



Calidad Académica con Compromiso Social

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

**“CUANTIFICACIÓN Y DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD
ANTIOXIDANTE DE LOS POLIFENOLES DEL EXTRACTO
HIDROALCOHÓLICO DE LA CÁSCARA, SEMILLA Y EL ZUMO DEL FRUTO
DE *Punica granatum* VAR. WONDERFULL”**

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PARA OPTAR EL GRADO DE BACHILLER EN
FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

AUTORES:

FARFÁN YARANGA, GAUDENCIO

MORALES VÁSQUEZ, EDSON

VILLANUEVA HUAMÁN, FANY

ASESOR:

Mg. CÓRDOVA SERRANO, GERSON

LIMA -PERÚ

2019

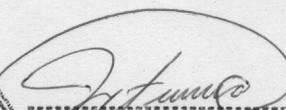
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
INFORME DEL TRABAJO DE INVESTIGACION

Yo, Mg. Gerson Córdova Serrano, docente de la asignatura Seminario de Tesis II, de la Universidad María Auxiliadora; en mi condición de docente de investigación según el Artículo 10 de la Resolución CU N°018-2019-UMA, expreso mi conformidad con el trabajo de investigación presentado por los bachilleres:

N°	Bachiller	Trabajo de Investigación
01	FARFAN YARANGA, GAUDENCIO	CUANTIFICACIÓN Y DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS POLIFENOLES DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA CÁSCARA, SEMILLA Y EL ZUMO DEL FRUTO DE <i>Punica granatum</i> VAR.WONDERFULL
02	MORALES VASQUEZ, EDSON	CUANTIFICACIÓN Y DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS POLIFENOLES DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA CÁSCARA, SEMILLA Y EL ZUMO DEL FRUTO DE <i>Punica granatum</i> VAR.WONDERFULL
03	VILLANUEVA HUAMAN, FANY	CUANTIFICACIÓN Y DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS POLIFENOLES DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE LA CÁSCARA, SEMILLA Y EL ZUMO DEL FRUTO DE <i>Punica granatum</i> VAR.WONDERFULL

Declaro que el trabajo de investigación se ha elaborado según lineamientos de la resolución CU N°071-2019-UMA.

Lima, 13 de Diciembre del 2019


Gerson Córdova Serrano
M.Sc. Bioquímica y Biología Molecular
Químico Farmacéutico
C.Q.F.P.16621

Docente Seminario de Tesis II

DEDICATORIA

Agradezco a Dios por protegerme durante mi formación profesional en esta casa de estudios de la Universidad María Auxiliadora, y por darnos sabiduría y la voluntad para superar obstáculos y dificultades.

A mis padres, hermanos y a mi madrina por todo su apoyo, amor, comprensión y motivación para salir adelante, por ser el pilar más importante en nuestras vidas, sin ellos nada se esto fuera una realidad.

Finalmente agradecerles a cada uno de los docentes por sus enseñanzas, consejos y orientación para finalizar mi carrera profesional.

Farfán Yaranga, Gaudencio

DEDICATORIA

A Dios por darme la oportunidad de ser parte de este mundo, darme salud y fuerza para enfrentar diversas dificultades y así poder lograr mis objetivos satisfactoriamente. Con todo mi amor y cariño a mi Madre (Tomasa Vásquez Yanac), la persona más importante de mi vida, que me han brindado todo: la confianza, apoyo, paciencia y amor incondicional, pero sobre todo por enseñarme valores únicos y necesarios para desenvolverme en mi vida profesional y personal.

A mis hermanos por estar siempre presente a la expectativa de mis logros profesionales y personales, ya que estos cinco años me dedicaron palabras de motivación e inspiración para poder superar cada día más y así poder culminar mis objetivos.

Morales Vásquez, Edson

DEDICATORIA

A DIOS por haberme dado salud para lograr mis objetivos, y poder concluir mi hermosa carrera A mi padre Por haberme enseñado a ser una persona de bien, a la vez perseverante, sobre todo humilde.

Con todo mi corazón a mi madre, por ser una mujer luchadora de no rendirme fácilmente en cada circunstancia difícil, gracias por ser la súper madre.

A mis hijos, por ser mi motivo y mi motor para poder lograr cualquier meta que me proponga, ser una Q.F A mis hermanos gracias por cada momento sea bueno o malo siempre estaremos el uno para el otro, mil gracias.

Villanueva Huamán Fany

AGRADECIMIENTO

A Dios Por habernos dado las fortalezas día a día y salud para seguir adelante en aquellos momentos tan difíciles en el transcurso de nuestras carreras. Nuestra Alma Mater Universidad María Auxiliadora por darnos la oportunidad de ser parte de ella. A nuestros docentes ya que con su paciencia, dedicación y experiencia nos enseñaron durante estos 5 años A nuestras familias, por todo su amor, comprensión y motivación para no rendirnos y ser el pilar de nuestras vidas.

A nuestros compañeros desde el primer ciclo y todos aquellos que fui conociendo en el transcurso de toda la carrera, doy gracias a Dios por haberlos conocido. De igual modo al sr Luis Alberto por brindarnos en laboratorio por su paciencia, gracias por su apoyo incondicional.

Finalmente agradecemos a todas aquellas personas, que estuvieron involucrados de una u otra manera durante toda nuestra formación, nuestra tesis, mil gracias de corazón.

RESUMEN

Punica granatum “granada” es una planta originaria de India, es utilizada en Medicina tradicional por sus múltiples beneficios para la salud de la población y fundamental valor nutricional. La existencia de ciertos compuestos antioxidantes como los polifenoles, le brindan la capacidad de anular la acción oxidante de los radicales libres. El objetivo del presente trabajo fue cuantificar y determinar la actividad antioxidante de los polifenoles del extracto hidroalcohólico de la cáscara, semilla y el zumo de fruto de *Punica granatum* Var.Wonderfull, provenientes de Huaral- Lima, por los métodos de ABTS (ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico), Ácido Gálico, Quercetina, Cianidina. El fruto de *Punica granatum* presento mayor contenido de compuestos polifenólicos y la actividad antioxidante en la cascara con un 83.484g%, semilla 38.092g% y zumo 5g% se obtuvo mayor capacidad antioxidante determinado por el método del ABTS obteniendo como concentración inhibitoria IC50, semilla 3.04, mg/mL, cascara 56,44 mg/mL y semilla 457,78 mg/mL. Se Concluye, en los diferentes extractos hidroalcohólico, el mayor porcentaje de actividad antioxidante se encuentra en la cascara por lo que resultaría una buena fuente de consumo en beneficio para la salud.

PALABRAS CLAVES

Punica granatum, polifenoles, antioxidante, ABTS, Extracto hidroalcohólico.

ABSTRACT

Punica granatum "pomegranate" is a plant native to India, it is used in Traditional medicine for its multiple benefits for the health of the population and Fundamental nutritional value. The existence of certain antioxidant compounds like polyphenols, they give you the ability to nullify the oxidizing action of Free Radicals The objective of the present work was to quantify and determine the antioxidant activity of the polyphenols of the hydroalcoholic extract of the husk, seed and fruit juice of *Punica granatum* Var. Wonderful, from Huaral-Lima, by ABTS methods (acid 2, 2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonic acid), Gallic Acid, Quercetin, Cyanidine. The fruit of *Punica granatum* had a higher content of polyphenolic compounds and the antioxidant activity in the shell with 83,484g%, seed 38,092g% and juice 5g%, a greater antioxidant capacity was obtained, determined by the ABTS method, obtaining as inhibitory concentration IC50, seed 3.04 mg / mL, husk 56.44 mg / mL and seed 457.78 mg / mL. It is concluded, in the different hydroalcoholic extracts, the highest percentage of antioxidant activity is found in the shell, so it would be a good source of consumption for health benefits.

KEYWORDS

Punica granatum, polyphenols, antioxidant, ABTS, hydroalcoholic extract.

ÍNDICE

DEDICATORIA	i
AGRADECIMIENTO	iv
RESUMEN	v
ABSTRACT.....	vi
ÍNDICE.....	vii
INTRODUCCIÓN	xi
1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN.....	1
1.1. Planteamiento de Problema	1
1.2. Formulación de Problema.....	2
1.2.1. Problema General	2
1.2.2. Problema Especifico.....	2
1.3. Objetivos	3
1.3.1. Objetivo general	3
1.3.2. Objetivo específico.....	3
1.4. Justificación	4
2. MARCO TEÓRICO.....	5
2.1. Antecedentes	5
a. Nacionales.....	5
b. Internacionales	7
2.2. Base Teórica.....	9
2.2.1. Clasificación de la Granada	10
2.2.2. Taxonomía de la Granada.....	10
2.2.3. Distribución Geográfica de la Granada.....	11
2.2.4. Usos Tradicionales de la Granada	11
2.2.5. Descripción Botánica de la Granada.....	12
2.2.6. Requerimiento Edafoclimático	13
2.2.7. Antioxidantes y Sistemas Enzimáticos	14
2.2.8. Su Peróxido Dismutasa (SOD) EC 1.15.1.1	14
2.2.9. Catalasa: EC 1.11.1.6	14
2.2.10. Antioxidantes no Enzimáticos	14
2.3. Definición de Términos Básicos.....	17

2.4.	Hipótesis	18
3.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	18
3.1.	Tipo de Investigación	18
3.2.	Nivel de Investigación.....	18
3.3.	Diseño de Investigación	18
3.4.	Área de Estudio	19
3.5.	Población y Muestra: Criterio de Inclusión y Exclusión	19
3.6.	Variable y Operacionalización de Variables.....	20
3.6.1.	Materiales	21
3.7.	Validación de los Instrumentos de Recolección de Datos	22
3.8.	Procedimiento Experimental	22
3.8.1.	Selección y Recolección del Fruto.....	22
3.8.2.	Obtención del Extracto Hidroalcohólico al %	22
3.8.3.	Pruebas de Solubilidad	25
3.8.4.	Marcha Fitoquímica.....	25
3.8.5.	Cuantificación de Polifenoles Totales (Ácido Gálico).....	27
3.8.6.	Cuantificación de Flavonoides del Extracto del Zumo de Granada	27
3.8.7.	Cuantificación de Antocianinas (Como Cianidina) por Método de pH Diferencial ..	28
3.8.8.	Determinación de Actividad Antioxidante por Secuestro de Radicales ABTS	29
3.9.	Componente Ético de la Investigación	30
3.10.	Procesamiento y Análisis de Datos.....	30
4.	RESULTADOS.....	31
4.1.	Prueba de solubilidad del Extracto Hidroalcohólico de <i>Punica granatum</i>	31
4.2.	Marcha Fitoquímica del Extracto Hidroalcohólico de <i>Punica granatum</i>	32
4.3.	Determinación de Fenoles Totales (como Ácido Gálico)	33
4.4.	Cuantificación de Flavonoides en Extractos.....	34
4.5.	Cuantificación de Antocianinas (como Cianidina) por el Método del pH Diferencial	35
4.6.	Determinación de Capacidad Antioxidante por Secuestro de Radicales ABTS.....	35
5.	DISCUSIÓN	38
6.	CONCLUSIONES	39
7.	RECOMENDACIONES	40
8.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	41
9.	ANEXOS	45

9.1.	Matriz de consistencia	45
9.2.	Instrumento de Recolección de Datos	46

LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

Lista de tablas

Tabla 1. Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de la cáscara, semilla y el zumo de <i>Punica granatum</i> -----	25
Tabla 2. Prrotocolo de método para determinar polifenoles -----	27
Tabla 3. Protocolo de método para determinación de flavonoides -----	28
Tabla 4. Protocolo de método para determinar antioxidantes -----	30
Tabla 5. Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de la cáscara, semilla y el zumo de <i>Punica granatum</i> -----	31
Tabla 6. : Marcha Fitoquímica del extracto hidroalcohólico de cáscara, semilla y el zumo de <i>Punica granatum</i> -----	32

