



Universidad  
Norbert Wiener

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD  
PROGRAMA ACADÉMICO DE TECNOLOGÍA MÉDICA EN  
LABORATORIO CLÍNICO Y ANATOMÍA PATOLÓGICA  
SEGUNDA ESPECIALIDAD EN HISTOTECNOLOGÍA**

**Trabajo Académico**

Estabilidad del colorante del maíz morado versus hematoxilina de Harris,  
Hospital San Juan de Lurigancho, 2025

**Para optar el Título de  
Especialista en Histotecnología**

**Presentado por:**

**Autora:** Sanchez Del Pozo, Olinda


**Código ORCID:** <https://orcid.org/0009-0005-1597-0629>

**Asesor:** Dr. Navarrete Mejia, Pedro Javier

**Código ORCID:** <https://orcid.org/0000-0002-9809-6789>

**Lima – Perú**

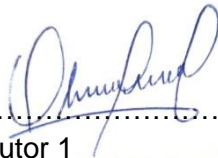
**2026**

 Universidad Norbert Wiener	<b>DECLARACIÓN JURADA DE AUTORIA Y DE ORIGINALIDAD DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN</b>		
	<b>CÓDIGO: UPNW-GRA-FOR-033</b>	<b>VERSIÓN: 01</b> REVISIÓN: 01	<b>FECHA: 08/11/2022</b>

Yo, OLINDA SANCHEZ DEL POZO egresada de la Facultad de CIENCIAS DE LA SALUD, PROGRAMA ACADÉMICO DE TECNOLOGÍA MÉDICA EN LABORATORIO Y ANATOMÍA PATOLÓGICA, SEGUNDA ESPECIALIDAD EN HISTOTECNOLOGÍA de la Universidad Privada Norbert Wiener declaro que el trabajo académico “ESTABILIDAD DEL COLORANTE DEL MAÍZ MORADO VERSUS HEMATOXILINA DE HARRIS HOSPITAL SAN JUAN DE LURIGANCHO, 2025” Asesorado por el docente: DR. PEDRO JAVIER NAVARRETE MEJÍA, DNI 06796414, orcid 0000-0002-9809-6789 tiene un índice de similitud de 4 (CUATRO) % con código TRN:OID:::14912:526021855. verificable en el reporte de originalidad del software turnitin.

Así mismo:

1. Se ha mencionado todas las fuentes utilizadas, identificando correctamente las citas textuales o paráfrasis provenientes de otras fuentes.
2. No he utilizado ninguna otra fuente distinta de aquella señalada en el trabajo.
3. Se autoriza que el trabajo puede ser revisado en búsqueda de plagios.
4. El porcentaje señalado es el mismo que arrojó al momento de indexar, grabar o hacer el depósito en el turnitin de la universidad y,
5. Asumimos la responsabilidad que corresponda ante cualquier falsedad, ocultamiento u omisión en la información aportada, por lo cual nos sometemos a lo dispuesto en las normas del reglamento vigente de la universidad.




.....  
Firma de autor 1  
Olinda Sanchez Del Pozo  
DNI 31191640



.....  
Firma del Asesor  
PEDRO JAVIER NAVARRETE MEJÍA  
DNI 06796414

Lima, 11 de Noviembre de 2025

 Universidad Norbert Wiener	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR          EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y          GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>	<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
		<b>VERSIÓN:01</b>

## 1. Autor(es)

- 1.1. Nombres y apellidos: Olinda Sanchez Del Pozo
- 1.2. Correo electrónico: a2024803043@uwiener.edu.pe

## 2. Docente/Asesor

- 2.1. Nombres y apellidos: Dr. Pedro Javier Navarrete Mejía

## 3. Información Académica

- 3.1. Facultad: Ciencias de la salud
- 3.2. Programa Académico: Tecnología médica en Laboratorio y Anatomía patológica
- 3.3. Segunda Especialidad en/de: Histotecnología

## 4. Línea y sublínea de investigación

- 4.1. Línea: Tecnologías emergentes y experimentación en salud
- 4.2. Sublínea: Tecnologías emergentes en diagnóstico y tratamiento


