métodos diferentes como fueron DPPH, uno de los métodos más conocidos y aplicados para extractos vegetales y el método CUPRAC, método de reciente aplicación en nuestra casa de estudio para la determinación de capacidad antioxidante. Considerando que los valores que se expresa la capacidad antioxidante por el método DPPH comúnmente es el IC_{50} , este es un valor relativo porque dependen de muchas condiciones en las cuales se realiza el ensayo, se decidió expresarlo simultáneamente como un equivalente de trolox, el cual se considera que es el equivalente hidrosoluble de la vitamina E. Como se puede apreciar en la tabla 4 y la correspondiente figura 10, se halló un IC_{50} equivalente a 0,706 mM de trolox y al hallar dicha capacidad para el extracto del fruto de la especie Tabla 5 y figura 11 se halló un IC_{50} equivalente a 4,10 mg del extracto; al realizar una correlación de ambas formas de expresión tendríamos que 4,10 mg de extracto equivale a 0,706 mM de trolox. Este valor se puede considerar un valor medio de capacidad antioxidante, pero que es concordante con los valores expresados por Diaz y Braul en el 2018 (3), aunque relativamente bajo para lo indicado por Surco Bellido en 2018 (4), para valores de actividad antioxidante de hojas frutos y unidades floridas reportadas por el mismo método, adonde indica que la especie contiene uno de los compuestos con capacidad antioxidante más activos como es la quercetina. En la tabla 6 y la figura correspondiente nos indica los valores del patrón trolox por el método CUPRAC, debemos comenzar por destacar que este método se basa exclusivamente por el mecanismo de actividad antioxidante SET en la tabla 7 y la figura 14 queda expresada la capacidad antioxidante del extracto etanólico del fruto de la especie con un valor de 1mM de trolox

equivale a 17,93 mg de extracto, como se puede visualizar por este método la capacidad antioxidante es más pobre; ya que necesitamos mayor cantidad de extracto para equiparar la actividad de 1mM de trolox. No se ha encontrado ningún reporte de actividad antioxidante de la especie ni del género por este método.

Por lo que al contenido de compuestos polifenoles totales, se puede apreciar en la tabla de valores; así como, en la graficas correspondientes que el contenido de estos compuestos es bajo ya que 6,08 mg del extracto equivale a 1mM GAE e iría en sintonía con la baja capacidad antioxidante que ha mostrado el extracto por los métodos ensayados; sin embargo, los reportes en el contenido de estos compuestos son contradictorio en los diversos estudios referenciados.

V. CONCLUSION.

En el desarrollo del estudio titulado Actividad Antioxidante y polifenoles totales del extracto etanólico del fruto de *Pernettya prostrata* “macha-macha”, concluimos:

- La actividad antioxidante del extracto etanólico del fruto de *Pernettya prostrata* por los métodos DPPH y CUPRAC resultad ser media, siendo el método DPPH el que presenta mayor potencial
- El extracto etanólico del fruto de *Pernettya prostrata* “macha-macha” presento polifenoles totales en concentraciones bajas.
- Los compuestos bioactivos responsables del potencial antioxidante del extracto etanólico del fruto de *Pernettya prostrata* “macha-macha” serían principalmente compuestos de naturaleza flavonoides.

VI. RECOMENDACIONES.

De los resultados del estudio del extracto etanólico del fruto de la especie y considerando los antecedentes referenciados podemos hacer las siguientes recomendaciones

- Identificar los compuestos de naturaleza flavonoides y triterpenos/esterroides presente en las diversas fracciones del screening efectuado.
- Efectuar la determinación de la actividad antioxidante por otros métodos in vitro y algún método in vivo que permita establecer su real potencial antioxidante.
- Comprobar mediante las actividades propiedades farmacológicas atribuidas por el uso popular en diversas regiones.

