



UNIVERSIDAD ESTATAL DE BOLIVAR
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD Y DEL SER
HUMANO
ESCUELA DE ENFERMERÍA

TÍTULO DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

“ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA *IN VITRO* DE CONCENTRADOS PROTEICOS DE MAÍZ PÚRPURA (*Zea mays*) Y FRÉJOL ROJO (*Phaseolus vulgaris*) COMO MEDIDA PALIATIVA AL USO DE MEDICAMENTOS”.

PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE LICENCIADAS EN
CIENCIAS DE LA ENFERMERÍA

AUTORAS:

ALEXANDRA ESTHEFANIA PAUCAR LLUMIGUANO

SANDRA TATIANA TAMAMI HURTADO

TUTOR:

ING. EDGAR MARCELO VILCACUNDO CHAMORRO MSc.

GUARANDA – ECUADOR

JULIO-DICIEMBRE 2018

TÍTULO

“ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA *IN VITRO* DE CONCENTRADOS PROTEICOS DE MAÍZ PÚRPURA (*Zea mays*) Y FRÉJOL ROJO (*Phaseolus vulgaris*) COMO MEDIDA PALIATIVA AL USO DE MEDICAMENTOS”.

DEDICATORIA

Dedico el trabajo de investigación a Dios quien me ha dado la oportunidad de vivir, a mi hijo que es mi felicidad, mi fortaleza de seguir adelante, y buscar lo mejor para él.

A mis queridos padres, Segundo y Hortensia quienes con su sacrificio y esfuerzo diario e incondicional me llevaron alcanzar y culminar mis metas propuestas al inicio de mi carrera académica y a todas aquellas personas que fortalecieron mi deseo de triunfo por el apoyo incondicional que me han brindado, para hoy ver cristalizados mis sueños.

Alexandra Paucar

Este presente proyecto de investigación dedico a Dios por habernos dado la vida y estar junto a nosotros en todo el proceso de formación y conclusión del trabajo de titulación.

A mis padres, hermanas y hermano, que han sido mi apoyo en este largo proceso de formación profesional.

A mi querido esposo por haber sido mi apoyo incondicional quien con su amor y confianza contribuyo alcanzar mis objetivos.

A mí amada hija Sofía quien ha sido mi mayor motor de continuar para poder llegar a conseguir el sueño tan anhelado.

Sandra Tamami

AGRADECIMIENTO

A la universidad estatal de bolívar, forjadora del conocimiento, sitial de experiencias transformadoras del que hacer educativo la cual abrió sus puertas a jóvenes como nosotros, preparándonos para un futuro competitivo y formándonos como personas de bien.

A la facultad de ciencias de la salud y del ser humano, a nuestros docentes a quienes debemos gran parte de nuestros conocimientos, gracias a su paciencia y enseñanza.

Un agradecimiento especial al Proyecto Hidrolizados de proteínas de origen animal y vegetal con capacidad antimicrobiana y antioxidante para diferentes usos industriales. Al programa Conversión de deuda Ecuador-España por el financiamiento otorgado para la realización de este trabajo de investigación.

Al Ing. Marcelo Vilcacundo quien contribuyo con esfuerzo, dedicación y responsabilidad en guiarnos en el desarrollo del trabajo de investigación y poder concluir todas nuestras expectativas.

A la Ing. María Fernanda Quinteros quien con sus conocimientos, paciencia y dedicación supo guiarnos durante la fase experimental.

Alexandra Paucar

Sandra Tamami

ÍNDICE DE CONTENIDO

TÍTULO	2
DEDICATORIA	3
AGRADECIMIENTO	4
ÍNDICE DE CONTENIDO	5
ÍNDICE DE CUADROS Y TABLAS	7
CERTIFICADO DEL DIRECTOR	9
RESUMEN EJECUTIVO.....	10
ABSTRACT.....	12
INTRODUCCIÓN	13
CAPÍTULO I	15
PROBLEMA.....	15
1.1 Planteamiento del problema	15
1.2 Formulación del problema.....	15
1.3 Objetivos	16
1.3.1 Objetivo general.....	16
1.3.2 Objetivos específicos	16
1.4 Justificación.....	17
1.5 Limitaciones	18
CAPÍTULO II.....	19
MARCO TEÓRICO.....	19
2.1 Bases teóricas.....	19
2.1.1 Respuesta antiinflamatoria.....	19
2.1.2 Técnicas <i>in vitro</i>	19
2.1.3 Proteínas	19
2.1.4 Maíz púrpura (<i>Zea Mays</i>).....	20
2.1.5 Fréjol rojo (<i>Phaseolus vulgaris</i>).....	20
2.1.6 Antiinflamatorios no esteroideos AINES.....	21
2.1.7 Contraindicaciones a los medicamentos antiinflamatorios.....	22
2.1.8 Complicaciones al uso de medicamentos antiinflamatorios AINES.....	22
2.2 Definiciones de términos	23
2.3 Sistema de hipótesis	25

2.3.1 Determinación cuantitativa de proteína de concentrados proteicos de maíz púrpura y fréjol rojo.....	25
2.3.2 Actividad antiinflamatoria de concentrados proteicos de maíz púrpura y fréjol rojo.....	25
2.4 Sistema de variables	25
2.4.1 Variable dependiente.....	25
2.4.2 Variable independiente.....	25
CAPÍTULO III.....	26
MARCO METODOLÓGICO.....	26
3.1 Nivel de investigación	26
3.1.1 Tipo de investigación	26
3.2 Diseño experimental.....	26
3.2.1 Localización de la investigación	26
3.3 Técnicas e instrumentos (Metodología)	26
3.3.1 Materia prima	26
3.3.2 Obtención de harina de maíz púrpura (<i>Zea mays</i>) y fréjol rojo (<i>Phaseolus vulgaris</i>).....	27
3.3.3 Extracción de proteína	27
3.3.4 Cuantificación proteica de los concentrados.....	28
3.3.5 Actividad antiinflamatoria <i>in vitro</i>	28
3.4 Técnicas de procesamiento y análisis de datos	29
CAPITULO IV.....	30
LOGROS ALCANZADOS SEGÚN LOS OBJETIVOS PLANTEADOS, RESULTADOS Y DISCUSIÓN	30
CAPITULO V	35
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	35
5.1 Comprobación de hipótesis	35
Determinación cuantitativa de proteína de concentrados proteicos de maíz púrpura y fréjol rojo.	35
Actividad antiinflamatoria de concentrados proteicos de maíz púrpura y fréjol rojo.	35
5.2 Conclusiones	36
5.3 Recomendaciones.....	37
BIBLIOGRAFÍA	38
Anexos	43
Aspectos administrativos	47
Cronograma de actividades.....	49

ÍNDICE DE CUADROS Y TABLAS

CUADROS

Cuadro 1: Composición nutricional del “maíz morado”	20
Cuadro 2: Composición química del fréjol	21
Cuadro 3: Diseño experimental	26
Cuadro 4: Resultados según objetivos	30

TABLAS

Tabla 1: Porcentaje de proteína en concentrados proteicos de maíz púrpura y fréjol rojo.....	31
Tabla 2: % de inhibición de la actividad antiinflamatoria de maíz púrpura y patrón.....	32
Tabla 3: % de inhibición de la actividad antiinflamatoria del fréjol rojo y patrón.....	33
Tabla 4: Prueba ANOVA para el porcentaje de proteínas de maíz púrpura por pHs de solubilización y precipitación	45
Tabla 5: Prueba ANOVA para el porcentaje de proteínas de fréjol rojo por pHs de solubilización y precipitación.....	45
Tabla 6: Porcentaje de inhibición de maíz púrpura a concentración de 500 µg/ml a diferentes pHs de solubilización y precipitación.	45
Tabla 7: Porcentaje de inhibición de fréjol rojo a concentración de 500 µg/ml a diferentes pHs de solubilización y precipitación.	46

FIGURAS

Figura 1: Obtención de la harina a través del molino	43
Figura 2: Pesando las muestras	43
Figura 3: Proceso de agitación y ajuste	43
Figura 4: Proceso de centrifugación a pHs de solubilización 8.0 y 10.0	42
Figura 5: Muestras de maíz púrpura y fréjol rojo ajustadas a diferentes pHs de precipitación	43
Figura 6: Separando el sobrenadante del precipitado y pesado de la muestra	43
Figura 7: Proceso de secado de muestras para obtener las proteínas.....	44
Figura 8: Colocando en un tubo de ensayo 2mL de albumina de huevo, 2 mL de patrón diluido (muestra), 2,8 mL de tampón fosfato y agitamos	44
Figura 9: Colocando las muestras en una incubadora, luego en el baño maría finalmente sacamos y dejamos enfriar	44
Figura 10: Centrifugando las muestras	44
Figura 11: Midiendo la absorbancia de la muestra en el espectrofotómetro ...	45

CERTIFICADO DEL DIRECTOR

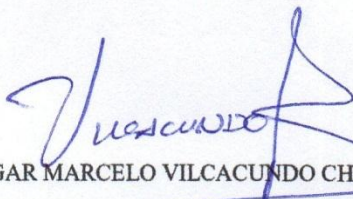
Guaranda, 13 de febrero del 2019

CERTIFICADO DEL DIRECTOR

El suscrito Ing. EDGAR MARCELO VILCACUNDO CHAMORRO MSc.
Director del proyecto de Investigación, como modalidad de titulación.