## 5. Institución en la que se ejecutará el proyecto (de corresponder): Hospital San Juan de Lurigancho

## 6. Título del proyecto<sup>6</sup>

ESTABILIDAD DEL COLORANTE DEL MAÍZ MORADO VERSUS HEMATOXILINA DE HARRIS. HOSPITAL SAN JUAN DE LURIGANCHO 2025

## 7. Resumen

Las antocianinas se registran en el maíz morado (*Zea mays* L) en gran proporción. Son unos pigmentos con varios usos industriales y con múltiples efectos relacionados con la salud. Su mayor desventaja es su baja estabilidad influenciada por temperatura, luz, pH, humedad relativa, niveles de oxígeno entre otros. El colorante nuclear hematoxilina es considerado tóxico. Las antocianinas han reemplazado favorablemente a la hematoxilina como colorante nuclear en la coloración de hematoxilina-eosina de Harris y en la coloración del Papanicolaou. El objetivo del proyecto es evaluar la estabilidad del colorante del maíz morado frente a la hematoxilina, en el Hospital San Juan de Lurigancho -2025. El estudio es cuantitativo, comparativo. Se seleccionaron casetes de tejidos incluidos en parafina de órganos específicos de apéndice cecal y estómago procesados con un método de histoprocesamiento con xilol durante enero a diciembre del 2025. La muestra fue de 430 láminas (Aleatorio simple). Se recolectará los datos a través de un instrumento que será llenado por tres expertos a simple ciego que evaluarán Definición nuclear, Intensidad de coloración nuclear y porcentaje de núcleo/citoplasma correctamente teñidas. También se usará un instrumento de recolección de datos que será llenada por un tecnólogo médico quien codificará las láminas mediante números únicos no repetibles para una combinación

 Universidad Norbert Wiener	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR  EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y  GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>	<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
		<b>VERSIÓN:01</b>

de variables de Grupo (Hematoxilina /Maíz Morado), pH (Acido/Neutro /básico) y Temperatura ( Ambiente/ 37 grados C/ 58 grados C)


Palabras claves: Zea mays. Antocianinas. Hematoxilina. Reactividad-estabilidad. Técnicas histológicas. Desarrollo sostenible

**Abstract:**

Anthocyanins are found in large quantities in purple corn (*Zea mays* L). They are pigments with various industrial uses and multiple health-related effects. Their greatest disadvantage is their low stability, influenced by pH, relative humidity, temperature, oxygen levels, light among others. The nuclear dye hematoxylin is considered toxic. Anthocyanins have favorably replaced hematoxylin as the nuclear dye in Harris hematoxylin-eosin staining and Pap smear staining. The objective of this study was to evaluate purple corn dye's stability versus hematoxylin at the San Juan de Lurigancho Hospital (2025). This is a quantitative, comparative study. Paraffin-embedded tissue cassettes from specific organs of the cecal appendix and stomach were selected and processed with a xylene histoprocessing method from January to December 2025. The sample consisted of 430 slides (simple random). A data collection instrument will be used, completed by three single-blind experts who will evaluate nuclear definition, cell staining intensity and percentage of correctly stained nuclei. A data collection instrument will also be used and will be completed by a medical technologist who will code the slides using unique, non-repeatable numbers for a combination of Group variables, pH and temperature.

**Keywords:** *Zea mays*. Anthocyanins. Hematoxylin. Reactivity–stability. Histological techniques. Sustainable development.

A partir de este punto se deberá enviar el proyecto de tesis a revisión del Comité Institucional de Ética e Integridad Científica, por lo tanto, el documento no deberá incluir datos personales.

	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>	<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
		<b>VERSIÓN:01</b>


## 8. Contextualización del problema

### 8.1. Planteamiento problema:

Las antocianinas se encuentran en gran cantidad en el maíz morado (*Zea mays* L) un tipo de maíz ancestral siendo su principal productor el Perú [1, 2]. Las antocianinas se consideran pigmentos vegetales de tipo fenólico e hidrosolubles presentes en distintos componentes de las plantas [3]. Las antocianinas se consideran flavonoides y son glucósidos de las antocianidinas unidas mediante un enlace de tipo  $\beta$ -glucosídico [4]. Las antocianinas tienen varios usos industriales y tienen múltiples efectos relacionados con la salud (antibacterianos, antimutagénicos, antiinflamatorios, antiproliferativos y de neuroprotección entre otros)[1, 2, 5, 6]. El maíz morado tiene 6 antocianinas principales las cuales son: 2 tipos de cianidina, 2 tipos de peonidina, 2 tipos de pelargonidina siendo el principal la cianidina de tipo 3-O- $\beta$ -D-glucósido. El rango de color por las antocianinas van en un rango del morado oscuro al rojo [2].