VII. FUENTES DE INFORMACION.

1. Santiváñez-Acosta RM, Cabrera-Meléndez JL. Catálogo florístico de plantas medicinales peruanas. Lima: Instituto Nacional de Salud; 2019 Disponible en: <https://repositorio.ins.gob.pe/handle/20.500.14196/1547>
2. Rengifo Zumaeta, Alex, Perry Dávila, Goldis, Tuisima Coral, Lady Laura, Noriega Silva, Rosmery Elizabeth Amalia, & Panduro Rengifo, Lener Omar. Análisis de las políticas para la conservación de la biodiversidad en el Perú. *Revista Estudios del Desarrollo Social: Cuba y América Latina* ,(2023). 11(3), . Epub 01 de diciembre de 2023. Recuperado en 17 de mayo de 2024, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2308-01322023000300014&lng=es&tlng=e
3. OMS. Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2014-2023. Organización Mundial de la Salud, 2013. Disponible en: https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/95008/9789243506098_spa.pdf
4. Anderson Robert A. Medicina integrativa. Segunda Edición, Capitulo 103 – Prescripción de antioxidantes, Elsevier España, 2009, ISBN 9788445819111, <https://doi.org/10.1016/B978-84-458-1911-1.50103-2>.
5. Yu-Jie Zhang, Ren-You Gan, Sha Li, Yue Zhou, An-Na Li, Dong-Ping Xu and Hua-Bin Li. Antioxidant Phytochemicals for the Prevention and treatment of Chronic Diseases. *Molecules* 2015, 20, 21138-21156; doi: 10.3390/molecules 201219753
6. Guija-Guerra Henry, Guija-Poma Emilio. Radicales libres y sistema antioxidante. *Horiz. Med.* [Internet]. 2023 Abr [citado 2024 Mayo 17] ; 23(2): e2158. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-558X2023000200013&lng=es
7. Venéreo Gutiérrez Justo R.. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Rev Cub Med Mil* [Internet]. 2002 Jun [citado 2024 enero 17] ; 31(2): 126-133. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572002000200009&lng=es.
8. Muchaypiña Rojas L. Actividad antioxidante del extracto etanólico de las partes aéreas de *Grindelia tarapacana phil* “chiri chiri” Tesis Bachiller. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional San Luis Gonzaga. 2024
9. Carrasco Sauñe E. Evaluación del contenido de polifenoles totales, antocianinas y capacidad antioxidante de los frutos maduros de Machamacha (*Pernettya prostrata*), en diferentes estados de conservación (fresco, seco y congelado). Repositorio institucional

- UNAMBA [Internet]. 12 de abril de 2022 [citado 16 de mayo de 2024]; Disponible en: <http://repositorio.unamba.edu.pe/handle/UNAMBA/1073>

10. Juro Valenzuela, Andrés. Lista de Trabajo de investigación por autor «» [Internet]. [citado 16 de mayo de 2024]. Disponible en: <https://repositorio.uma.edu.pe/handle/20.500.12970/609/browse?type=author&value=Juro+Valenzuela%2C+Andr%C3%A9s>
11. Díaz Paico, L. Y., & Braul Porras, E. G. , Cuantificación de vitamina C y evaluación de la capacidad antioxidante del fruto de *Pernettya prostrata* (Cav.) DC.(macha macha) frente al radical 2, 2-difenil-1- picrilhidrazilo. Tesis (2018). <https://repositorio.unsch.edu.pe/server/api/core/bitstreams/72876cf5-ed37-49c4-8cbe-c896e129de08/content>
12. Surco Bellido, H. Actividad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos y flavonoides de *Pernettya prostrata* (Cav.) DC.“macha macha”, Ayacucho 2018 [http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/Pastor Cabanillas, M. E. Contenido de flavonoides totales de los frutos de Gaultheria myrsinoides Kunth" macha macha" y Vaccinium floribundum Kunth" mortillo2. \(2020\).](http://repositorio.unsch.edu.pe/handle/UNSCH/Pastor%20Cabanillas,%20M.%20E.%20Contenido%20de%20flavonoides%20totales%20de%20los%20frutos%20de%20Gaultheria%20mysrsinoides%20Kunth%20macha%20macha%20y%20Vaccinium%20floribundum%20Kunth%20mortillo2.%20(2020).)<http://repositorio.usanpedro.edu.pe/handle/USANPEDRO/14093>
13. Carlos Mario Rincón Aguilar L, Oscar Javier Patiño Ladino I, Erika Andrea Plazas González I, et al. Estudio químico preliminar y evaluación de la actividad antioxidante, anti alimentaria y tóxica, de la especie *Pernettya prostrata* (Ericaceae). Revista Cubana de Plantas Medicinales [Internet]. 2014 [citado 16 de mayo de 2024];19(2):138-50. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962014000200003&lng=es&nrm=iso&tlng=es
14. Romero-Saritama José Miguel, Cueva-Ojeda Daniela Natali. Tamaño de semillas y germinación de *Pernettya prostrata* (Ericaceae): una especie del páramo andino. Caldasia [Internet]. 2020 Dic [citado 2024 Jul 13] ; 42(2): 326-329. Disponible: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0366-52322020000200326&lng=es. <https://doi.org/10.15446/caldas.v42n2.77247>
15. Cortés, J. Estudio químico de frutos de *Pernettya prostrata* (Cavan) Sleumer y su evaluación en la producción de hipercalcemia. [Internet]. 2009. [citado: 2024, julio] Disponible en: <http://hdl.handle.net/10554/14588>
16. Middleton DJ, Wilcock CC. Un examen crítico del estatus de *Pernettya* como género distinto de *Gaultheria*. Edinburgh Journal of Botany. 1990;47(3):291– 301. doi:10.1017/S0960428600003449