CERTIFICA

Que el proyecto de investigación como requisito para la titulación de grado, con el tema: “ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA *IN VITRO* DE CONCENTRADOS PROTEICOS DE MAÍZ PÚRPURA (*Zea maíz*) Y FRÉJOL ROJO (*Phaseolus vulgaris*) COMO MEDIDA PALIATIVA AL USO DE MEDICAMENTOS. 2018” realizado por las estudiantes ALEXANDRA ESTHEFANIA PAUCAR LLUMIGUANO con C.I. 0250034113 y SANDRA TATIANA TAMAMI HURTADO con C.I. 0250033396, ha cumplido con los lineamientos metodológicos contemplados en la Unidad de Titulación de la Carrera de Enfermería, para ser sometido a revisión y calificación por los miembros del tribunal nombrado por el Consejo Directivo de la Facultad y posteriormente a la sustentación pública respectiva.



Ing. EDGAR MARCELO VILCACUNDO CHAMORRO MSc.

DIRECTOR DEL PROYECTO DE TITULACIÓN

RESUMEN EJECUTIVO

El uso de antiinflamatorios no esteroideos (AINES) constituye el de mayor importancia para el tratamiento de procesos pre y post-operatorios. Aunque su efectividad es comprobada, se han determinado contraindicaciones, sobre todo, la afección de la mucosa gástrica. La utilización de alimentos vegetales con efectos medicinales se encuentra en constante desarrollo, aunque existe poca evidencia científica que compruebe las bio-actividades atribuidas a estos productos.

En esta investigación se aislaron concentrados proteicos de maíz púrpura y fréjol rojo para determinar la actividad antiinflamatoria, calculada a partir del porcentaje de inhibición comparado con un producto comercial (diclofenaco).

Como resultado del aislamiento de proteínas por punto isoelectrico, los concentrados obtenidos presentaron diferencias significativas en uno de los tratamientos, lo que determina la importancia del pH sobre la eficiencia del proceso de extracción.

Una vez realizada la actividad antiinflamatoria *in vitro* el porcentaje de inhibición máximo obtenido a un pH 8.0-5.0 para el maíz púrpura fue del 68,75% Vs. El 41,67 del producto comercial (diclofenaco 100 mg).

Para el caso del fréjol rojo el máximo porcentaje de inhibición fue del 50% a un pH 8.0-4.0 y 8.0-6.0 superando también al porcentaje de inhibición del patrón utilizado.

Aunque los resultados de esta investigación demuestran que los productos vegetales utilizados ancestralmente poseen una actividad antiinflamatoria importante, es necesario aclarar que, si bien no pueden ser considerados como un reemplazo definitivo al uso de medicamentos comerciales, si pueden ser considerados como suplementos nutricionales que coadyuven al tratamiento de afecciones con procesos inflamatorios. Se recomienda estudios posteriores a nivel molecular de caracterización de proteínas y pruebas *in vivo* para contrarrestar los resultados obtenidos.

Palabras claves: Maíz púrpura, fréjol rojo, proteínas, diclofenaco, actividad antiinflamatoria, *in vitro*.

ABSTRACT

The use of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) constitutes the most important for the treatment of pre and post-operative processes. Although its effectiveness is proven, contraindications have been determined, especially the affection of the gastric mucosa. The use of plant foods with medicinal effects is in constant development, although there is little scientific evidence to verify the bio-activities attributed to these products.

In this investigation, protein concentrates of purple corn and red beans were isolated to determine the anti-inflammatory activity, calculated from the percentage of inhibition compared with a commercial product (diclofenac).

As a result of the isolation of proteins by isoelectric point, the concentrates obtained showed significant differences in one of the treatments, which determines the importance of the pH on the efficiency of the extraction process.

Once the *in vitro* anti-inflammatory activity was performed, the maximum inhibition percentage obtained at pH 8.0-5.0 for purple corn was 68.75% Vs. 41.67 of the commercial product (diclofenac 100 mg).

In the case of red beans, the maximum percentage of inhibition was 50% at pH 8.0-4.0 and 8.0-6.0, also exceeding the percentage of inhibition of the standard used.

Although the results of this investigation show that the ancestrally used plant products possess an important anti-inflammatory activity, it is necessary to clarify that, although they can not be considered as a definitive replacement to the use of commercial medicines, if they can be considered as nutritional supplements that contribute to the treatment of conditions with inflammatory processes. Further studies at the molecular level of protein characterization and *in vivo* tests are recommended to counteract the results obtained.

Key words: Purple corn, red beans, proteins, diclofenac, anti-inflammatory activity, *in vitro*.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha despertado gran interés científico sobre la actividad antiinflamatoria debido a la evolución de enfermedades que inician con un proceso de inflamación. **(Gómez, González, & Medina, 2011)**

Proteínas son macromoléculas las cuales desempeñan el mayor número de funciones en las células de los seres vivos, forman parte de la estructura básica de tejidos durante todos los procesos de crecimiento y desarrollo. **(Laura, Téllez, Sampedro, & Nájera, 2007)**

El maíz púrpura pertenece a la familia de las gramíneas, oriundo del Perú esta constituido por 80% de granos y 20% de coronta además que su principal utilidad se debe a su propiedad colorante llamado antocianina. **(Soto, Ráez, & Robles, 2013)**

El maíz púrpura tiene una rica composición de fitoquímicos principalmente en antocianinas y compuestos fenólicos que tiene efectos benéficos en nuestro cuerpo. Su alto contenido de antocianina es un poderoso antioxidante natural que previene la degeneración de algunas células del cuerpo, ayuda en la prevención del cáncer. **(Nolazco & Araujo, 2015)**

Los flavonoides presentes en el maíz púrpura son antiinflamatorios naturales y participan en la regeneración del tejido conectivo y formación del colágeno, favorecen la buena circulación sanguínea, reducen los niveles del colesterol y disminuyen el riesgo de ataque al corazón. **(Ronceros et al., 2012)**

El fréjol es originario de América y nutre la tierra con su aportación de nitrógeno. **(Muñoz, 2010)**

El fréjol es uno de los productos importantes en la alimentación humana, además el fréjol presenta características que hacen ventajoso su consumo desde el punto de vista nutricional como su elevado contenido de fibra alimentaria y presencia de vitamina del complejo B. **(Quintana, Pinzón, & Torres, 2016)**

Dentro de las actividades biológicas del fréjol esta la capacidad antioxidante, la reducción de colesterol, por lo que tiene un efecto protector contra enfermedades cardiovasculares, además tiene efectos favorables contra el cáncer, con respecto al contenido de fibra, esta produce un efecto hipoglucemiante, lo cual quiere decir que esto ayuda en el tratamiento de la diabetes tipo dos. **(Fernández & Sánchez, 2017)**

La inflamación es un proceso fisiológico, defensivo natural del organismo ante agresiones del medio, presentando signos como el dolor, calor, rubor y edema, además de pérdida de funcionalidad. **(Villalba, 2014)**

El proceso inflamatorio es un mecanismo de defensa que se manifiesta ante cualquier agresión, actúa como un mecanismo homeostático y tiene como finalidad adaptar al organismo a circunstancias anormales. **(Vega, 2008)**

CAPÍTULO I

PROBLEMA

1.1 Planteamiento del problema

Todos los procesos post-operatorios implican el uso de medicamentos antiinflamatorios, en ciertos pacientes se presentan problemas ante su uso por episodios de respuesta alérgica, problemas gástricos (úlceras) y problemas renales entre otros.