La hematoxilina se extrae del árbol *Hematoxylon campechianum* [7]. En la coloración histopatológica se usan colorantes considerados tóxicos habiéndose descrito efectos en el sistema nervioso, a nivel celular, cancerígenos, y genotóxicos en los organismos de vida acuática por lo que urge alternativas ecoamigables [8]. La hematoxilina puede ocasionar irritación, toxicidad aguda, lesiones oculares y toxicidad específica en órganos por lo que siempre debe ser manejado con precaución [9].

Varios estudios han reportado la utilidad de la antocianina como sustituto de la hematoxilina como colorante nuclear en la coloración de hematoxilina-eosina de Harris y en la coloración del Papanicolaou siendo sus resultados favorables. En la coloración de Papanicolaou, la calidad fue de 76.7% comparada con la hematoxilina con 98% [10]. En estudios en cortes histológicos de piezas patológicas, Apaza reporto una calificación de 7.08 (sobre 8) para la coloración con maíz morado junto con eosina, mientras que la Hematoxilina- Eosina tuvo 7.99 sobre 8 [11].Uriol reporto una utilidad diagnóstica para la hematoxilina-eosina comparada con el maíz morado-eosina de 100% y 98% respectivamente [12].

	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>	<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
		<b>VERSIÓN:01</b>

La mayor desventaja de las antocianinas es su muy baja estabilidad influenciada por temperatura, luz, pH, humedad relativa, niveles de oxígeno, azúcares, dióxido de azufre, vitaminas, enzimas, co-pigmentos e iones metálicos [13]. Sus cambios en el color dependientes del pH han permitido su uso como indicador químico de acidez/alcalinidad [2, 14]. Su estabilidad también se afecta negativamente por el proceso tecnológico usado para almacenar y extraer el maíz morado causando cambios en su color y estructura [4].

Las antocianinas son intensamente rojo o naranja en condiciones de acidez (por debajo de un pH de 2), sin embargo, si el pH es mayor no tendrán color mientras que en alcalinidad, su color es azulado [15]. Hay una fuerte estabilidad con pH de 2 a 3, y relativa pobre estabilidad en condiciones neutras y alcalinas pero un rango de pH de 2-3 le da un color rojo a naranja. La temperatura en un rango de 2 a 4 °C da gran estabilidad a las antocianinas. La luz ultravioleta podría incrementar la degradación de las antocianinas. La alta humedad podría promover la reacción de oxidación entre el oxígeno y las antocianinas reduciendo su estabilidad [16].


De esta manera, existen varios aspectos por investigar para reemplazar el maíz morado en vez de la hematoxilina evaluando su estabilidad al realizar cambios en la temperatura y pH dentro de la coloración de Hematoxilina Eosina y su efecto final en una coloración óptima. Estas variables serán abordadas en este estudio para contribuir al objetivo de sustituir de manera óptima la hematoxilina por el maíz morado en la coloración tisular dado su impacto ambiental positivo.

## **8.2. Formulación de problema:**

¿Cuál es la estabilidad del colorante del maíz morado versus colorante hematoxilina DE HARRIS en la coloración de tejidos, HOSPITAL SAN JUAN DE LURIGANCHO 2025?

## **8.3. Justificación:**

Si bien el reemplazo del colorante del maíz morado en vez de la hematoxilina en la tinción histológica hematoxilina-eosina puede considerarse como una buena alternativa de amplia disponibilidad y económica, primero debemos evaluar que dicha coloración nuclear del maíz morado sea estable pues son muchos los factores

 Universidad Norbert Wiener	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR          EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y          GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>	<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
		<b>VERSIÓN:01</b>

teóricos que inestabilizan al colorante del maíz morado tales como pH, temperatura y luz solar entre otros, lo cual ocasionaría que un mismo tejido pueda obtener diferentes tonalidades de color debido a la variación de estos factores y de esta manera podría ser interpretada de distinta manera afectando el proceso de reconocimiento, interpretación diagnóstica-morfológica y reproductibilidad diagnóstica.