Lista de Figuras

Fig. 1. Curva de Calibración Acido Gálico-----	33
fig. 2. Fenol Totales (mg%) en los extractos -----	33
Fig. 3. Curva de Calibración de Flavonoides (Quercetina mg%)-----	34
Fig. 4. Flavonoides como Quercetina (mg%) en extractos -----	34
Fig. 5. Concentración promedio de Cianidina en los extractos (mg/L)-----	35
Fig. 6. Capacidad Antioxidante del extracto de la cáscara por el método ABTS -----	35
Fig. 7. Capacidad Antioxidante del extracto hidroalcoholico de la semilla por el método ABTS -----	36
Fig. 8. Capacidad antioxidante del Zumo por el método ABTS -----	36
Fig. 9. Concentración Inhibitoria al 50 % (CI50%) de los Extractos por el método de ABTS -----	37

INTRODUCCIÓN

Los frutos del granado son muy atractivos por su forma y color de la cáscara, semilla y arilo. La demanda y consumo de granadas a nivel mundial está viviendo un explosivo aumento debido al alto contenido de polifenoles, 17% más antioxidantes que el vino tinto. Todo esto explica el gran interés por parte de los consumidores, principalmente en los países más desarrollados. (Julissa et al)

Los flavonoides son compuestos fenólicos con amplia distribución en plantas. Estructuralmente consisten en dos anillos bencénicos (anillos A y B) unidos por un heterociclo piránico (anillo C). Biosintéticamente son de origen mixto, pues el anillo A proviene de la ruta de la malonil coenzima A, mientras los anillos B y C provienen de la ruta del ácido shímiko. (15)

El contenido de fenoles totales fue determinado según lo descrito por Singleton et al ,1999. El método se basa en la capacidad de los fenoles para reaccionar con agentes oxidantes. El ácido túngstico y fosfomolibdico en pH básico forma complejos con los fenoles lo que se acompaña de un cambio en el color de amarillo a azul y la lectura se realiza a 760 nm en el espectrofotómetro. (15)

La generación del radical 2,2 azino-bis (3- ethylbenzo-thiazoline-6-sulfonic ácido) diammonium salt (ABTS) de Sigma ABTS constituye la base de uno de los métodos espectrofotométricos que han sido aplicados para medir la capacidad antioxidante total de soluciones o sustancias puras y mezclas acuosas según Re et al, 1999. La técnica mejorada para la generación del radical ABTS, implica la producción directa del cromóforo ABTS verde-azul a través de una reacción entre ABTS y persulfato de potasio ($K_2 S_2 O_8$). La adición del antioxidante al radical pre-formado lo reduce, de esta manera el grado de decoloración como porcentaje de inhibición está determinado en función a la concentración. (16)

Para su estudio sistemático, los más de 4000 flavonoides descritos hasta ahora se han clasificado en varias clases de acuerdo con las variantes estructurales que presenta el anillo de acuerdo con esto, los flavonoides se clasifican en varios grupos: flavonas, flavonoles, antocianidinas, catequinas, epicatequinas, auronas e isoflavonoides. (Londoño, 2012)

Las antocianinas son consideradas responsables del color rojo de las granadas y de sus semillas, siendo este un atributo de calidad importante. El color rojo depende de la concentración del tipo de antociana. (Julissa *et al*)

El extracto hidroalcohólico de *Punica granatum* “Granada” puede tener muchos efectos y propiedades y ha evidenciado ser seguro por tratarse de una sustancia no tóxica según las condiciones experimentales del estudio. (13)

1. PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1. Planteamiento de Problema

En la actualidad el fruto de *Punica granatum* (granada) es reconocida como una de frutas más importantes por su elevado contenido de antioxidantes, que según alguna de las investigaciones científicas previenen el envejecimiento prematuro eliminando a los radicales libres presentes en el organismo. (Peña *et al.*, 2008; Bell, 2015). (1)

Se tiene conocimiento de plantas como la *Punica granatum*, que presentan una actividad antioxidante eliminando los radicales libres en los microorganismos causantes de enfermedad como el Cáncer. (11)

EL fruto de *Punica granatum* (granada) presenta un alto contenido de vitamina C, antocianinas, taninos y flavonoides también tiene otros componentes químicos que es son de importantes propiedades primordiales para el tratamiento de afecciones y enfermedades (Peña *et al.*, 2008; Bell, 2015). (1)

Por lo tanto, el presente proyecto de estudio tiene por finalidad cuantificar la actividad antioxidante de sustancia hidroalcohólico de la cáscara, semilla y el zumo de fruto de *Punica granatum* Var. Wonderfull

1.2. Formulación de Problema

1.2.1. Problema General

1. ¿El extracto hidroalcohólico de la cáscara, semilla y el zumo de fruto de *Punica granatum* Var. Wonderfull tendrá compuestos polifenólicos?
2. ¿El extracto hidroalcohólico de la cáscara, semilla y el zumo de fruto de *Punica granatum* Var . Wonderfull tendrá actividad antioxidante?

1.2.2. Problema Específico

1. ¿Cuál es la concentración de polifenoles presentes en la cáscara, semilla y el zumo del extracto hidroalcohólico del fruto de *Punica granatum* Var. Wonderfull?
2. ¿Cuál es la concentración de flavonoides totales presentes en la cáscara, semilla y el zumo del extracto hidroalcohólico del fruto de *Punica granatum* Var.Wonderfull?
3. ¿Cuáles son las concentraciones de antocianinas presentes en la cáscara, semilla y el zumo del extracto hidroalcohólico del fruto de *Punica granatum* Var. Wonderfull?
4. ¿Cuál es la actividad antioxidante presente en la cascara, semilla y zumo del extracto hidroalcohólico del fruto de *Punica granatum* Var. Wonderfull?

1.3. Objetivos

1.3.1. Objetivo general

1. Realizar del extracto hidroalcohólico de la cáscara, semilla y el zumo de fruto de *Punica granatum* Var. Wonderfull y sus compuestos polifenólicos.
2. Identificar el extracto hidroalcohólico de la cáscara, semilla y el zumo de fruto de *Punica granatum* Var. Wonderfull y su actividad antioxidante?

1.3.2. Objetivo específico

1. Determinar las concentraciones de polifenoles presentes en la cáscara, semilla y el zumo del extracto hidroalcohólico del fruto de *Punica granatum* Var. Wonderfull
2. Identificar la concentración de flavonoides totales presentes en la cáscara, semilla y el zumo del extracto hidroalcohólico del fruto de *Punica granatum* Var. Wonderfull
3. Determinar las antocianinas presentes en la cáscara, semilla y el zumo del extracto hidroalcohólico del fruto de *Punica granatum* Var. Wonderfull
4. Identificar la actividad antioxidante presentes en la cáscara, semilla y el zumo del extracto hidroalcohólico del fruto de *Punica granatum* Var. Wonderfull

1.4. Justificación

El presente proyecto se justifica en grado normativo y empírico ya que permite aplicar todos los conocimientos adquiridos en el desarrollo facultativo de los métodos para la ejecución final del trabajo de investigación, por lo tanto, permite conocer la elaboración de la marcha Fitoquímica y determinación de actividad antioxidante de los polifenoles a base de extracto hidroalcohólico del fruto de *Punica granatum*.

A nivel social, la revalidación y el cotejo de las propiedades etnofarmacológicas de la planta de la costa de nuestro Perú acceden cognición y tenacidad de las plantas medicinales de una manera científicamente apropiada por lo cual los pobladores tienen la potestad de beneficiarse de su consumo con la seguridad que es inocuo.

Finalmente se acredita ahorros ya que las plantas medicinales dotan el recurso de atención primaria de la salud en la población de bajos recursos y en los que no tienen acceso al sistema de salud del estado o no cuentan con los recursos económicos para costear su atención médica y tratamiento. Por lo tanto, su consumo beneficiará a la salud a bajo costo y accesible para la población.

2. MARCO TEORICO

2.1. Antecedentes

a. Nacionales

Juan *et al*, (2014), Determinaron la relación existente entre la actividad antioxidante, polifenoles totales de los extractos acuoso e hidroalcohólico del zumo y de la cáscara de *Punica granatum* (granada). Se utilizó el 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH). Los resultados de polifenoles fueron tomados en cuenta en mg de ácido tánico equivalente en 100 mL del zumo y de extracto acuoso e hidroalcohólico de cáscara. El porcentaje de aprisionamiento de los radicales libres de DPPH del zumo y de las sustancias acuoso e hidroalcohólico fueron 25.6, 59.7, 43.2 y 84.4% respectivamente. El porcentaje de polifenoles del zumo y de los extractos acuosos e hidroalcohólico fueron: 25.4, 21.5, 19.7 y 23.6% respectivamente. La actividad antioxidante del extracto fue mayor que en las otras muestras y los polifenoles fueron mayores en el zumo. Por lo tanto, según los valores referidos no existe una relación entre la actividad antioxidante y los polifenoles. (12)

Bell. (2015), Realizó un estudio del “extracto hidroalcohólico de fruto de *Punica granatum*”. Sobre la población se utilizó 50 pacientes donde la aplicación y seguimiento farmacológico se realizó dos veces al día durante un mes. El ensayo se realizó previo consentimiento informado. Los resultados mostraron favorablemente tener efecto antiinflamatorio ante un tejido comprometido por las hemorroides. El 46,67 % fue evaluado como excelente, el 31,11 % como bueno, el 20,00% como regular y el 2,22 % como nulo. Finalmente concluyó que gel elaborado según el fruto del extracto hidroalcohólico de *Punica granatum* mostró excelente y tener efecto antiinflamatorio sobre las hemorroides. (1)

Llaguento y Romero. (2014), Evaluaron “extracción de aceite esencial de granada, mediante el método arrastre a vapor empleando el refrigerante tipo serpentín”; a temperatura de ebullición de 112 °C. para los cuales prepararon en los diferentes experimentos en tres niveles por cada factor , observando la variable con mayor influencia frente al proceso de extracción de aceite esencial de granada (*Punica granatum*) fue el tamaño de partícula; se demostró mayor rendimiento en la semilla molida alcanzando un valor de 0.18, 0.25 y 0.27 a diferencia de la semillas trozadas y enteras por lo tanto dedujeron a menor tamaño de la partícula y a mayor tiempo de extracción mejor fue la concentración, dicha muestra fue obtenido con mayor rendimiento, finalmente concluyó determinando los siguientes metabolitos secundarios: (polifenoles, terpenos, ácido elàgico). (13)

Elizabeth et al., (2015), determinó capacidad antioxidante, antiinflamatorio del zumo de *Punica granatum*. Para lo cual las muestras fueron refrigeradas bajo oscuridad a -20°C en condiciones apropiadas hasta su ejecución de análisis respectivo de la muestra. Se realizó mediante el método de ABTS. En el ensayo, se hizo reaccionar 150µL de muestra con 2850µL de la solución ABTS a temperatura ambiente hasta que la absorbancia fue estable a 734nm. Los resultados fueron tomados en cuenta y expresados en µmol de trolox equivalente (TE) por g o mL. Concluyeron que la actividad antioxidante obtenido fue superior de rango deseado por el método de reducción de partículas. (14)

Isabel et al., (2014), Compararon los polifenoles por la técnica de Folin-Ciocalteu y la actividad antioxidante de los extractos concentrados de *Physalis peruviana* (aguaymanto), para su determinación utilizaron los métodos del DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo) y ABTS (ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico). Los resultados indicaron un mayor porcentaje de actividad antioxidante y compuesto fenólicos de los frutos provenientes de Huánuco frente a los frutos provenientes de otras provincias. Donde los valores muestran los siguientes datos $149,3 \pm 1,62$ mg/Eq de ácido gálico/100 g de fruto. Las concentraciones inhibitorias IC50 Por el método de DPPH fue 1,86

mg/mL y por el método del ABTS obteniendo como concentración inhibitoria IC50 1,29 mg/mL. Concluyeron, que el fruto proveniente de Huánuco presentó mayor actividad antioxidante y polifenólicos comparado frente a los frutos provenientes de Junín, Cajamarca y Ancash, mostraron bajo rendimiento de actividad antioxidante y polifenoles; debido a su condición Edafoclimático; por lo tanto, su consumo brinda mayor beneficio para la salud. (23)

b. Internacionales

Gheith y Mahmoudy. (2017), Realizaron un estudio del extracto hidrometanólico al 50% de *Punica granatum* (granada). Determinaron su actividad antiinflamatoria, antioxidante utilizando fosfomolibdeno y eliminación de OH usando el ensayo HRBC-MS. El extracto de la hoja era más potente que el de la flor. Los valores de CI50 para los extractos de flores y hojas fueron 777.6 ± 1.48 y 656.4 ± 1.79 ; $184,3 \pm 1,803$ y $113,9 \pm 2,001$; 130.8 ± 1.66 y 81.4 ± 2.1 ; 132.4 ± 1.55 y 79.67 ± 0.03 ; y $126,1 \pm 1,35$ y $67,25 \pm 1,28$ $\mu\text{g} / \text{mL}$. El análisis Fotoquímico demostró la existencia de taninos y flavonoides con resultados favorables en el extracto de la hoja de la hoja. Finalmente se concluyó que la capacidad antioxidante y antiinflamatorio favorecen beneficiando frente a estado de salud normal y el bienestar.