17. Mezey, K. (Envenenamiento por *Pernettya prostrata* var. *pentlandii* (Reventadera). Toxicología, farmacología y tratamiento, Revista de medicina veterinaria, (1943). file:///C:/Users/USER/Downloads/DialnetPernettyaProstrata-6107812.pdf
18. Rincón Aguilar Carlos Mario, Patiño Ladino Oscar Javier, Plazas González Erika Andrea, Bulla Nieto María Esperanza, Rozo Torres Gladys, Puyana Hegedus Mónica. Estudio químico preliminar y evaluación de la actividad antioxidante, antialimentaria y tóxica, de la especie *Pernettya prostrata* (Ericaceae). Rev Cubana Plant Med [Internet]. 2014 Jun [citado 2025 Ene 19] ; 19(2): 138-150. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962014000200003&lng=es.
19. Juro VA, Sanchez ML. *Pernettya prostrata* (CAV.): Revisión de un fruto silvestre de interés farmacéutico. Trabajo de Investigación para optar el grado de Bachiller. Universidad Maria Auxiliadora. Lima 2020.
20. Romoleroux, K., Cárate-Tandalla, D., Eler, R., Navarrete, H. 2019. *Pernettya prostrata* En: Plantas vasculares de los bosques de *Polylepis* en los páramos de Oyacachi. Version 2019.0 <<https://bioweb.bio/floraweb/polylepis/FichaEspecie/Pernettya%20prostrata>>, acceso Lunes, 20 de Enero de 2025.
21. Londoño Londoño, Julio “Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad”. 2012; 9: p.129-162.
22. Magdalena Pisoschi Aurelia Pop, Aneta Cimpeanu Carmen and Predoi Gabriel. Antioxidant Capacity Determination in Plants and Plant-Derived Products: A Review. Hindawi Publishing Corporation Oxidative Medicine and Cellular Longevity Volume 2016, Article ID 9130976, 36 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2016/9130976>
23. Sienes Bailo P, Llorente Martín E, Calmarza P, Montolio Brevia S, Bravo Gómez A, Pozo Giráldez A, Sánchez-Pascuala Callau JJ, Vaquer Santamaría JM, Dayaldasani Khialani A, Cerdá Micó C, Camps Andreu J, Sáez Tormo G, Fort Gallifa I. Implicación del estrés oxidativo en las enfermedades neurodegenerativas y posibles terapias antioxidantes. Adv Lab Med. 2022 Dec 22;3(4):351–60. Spanish. doi: 10.1515/almed-2022-0022. PMID: PMC10197511
24. Hernández-Sampieri Roberto, Mendoza Torres Christian paulina. Metodología de la Investigación: Las Rutas Cuantitativa, Cualitativa y Mixta. Editorial Mc Graw-Hill Interamericana Editores. 2018. ISBN: 978-1-4562-6096-5
25. Sharapin Nikolai, et al. (2000). Fundamentos de Tecnología de Productos Fitoterapéuticos. Santafé de Bogota, Colombia: Convenio Andrés Bello.