El maíz púrpura (*Zea Mays*) y el fréjol rojo (*Phaseolus Vulgaris*) son cultivos importantes para alimentación animal y humana, pero se desconocen las bioactividades presentes en las proteínas de las variedades cultivadas en la provincia de Bolívar y la seguridad de que estos puedan ser utilizados como un suplemento nutricional.

1.2 Formulación del problema

¿Cuál es la capacidad de la actividad antiinflamatoria que contienen los concentrados proteicos de maíz púrpura (*Zea Mays*) y fréjol rojo (*Phaseolus Vulgaris*)?

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo general

Estudiar la actividad antiinflamatoria de las proteínas concentradas de maíz púrpura (*Zea Mays*) y fréjol rojo (*Phaseolus vulgaris*) como medida paliativa al uso de medicamentos.

1.3.2 Objetivos específicos

- Aislar las proteínas de maíz púrpura (*Zea Mays*) y fréjol rojo (*Phaseolus vulgaris*) mediante el método por punto isoelectrico modificado.
- Determinar la actividad antiinflamatoria de concentrados proteicos de maíz púrpura (*Zea Mays*) y fréjol rojo (*Phaseolus vulgaris*) *in vitro*.
- Sugerir la capacidad de los aislados proteicos de maíz púrpura y fréjol rojo como suplementos nutricionales, capaces de ser usados como una medida paliativa al uso de medicamentos.

1.4 Justificación

Gran parte de las afecciones a la salud implican procesos inflamatorios, que son resultado de un mecanismo de defensa propio del organismo. Se han descubierto y sintetizado gran cantidad de medicamento de origen natural y químico, sin embargo, muchos de ellos presentan contraindicaciones tales como afecciones al tracto gastro intestinal, que pueden ir desde una simple diarrea hasta un cuadro de úlcera aguda.

Los alimentos contienen compuestos con actividades biológicas tales como, capacidad antiinflamatoria, antioxidante, antibacteriana, antiviral entre otras. Dichos compuestos son conocidos como compuestos bioactivos, dentro de estos destacan las proteínas y polifenoles por su potencialidad para ejercer actividades biológicas sobre el organismo humano.

La provincia de Bolívar se caracteriza por ser una de las mayores productoras de maíz, y dentro de sus variedades destaca el maíz púrpura. El fréjol rojo también es un producto de alto consumo. Es necesario conocer la capacidad antiinflamatoria, para establecer los posibles usos en el tratamiento de ciertas dolencias, dicho conocimiento puede ayudar en el desarrollo de suplementos nutricionales como una medida paliativa al uso de medicamentos de síntesis química, y de esta forma se pueda contribuir a mejorar la salud de las personas que presentan este tipo de afecciones.

La Universidad Estatal de Bolívar y el Departamento de Investigación han realizado grandes esfuerzos para dotar de infraestructura, equipamiento y personal capacitado, logrando así constituir un centro de investigación reconocido a nivel nacional e internacional. El grupo AGROPROBIOPEP viene desarrollando investigaciones en el campo de las proteínas y péptidos bioactivos, obteniendo resultados que han sido publicados a nivel mundial a través de artículos científicos de alto impacto

Para el aprovechamiento de los recursos anteriormente mencionados, el impulso a la investigación formativa y la contribución con el contexto y la sociedad, se justifica la realización de la presente investigación.

1.5 Limitaciones

Falta de capacidades técnicas (falta de prácticas para manejo de equipos y protocolos) para la realización de ensayos de laboratorio.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

2.1 Bases teóricas

2.1.1 Respuesta antiinflamatoria

La inflamación tiene un objetivo protector, que pretende liberar al organismo del elemento causante del daño celular (microbios, toxinas). Sin la inflamación las infecciones se extenderían y las heridas no cicatrizarían. **(Licastro et al., 2005)**

Las células que participan en el proceso inflamatorio y se encuentra en forma permanente en los tejidos son los mastocitos y las células endoteliales, otras que pueden migrar y acceder al sitio afectado desde la sangre, como son los neutrófilos, polimorfo nucleares, monocitos, macrófagos y linfocitos. Estas células producen una gran cantidad de moléculas activas que, de manera directa o indirecta, son mediadores del proceso inflamatorio. **(Gómez et al., 2011)**

2.1.2 Técnicas *in vitro*

In vitro (en latín: «en vidrio») quiere decir que se realiza fuera de un organismo vivo y que normalmente implica a tejidos aislados, órganos, células, proteínas y se llevan a cabo en tubos de ensayo o placas de petri o de pocillos para hacer experimentos de alto rendimiento.

Las técnicas *in vitro* tienen el objetivo de describir los efectos de una variable experimental inducida por un producto (biológico, farmacéutico, cosmético). **(González, López, Ojeda, Liébano, & Mendoza, 2014)**

Los métodos de laboratorio *in vitro* ofrecen ventajas con respecto a los métodos *in vivo*, además son menos costosas que las técnicas *in vivo*, ya que no requieren del mantenimiento y alimentación de animales para la realización de las pruebas. **(Cutullé, Eddi, Caracostantogolo, Castaño, & Schapiro, 2005)**

2.1.3 Proteínas

Son consideradas macromoléculas, constituidas por un conjunto de aminoácidos, desempeñan funciones que se relacionan a acciones enzimáticas, de transporte (albúmina), estructurales (colágeno), reguladores (hormonas),

defensivas (anticuerpos) además de ser fuente de energía y calor. **(Torres & Alí, 2014)**

2.1.4 Maíz púrpura (*Zea Mays*)

El maíz púrpura es una variedad que se originó en América. **(Leiva, Gayoso, & Chang, 2016)**

Las semillas (granos) y olote (coronta) son de color morado lo que le otorga características especiales a los pigmentos que poseen (entre 1,5% y 6,0%), llamadas antocianinas, que pertenecen al grupo de los flavonoides. debido a su alto contenido de antocianinas y compuestos fenólicos actúan como un poderoso antioxidante natural y anticancerígeno. **(Guillén, Sigry, & Paucar, 2014)**

Las antocianinas se caracterizan por tener efectos antioxidantes al apoyar la regeneración de los tejidos, fomentar el flujo sanguíneo, reducir el colesterol y promover la formación de colágeno, mejorando la circulación, también disminuye los riesgos de ataque al corazón y son preventivos contra el cáncer. **(Aro et al., 2015)**

Cuadro 1: Composición nutricional del “maíz púrpura”

Carbohidratos	76.2g
Energía	1494kj
Vitaminas	2.1mg
Proteínas	7.3g

Fuente: (Soto et al., 2013)

2.1.5 Fréjol rojo (*Phaseolus vulgaris*)

El fréjol rojo (*Phaseolus vulgaris*) es una leguminosa, una de las especies más importantes para el consumo humano. América Latina es la zona de mayor producción y consumo con un 45% de producción mundial. **(Peña, Rodríguez, & Santana, 2015)**

Cuadro 2: Composición química del fréjol

Energía	337kcal
Agua	12.10 %
Proteínas	25.40 %
Grasa	1,70%
Carbohidratos	69,11 %
Fibra	17,4 %
Cenizas	3,78 %
Azúcar	4,41%
Calcio	167 mg
Fósforo	463 mg
Hierro	6,24mg
Tiamina	0,88 mg
Riboflavina	0,18mg
Niacina	2,48mg

Fuente: (Suárez et al., 2016)

2.1.6 Antiinflamatorios no esteroideos AINES

Los AINES ejercen su actividad a través de la inhibición de la ciclooxigenasa (Cox1 y Cox2). La Cox1 es producida sin necesidad de ningún estímulo en muchos tejidos, mientras que la Cox2 es inducida por procesos inflamatorios. Las enzimas Cox1 y Cox2 cumplen un rol importante en la homeostasis cardiovascular, ambos trabajan de forma opuesta, manteniendo un equilibrio fisiológico. (Oscanoa, 2015)

Los AINES (antiinflamatorios esteroideos) son un grupo de agentes que son capaces de suprimir los signos y síntomas de la inflamación. Últimamente las investigaciones han revelado que los AINES generan efectos indeseables como la toxicidad gastrointestinal y renal.