Alexandre, *et al.*, (2016), Elaboraron un gel anti gingivitis de extracto de granada al 10%, utilizando un modelo de gingivitis experimental parcial en humanos. Donde participaron 23 individuos voluntariamente de este estudio cruzado, doble ciego en dos períodos de 21 días cada uno. Una moldera de acrílico fue confeccionada para cada participante, la cual fue utilizada como cargadora de los geles sobre el área a ser evaluada (hemiarco inferior izquierdo). Los participantes fueron aleatoriamente designados para usar el gel placebo (grupo control) o el gel test (grupo experimental), siendo instruidos a colocar el gel en la cubeta y ésta sobre los dientes test, cepillando los otros normalmente

tres veces al día. En el día 0 y día 21 los índices de placa visible (IPV) e índice de sangrado gingival (ISG) fueron registrados. Los resultados no mostraron diferencia estadística significativa entre los grupos control y experimental para ninguno de los índices. En conclusión, el gel elaborado a base del extracto de *Punica granatum* al 10% no mostró su efectividad frente a la formación de placa gingival.

Blanca, *et al.*, (2014), identificaron los constituyentes del extracto hidroalcohólico preparado de los frutos completos de *Punica granatum* con su actividad antiinflamatorio y catarral, se establecieron los parámetros físico-químicos del control de calidad y se realizó el tamizaje Fitoquímica, concluyeron que el extracto hidroalcohólico presento Fito constituyentes (flavonoides, taninos, antocianidinas, carbohidratos, cumarinas, saponinas, mucílagos, aminoácidos, quinonas, así como principios amargos y astringentes.

Martínez y García. (2019), Evaluaron el efecto cicatrizante e inflamatorio del polvo carbonizado de *Punica granatum* y (flor de agua), en un modelo experimental en ratas. El estudio experimental se empleó en 30 ratas machos distribuidas en 3 grupos (n= 10). Grupo I y II; tratadas con el polvo carbonizado de la granada y flor de agua respectivamente. Grupo III: tratadas con cloruro de sodio al 0,9%. Finalmente concluyeron el uso por vía tópica del polvo carbonizado de granada y de flor de agua, demostraron resultados favorables frente a la cicatrización e inflamación en las heridas de la dermis.

Jorge Enrique *et al.*, (2013), Analizaron los polifenoles totales de la fruta. Mediante proceso de maceración para su extracción y se realizó la optimización de los parámetros mediante diseños experimentales, las tres variables presentaron una influencia significativa sobre el proceso de extracción de polifenoles. En las condiciones de trabajo establecidas, la extracción óptima es

la siguiente: tiempo de extracción de 72 h, relación droga-menstruo de 1:20 y concentración alcohólica del 50 % (v/v).

2.2. Base Teórica

El fruto de *Punica granatum* (granada), se está empleando hace siglos en tratamiento de enfermedades inflamatorias y cicatrizantes. A pesar de ello hay una falta de información completa equidistante en las propiedades de un perfil específico de composición fenólico para sanar el dolor y la lesión gástrica inducida por fármacos anti-inflamatorios. (25)

Los frutos del granado son muy atractivos por su forma y color de la cáscara y arilos. La demanda y consumo de granadas a nivel mundial ha incrementado debido a sus propiedades nutricionales y alto contenido en vitamina C, polifenoles, 17% más antioxidantes que el vino tinto. Todo esto explica el gran beneficio del público, principalmente en países subdesarrollados. (Julissa *et al*)

Las antocianinas son las encargadas de otorgar color rojo a las granadas, estableciendo atributos muy importantes para la planta con fines antocianinas. (Julissa *et al*)

La química analítica de distintas partes de la granada es estudiada por muchos investigadores; encontraron que la fruta y la cáscara de granada es una fuente rica de compuestos polifenólicos y, además, se informó en numerosos estudios por tener excelentes propiedades antifúngicas, antiprotozoarias, antioxidantes, anticancerígenas, antiinflamatorias y antibacterianas. (Abdullaha ,2014).

El potencial terapéutico de la granada es amplio incluso en el tratamiento y prevención del cáncer, enfermedades cardiovasculares, diabetes, afecciones dentales, disfunción eréctil y protección contra la radiación UV. Otras aplicaciones potenciales; isquemia cerebral infantil, Alzheimer, infertilidad, artritis y obesidad. (Jurenka, J, *et al*; 2017).

2.2.1. Clasificación de la Granada

La posición taxonómica según el herbario del museo de historia natural de la U.N.M.S.M. La *Punica granatum* es el fruto de un árbol perteneciente a la familia puniceae. Es nativo del norte de la india cultivado y establecido en toda la región del mediterráneo desde la prehistoria. Los estudios demuestran que la granada tiene una potente actividad antioxidante (disposición de eliminar los radicales libres), significativamente más alta que los jugos de frutas más comúnmente consumidos, como la uva, el arándano, el pomelo y la naranja. (25)

Esta actividad se ha atribuido a los polifenoles, antioxidantes, que incluyen los elagitaninos (taninos hidrolizables) y las antocianinas (taninos condensados) La planta de granada es un arbusto erecto y su fruta es conocida por ser rica fuente elagitaninos bioactivos. (25)

2.2.2. Taxonomía de la Granada

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Myrtales

Familia: Lythraceae

Subfamilia: Punicoideae

Género: Punica

Especie: *Punica granatum*

2.2.3. Distribución Geográfica de la Granada

La granada se cultiva prehistóricamente y su centro de origen con gran capacidad y diversidad es en el oriente, área mediterránea y occidente luego se distribuye a diferentes países donde se cultivan y establecen gran diversidad genética gracias a la propagación de sus semillas (25).

En España se encuentra banco de germoplasma de Europa con más de 104 hechos y en la India, Turkmenistán, Irán, etc. también existen grandes recopilaciones, en Irán existe el principal producto mundial con más de 760 accesiones o en Turkmenistán, cuya estación experimental de recursos genéticos de plantas, creada en 1934, cuenta con 1117 accesiones. En el Perú se cultiva en Ica, Lima, La libertad, Tacna, Moquegua, Lambayeque. (25)

2.2.4. Usos Tradicionales de la Granada

El uso de la granada ha sido mencionado en la literatura antigua, incluyendo textos eyurvédicos, 6 papiros Ebers y documentos griegos, medicina yuyani. Se ha utilizado como un:

Vermífugo astringente, bactericida, refrigerante, estimulante, afecciones estomacales, asma, bronquitis, tos, problemas cardiacos, disentería, diarrea, dispepsia, fiebre, inflamación, trastornos hemorrágicos, heridas, úlceras, moretones, llagas, lesiones en la boca, vaginitis, infecciones del tracto urinario, tinte para el cabello, para mejorar la malaria, y las fiebres estacionales. (25)

2.2.5. Descripción Botánica de la Granada

- Pequeño árbol caducifolio, con porte arbustivo, de 3 a 6 m de altura, con el tronco retorcido. (25).
- Madera dura y corteza escamosa de color grisáceo.

2.2.5.1. Hojas:

Son de color verde brillante, lustrosas por el haz y con el borde entero. Nacen opuestas o casi opuestas sobre las ramas o bien agrupadas formando hacecillos, tienen forma lanceolada, abobada, un pecíolo corto y son ligeramente correosas. Generalmente miden 2 - 8 x 0,8 - 2 cm, y tienen un nectario apical que segrega azúcares (fructosa, glucosa, sucrosa); las estípulas son rudimentarias y difíciles de apreciar. (25)

2.2.5.2. Flores:

Hermafroditas, solitarias o reunidas en grupos de 2 - 5 al final de las ramas nuevas y de 3 - 4 cm de diámetro. Son grandes y de color rojo, lustrosas, acampanadas, subsentadas, con 5 - 8 pétalos y sépalos, persistiendo el cáliz en el fruto. En algunas variedades las flores son abigarradas e incluso matizadas en blanco. (25)

2.2.5.3. Fruto

Baya globosa denominada balausta, de color rojo brillante, verde amarillento, o blanquizco, rara vez violeta, cuando madura, estando coronado por el cáliz, de 5 - 8 cm de diámetro, lleno de semillas y cuenta con una cáscara coriácea. (25)

2.2.5.4. Semilla

Son angulares y duras por dentro, la capa externa de la testa está cubierta por una capa delgada o pulpa jugosa, roja, rosa o blanco amarillento, astringente, sub ácida o ácida. (25)

2.2.6. Requerimiento Edafoclimático

2.2.6.1. Clima

La granada es de clima subtropical obteniendo los mejores frutos gracias a las altas temperaturas ayudan a la maduración del fruto. Requiriendo abundante agua para mantener frescas sus raíces y así poder adquirir abundantes frutos de calidad y soportarla sequía. (25).

2.2.6.2. Suelo

Los terrenos alcalinos le son favorables; incluso los excesos de humedad favorecen su desarrollo siendo ligero, permeable, profundo y fresco.

2.2.6.3. Temperatura

Presenta un amplio rango de adaptación desde -5 a 30°C. Las condiciones ideales de adaptación y rendimiento se dan en climas cuyas temperaturas fluctúa entre los 15 y 25°C. En nuestro país, se adaptan muy bien a las zonas del sur de la costa central regiones de Lima e Ica. La época de cosecha es de marzo hasta mayo. (25)

2.2.7. Antioxidantes y Sistemas Enzimáticos

Los antioxidantes son sustancias inhibitorias de los radicales libre, protegiendo las células y previniendo o reparando los daños causados por oxidación de sustratos susceptibles a las especies reactivas del oxígeno ya que donan sus hidrógenos. Los sistemas de defensa pueden ser enzimáticos y no enzimáticos.(18)

2.2.8. Su Peróxido Dismutasa (SOD) EC 1.15.1.1

Es el fermento que cataliza la desproporción de O_2 a especies menos reactivas (O_2 y $H_2 O_2$).

2.2.9. Catalasa: EC 1.11.1.6

Es una enzima concurrente en las plantas, animales y bacterias aeróbicas; está localizada en los peroxisomas y es muy eficaz en la conversión de peróxido de hidrógeno a agua y a oxígeno molecular convirtiendo millones de moléculas de $H_2 O_2$ a agua y oxígeno por cada minuto.