<https://www.fitoterapia.net/publicaciones/documentacion/effect-herb-thyme-ithymus-vulgarisi-293.html>

26. Lock de Ugaz, O. (2016). Investigación Fitoquímica, Métodos en el Estudio de Productos Naturales (Tercera ed.). Lima, Perú: Fondo Editorial de la Pontificia Universidad Católica del Perú
27. AOAC. Methoda Officials of Analysis 19 Ed. Filadelfia EEUU 2016
28. Gruszycki Mabel Rosalía, Valenzuela Gabriela Malena, Báez Margarita, Leguiza Pedro Daniel, et al. Evaluación de la actividad antioxidante en extractos hidroalcohólicos de *Portulaca oleracea* L.Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm., 2019: Vol. 48(2), 425-435. / <http://dx.doi.org/10.15446/rcciquifa.v48n2.82720>
29. Quijatie L.J. Estudio comparativo de la propiedad antioxidante, polifenoles totales, flavonoides y minerales de los extractos etéreo, diclorometano y etanólico de la especie *Capsella Bursa pastoris* “chichicara” Tesis bachiller. Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional San Luis Gonzaga. 2023.
30. Mustafa Özyürek, Kubilay Güçlü, Reşat Apak, The main and modified CUPRAC methods of antioxidant measurement, TrAC Trends in Analytical Chemistry, 2011; Volume 30, Issue 4, Pages 652-664, ISSN 0165-9936, <https://doi.org/10.1016/j.trac.2010.11.016>.

VIII. ANEXOS

8.1 Fotos



Figura 16. Recolección en campo del fruto de la especie *Pernettya prostrada*



Figura 17. Secado triturado y macerado de la especie *Pernettya prostrata*



Figura 18. Obtención de extracto y puesta a concentrar (secado)