2.1.7 Contraindicaciones a los medicamentos antiinflamatorios

Los AINES al ser suministrados por vía oral se difunden rápidamente en las células gástricas y después de su acción en el organismo, se eliminan a nivel renal como metabolitos. **(E. Martínez & Garrido, 2013)**

Relativamente está contraindicado en pacientes con hepatopatías, cardiopatías, hipertensión grave, nefropatía, hemocitopenias, gastritis y úlceras pépticas. **(Batlouni, 2010)**

2.1.8 Complicaciones al uso de medicamentos antiinflamatorios AINES

Los AINES producen efectos adversos a nivel de tracto gastrointestinal y cardiovascular debido a su propio mecanismo de acción, cuando se combinan dos antiinflamatorios no incrementa la eficacia, pero si aumenta la toxicidad produciendo efectos secundarios como úlceras gástricas, artritis reumatoides, deterioro de la función renal. **(Gordón, Aucay, & Alcívar, 2017)**

2.2 Definiciones de términos

Punto isoeléctrico: Se define como el pH en el cual el número de cargas positivas se iguala al número de cargas negativas que aportan los grupos ionizables de una molécula. En el punto isoeléctrico la carga neta de la molécula es cero (0)

pH: Indica el grado de acidez y alcalinidad de una solución acuosa.

Liofilización: Es un proceso que tiene como objetivo separa el agua (u otros solventes) de una disolución mediante congelación y posterior sublimación del hielo a presión reducida, el método es seguro para secar compuestos orgánicos e inorgánicos sin alterar su composición cualitativa y cuantitativa.

In vitro: Es una técnica que se utiliza para realizar estudios en el laboratorio con material de vidrio.

Centrifugación: Es un método por el cual se puede separar solidos de líquidos de diferentes densidad por medio de una fuerza giratoria. La fuerza centrífuga es provista por una maquina llamada centrifugadora, la cual imprime a la mezcla un movimiento de rotación que origina una fuerza que produce la sedimentación de los sólidos o de las partículas de mayor densidad.

Concentrados proteicos: Se denomina concentrado proteico a aquel producto alimenticio obtenido de harinas de origen vegetal o animal.

Filtración: Proceso de separación de partículas sólidas de un líquido utilizando poroso llamado filtro. La técnica consiste en verter la mezcla sólido y un líquido que se requiere tratar sobre un filtro que permita el paso de líquido pero que retenga las partículas sólidas.

Solución Tampón fosfato: Son disoluciones que por el agregado de cantidades moderadas de ácidos o bases fuertes mantienen prácticamente constante el pH.

Albúmina: Proteína animal y vegetal, rica en azufre y soluble en agua, que constituye el componente principal de la clara del huevo y se encuentra también en el plasma sanguíneo y linfático, en la leche y en las semillas de ciertas plantas

Incubadora: Es un horno destinado normalmente para la cocción de materiales cerámicos y fundición de material de metales a través de la energía térmica se utiliza para calcinación de sustancias, secado de sustancias, fundición y proceso de control.

Baño maría: Es un equipo de laboratorio el cual está conformado como un recipiente lleno de agua caliente, se utiliza para incubar muestras en agua a temperatura constante durante un largo periodo de tiempo.

Espectrofotómetro: Es un instrumento usado en el análisis químico que sirve para medir, en función de la longitud de onda, la relación entre valores de una misma magnitud fotométrica relativos a dos haces de radiaciones y la concentración o reacciones químicas que se miden en una muestra.

Agitador de tubos: Es un dispositivo simple que se usa comúnmente en los laboratorios para agitar pequeños tubos o frascos de líquidos.

Precipitación: Es el sólido que se produce en una disolución por efecto de una reacción química o bioquímica.

Rpm: Es una unidad de frecuencia que se usa para expresar velocidad angular, en este contexto, se indica el número de rotaciones completadas cada minuto por un cuerpo que gira alrededor de un eje.

Milibar: Es una cantidad de presión equivalente a una milésima parte del bar, un bar es igual a 1000 milibares.

Soluto: Es la sustancia sólida, líquida o gaseosa que se disuelve el solvente para producir una mezcla homogénea conocida como solución.

Solución: Es una mezcla homogénea de dos o más sustancias.

Moles: Es una unidad con la que se mide la sustancia, una de las siete magnitudes físicas fundamentales del sistema internacional de unidades.

Aforar: Es una marca circular grabada con precisión sobre el vidrio del material volumétrico para indicar que ese es el volumen determinado.

Nanómetro: Es una unidad de longitud que tiene la milmillonésima parte de un metro o a la millonésima parte de un milímetro.

2.3 Sistema de hipótesis

2.3.1 Determinación cuantitativa de proteína de concentrados proteicos de maíz púrpura y fréjol rojo.

H0: El contenido proteico de concentrados de maíz púrpura y fréjol rojo es igual en todos los tratamientos

H1: Por lo menos unos de los concentrados proteicos no es igual a los demás.

2.3.2 Actividad antiinflamatoria de concentrados proteicos de maíz púrpura y fréjol rojo.

H0: Todos los concentrados proteicos de maíz púrpura y fréjol rojo poseen actividad antiinflamatoria.

H1: Al menos uno de los concentrados proteicos de maíz púrpura y fréjol rojo no posee actividad antiinflamatoria.

2.4 Sistema de variables

2.4.1 Variable dependiente

Contenido proteico del maíz púrpura (*Zea mays*) y fréjol rojo (*Phaseolus vulgaris*)

Actividad antiinflamatoria de concentrados proteicos de maíz púrpura (*Zea mays*) y fréjol rojo (*Phaseolus vulgaris*).

2.4.2 Variable independiente

- pH de solubilización para la obtención de proteínas de maíz púrpura (*Zea mays*) y fréjol rojo (*Phaseolus vulgaris*).
- pH de precipitación para la obtención de proteínas de maíz púrpura (*Zea mays*) y fréjol rojo (*Phaseolus vulgaris*) por punto isoeléctrico.

CAPÍTULO III

MARCO METODOLÓGICO

3.1 Nivel de investigación

3.1.1 Tipo de investigación

Este estudio es de tipo experimental y cuantitativo.

3.2 Diseño experimental

Para el diseño experimental se realizará un diseño multifactorial A * B para cada una de las matrices (maíz púrpura y fréjol rojo) y para cada variable respuesta.

Cuadro 3: Diseño experimental

Diseño experimental A* B	
Factor A: pHs solubilización Niveles: a0: pH 8.0 a1: pH 10.0	Factor B: pHs precipitación Niveles: b0: pH 4.0 b1: pH 5.0 b2: pH 6.0
Tratamientos	
a0b0: pH 8.0; pH 4.0 a0b1: pH 8.0; pH 5.0 a0b2: pH 8.0; pH6.0	a1b0: pH 10.0; pH4.0 a1b1: pH 10.0; pH 5.0 a1b2: pH 10.0; pH6.0

Elaborado por: Alexandra Paucar y Sandra Tamami

3.2.1 Localización de la investigación

La presente investigación se desarrolló en las instalaciones de los Laboratorios de Investigación e Innovación de la Universidad Estatal de Bolívar ubicada en la ciudad de Guaranda, Sector campus Laguacoto II. Dirección Vía Guaranda-San Simón Km 1 ½.

3.3 Técnicas e instrumentos (Metodología)

3.3.1 Materia prima

Se trabajó con muestras de maíz púrpura (*Zea mays*) y fréjol rojo (*Phaseolus vulgaris*), las mismas que fueron proporcionadas en el

departamento de investigación de la Universidad Estatal de Bolívar. Estas semillas se obtuvieron mediante el convenio con el Instituto Nacional de Investigaciones Agropecuarias (INIAP).

3.3.2 Obtención de harina de maíz púrpura (*Zea mays*) y fréjol rojo (*Phaseolus vulgaris*)

Se molieron los granos secos de maíz púrpura y fréjol rojo (1kg) en un molino eléctrico marca Retsch, modelo Cyclone para la obtención de las harinas.