2.2.10. Antioxidantes no Enzimáticos

2.2.10.1. Vitamina E

La vitamina E tiene un grupo fenólico responsable de su actividad estabilizadora de radicales libres que favorece su inserción en la región lipídica de la bicapa conteniendo fracción hidroquinona metilada en mayor o menor grado y una cadena de isoprenoide. El α -tocoferol compone mayor posibilidad de prevención de la peroxidación de membrana por estabilización de radicales piróxilo.(3)

2.2.10.2. Vitamina C

La vitamina C es un antioxidante que actúa en medios acuosos, como el líquido pleural, el fluido ocular y el espacio intersticial. Actúa en unión con otros antioxidantes primordiales como la vitamina E y los carotenoides, las enzimas antioxidantes catalizan reacciones para neutralizar los radicales libres. La vitamina C y la vitamina E también conocido como el α -tocoferol desde el radical α -tocoferilo son nutrientes esenciales para el ser humano que favorecen la protección de las células contra el daño de los radicales libres. (3)

2.2.10.3. Carotenoides

El β -caroteno ha sido referido como provitamina A, debido a su capacidad de ser metabolizado en animales a la vitamina A. El β -caroteno se divide para formar dos moléculas de retina aldehído, una fracción de menor importancia se oxida irreversiblemente a ácido retinoico; la cantidad restante es reducida a retinol. Su principal función de los carotenoides en los vegetales es absorber la luz durante la formación de fotosíntesis cuidando a la planta contra el daño de la fotosensibilización, reduce el daño hereditario de transmutación perjudicial, inhibe la inducción tumoral provocada por los rayos UV y agentes químicos. Su principal mecanismo es la estabilización de radicales libres está determinado por su capacidad para estabilizar el oxígeno singlete y convertirlo nuevamente a su forma menos reactiva (triplete). (3)

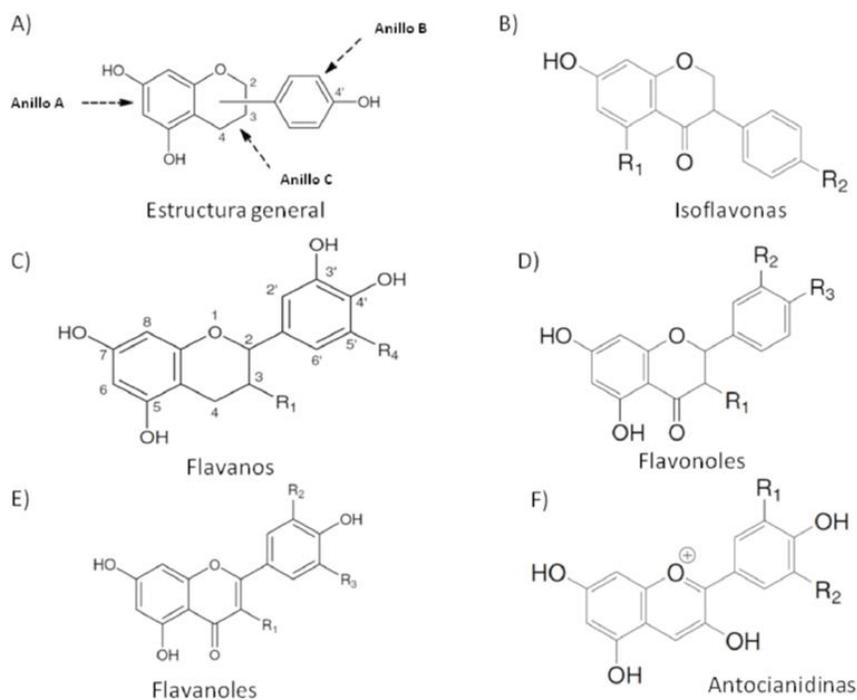
2.2.10.4. Flavonoides

Son compuestos fenólicos constituyentes del parte no energético de la dieta humana. Se encuentran presentes en las frutas, verduras, semillas, vegetales, bebidas como el vino y la cerveza. Estructuralmente consisten en “difeníl-pirano (C6-C3-C6),

compuestos por dos anillos de fenilos (A y B) ligados a través de un anillo C de pirano (heterocíclico)”. Su principal función de los flavonoides es proteger al organismo de los agentes oxidantes de los rayos ultravioletas y de la contaminación ambiental. (3)

Se han identificado más de 4000 flavonoides hasta la fecha, de los cuales los principales flavonoides han sido estudiados por sus propiedades y beneficios que le atribuyen para la salud son (Quercitina, Kaempferol, Rutina, Naringenina, Apigenina, Silimarina, Hesperinidina, Luteolina, Cianidina Catequina, Daidzeína, Genisteína) (Londoño, 2012)

Figura N 1: Estructura de los principales flavonoides.



Fuente: (Londoño, 2012)

2.3. Definición de Términos Básicos

- **ABTS:** Es una estructura química de radical que genera a partir de su precursor el ácido 2,2'-azino-bis (3- ethylbenzo-thiazoline-6-sulfonic), constituye la base de uno de los métodos espectrofotométricos que han sido aplicados para medir la capacidad antioxidante total de soluciones o sustancias puras y mezclas.
- **Antioxidante:** son sustancias que retardan o inhiben la oxidación de sustratos susceptibles a las especies reactivas del oxígeno ya que donan sus hidrógenos a estas de manera que protegen las células contra el daño de los radicales libres.
- **Antocianinas:** son pigmentos solubles en agua que se localizan en las células vegetales y establecen el color rojo, púrpura o azul a las hojas, flores y frutos. Sus principales funciones en la planta es favorecer mayor protección y resistencias frente a la radiación ultra violeta.
- **Fotoquímicos:** son sustancias que se encuentran en los alimentos de origen vegetal, biológicamente activas, que no son nutrientes esenciales para la vida (por lo menos a corto plazo), pero tienen efectos positivos en la salud. Se encuentran naturalmente en las plantas (frutas, vegetales, legumbres, granos enteros, nueces semillas, hongos, hierbas y especias).
- **Hidroalcohólico:** formado por una mezcla de agua y alcohol. Relativo o concerniente al alcohol y al agua. Se aplica en particular a los extractos o tinturas obtenidos de plantas, extrayendo primero con agua, dejando evaporar esta y extrayendo seguidamente con alcohol.
- **Polifenoles:** Los polifenoles son un grupo de sustancias químicas encontradas en plantas caracterizadas por la presencia de más de un grupo fenol por molécula.

2.4. Hipótesis

Implícita

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Tipo de Investigación

El presente estudio es de tipo experimental, explicativo.

Experimental: Porque se trabajó con grupos controles, se manipuló la variable independiente, las muestras obtenidas fueron al azar.

3.2. Nivel de Investigación

El presente trabajo de investigación es Experimental, porque permitió conocer las propiedades de la variable de estudio, es decir la identificación de los compuestos polifenólicos y la actividad antioxidante de *Punica granatum*.

3.3. Diseño de Investigación

Los ensayos se realizaron por triplicado donde los resultados fueron aplicados para determinación de los polifenoles y actividad antioxidante de extracto hidroalcohólico de la cáscara, semilla y el zumo de *Punica granatum* Var. Wonderfull.

Diseño experimental empleado en la presente investigación se muestra en la figura 4 donde se realizó 3 diluciones en diferentes concentraciones del extracto hidroalcohólico de la cáscara, semilla y el zumo de *Punica granatum* Var. Wonderfull para cuantificar los polifenoles totales y determinar la actividad anti oxidante.

Dichas concentraciones se cuantificaron y se determinaron mediante el HPLC, leídos en una absorbancia de 734nm

3.4. Área de Estudio

El presente trabajo de investigación se realizó en el laboratorio de la escuela de Farmacia y Bioquímica de la universidad María Auxiliadora ubicado en Av. Canto bello N°431 Urb. Canto bello en el distrito de san juan de Lurigancho – Lima.

3.5. Población y Muestra: Criterio de Inclusión y Exclusión

La unidad de análisis estuvo conformada por extracto hidroalcohólico de la cáscara, semilla y zumo del fruto de *Punica granatum* (Granada), en el laboratorio de la escuela de Farmacia y Bioquímica de la universidad María Auxiliadora.

Criterios de inclusión: Los frutos de la planta de *Punica granatum*.

Criterios de exclusión: Las semillas, cascara y zumo de la planta de *Punica granatum*.

3.6. Variable y Operacionalización de Variables

Variable	Definición Conceptual	Definición Operacional	Dimensiones	Indicadores	Escala de Medición	valor
Independiente: Cuantificación del extracto hidroalcohólico de la cáscara, semilla y el zumo del fruto de <i>Punica granatum</i> var.wonderfull	Compuestos orgánicos biosintetizados por el organismo, que no tienen un rol directo en el crecimiento o reproducción del mismo.	Componentes químicos identificados por diferentes reacciones de coloración	Polifenoles Flavonoides Antocianinas Antioxidantes Taninos Saponinas	Shinoda: Rx. roja. Dragendorff: Rx. Rojo a Naranjado. Mayer: Rx. Coloración blanca. Cloruro Férrico: Rx. de verde azulado. Gelatina/NaCl: Rx. Blanco. Prueba de Espuma Rx. reacción Negativo	+ + + + + -	+ (positivo) - (negativo)
Dependiente: Determinación de la actividad antioxidante de los polifenoles del extracto hidroalcohólico de la cáscara, semilla y el zumo del fruto de <i>Punica granatum</i> var.wonderfull	Se determinaron sus actividades polifenólicas y antioxidantes del extracto de <i>Punica granatum</i>	Componentes químicos identificados por espectrofotómetro con una absorbancia de 415 a 700 nm.	Polifenoles Flavonoides Antocianinas Antioxidantes Taninos Saponinas	Curva de calibración con ácido gálico. Curva de calibración de flavonoides con Quercetina. Capacidad antioxidante por método ABTS. Concentración con cianidina.	+	+(positivo)

3.6.1. Materiales

3.6.1.1. Del Laboratorio

- ✓ Matraz Erlenmeyer de 250 y 500 ml
- ✓ Vasos de precipitado de 500 ml
- ✓ Placas Petri
- ✓ Pipetas de 1, 2,5 y 10 ml
- ✓ Probetas de 100 ml
- ✓ Pinzas
- ✓ Tubos de ensayo auto lavable
- ✓ Tubo de ensayo
- ✓ Hoja de bisturí n° 11

3.6.1.2. Equipo de Laboratorio

- ✓ Estufa
- ✓ Balanza analítica
- ✓ Refrigeradora
- ✓ Cocina eléctrica
- ✓ Rota vapor

3.6.1.3. Reactivos

- ✓ Dragendord
- ✓ Molish
- ✓ ABTS
- ✓ Quercetina
- ✓ Cianidina
- ✓ Ácido gálico

3.7. Validación de los Instrumentos de Recolección de Datos

Los instrumentos fueron validados por un juicio de expertos

3.8. Procedimiento Experimental

3.8.1. Selección y Recolección del Fruto

Se recolectaron (6 kg) de los frutos de *Punica granatum* (Granada) en el mercado de frutas del distrito de san Luis, provenientes de la provincia de Huaral, departamento de Lima. De los cuales se seleccionó (3 Kg) de granada y se procedió al lavado con agua purificada, luego se realiza la separación de las partes del fruto casara, semilla y arilo para la preparación del extracto hidroalcohólico y la obtención de las concentración de la muestra para la cuantificación y determinación de la actividad antioxidante de los polifenoles en la cáscara, semilla y el zumo de *Punica granatum* var. wonderfull

3.8.2. Obtención del Extracto Hidroalcohólico al %

3.8.2.1. Extracción de la Cascara

- ❖ Peso total de la fruta entera 3kg.
- ❖ Peso de la cáscara fresca 562g se secó en estufa a temperatura 40°C durante 8 días.
- ❖ Peso de la cáscara seca 182.06g luego se procede a la molienda obteniendo un peso 178.04g.
- ❖ Se procedió a Maceración en 100ml de alcohol al 70% y 150ml de agua destilada en un frasco de color ámbar por 7 días, luego se filtró utilizando el papel filtró, una cantidad de 100mL de muestra obtenida el cual se llevó al disecado mediante Rota Vapor por 5

horas, hasta obtener el principio activo 40mL de solución del extracto concentrado de la cáscara.

- ❖ Se separó 5mL del extracto concentrado de la cáscara, y se llevó a secado por 6 días a temperatura de 40°C. obteniendo el 4,1742g de extracto seco de cáscara que le corresponde 83.484g%

3.8.2.2. Extracción de la Semilla

- ❖ Peso de la semilla fresca entera 333.66g se secó en estufa a temperatura 40°C durante 12 días.
- ❖ Peso de la semilla seca fue 131.17g
- ❖ peso de la semilla molida 129.66g.
- ❖ Se maceró en un frasco de color ámbar por 7 días utilizando solvente, 150 mL de agua destilada, 100 mL de alcohol al 70% y 129.66g de semilla molida; se almacenó en un lugar oscuro con agitaciones continuas hasta el proceso de filtración, lo cual quedó aproximadamente 500ml.
- ❖ Filtración se utilizó el papel filtro para separar las impurezas insolubles del extracto hidroalcohólico.
- ❖ Se obtuvo una cantidad de 100ml del extracto filtrado de la semilla de *Punica granatum*, se pesó en un beaker para someter al disecado mediante Rota Vapor por 5 horas, hasta obtener el principio activo 30mL de solución concentrado de semilla.
- ❖ De muestra obtenida de 30 mL se separó solo 5mL de muestra concentrada y se llevó a secado por 6 días a temperatura de 40°C.
- ❖ Finalmente se obtiene un extracto seco de 1.9046g que corresponde a un porcentaje de 38.092g%.