Se utilizará un método prospectivo y comparativo tomando como estándar la coloración nuclear de la hematoxilina en el método de coloración hematoxilina-eosina y se comparará con la coloración nuclear de reemplazo con el maíz morado usando 2 variables durante el procesamiento de coloración: temperatura y pH. Las láminas serán evaluadas por 3 expertos anatómo patólogos en forma ciega mediante un sistema cuantificable de evaluación morfológica nuclear. Se utilizará un método estandarizado de coloración en todos los otros pasos histotecnológicos para evitar factores que causen cualquier distorsión o disturbio en el proceso de coloración.

El impacto social será positivo pues el colorante nuclear del maíz morado se puede considerar ecoamigable que su contraparte la hematoxilina lo cual redundará en contribuir en no contaminar nuestro medio ambiente principalmente el acuático. También se considera un colorante mucho más económico y de amplia disponibilidad especialmente en nuestro país. Por ello, este estudio intenta establecer variables óptimas para un protocolo final de uso de este colorante que debería perfeccionarse con ulteriores estudios. Este estudio servirá para que otros estudios continúen buscando un protocolo fijo, seguro y eficaz para el uso rutinario del colorante del maíz morado en reemplazo de la hematoxilina


#### **8.4. Objetivo general y específicos:**

##### **Objetivo general**

Evaluar la estabilidad del colorante del maíz morado versus la hematoxilina de Harris en la coloración de tejidos, Hospital San Juan de Lurigancho, 2025

##### **Objetivos específicos**

1. Determinar la estabilidad del colorante del maíz morado sujeto a

	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>	<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
		<b>VERSIÓN:01</b>

modificaciones constantes de la temperatura y el pH durante la coloración de tejidos, hospital San Juan de Lurigancho, 2025

2. Evaluar la eficacia de la tinción del colorante de maíz morado en tejidos biológicos, comparándola directamente con la tinción de hematoxilina de Harris, hospital San Juan de Lurigancho, 2025
3. Optimizar el procedimiento de tinción de tejidos basado en maíz morado para mejorar su estabilidad y su adecuada capacidad de tinción, ajustando las variables de temperatura y pH, hospital San Juan de Lurigancho, 2025
4. Evaluar la capacidad de combinación de colorantes de tejidos maíz morado-eosina comparado al estándar hematoxilina-eosina mediante la evaluación de la coloración microscópica tisular final


8.5. **Hipótesis:** El colorante del maíz morado es estable versus colorante hematoxilina de Harris en la coloración de tejidos, Hospital San Juan De Lurigancho 2025

## 9. Marco teórico

### 9.1. Antecedentes:


#### 9.1.1. Internacionales

- Xue H et al (China, 2024) revisó las características de las antocianinas, analizando los factores que afectan su estabilidad durante su procesamiento y almacenamiento teniendo como objetivo encontrar estrategias que mejoren su estabilidad permitiendo un mejor uso principalmente en el campo de la medicina y la alimentación. Para tal fin, se realizó un estudio de revisión de trabajos sobre la estabilidad de las antocianinas. Dentro de sus hallazgos se menciona que los factores como el pH, exposición a la luz, antioxidantes, temperatura, iones metálicos, oxígeno, humedad, impurezas, enzimas, grupos funcionales inestables y microorganismos podrían afectar su estabilidad proponiéndose métodos para mejorarla tales como modificaciones estructurales (acilación, piranización, glucosilación entre otros métodos), la copigmentación (intermolecular, intramolecular, formación de complejos metálicos y autoasociaciones) y mediante nuevos sistemas de administración (proteínas, polisacáridos, microencapsulación, liposomas, emulsión múltiple y sistemas de administración compuesta). Xue concluye que las modificaciones estructurales por acilación y piranización son las más importantes destacando la acilación por su gran estabilidad, fuertes propiedades

	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>	<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
		<b>VERSIÓN:01</b>

antioxidantes y por mantener mejor el color mientras que la piranización destaca por su biodisponibilidad y actividad biológica, manteniendo su solubilidad original en agua [16].