3.3.3 Extracción de proteína

La extracción de proteína de las muestras se realizó siguiendo el método de (Martínez & Añon, 1996) con modificaciones. Se obtuvo la proteína de maíz púrpura y fréjol rojo mediante el método electroforético de separación por su punto isoeléctrico. Se trabajó con una relación de peso/volumen (1/10).

3.3.3.1 Procedimiento

Se pesaron 15 gramos de harina de maíz púrpura en una balanza analítica marca SHIMADZU ATX224, se añadió 150 ml de agua destilada, se llevó a la plancha de agitación marca IKA C-MAG HS7 durante 30 minutos para ajustar a pHs de solubilización de 8.0 y 10.0 utilizando solución de NaOH 2N y un pH-metro marca HANNA. La mezcla se centrifugó a 5°C y 4500 RPM durante 20 minutos, para lo cual se trabajó con una centrifuga marca Eppendorf. Al transcurrir este proceso el precipitado obtenido se descartó y se trabajó con el sobrenadante, el mismo que fue ajustado a diferentes pHs de precipitación 4.0, 5.0 y 6.0 con HCl 2N durante 30 min en proceso de agitación. Se dejó que precipitaran las proteínas a temperatura de refrigeración (5°C) durante 48 horas. Las proteínas obtenidas fueron neutralizadas y llevadas a -80°C en un ultra congelador marca Panasonic. Finalmente, se procedió a liofilizar los concentrados proteicos en un liofilizador marca CHRIST bajo condiciones estándares que presenta el equipo.

Se siguió el mismo procedimiento para extraer proteína de fréjol rojo. Los tratamientos se trabajaron por triplicado.

3.3.4 Cuantificación proteica de los concentrados

Se realizó la cuantificación de proteína de maíz púrpura y fréjol rojo mediante la norma española 15104. Para esta determinación se utilizó el analizador elemental marca Elementar.

Se realizaron tres repeticiones por cada uno de los tratamientos.

3.3.5 Actividad antiinflamatoria *in vitro*

La actividad antiinflamatoria de las proteínas de maíz púrpura y fréjol rojo se determinó por el método de desnaturalización de proteína (albúmina de huevo), descrito por (Padmanabhan, 2012) con modificaciones.

3.3.5.1 Procedimiento

Las muestras se prepararon a concentración de (500 µg/mL) de proteínas de maíz púrpura y fréjol rojo aisladas a pHs 4.0, 5.0 y 6.0. Se mezclaron 2 ml de la muestra preparada, con 2,8 ml de solución tampón fosfato ajustado a pH 6,4 y 2 ml de albumina de huevo, esta mezcla se llevó a incubar a 27°C durante 15 minutos, para este proceso se empleó una incubadora marca Memmert. Las muestras incubadas se llevaron a baño maría, a una temperatura de 70°C por 10 minutos.

Las muestras fueron enfriadas y centrifugadas, para posteriormente medir la absorbancia de cada una de ellas, a una longitud de onda de 660 nanómetros, para ello se utilizó un espectrofotómetro marca Thermo Scientific (Nano Drop).

Se empleó como patrón un fármaco antiinflamatorio comercial (diclofenaco de sodio), éste se preparó a las mismas concentraciones de las muestras (500µg/mL)) y siguiendo el método descrito anteriormente.

El porcentaje de inhibición de la proteína fue calculada con la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Inhibicion} = \frac{At - Ac}{Ac} \times 100$$

Dónde:

At = Absorbancia de la muestra

Ac = Absorbancia del control

Se realizaron tres repeticiones por cada uno de los tratamientos

3.4 Técnicas de procesamiento y análisis de datos

Los datos serán tabulados con el software estadístico STAT GRAPHICS Centurion XVI a través de una prueba ANOVA multifactorial con un grado de significación del 95%.

CAPITULO IV
LOGROS ALCANZADOS SEGÚN LOS OBJETIVOS
PLANTEADOS, RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Cuadro 4: Resultados según objetivos

N°	Objetivos de investigación	Resultados alcanzados
1	Aislar las proteínas de maíz púrpura (<i>Zea Mays</i>) y fréjol rojo (<i>Phaseolus vulgaris</i>) mediante el método isoelectrico.	Las proteínas fueron aisladas por su punto isoelectrico a diferentes pHs, lográndose obtener porcentajes de hasta 31.06 y 58.33 para el maíz purpura y frejol rojo respectivamente. Tabla 1.
2	Determinar la actividad antiinflamatoria de concentrados proteicos de maíz púrpura (<i>Zea Mays</i>) y fréjol rojo (<i>Phaseolus vulgaris</i>) <i>in vitro</i> .	La actividad antiinflamatoria de los concentrados proteicos de maíz púrpura y fréjol rojo se puede evidenciar en la tabla 2 y 3.

Elaborado por: Alexandra Paucar y Sandra Tamami

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Tabla 1: Porcentaje de proteína en concentrados proteicos de maíz púrpura y fréjol rojo

pH de precipitación	Maíz púrpura				Fréjol rojo			
	% nitrógeno			% Proteína	% nitrógeno			% proteína
pH	R1	R2	R3	%P=%N*F(6,25)	R1	R2	R3	%P=%N*F(6,25)
8.0- 4.0	4,79	3,77	3,65	25,44	9,35	9,38	9,27	58,33
8.0-5-0	4,4	4,52	4,51	27,98	9,97	8,01	9,65	57,56
8.0-6.0	2,25	1,66	2,59	13,54	9,19	9,25	9,39	57,98
10.0-4.0	4,87	4,97	4,69	30,27	8,5	8,98	9,04	55,25
10.0-5.0	4,9	5,08	4,93	31,06	8,9	8,98	7,03	51,90
10.0-10.6	4,75	4,67	4,86	29,75	8,69	8,75	8,69	54,44

Fuente: Departamento de Investigación (UEB)

Elaborado por: Alexandra Paucar y Sandra Tamami

En la tabla 1 se puede observar el porcentaje de proteínas de maíz púrpura y fréjol rojo calculado en base al porcentaje de nitrógeno obtenido a diferentes pHs de solubilidad y precipitación verificando que el mayor porcentaje de proteína se obtuvo en el fréjol rojo a pH 8.0- 4.0 con un 58,33 % en cambio en maíz púrpura a pH 10.0- 5.0 con un 31,06 % de proteína.

Según el análisis estadístico de la prueba ANOVA el porcentaje de proteína presente en los concentrados proteicos de fréjol rojo, tiene un efecto estadísticamente significativo sobre el pH de solubilización con un 95,0 % de nivel de confianza. A diferencia del maíz púrpura que no hay diferencia significativa. Por lo tanto, el pH es un factor que influye en el contenido proteico de los concentrados ya que la solubilidad de la proteína incrementa cuando el pH es alterado por debajo o encima de su punto isoeléctrico. (Elleuch, Besbes, Roiseux, Blecker, & Attia, 2007)

(Barampama & Simard, 1993) Reporta según las trece variedades analizadas de *Phaseolus vulgaris*, que las variaciones de contenido de proteínas se debe a la localidad y a la variedad.

Las proteínas mayormente presentes en las leguminosas son globulinas y albuminas y su punto isoeléctrico aproximado está en el pH 5.0 (Boye et al., 2010)

Determinación de la actividad antiinflamatoria *in vitro* de los concentrados proteicos de maíz púrpura y fréjol rojo a diferentes pHs

Tabla 2: % de inhibición de la actividad antiinflamatoria de maíz púrpura Vs. Diclofenaco comercial

		Absorbancia maíz púrpura				$%I = \frac{at - ac}{ac} * 100$
muestras	Concentración µg/ml	R1	R2	R3	Promedio	% inhibición
pH 8.0-4.0	500	0,08	0,14	0,17	0,13	21,88
pH 8.0-5.0	500	0,18	0,19	0,17	0,18	68,75
pH 8.0-6.0	500	0,14	0,17	0,19	0,17	56,25
pH 10.0-4.0	500	0,16	0,18	0,18	0,17	62,50
pH 10.0-5.0	500	0,14	0,16	0,14	0,15	37,50
pH 10.0-6.0	500	0,13	0,17	0,14	0,15	37,50
Diclofenaco	500	0,15	0,19	0,17	0,17	41,67

Fuente: Departamento de Investigación (UEB)

Elaborado por: Alexandra Paucar y Sandra Tamami

En la tabla 2 se observa la actividad antiinflamatoria (% inhibición) de maíz púrpura a concentración de 500 µg/ml. Se obtuvo mayor actividad antiinflamatoria a pH 8.0- 5.0 con un 68,75% a diferencia del patrón y los demás tratamientos.