3.8.2.3. Extracción del Zumo

- ❖ Peso total de arilo fresca de (*Punica granatum*) 500g, se procedió la extracción mediante una técnica de presión para obtener el zumo concentrado, se separar las impurezas insolubles presentes en el extracto mediante el papel filtró.
- ❖ Se midió en un beaker 150mL del zumo para luego someter al Disecado por estufa a 40°C por 24 horas hasta obtener el principio activo de 33.7377g.
- ❖ Se separó 0.27g de muestra concentrada del zumo y se agregó 5.4mL de agua, que luego le corresponde para obtener una concentración a un porcentaje de 5g%

3.8.3. Pruebas de Solubilidad

Tabla N° 1: Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de la cáscara, semilla y el zumo de *Punica granatum*

Reacciones	Interpretaciones	Resultados
1mL de Agua (H ₂ O) + 30mg EHG	+	soluble
1mL de Etanol (EtOH) + 30mg EHG	+	soluble
1mL de Metanol (MeOH) + 30mg EHG	+	soluble

Fuente: Elaboración propia

Leyenda:

Positivo (+)

Negativo (-)

Extracto hidroalcohólico de la *Punica granatum* (EHG)

El extracto hidroalcohólico de la cáscara, semilla y el zumo del fruto de *Punica granatum*, nos evidencia la solubilidad en los tres solventes utilizados: en agua, etanol y metanol.

3.8.4. Marcha Fitoquímica

3.8.4.1. Metabolitos Secundarios

3.8.4.1.1. Flavonoides

3.8.4.1.1.1. Rx. de Shinoda

1mL de extracto hidroalcohólico cáscara, semilla y el zumo de *Punica granatum* + 1 trozo de Mg Metálico + 5 gotas de HCl, se observó una coloración roja, indica positivo.

3.8.4.1.2. Alcaloides

3.8.4.1.2.1. Dragendorff

1mL de extracto hidroalcohólico de cáscara, semilla y el zumo de *Punica granatum* + 5 gotas Dragendorff (yoduro de bismuto y potasio), se observó el cambio de coloración rojo a naranjado, indica positivo.

3.8.4.1.2.2. Mayer

1mL de extracto hidroalcohólico de cáscara, semilla y el zumo de *Punica granatum* + 5 gotas Mayer (yoduro de bismuto y potasio), se observó una coloración blanco inmediato, indica positivo.

3.8.4.1.3. Compuestos Fenólicos

3.8.4.1.3.1. Cloruro Férrico

1mL de extracto hidroalcohólico de cáscara, semilla y el zumo de *Punica granatum* + 5 gotas del reactivo $FeCl_3$, se observó una coloración verde azulado, indica positivo.

3.8.4.1.4. Taninos

3.8.4.1.4.1. Gelatina/NaCl

1mL de extracto hidroalcohólico de cáscara, semilla y el zumo de *Punica granatum* + 5 gotas de la reactivo gelatina, se observó un color blanco, indica positivo.

3.8.4.1.5. Saponinas

3.8.4.1.5.1. Prueba de Espuma

1 tubo de ensayo se agrega 0.5g de extracto hidroalcohólico de cáscara, semilla y el zumo de *Punica granatum* + 10mL de agua destilada. Agitar por 30 minutos no se observó presencia de saponinas, reacción Negativo

3.8.5. Cuantificación de Polifenoles Totales (Ácido Gálico)

Preparación de la curva de calibración: Se utilizaron las concentraciones de, 10 mg%, 20 mg%, 30 mg% y 40 mg% de ácido gálico para construir la curva de calibración

Tabla N°2: protocolo de método para determinar polifenoles

polifenoles	Blanco	St	Muestra
Extracto	----	---	0,5
St Acído Gálico	----	0,5	----
Folin Ciocalteu (1:1)	1.0	1.0	1.0
Na ₂ CO ₃ 7,5 g%	1.0	1.0	1.0
Agua destilada	0,5	---	---

Fuente: Elaboración propia

- ✓ Se coloca en Baño de María a temperatura 50 ° C por 45 minutos.
- ✓ Dejar enfriar por 15 minutos.
- ✓ Se calcula la concentración de Fenoles Totales expresados como acido Gálico en mg %.

3.8.6. Cuantificación de Flavonoides del Extracto del Zumo de Granada

El contenido de flavonoides expresado como Quercetina se realizó por el método espectrofotométrico propuesto por Geissman. Se preparó soluciones estándares de Quercetina (de concentraciones de 1, 2, 3, 4, 5 mg %) para la curva de Calibración y diluciones del extracto, luego de adicionar los reactivos se mezclaron los tubos y luego del reposo de 30 minutos, las absorbancias fueron determinadas a 415 nm.

La concentración de flavonoides totales del extracto se expresó en mg de Quercetina por 100 mL de solución de extracto

Tabla N°3: Protocolo de método para determinación de flavonoides

Flavonoides	Blanco	St	Extracto
Standar	---	0,3 ml	---
Extracto	---	---	0,3 ml
Agua destilada	0,3 ml	---	---
AlCl3 5 %	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml
Acetato K 0.2 M	0,1 ml	0,1 ml	0,1 ml

Fuente: Elaboración propia

- ✓ Mezclar, reposo de 30 minutos a temperatura ambiente.
- ✓ Leer las absorbancias a 415 nm.
- ✓ Calculo de Flavonoides, como Quercetina mg %

$$[MP] = \frac{[St]}{Ab_{st}} \cdot Ab_{MP} \cdot Fd$$

3.8.7. Cuantificación de Antocianinas (Como Cianidina) por Método de pH Diferencial

Método espectrofotométrico que se basa en la transformación estructural de las antocianinas con el cambio de pH (pH 1 coloreadas y pH 4.5 incoloras). Se prepararon diluciones del extracto con solución buffer pH 1.0 de cloruro de potasio y con solución buffer pH 4.5 de acetato de sodio.

Se midió la absorbancia de cada muestra a la longitud de onda de máxima absorbancia (max=510 nm) y a 700 nm.

De la ecuación de Lambert-Beer se obtiene la concentración de Cianidina (mg/L):

$$C \text{ (mg/L)} = A \cdot PM \cdot 103 \cdot Fd / \epsilon \cdot l$$

Donde:

A: es la absorbancia,

ϵ : coeficiente de extinción molar (26900 L/cm* mol^{-1}) l: es la longitud de recorrido en cm.

Fd: Factor de dilución

PM: Peso molecular de la Cianidina (449.2 g (mol))

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

3.8.8. Determinación de Actividad Antioxidante por Secuestro de Radicales ABTS

La generación del radical 2,2'-azino-bis (3- ethylbenzo-thiazoline-6-sulfonic ácido) diammonium salt (ABTS) de Sigma ABTS constituye la base de uno de los métodos espectrofotométricos que han sido aplicados para medir la capacidad antioxidante total de soluciones o sustancias puras y mezclas acuosas según Re et al, 1999. La técnica mejorada para la generación del radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$, implica la producción directa del cromóforo $\text{ABTS}^{\bullet+}$ verde-azul a través de una reacción entre ABTS y persulfato de potasio ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$). La adición del antioxidante al radical pre-formado lo reduce, de esta manera el grado de decoloración como porcentaje de inhibición está determinado en función a la concentración.

Se ensaya a diferentes concentraciones de extracto hasta obtener valores de absorbancia alrededor del 50 % de la absorbancia del Control ABTS, se grafica la recta para obtener la concentración de antioxidante necesario para reducir al 50% la absorbancia inicial de $\text{ABTS}^{\bullet+}$ la cual denominamos IC50.

Tabla N°4: Protocolo del método para determinar antioxidantes

Antioxidante	Blanco	Control	Muestra
Extracto	---	- -	50 uL.
Alcohol	1 ml	50 uL.	---
ABTS	---	950 uL.	950 uL.

Fuente: Elaboración propia

- ✓ Mezclar, reposar por 7 min a temperatura ambiente.
- ✓ Leer a 734 nm.
- ✓ Mezclar y reposar por 7 minutos y leer a 734 nm.
- ✓ Las determinaciones se realizaron por triplicado. Los resultados se expresan como CI50% la concentración de extracto que reduce a la mitad de la absorbancia del tubo control (ABTS).

3.9. Componente Ético de la Investigación

El procedimiento de análisis de datos con respecto al estudio, se realizó con una metodología apropiada que asegure que los resultados responderán a las preguntas que originaron el estudio y los datos obtenidos han sido utilizados exclusivamente para la presente tesis.

3.10. Procesamiento y Análisis de Datos

Los datos serán presentados mediante medidas de tendencia central frecuencia y gráficos empleando el software estadístico Excel.

Para realizar el análisis estadístico de los resultados se procedió a utilizar las estadísticas descriptivas de promedios. Todos estos procedimientos se realizaron utilizando el programa Excel versión 10.

4. RESULTADOS

4.1. Prueba de solubilidad del Extracto Hidroalcohólico de *Punica granatum*

Tabla N° 5: Prueba de solubilidad del extracto hidroalcohólico de la cáscara, semilla y el zumo de *Punica granatum*.

Reacciones	Interpretaciones	Resultados
1mL de Agua (H ₂ O) + 30mg EHG	+	soluble
1mL de Etanol (EtOH) + 30mg EHG	+	soluble
1mL de Metanol (MeOH) + 30mg EHG	+	soluble

Fuente: Elaboración propia

Leyenda:

Positivo (+)

Negativo (-)

Extracto hidroalcohólico de la *Punica granatum* (EHG)

El extracto hidroalcohólico de la cáscara, semilla y el zumo del fruto de *Punica granatum*, nos evidencia la solubilidad en los tres solventes utilizados: en agua, etanol y metanol.

4.2. Marcha Fitoquímica del Extracto Hidroalcohólico de *Punica granatum*

Tabla N° 6: Marcha Fitoquímica del extracto hidroalcohólico de cáscara, semilla y el zumo de *Punica granatum*

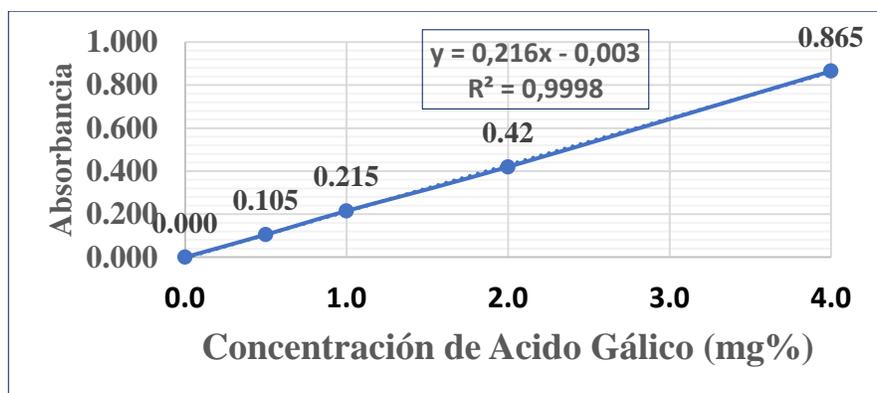
Metabolitos	Ensayos	Evidencias de cascara, sumo y semilla	Cáscara	Semilla	Zumo
Flavonoides	Rx. De Shinoda	coloración roja	+	+	+
Alcaloides	Dragendorff	precipitado o coloración rojo naranja	+	+	+
	Mayer	precipitado blanco inmediato	+	+	+
Compuestos Fenólicos	FeCl ₃	coloración verde azulado	+	+	+
Taninos	Gelatina/NaCl	precipitado blanco	+	+	+
Saponinas	Prueba de espuma	Negativo	-	-	-

Fuente: Elaboración propia

El extracto hidroalcohólico de la cáscara, semilla y el zumo del fruto de *Punica granatum* nos demuestra positivos (+) para los siguientes metabolitos: flavonoides, Alcaloides, compuestos Fenólicos, taninos y para saponinas indica negativo (-) en los tres extractos.