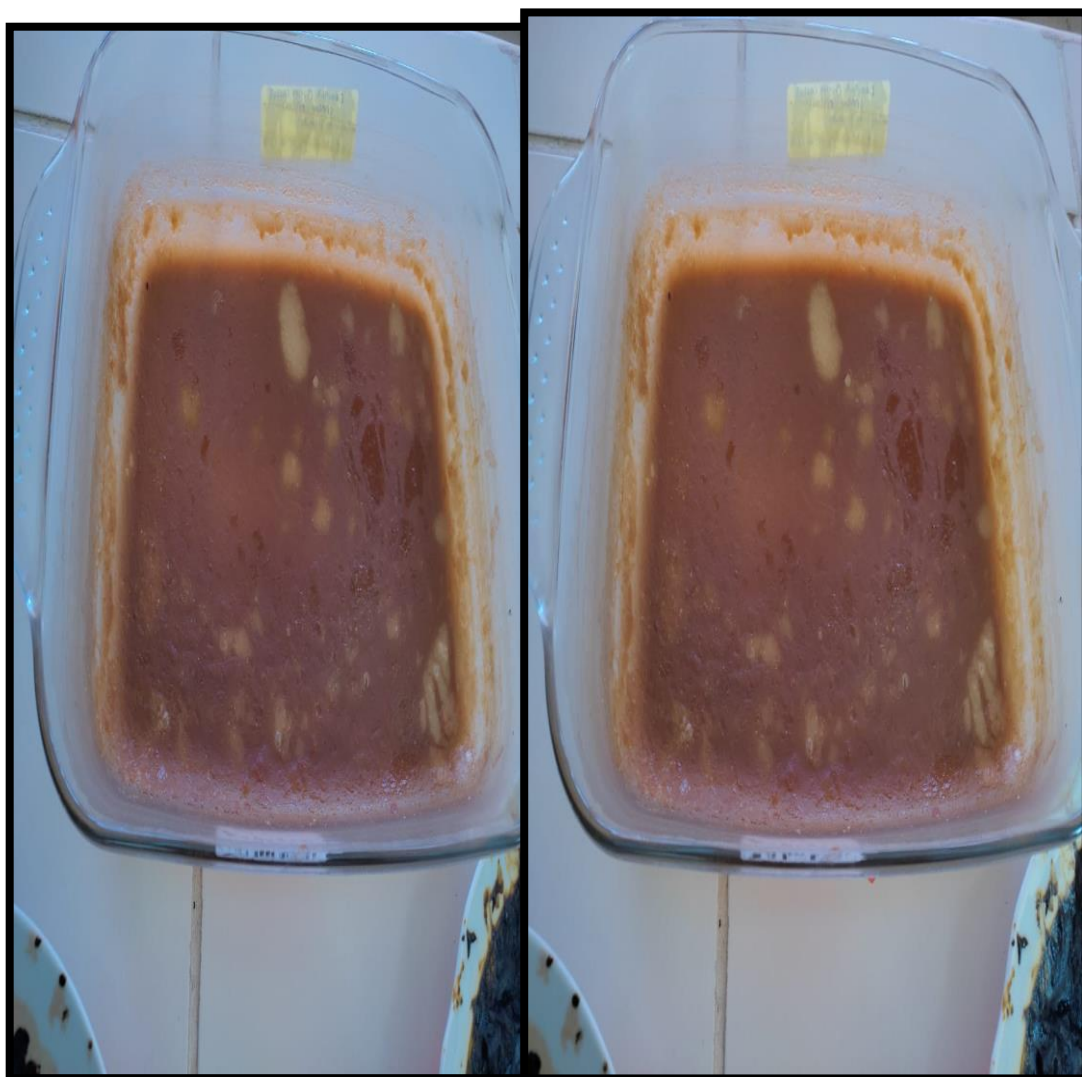


Figura 19. Extracto etanolico seco del fruto de *Pernettya prostrada* (macha-macha)

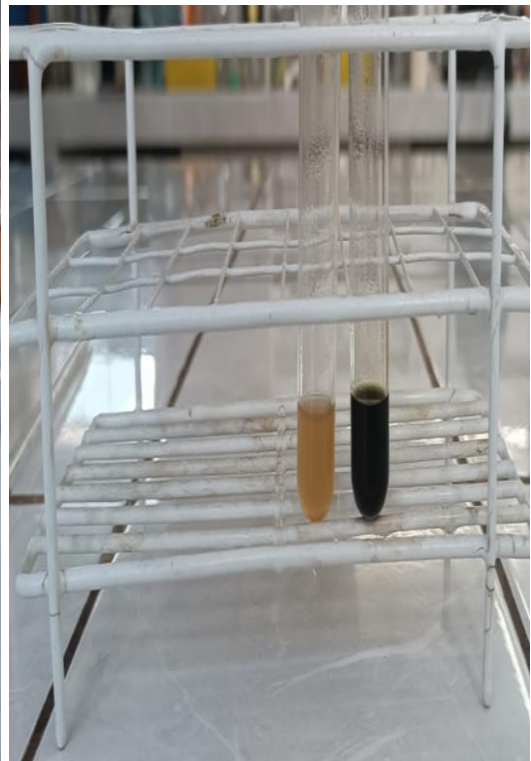


Figura 20. Determinación de metabolitos secundarios



Alcaloides



Esteroides



Leucoantocianidinas



taninos

Figura 21. otros metabolitos secundarios



DPPH



CUPRAC

Figura 22. Determinación de actividad antioxidante

8.2 Certificación botánica

Figura 23. Certificación botánica de la especie



"Año de la unidad, la paz y el desarrollo"

CONSTANCIA N° 207-USM-MHN-2023

LA JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (fértil) recibida de **Carlos Cahuana Quispe**, estudiantes de la Universidad San Luis Gonzaga ha sido estudiada y clasificada como: *Pernettya prostrata* (Cav.) DC. y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación APG IV (2016).

ORDEN : Ericales

FAMILIA : ERICACEAE

GÉNERO : *Pernettya*

ESPECIE : *Pernettya prostrata* (Cav.) DC.

Nombre vulgar: "Macha-Machua"

Procedencia: Anexo de Poma, Distrito de Sucre, Departamento de Ayacucho

Determinado por: MSc. Hamilton Beltrán Santiago.

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 31 de agosto de 2023

Dra. Joaquina Alban Castillo

JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

Av. Arenales 1256, Jesús María
Ápulo. 14-034, Lima 14, Perú

Teléfono: (511) 471-0117, 470-4471
265-6819, 619-7000 anexo 5703

e-mail: herbariosm@unmsm.edu.pe
<https://museo.hn.unmsm.edu.pe>