Según el análisis estadístico de la prueba ANOVA para la actividad antiinflamatoria en maíz púrpura, ninguno de los tratamientos tiene diferencias estadísticamente significativas sobre el porcentaje de inhibición con un 95,0% de nivel de confianza.

Durante años se ha reemplazado los antiinflamatorios comerciales por productos naturales, los mismos que hoy en día ofrecen ser una alternativa viable y lógica de agentes antiinflamatorios seguros y eficaces para el tratamiento de determinadas dolencias. (Alhakmani, Kumar, & Khan, 2013). Debido al perfil de compuestos fenólicos del maíz, esta presenta actividad antiinflamatoria, convirtiéndose así en una opción natural para este tipo de tratamientos.

(Teniente, González, Cariño, & Bernardino, 2016) Menciona que el punto isoeléctrico de las proteínas varía de acuerdo a la leguminosa estudiada y a la calidad de los reactivos utilizados en la precipitación y en la cuantificación.

Tabla 3: % de inhibición de la actividad antiinflamatoria del fréjol rojo Vs. Diclofenaco comercial

		Absorbancia fréjol rojo					$%I = \frac{at - ac}{ac} * 100$
muestras	Concentraciones µg/ml	R1	R2	R3	Promedio	% inhibición	
pH 8.0-4.0	500	0,15	0,18	0,15	0,16	50,00	
pH 8.0-5.0	500	0,17	0,17	0,13	0,16	46,88	
pH 8.0-6.0	500	0,16	0,17	0,15	0,16	50,00	
pH 10.0-4.0	500	0,15	0,13	0,14	0,14	31,25	
pH 10.0-5.0	500	0,15	0,18	0,14	0,16	46,88	
pH 10.0-6-0	500	0,16	0,15	0,15	0,15	43,75	
Diclofenaco	500	0,15	0,19	0,17	0,17	41,67	

Fuente: Departamento de Investigación (UEB)

Elaborado por: Alexandra Paucar y Sandra Tamami

En la tabla 3 se observa la actividad antiinflamatoria (% inhibición) del fréjol rojo a concentración de 500 µg/ml. Se obtuvo mayor actividad antiinflamatoria a pH 8.0- 4.0 y 8.0- 6.0 con un 50,00 % mientras que el patrón (diclofenaco) muestra un 41,67%.

Según el análisis estadístico de la prueba ANOVA sobre la actividad antiinflamatoria del fréjol rojo, ninguno de los tratamientos tiene diferencias estadísticas significativas sobre el porcentaje de inhibición con un 95,0% de nivel de confianza.

La cuantificación de proteínas de frejol por el método Dumas (Analizador elemental) obtuvo porcentajes de proteínas de 65,539 %, 57,33 % y 69,056 % para pHs 4.0, 5.0, 6,0 respectivamente (**Morán, 2017**) similares a los resultados obtenidos en nuestra investigación.

CAPITULO V

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Comprobación de hipótesis

Determinación cuantitativa de proteína de concentrados proteicos de maíz púrpura y fréjol rojo.

Se rechaza la hipótesis nula **H0**: El contenido proteico de concentrados de maíz púrpura y fréjol rojo es igual en todos los tratamientos.

Se acepta la hipótesis alterna **H1**: Por lo menos uno de los concentrados proteicos no es igual a los demás.

Actividad antiinflamatoria de concentrados proteicos de maíz púrpura y fréjol rojo.

Se acepta la hipótesis nula **H0**: Todos los concentrados proteicos de maíz púrpura y fréjol rojo poseen actividad antiinflamatoria.

Se rechaza la hipótesis alternativa **H1**: Al menos uno de los concentrados proteicos de maíz púrpura y fréjol rojo no posee actividad antiinflamatoria.

5.2 Conclusiones

- Se realizó el aislamiento de los concentrados proteicos de maíz púrpura y fréjol rojo a diferentes pHs de solubilidad y precipitación comprobándose la importancia del punto isoelectrico sobre el porcentaje de proteína concentrada.
- Se determinó la actividad antiinflamatoria in vitro de los concentrados proteicos de maíz púrpura y fréjol rojo a una concentración de 500 µg/ml, el porcentaje de inhibición es mayor que el del patrón utilizado (diclofenaco 100 mg), observándose el mejor comportamiento para el maíz púrpura.
- El porcentaje de proteínas del fréjol rojo es mayor que la del maíz púrpura, más no así la capacidad antiinflamatoria.

5.3 Recomendaciones

- Se recomienda realizar un estudio en el cual se pueda agregar la proteína aislada del maíz púrpura y fréjol rojo a un alimento procesado, para convertirlo en un alimento funcional y de esta manera aprovechar los beneficios que estas matrices vegetales ofrecen.
- Se recomienda realizar la caracterización de proteínas de las dos matrices para determinar exactamente cuál es la responsable de la actividad antiinflamatoria.
- Se recomienda evaluar la actividad antiinflamatoria en ensayos *in vivo* para los concentrados proteicos de maíz púrpura y fréjol rojo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Alhakmani, F., Kumar, S., & Khan, S. A. (2013). Estimation of total phenolic content, in-vitro antioxidant and anti-inflammatory activity of flowers of *Moringa oleifera*. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 3(8), 623–627. Retrieved from [https://sci-hub.tw/https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(13\)60126-4](https://sci-hub.tw/https://doi.org/10.1016/S2221-1691(13)60126-4)
2. Aro, J., Gallegos, E., Calsin, M., Siche, R., Saravia, C., & Escobar, C. (2015). Evaluación de la eficacia de extractos antioxidantes de maíz morado (*Zea mays* L.) en la inhibición de salchichas. *Revista de Investigacion Altoandin*, 17(1), 17–22. Retrieved from <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5157121>
3. Barampama, Z., & Simard, R. (1993). Nutrient composition, protein quality and anti nutritional factors of some varieties of haricot beans (*Phaseolus vulgaris* L.) grown in Burundi. *Food Chemistry*, 47, 159–167. Retrieved from [http://sci-hub.tw/https://doi.org/10.1016/0308-8146\(93\)90238-B](http://sci-hub.tw/https://doi.org/10.1016/0308-8146(93)90238-B)
4. Batlouni, M. (2010). Antiinflamatorios no esteroides: efectos cardiovasculares, cerebrovasculares y renales. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 94(4), 538–546. Retrieved from http://www.scielo.br/pdf/abc/v94n4/es_v94n4a19.pdf
5. Boye, J. I., Aksay, S., Roufik, S., Ribéreau, S., Mondor, M., Farnworth, E., & Rajamohamed, S. H. (2010). Comparison of the functional properties of pea, chickpea and lentil protein concentrates processed using ultrafiltration and isoelectric precipitation techniques. *Food Research International*, 43(2), 537–546. Retrieved from <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodres.2009.07.021>
6. Cutullé, C., Eddi, C., Caracostantogolo, J., Castaño, R., & Schapiro, J. (2005). METODOS IN VITRO PARA EL DIAGNOSTICO DE RESISTENCIA ANTIHELMINTICA, XVI(157), 514–521. Retrieved from http://helminto.inta.gob.ar/pdf/Resistencia/METODOS_IN_VITRO_RESISTENCIA_ANTIHELMINTICA.PDF
7. Elleuch, M., Besbes, S., Roiseux, O., Blecker, C., & Attia, H. (2007). Quality characteristics of sesame seeds and by-products. *Food*