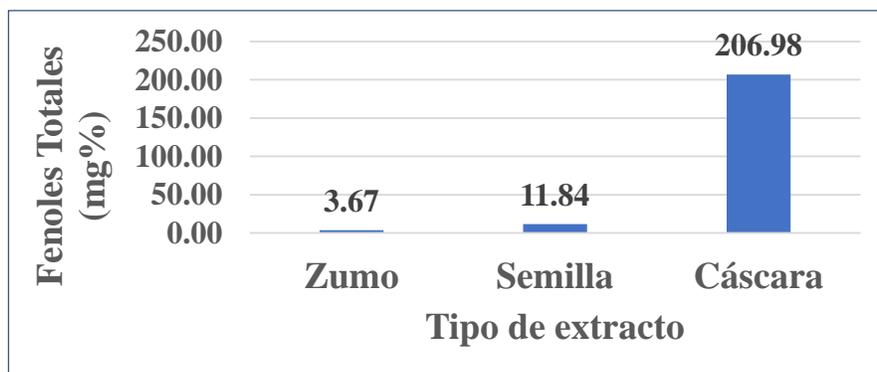
4.3. Determinación de Fenoles Totales (como Ácido Gálico)

Figura N° 1: Curva de Calibración Acido Gálico



Fuente: Elaboración propia

Figura N°2 Fenol Totales (mg%) en los extractos

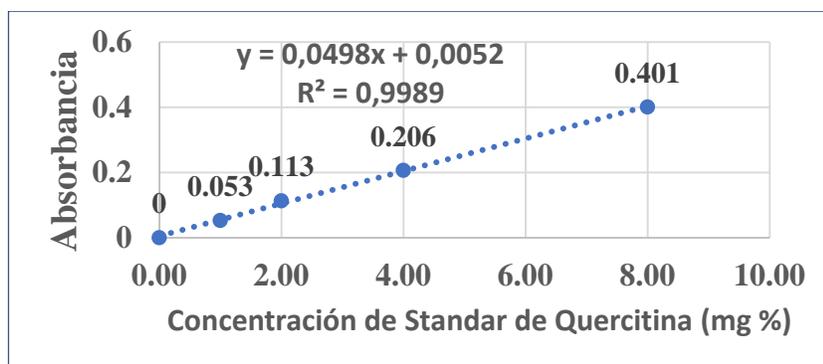


Fuente: Elaboración propia

- En cuanto a la curva de calibración con ácido gálico la concentración fue de menor a mayor dando un resultado favorable para los fenoles totales.
- En la determinación de fenoles totales los resultados fueron: zumo con un 3.67%, semilla con un 11.84% y la cascara con 206.98%.

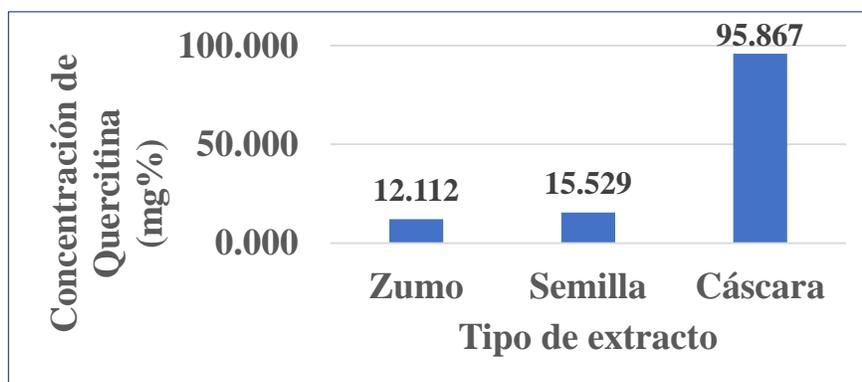
4.4. Cuantificación de Flavonoides en Extractos

Figura N° 3: Curva de Calibración de Flavonoides (Quercetina mg%)



Fuente: Elaboración propia

Figura N° 4: Flavonoides como Quercetina (mg%) en extractos

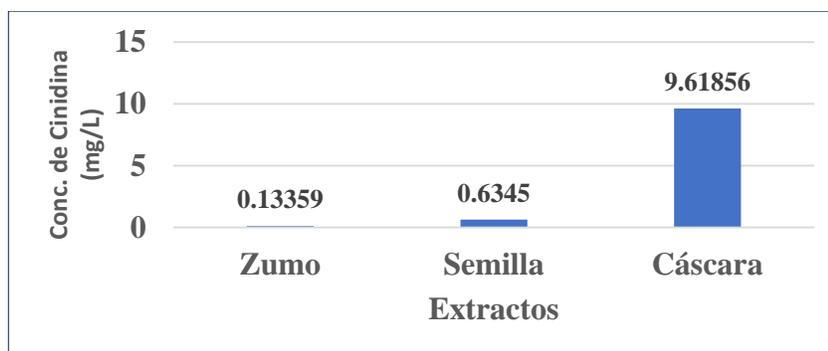


Fuente: Elaboración propia

- La curva de calibración con Quercetina para flavonoides, el resultado fue de menor a mayor para concentración de estándar de Quercetina en la cual presenta un resultado favorable.
- Los flavonoides presentes con la concentración de Quercetina fueron: para el zumo 12.112%, para la semilla 15.529% y para la cascara 95.867%

4.5. Cuantificación de Antocianinas (como Cianidina) por el Método del pH Diferencial

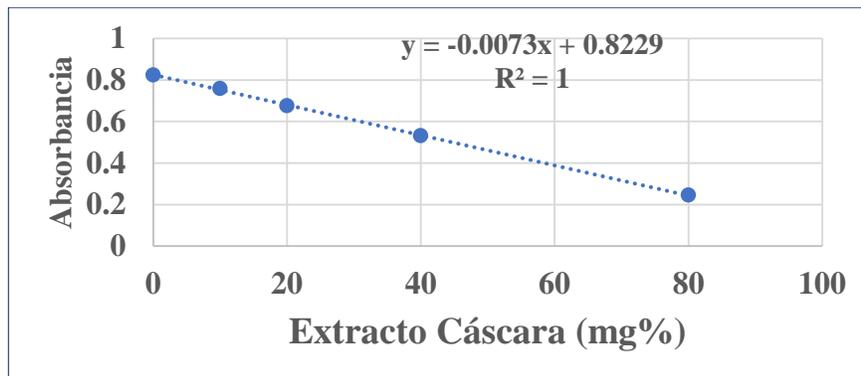
Figura N° 5: Concentración promedio de Cianidina en los extractos (mg/L)



Fuente: Elaboración propia

4.6. Determinación de Capacidad Antioxidante por Secuestro de Radicales ABTS

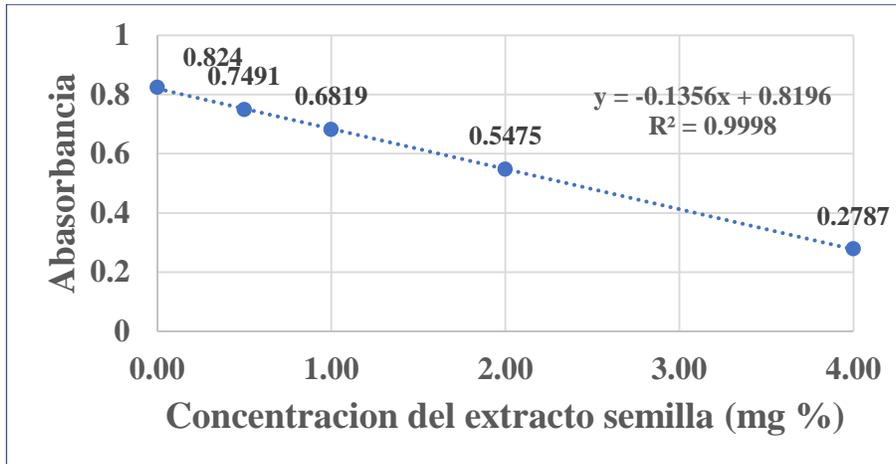
Figura N° 6: Capacidad Antioxidante del extracto de la cáscara por el método ABTS



Fuente: Elaboración propia

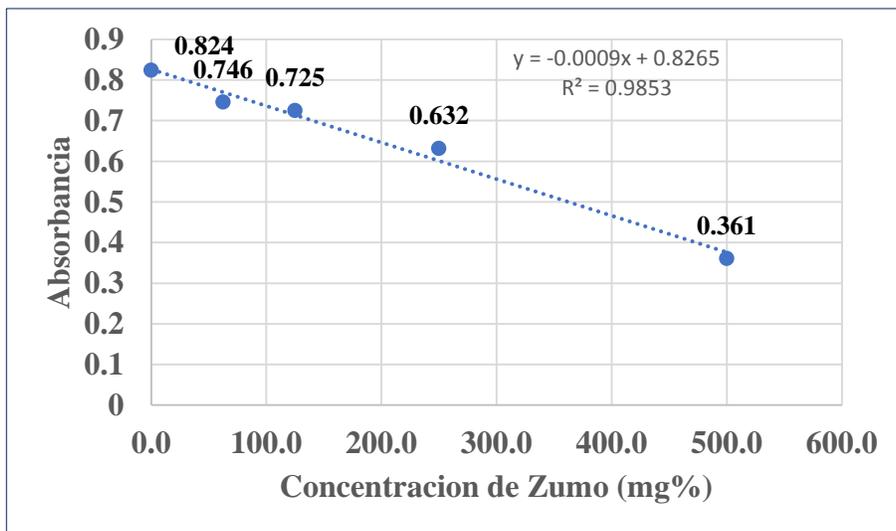
- La concentración promedio de Cianidina en extractos fueron: zumo 0.13359mg, semilla y 0.6345mg, cascara 9.61856mg.
- Capacidad Antioxidante del extracto de la cáscara por el método ABTS fue: cuanto más alto fue la absorbancia más concentrado fue su capacidad antioxidante de la semilla de *Punica granatum*.

Figura N° 7: Capacidad Antioxidante del extracto hidroalcohólico de la semilla por el método ABTS



Fuente: Elaboración propia

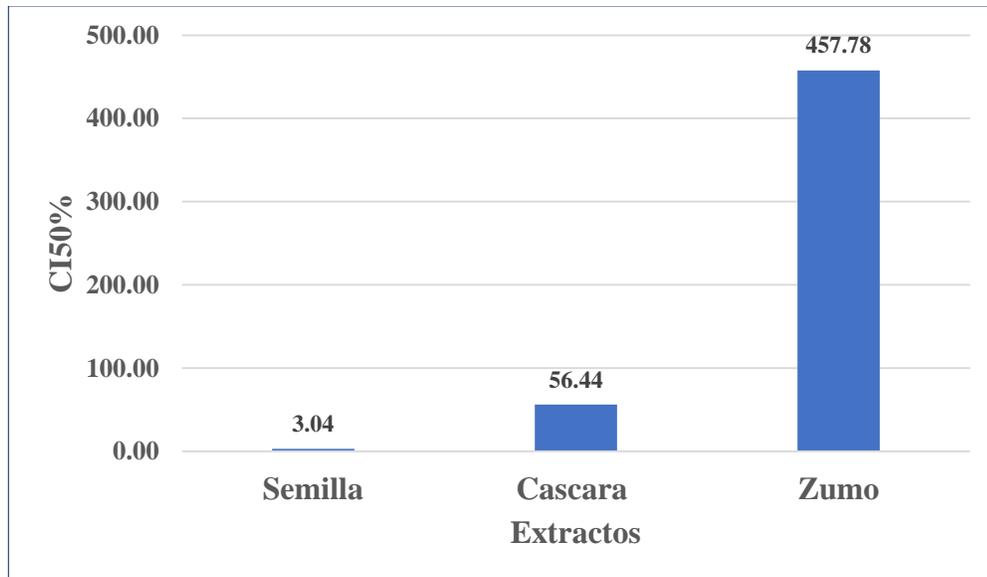
Figura N° 8: Capacidad antioxidante del Zumo por el método ABTS



Fuente: Elaboración propia

- Capacidad Antioxidante del extracto hidroalcohólico de la semilla por el método ABTS: Cuanto más alto fue su absorbancia más concentrado fue su capacidad antioxidante en la semilla.
- Capacidad antioxidante del Zumo por el método ABTS: Cuanto más alto fue su absorbancia más concentrado fue su capacidad antioxidante en el zumo.

Figura N° 9: Concentración Inhibitoria al 50 % (CI50%) de los Extractos por el método de ABTS



Fuente: Elaboración propia

- Concentración Inhibitoria al 50 % (CI50%) de los Extractos por el método de ABTS fue: semilla 3.04%, cáscara 56.44% y zumo 457.78%.

5. DISCUSIÓN

Las diferentes propiedades del fruto *Punica granatum* es reportado por diferentes estudios de investigación que corrobora el presente trabajo de investigación. Arbaiza Fructuoso J y colaboradores el año 2014 en la ciudad de Trujillo reportaron el trabajo de investigación de la Capacidad antioxidante del zumo y de los extractos hidroalcohólico y acuosos obtenidos del fruto *Punica granatum* y su relación con el contenido de polifenoles concluyendo que en el extracto hidroalcohólico de la cáscara presenta mayor capacidad antioxidante mediante la prueba DPPH que en el zumo de la fruta resultados muy parecidos al estudio que reportamos pero realizados mediante el método de ABTS donde concluimos que la cáscara presenta mayor capacidad antioxidante que en el zumo.(14)

Lon Kan Prado y colaboradores el año 2015 en la ciudad de Lima, reportaron el trabajo de investigación Efecto de los métodos físicos por presión y reducción de partículas por cortado en la capacidad antioxidante del zumo del fruto *Punica granatum* (granada) concluyeron que el zumo presenta actividad antioxidante por el método ABTS además reportaron que la actividad antioxidante está relacionado con los contenidos de los compuestos s secundarios con capacidad antioxidante como la vitamina C, compuestos fenólicos y taninos; dichos resultados son semejantes al trabajo de investigación que se reporta.(24)

En Lima año 2019 por intermedio del Ministerio de Agricultura mediante la Dirección General de Políticas Agrarias mediante el informe El Perú Primero reporta el estudio “La granada: Nueva estrella de los Agros exportadores Peruana” donde se describe las generalidades del fruto *Punica granatum* (granada), composición química, consumo y usos de la granada resaltando la capacidad antioxidante por la familia de polifenoles expresado como ácido gálico que contiene el fruto tal como se reporta en el trabajo de investigación con mayor contenido de polifenoles en la cáscara, seguidos en la semilla y con menor concentración en el zumo.(25)

6. CONCLUSIONES

1. Se identificó las concentraciones de la capacidad antioxidante en el extracto hidroalcohólico de cáscara, semilla y el zumo del fruto de *Punica granatum*. Los resultados fueron: cáscara (83.484%), semilla (38.092%), zumo (5.000%).
2. Se determinó las concentraciones de fenoles totales en el extracto hidroalcohólico de cáscara, semilla y el zumo del fruto de *Punica granatum*. Los resultados fueron: cáscara (206.98%), semilla (11.84%), zumo (3.67).
3. Se determinó las concentraciones de flavonoides en el extracto hidroalcohólico de cáscara, semilla, y el zumo del fruto de *Punica granatum*. Los resultados fueron: cáscara (95.867%), semilla 15.529%, zumo (12.112%).
4. Se determinaron las concentraciones de antocianinas en el extracto hidroalcohólico de cáscara, semilla y el zumo del fruto de *Punica granatum*. Los resultados fueron: cáscara (9.618), semilla (0.6345), zumo (0.13359).

7. RECOMENDACIONES

La recomendación se hace énfasis en realizar trabajos de investigación para generar aportes en conocimientos hacia la población, y dar la utilidad de los resultados encontrados. Polifenoles, flavonoides, antocianinas y su actividad antioxidante. Los cuales deben ser empleados en la industria farmacéutica como tratamiento alternativo, ya que sería de bajo costo y accesible para el consumidor. Por lo tanto se recomienda a los investigadores hacer más estudios de las plantas medicinales que existen en nuestro país, empleando nuevos métodos y técnicas analíticas.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Bell Cortez, C. A. (2018). Efecto del extracto hidroalcohólico del fruto de granada (*Punica granatum*) presentada en forma de gel farmacéutico en el tratamiento de las hemorroides. *Ciencia y Desarrollo*, 18(1), 15. <https://doi.org/10.21503/cyd.v18i1.1084>.
2. Elena, D., Lon, E., Prado, K. A. N., Carlos, M., Lon, A., & Prado, K. A. N. (2015). Efecto de los métodos físicos por presión y reducción de partículas por cortado en la capacidad antioxidante del zumo de granada (*Punica granatum*).
3. Farmacia Bioquímica, E. Y., Escobar Figueroa, B., Jaquely Br Quispe Quispe, B., Asesor, L., Veliz, F., Miguel Co-asesor, L., & Gallardo Jugo, Q. (2017). Facultad De Farmacia Y Bioquímica Tesis Para Optar El Título Profesional De Químico Farmacéutico Presentado Por.
4. Pozo, I., & Luis, S. (n.d.). (J,alfu).
5. 12 N- TSIA-4(1)-Lopez-Mejia-et-al-2010, variedades, cultivo y consumo y uso. (n.d.).
6. Marta Gil Paban. (2014). Trabajo Fin de Grado. Zagan.Unizar.Es, 157. Retrieved from <http://zagan.unizar.es/TAZ/EUCS/2014/14180/TAZ-TFG-2014-408.pdf>
7. Arana, I. M. P. C. C., & ROCHA, R. C. T. S. (2016). Universidad Inca Garcilaso De La Vega Nuevos Tiempos, Nuevas Ideas. 1–140.
8. Tamara, V., & Nanjarí, V. (2016). UNIVERSIDAD TÉCNICA FEDERICO SANTA MARÍA Departamento de Ingeniería Química y Ambiental. 1–82.

9. Lama, A., & Tezén, P. (2017). Estudio de perfectibilidad de la implementación de una empresa procesadora de arilos de granada y jugo concentrado de maracuyá para su exportación al mercado europeo.
10. Farmacia Bioquímica, E. Y., Escobar Figueroa, B., Jaquely Br Quispe Quispe, B., Asesor, L., Veliz, F., Miguel Co-asesor, L., & Gallardo Jugo, Q. (2017). Facultad De Farmacia Y Bioquímica Tesis Para Optar El Título Profesional De Químico Farmacéutico Presentado Por.
11. Alzate Tamayo, L. M., Jimenez Cartagena, C., & Londoño Londoño, J. (2011). Aprovechamiento de residuos agroindustriales para mejorar la calidad sensorial y nutricional de productos.
12. Avícolas TT - Use of agricultural industry waste to improve the sensory and nutritional quality of poultry products TT - Aproveitamento de resíduos. Produção + Limpia, 6(1), 108–127. Retrieved from http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1909-04552011000100010&lang=pt.
13. Luz, B., Llaguento, F., Yesenia, B., & Romero, Y. (2014). Evaluación de la extracción de aceite de la semilla de granada (*Punica granatum*), mediante el método de.
14. Fructuoso, J. A., Reyes, S. R., Venegas, E., Romero, D. R., & Burgos, K. C. (2014). CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL ZUMO Y DE LOS EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICO Y ACUOSO OBTENIDOS DE *Punica granatum* Y SU RELACIÓN CON EL CONTENIDO DE POLIFENOLES. *Pharmaciencia*, 2(2), 50–55.
15. Yubicsa, G. E. J., & Janira, T. B. L. (2016). Caracterización fisicoquímica y estabilidad oxidativa del aceite de semilla de granada (*Púnica Granatum*), 1–104.

16. Tania, B., & Masias, E. (2019). Facultad de Ingeniería Industrial Facultad de Ingeniería Industrial.
17. Lucio, P., Estefani, K., Cárdenas, T., Alexander, C., Roger, M. G. Q. F., & Rengifo, A. (n.d.). FA TE AC.
18. Vásquez, F. de M. (2016). Condiciones óptimas de extracción de antocianinas de la cáscara de la granada (*Punica granatum L.*) variedad Wonderful. 45. Retrieved from [http://repositorio.ulcb.edu.pe/bitstream/handle/ULCB/29/INFORME_FINAL_2015- F. VASQUEZ.pdf? Sequence=1&isAllowed=y](http://repositorio.ulcb.edu.pe/bitstream/handle/ULCB/29/INFORME_FINAL_2015-F_VASQUEZ.pdf?Sequence=1&isAllowed=y).
19. Robusto, C., Un, P., & Boost, C. (2013). Universidad tecnológica de la mixteca.
20. Desarrollo, A. Y., Calidad, A. C., Capacidad, Y., De, A., Lisdeth, Q. A. S., & Pacheco, G. (2015). CALIDAD Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE SALCHICHAS DE CERDO ADICIONADAS CON JUGO Y CÁSCARA DE GRANADA (*Punica granatum L.*). 91.
21. Manouchehrian, M., Shakiba, M., Shariat, M., Hassan Lotfi, M., Kamalinejad, M., & Babaeian, M. (2017). The Effect of Pomegranate Paste on Neonatal Jaundice Incidence:
22. A Clinical Trial in Women during Pregnancy. International Journal of Clinical Medicine, 08(03), 144–151. <https://doi.org/10.4236/ijcm.2017.83014>.
23. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL ZUMO Y DE LOS EXTRACTOS HIDROALCOHÓLICO Y ACUOSO OBTENIDOS DE *Punica granatum* Y SU RELACIÓN CON EL CONTENIDO DE POLIFENOLES. (2014). Pharmacia, Vol. 2, pp. 50–55.

24. Elena, D., Lon, E., Prado, K. A. N., Carlos, M., Lon, A., & Prado, K. A. N. (2015). Efecto de los métodos físicos por presión y reducción de partículas por cortado en la capacidad antioxidante del zumo de granada (*Punica granatum*).

25. Becerra Sánchez, J. J. (2019). La granada: nueva estrella de las agroexportaciones peruanas. 17.

9. ANEXOS

9.1. Matriz de consistencia

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS GENERAL	TIPO DE INVESTIGACION	CRITERIO DE EXCLUSIÓN
<p>¿El extracto hidroalcohólico de la cáscara, semilla y el zumo de fruto de <i>Punica granatum</i> Var. Wonderfull tendrá compuestos polifenólicos?</p> <p>¿El extracto hidroalcohólico de la cáscara, semilla y el zumo de fruto de <i>Punica granatum</i> Var. Wonderfull tendrá actividad antioxidante?</p> <p>PROBLEMAS ESPECIFICOS</p> <p>¿Cuál es la concentración de polifenoles presentes en la cáscara, semilla y el zumo del extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Punica granatum</i> Var. Wonderfull?</p> <p>¿Cuál es la concentración de flavonoides totales presentes en la cáscara, semilla y el zumo del extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Punica granatum</i> Var. Wonderfull?</p> <p>¿Cuáles son las concentraciones de antocianinas presentes en la cáscara, semilla y el zumo del extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Punica granatum</i> Var. Wonderfull?</p> <p>¿Cuál es la actividad antioxidante presente en la cascara, semilla y zumo del extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Punica granatum</i> Var. Wonderfull?</p>	<p>OBJETIVOS</p> <p>Realizar del extracto hidroalcohólico de la cáscara, semilla y el zumo de fruto de <i>Punica granatum</i> Var. Wonderfull con sus compuestos polifenólicos y actividades antioxidantes</p> <p>ESPECIFICOS</p> <p>Determinar las concentraciones de polifenoles presentes en la cáscara, semilla y el zumo del extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Punica granatum</i> Var. Wonderfull</p> <p>Identificar la concentración de flavonoides totales presentes en la cáscara, semilla y el zumo del extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Punica granatum</i> Var. Wonderfull</p> <p>Determinar las antocianinas presentes en la cáscara, semilla y el zumo del extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Punica granatum</i> Var. Wonderfull</p> <p>Identificar la actividad antioxidantes presentes en la cáscara, semilla y el zumo del extracto hidroalcohólico del fruto de <i>Punica granatum</i> Var. Wonderfull</p>	<p>Implícita</p>	<p>De acuerdo al propósito de la investigación se considera Experimental</p> <p>NIVEL DE INVESTIGACION</p> <p>La investigación es de nivel Experimental, porque se dieron a conocer las características de la variable de estudio, es decir la identificación de los compuestos polifenólicos y la actividad antioxidante de <i>Punica granatum</i>.</p>	<p>La unidad de análisis estuvo conformada por el extracto hidroalcohólico de los frutos de <i>Punica granatum</i> (Granada), en el laboratorio de la facultad de ciencias de la salud de la universidad María Auxiliadora.</p> <p>CRITERIOS DE INCLUSIÓN</p> <p>Los frutos de la planta de <i>Punica granatum</i></p> <p>CRITERIOS DE EXCLUSIÓN</p> <p>Las semillas, cascara y zumo de la planta de <i>Punica granatum</i></p> <p>DISEÑO DE INVESTIGACION</p> <p>Experimental</p>