- Chemistry*, 103(2), 641–650. Retrieved from <https://sci-hub.tw/https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.09.008>
8. Fernández, A., & Sánchez, E. (2017). Estudio de las propiedades fisicoquímicas y calidad nutricional en distintas variedades de frijol consumidas en México. *Nova Scientia*, 9(18), 133–148. Retrieved from <https://www.redalyc.org/html/2033/203350918008/>
 9. Garcia, M., & Héctor, P. (2014). Dieta e inflamación. *Anales Venezolanos de Nutricion*, 27(1), 47–56.
 10. Gómez, H., González, K., & Medina, J. (2011). Actividad Antiinflamatoria de Productos Naturales [Anti-inflammatory Activity of Natural Products]. *Boletín Latinoamericano y Del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*, 10(3), 182–217. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.05.059>
 11. González, R., López, M., Ojeda, N., Liébano, E., & Mendoza, P. (2014). Diagnóstico in vitro y en campo de resistencia antihelmíntica en nematodos gastrointestinales de pequeños rumiantes. *Archivos de Medicina Veterinaria*, 46(3), 399–405. <https://doi.org/10.4067/S0301-732X2014000300008>
 12. Gordón, E., Aucay, M., & Alcívar, F. (2017). Polimialgia Reumática. Una revision de criterios diagnosticos. *Revista Cubana de Reumatología*, 19(1), 21–26. Retrieved from <http://scielo.sld.cu/pdf/rcur/v19n1/rcur04117.pdf>
 13. Guillén, J., Sigry, A., & Paucar, L. (2014). Características y propiedades funcionales del maíz morado (*Zea mays* L.) var. subnigroviolaceo. *Scientia Agropecuaria*, 5(4), 211–217. Retrieved from <http://revistas.unitru.edu.pe/index.php/scientiaagrop/article/view/735/669>
 14. Laura, G., Téllez, A., Sampedro, J., & Nájera, H. (2007). Fundamentos de bioquímica metabólica. *Revista Salud Pública y Nutrición*, 8(2). Retrieved from <http://www.medigraphic.com/pdfs/revsalpubnut/spn-2007/spn072g.pdf>
 15. Leiva, S., Gayoso, G., & Chang, L. (2016). *Zea mays* L. “ maíz morado ” (Poaceae), un cereal utilizado como alimento en el Perú

- prehispánico. *Arnaldoa*, 23(1), 295–316.
16. Licastro, F., Candore, G., Lio, D., Porcellini, E., Colonna-Romano, G., Franceschi, C., & Caruso, C. (2005). Innate immunity and inflammation in ageing: A key for understanding age-related diseases. *Immunity and Ageing*, 2, 1–14. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1166571/pdf/1742-4933-2-8.pdf>
 17. Martínez, A., & Martínez, de V. (2006). Proteínas y péptidos en nutrición enteral. *Nutrición Hospitalaria*, 21, 1–14. Retrieved from http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/3717.pdf?fbclid=IwAR2MLXfkQjinWLYvkUMX2cwwPEZ3_QBa4tZK2TXD6unGd4cmwNerBoZ-Y-o
 18. Martínez, E., & Garrido, O. (2013). Farmacocinética: antiulcerosos y antiinflamatorios. *Rev Hosp Jua Mex*, 80(1), 41–53. Retrieved from <http://www.medigraphic.com/pdfs/juarez/ju-2013/ju131h.pdf>
 19. Martinez, N., & Añon, C. (1996). Composition and Structural Characterization of Amaranth Protein Isolates . An Electrophoretic and Calorimetric Study, 44, 2523–2530. Retrieved from <https://eurekamag.com/pdf/008/008368864.pdf>
 20. Muñoz, R. (2010). Frijol, rica fuente de proteínas. *Biodiversitas*, 89, 7–11. Retrieved from <https://www.biodiversidad.gob.mx/Biodiversitas/Articulos/biodiv89art2.pdf>
 21. Nolzaco, D., & Araujo, M. (2015). OBTENCIÓN DE UN FILTRANTE DE MAIZ MORADO (*Zea mays* L.), EVALUACIÓN DE PÉRDIDA DE COLOR Y DEGRADACIÓN DE ANTOCIANINAS EN EL ALMACENAJE. *Anales Científicos*, 76(2), 350–359. Retrieved from http://revistas.lamolina.edu.pe/index.php/acu/article/view/801/783?fbclid=IwAR0thB_fuYd9BjBMfh-n0nE7jLv65IdrCL01k0WCAdTjis4qjsHJMuzVuhc
 22. Oscanoa, T. (2015). Seguridad de los antiinflamatorios no esteroideos. *Revista Medica Del Instituto Mexicano Del Seguro Social*, 53(2), 172–179.

23. Padmanabhan, P. (2012). Evaluation of in-vitro anti-inflammatory activity of herbal preparation , a combination of four medicinal plants. *International Journal of Basic and Applied Medical Sciences*, 2(1), 109–116. Retrieved from file:///C:/Users/User/Downloads/22JMS43PreetiPadmanabhan.pdf
24. Peña, K., Rodríguez, J., & Santana, M. (2015). Comportamiento productivo del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) ante la aplicación de un promotor del crecimiento activado molecularmente. *Avances*, 17(4), 327–337. Retrieved from https://www.google.com/url?sa=t&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=1&cad=rja&uact=8&ved=2ahUKEwjCpY315YbgAhXSmVkkKHS94Bb4QFjAAegQIABAC&url=https%3A%2F%2Fdialnet.unirioja.es%2Fdescarga%2Farticulo%2F5350926.pdf&usg=AOvVaw3Pa_hhPqCutTQt9eYc8Yvl
25. Quintana, W., Pinzón, E., & Torres, D. (2016). EVALUACIÓN DEL CRECIMIENTO DE FRÍJOL (*Phaseolus vulgaris* L.) CV ICA CERINZA, BAJO ESTRÉS SALINO. *U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 19(1), 87–95. Retrieved from <http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v19n1/v19n1a10.pdf>
26. Ronceros, G., Ramos, W., Arroyo, J., Galarza, C., Gutiérrez, E., Alex, O., ... Palma, L. (2012). Estudio comparativo del maíz morado (*Zea mays* L.) y simvastatina en la reducción de lípidos séricos de pacientes diabéticos normotensos con dislipidemia. *An Fac Med*, 73(2), 113–117. Retrieved from http://www.scielo.org.pe/pdf/afm/v73n2/a06v73n2.pdf?fbclid=IwAR2z77Uvn9iM-DOZ3y91_8PnCZA8yyXwqqMsIUCvw0oPpz_VCJNzz6tUZ1M
27. Soto, A., Ráez, L., & Robles, R. (2013). El maíz morado como materia prima industrial. *Revista de La Facultad de Ingeniería Industrial*, 16(1), 85–91. Retrieved from http://www.redalyc.org/pdf/816/81629469010.pdf?fbclid=IwAR2zx0gJQ9x_eFXabr9cpt2batkHpUBvN3XBTg6nNQ5cxOSa5DBqiOXAYeQ
28. Suárez, S., Ferriz, R., Campos, R., Elton, J., Torre, K., & Garcia, T. (2016). Bean seeds : leading nutraceutical source for human health.

- CyTA - Journal of Food*, 14(1), 131–137. Retrieved from <https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/19476337.2015.1063548?needAccess=true>
29. Teniente, G., González, C., Cariño, R., & Bernardino, A. (2016). CARACTERIZACIÓN DE LAS PROTEÍNAS DEL FRIJOL AYOCOTE (*Phaseolus coccineus* L .). INTRODUCCIÓN El frijol (*Phaseolus* spp) es un grano de la familia de las leguminosas originaria de América , junto con el maíz es uno de los principales componentes de la die. *Investigación y Desarrollo En Ciencia y Tecnología de Alimentos CARACTERIZACIÓN*, 1(1), 1–6. Retrieved from <https://docplayer.es/52714447-Characterizacion-de-las-proteinas-del-frijol-ayocote-phaseolus-coccineus-l.html>
30. Torres, V., & Alí, G. (2014). Metabolismo de Proteinas. *Revista de Actualizacion Clínica*, 41, 2137–2141.
31. Vega, G. (2008). Inflamación. *Rev Fac Med UNAM*, 51(5), 220–222. Retrieved from <http://www.medigraphic.com/pdfs/facmed/un-2008/un085k.pdf>
32. Villalba, E. (2014). Inflamación I. *Revista de Actualización Clínica*, 43, 2261–2265. Retrieved from http://www.revistasbolivianas.org.bo/pdf/raci/v43/v43_a04.pdf