9.2. Instrumento de Recolección de Datos

Procedimiento de recolección y selección del fruto de *Punica granatum* (granada)



lugar de recolección mercado de frutas- San Luis - Lima



Fuente: Elaboración propia
Separación de cáscara y arilo

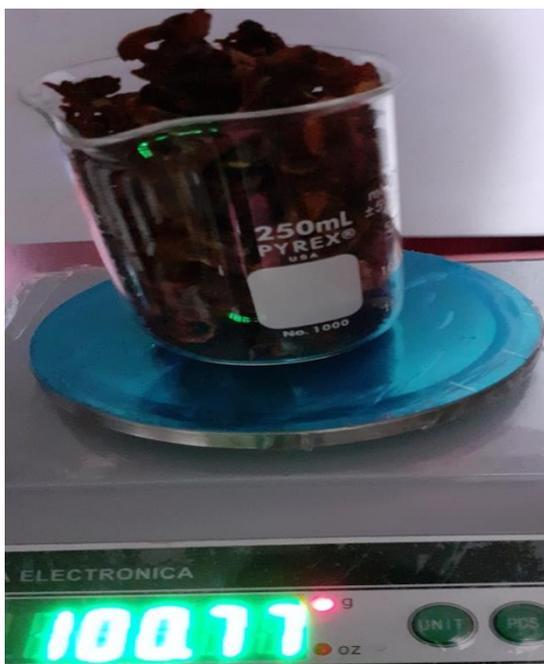


Fuente: Elaboración propia
Separación de las partes cáscara,
semilla y arilo



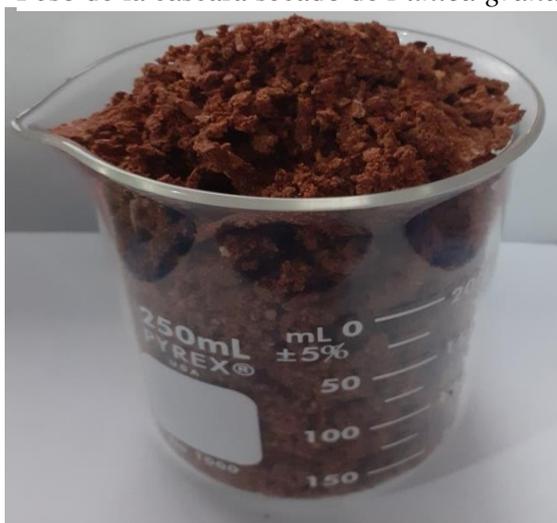
Peso de la cáscara 562g

Proceso de secado de la cáscara en estufa a temperatura de 40 °C por 10 días



Fuente: elaboración propia

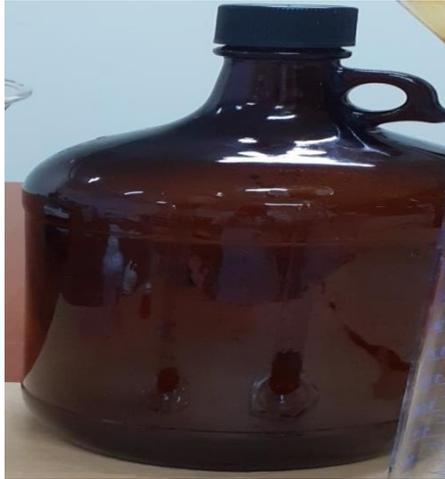
Peso de la cáscara secado de *Punica granatum* fue 182g



Fuente: elaboración propia

Peso de la cáscara molida de *Punica granatum* fue 178.04g.

Proceso de maceración de las cáscara de *Punica granatum*



Fuente: elaboración propia
Extracto hidroalcohólico de la cáscara de *Punica granatum*
Solventes utilizados agua destilada, alcohol al 70%
Maceración por 7 días



Proceso de filtración
Utilizó papel filtro, probeta



Fuente: elaboración propia



Se pesó en un beaker con balanza analítica
Del extracto filtrado de la cáscara

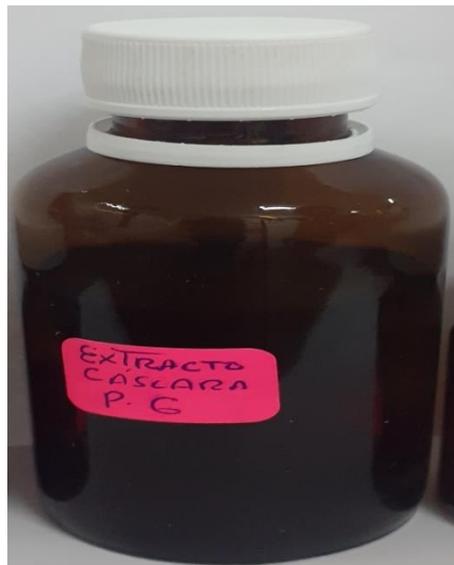
Proceso de disecado de la cáscara de *Punica granatum* mediante ROTAVAPOR

Extracto filtrado de la cáscara



Fuente: Elaboración propia

Muestra disecado de la cáscara de *Punica granatum* mediante ROTAVAPOR por 5 horas aproximadamente.



Resultado obtenido del principio activo de la cáscara de *Punica granatum*

Proceso de separación de arilo y semilla de *Punica granatum*



Peso de la semilla fresca fue de 333.66g
Se llevó al proceso de secado mediante estufa a temperatura de 40°C por 10 días



Fuente: Elaboración propia
Peso de la semilla fue 131.17g



Fuente: Elaboración propia
Peso de la semilla fue 129.66g

Proceso de maceración de semilla de *Punica granatum*



Fuente: Elaboración propia
Extracto hidroalcohólico de la cáscara de *Punica granatum*
Solventes utilizados agua destilada, alcohol al 70%
Maceración por 7 días



Proceso de filtración
Se utilizó papel filtro, probeta



Fuente Elaboración propia

Peso del extracto filtrado de la semilla de *Punica granatum* fue 100.16 g

Proceso de disecado del extracto filtrado de la semilla de Punica granatum



Proceso de disecado se realizó mediante ROTAVAPOR por 5 horas aproximadamente



Resultado obtenido del principio activo de la semilla de Punica granatum

Proceso de extracción de zumo de *Punica granatum*



Fuente: Elaboración propia
Peso de arilo fresco fue 500g
Se procedió la extracción del zumo mediante presión



Filtración del zumo de *Punica granatum*
Se realizó en probeta con papel filtro



Fuente: Elaboración propia
Se midió en un beaker 150 mL del zumo filtrado
Para luego someter al disecado mediante estufa a temperatura de 40°C por 24 horas



Proceso de disecado del zumo de *Punica granatum* se colocó a una estufa a temperatura de 40°C por 24 horas.

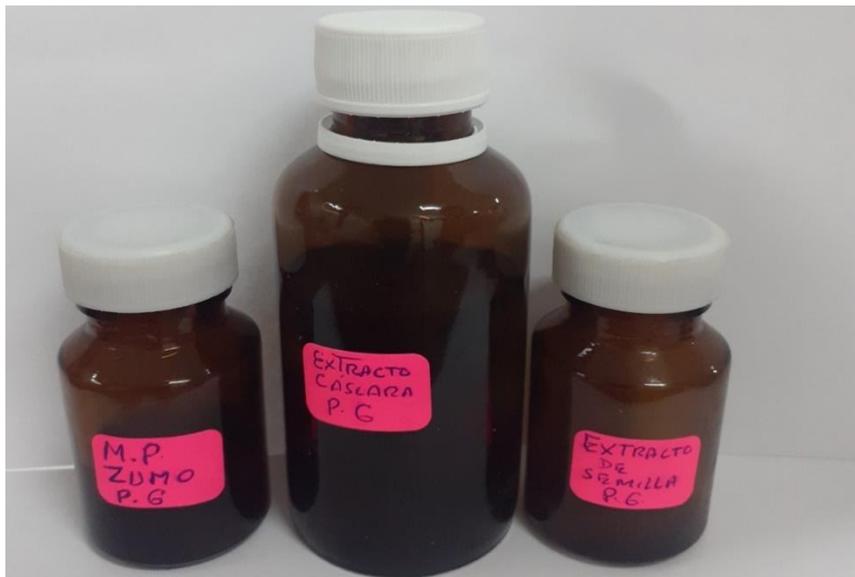
Proceso de disecado del zumo de *Punica granatum*



Fuente: elaboración propia



Principio activo obtenido del zumo de *Punica granatum* fue 33.7377g



Extracto obtenido de cáscara, semilla y el zumo de *Punica granatum*

Estudio de Marcha Fitoquímica



Fuente: elaboración propia
Muestras utilizados para el estudio de marcha Fitoquímica



Reactivos utilizados para el estudio de marcha Fitoquímica

Fuente: Elaboración propia

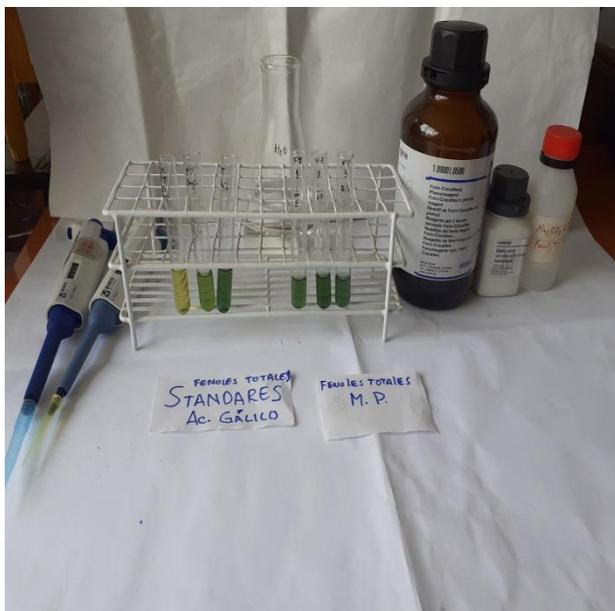


Reacción FeCl_3 con muestras de cáscara, semilla y zumo de *Punica Granatum*



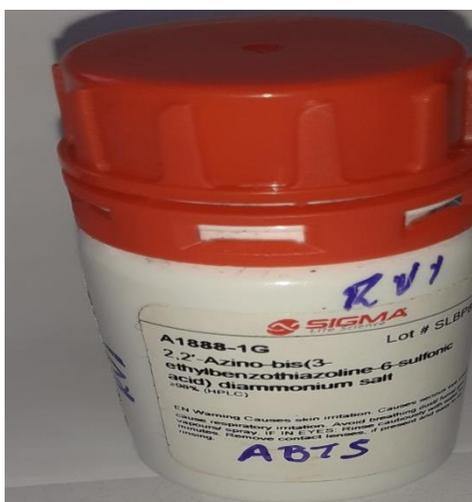
Reacción con Mg metálico con muestra de cáscara, semilla y zumo de *Punica granatum*

Cuantificación y determinación de polifenoles y actividad antioxidante por el método ABTS



Fuente: elaboración propia

Resultados obtenidos con reactivo Ac Gálico



Fuente: elaboración propia



Resultados obtenidos con reactivo ABTS y muestra problema de cáscara, semilla y zumo de *Punica granatum*