Anexos



Figura 1: obtención de la harina a través del molino



Figura 2: Pesando las muestras



Figura 3: Proceso de agitación y ajuste



Figura 4: Proceso de centrifugación a pHs de solubilización 8.0 y 10.0

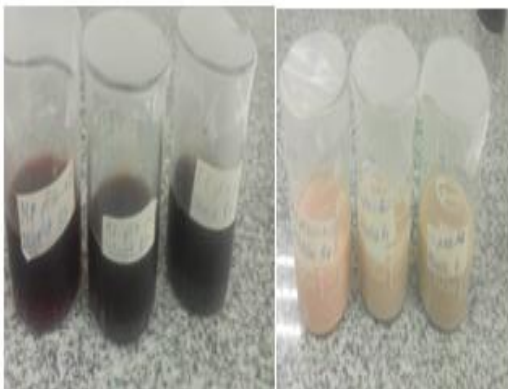


Figura 5: Muestras de maíz púrpura y fréjol rojo ajustadas a diferentes pHs de precipitación

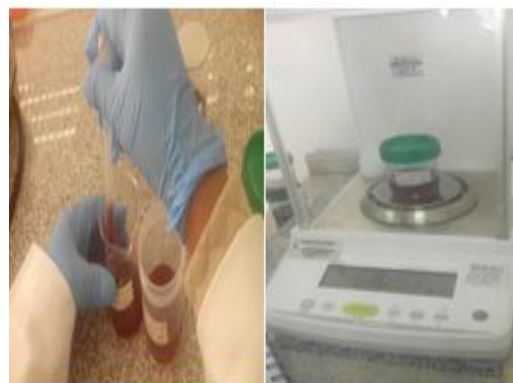


Figura 6: Separando el sobrenadante del precipitado y pesado de la muestra

Liofilización



Figura 7: *Proceso de secado de muestras para obtener las proteínas*

Actividad antiinflamatoria



Figura 8: *Colocando en un tubo de ensayo 2mL de albumina de huevo, 2 mL de patrón diluido (muestra), 2,8 mL de tampón fosfato y agitamos*



Figura 9: *Colocando las muestras en una incubadora, luego en el baño maría finalmente sacamos y dejamos enfriar*

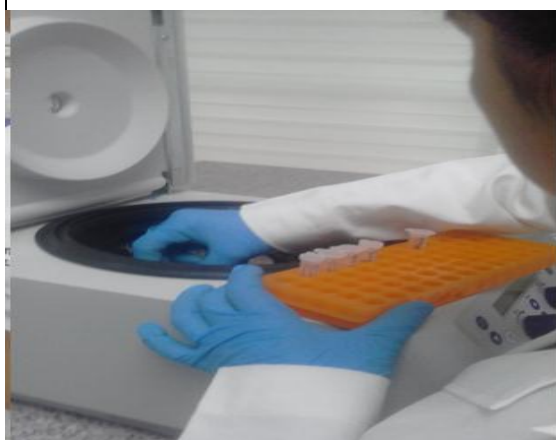


Figura 10: *Centrifugando las muestras*



Figura 11: Midiendo la absorbancia de la muestra en el espectrofotómetro

Tabla 4: Prueba ANOVA para el porcentaje de proteínas de maíz púrpura por pHs de solubilización y precipitación

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:A.Col_1	96,9624	1	96,9624	3,82	0,1900
B:Col_2	68,9013	2	34,4506	1,36	0,4245
Residuos	50,8273	2	25,4137		
Total (corregido)	216,691	5			

Puesto que ningún valor-P es menor que 0,05, ninguno de los factores tiene un efecto estadísticamente significativo con un 95,0% de nivel de confianza.

Tabla 5: Prueba ANOVA para el porcentaje de proteínas de fréjol rojo por pHs de solubilización y precipitación

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Col_2	4,5136	2	2,2568	2,38	0,2956
B:Col_1	25,1331	1	25,1331	26,54	0,0357
Residuos	1,89373	2	0,946867		
Total (corregido)	31,5404	5			

Puesto que un valor-P es menor que 0,05, este factor tiene un efecto estadísticamente significativo con un 95,0% de nivel de confianza.

Tabla 6: Porcentaje de inhibición de maíz púrpura a concentración de 500 $\mu\text{g/ml}$ a diferentes pHs de solubilización y precipitación.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Col_2	120,391	2	60,1953	0,08	0,9245
B:Col_1	14,6641	1	14,6641	0,02	0,9008
Residuos	1474,39	2	737,195		
Total (corregido)	1609,45	5			

Puesto que ningún valor-P es menor que 0,05, ninguno de los factores tiene un efecto estadísticamente significativo con un 95,0% de nivel de confianza.

Tabla 7: Porcentaje de inhibición de fréjol rojo a concentración de 500 $\mu\text{g/ml}$ a diferentes pHs de solubilización y precipitación.

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado Medio	Razón-F	Valor-P
A:Col_1	14,6641	1	14,6641	0,02	0,9008
B:Col_2	120,391	2	60,1953	0,08	0,9245
Residuos	1474,39	2	737,195		
Total (corregido)	1609,45	5			

Puesto que ningún valor-P es menor que 0,05, ninguno de los factores tiene un efecto estadísticamente significativo con un 95,0% de nivel de confianza.

Aspectos administrativos

Recursos humanos

Autoras:	Alexandra Paucar Sandra Tamami
Tutor:	Ing. Edgar Marcelo Vilcacundo Chamorro MSc.
Personal Colaborador:	Ing. María Fernanda Quinteros

Elaborado por: Alexandra Paucar y Sandra Tamami

Materiales de oficina

Cuaderno de apuntes
Hojas tamaño A4
Computadora
Internet
Calculadora
Marcadores

Elaborado por: Alexandra Paucar y Sandra Tamami

Presupuesto

Materiales	Cantidad	Valor unitario	Valor total
Internet	400h	\$0.60	\$240
Impresión de oficios de presentación y validación de tema	10	\$0.10	\$1.00
Impresión de borradores	3	\$10.00	\$30.00
Anillados	3	\$2.00	\$6.00
Empastado del proyecto de investigación	3	\$15.00	\$45.00
Cd y portada	2	\$3.00	\$6.00
Movilización	130	\$1.00	\$130
Total			\$458

Elaborado por: Alexandra Paucar y Sandra Tamami

Presupuesto financiado por la UEB

Materiales	Cantidad	Valor unitario	Valor total
Muestras de maíz púrpura	1 libra	\$0.80	\$0.80
Muestra de fréjol rojo	1libra	\$0.90	\$0.90
Frascos de muestras	40	\$ 0.25	\$ 10.00
Hidróxido de sodio	100 ml	\$ 0.02	\$ 2.00
Ácido clorhídrico	100 ml	\$ 0.037	\$ 3.72
Liofilización	2 días	\$ 22.51	\$ 45.00
Análisis de proteína	12 muestras	\$ 12.31	\$ 147.72
Ultra congelador	2 días	\$ 24.35	\$ 48.70
Solución tamponfosfato	15 gramos	\$ 4.05	\$ 27,00
Huevos	17	\$ 0.15	\$ 2,55
Diclofenaco	2	\$0.50	\$ 1.00
Medida de absorbancia	144 veces	\$ 1.57	\$ 226.08
Lectura			
Otros gastos			\$ 100
Total			\$615.47

Elaborado por: Alexandra Paucar y Sandra Tamami

Cronograma de actividades

Actividades	Agosto	Septiembre	Octubre	Noviembre	Diciembre	Enero	Febrero
Entrega de documentos a consejo universitario. Asignación de tutor y entrega de oficios	X						
Planteamiento del problema	X						
Formulación del problema Objetivos Objetivos generales y específicos	X						
Justificación de la investigación		X					
Marco teórico Bases teóricas-científicas Definición de términos Sistema de variable		X	X				
Marco metodológico Tipo de investigación Técnicas e instrumento de recolección de datos				X	X		

Técnicas de procesamiento y análisis de datos							
Desarrollo de la fase experimental	X	X	X	X	X		
Definición de logros y resultados					X	X	
Cronograma y presupuesto						X	
Conclusiones y recomendaciones						X	
Redacción de la bibliografía						X	
Revisión y corrección de tutor							
Corrección de primer borrador							X
Autorización del tutor para la entrega del borrador							
Entrega de borrador del proyecto de investigación a consejo de la facultad para la asignación de pares académicos.							
Entrega del primer borrador a los pares académicos							
Calificación final del proyecto							X
Sustentación del proyecto de investigación							

Elaborado por: Alexandra Paucar y Sandra Tamami