- Jasphin S et al (Malasia, 2023) se planteó como objetivo en su estudio revisar sistemáticamente el uso de colorantes naturales que tengan como base a las antocianinas extraídas de plantas para la coloración histológica, citológica o microbiológica. Se analizaron productos vegetales como *Morus nigra* (mora negra), *Oryza sativa* (arroz negro), *Clitoria ternatea* L (guisante de mariposa), *Allium cepa* (piel de cebolla), *Syzygium cumini* (ciruela negra), *Punica granatum* (granada), *Ixora coccinea* L (flor santan), *Rosa damascena* (rosa damascena), *Papaver rhoeas* (amapola común) y *Hibiscus sabdariffa* (rosella). La revisión examinó la metodología de procesamiento de estos colorantes, considerando factores como los métodos de extracción, el uso de mordientes, el pH y el tiempo de tinción. Para ello, se diseñó una revisión sistemática de 30 artículos científicos obtenidos mediante consulta en bases de datos (Google Scholar, PubMed, Wiley, Scopus y Web of Science). Dentro de sus resultados, se menciona que se utilizaron un total de 10 productos vegetales productores de antocianinas. El 49% de los estudios empleó *Hibiscus sabdariffa* y *Hibiscus rosa-sinensis*; el 11% utilizó *Morus nigra* y *Morus alba*; el 9% usó *Punica granatum*; otro 9% usó *Rosa damascena*, el 31% restante utilizaron otras plantas. El 45% de los estudios se realizó en tejidos celulares, mientras que el 55% se enfocó en frotis celulares, espermatozoides, parásitos y hongos. El 91% de los estudios demostró que los extractos de plantas con antocianinas son útiles para la coloración. Respecto a los tipos de extractos utilizados, un 60% usó extractos acuosos, un 20% extractos alcohólicos y el 20% restante usaron ambos tipos. Entre los estudios que compararon extractos acuosos y alcohólicos, el 40% concluyó que los acuosos son superiores, el 20% considero superior a los alcohólicos y el 40% no halló diferencias significativas. Por otro lado, respecto a los mordientes, el 46% de los estudios utilizó mordientes, con proporciones iguales de hierro y alumbre. Cuatro estudios usaron ambos mordientes y en comparaciones entre ellos, el hierro resultó más efectivo que el alumbre. El 40% de los estudios que compararon tinción con y sin mordientes concluyó que agregar alumbre no tenía efectos significativos. Finalmente, se describe que casi todos los estudios realizaron la tinción en valores de pH ácido. Se concluye que los colorantes naturales con antocianinas pueden ser una alternativa viable y

	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>	<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
		<b>VERSIÓN:01</b>

segura a los colorantes usuales en histología. No obstante, se recomendó estudios adicionales para evaluar su eficiencia en el campo diagnóstico [17].

- Mulla SA et al (India, 2023) se propuso como objetivo mostrar el uso en potencia de las coloraciones naturales en el campo de la citología en países de bajos recursos presentando para ello una comunicación corta. Dentro de sus resultados describe una mejora en la accesibilidad a los estudios de coloraciones histológicas a causa de los menores costos económicos; sin embargo, recomienda más estudios de eficacia de estas coloraciones. Mulla concluye que las coloraciones naturales en el campo de la citología tiene potencial para abaratar los estudios y hacerlos más accesibles pero recomienda estudiar más su eficacia diagnóstica [18].


- Zhao Y et al (China, 2023) se planteó como objetivo hacer una revisión de los mecanismos reguladores de la acumulación de antocianinas en frutas en especial a los mecanismos de regulación transcripcional y epigenética y su interacción tanto con señales hormonales y ambientales. Para tal fin se diseñó una revisión de artículos científicos relacionados con la biosíntesis y regulación de antocianinas en frutas. Dentro de sus hallazgos se describen los mecanismos que regulan la acumulación de antocianinas en frutas desde diferentes perspectivas. Según la regulación transcripcional, se considera que la acumulación de antocianinas está principalmente regulada por el complejo MYB-bHLH-WD40 (MBW) y que los factores de transcripción MYB son los activadores primordiales de la biosíntesis de las antocianinas. Según la regulación epigenética, se considera que la hipermetilación del promotor de genes MYB reduce la acumulación de antocianinas, como se ha observado en manzanas y peras con pigmentación reducida. De acuerdo con los factores ambientales, se describe que la luz promueve la acumulación de antocianinas mediante la activación del factor de transcripción HY5 y en la oscuridad, el COP1 degrada los activadores de antocianinas, reduciendo su síntesis. Las temperaturas bajas impulsan la acumulación de antocianinas al estabilizar factores de transcripción activadores. En contraparte, las temperaturas altas reducen su acumulación al inducir la degradación de antocianinas a través de peroxidasas. También existen varias señales hormonales tales como el etileno que activa la síntesis de antocianinas en algunas frutas como manzana y uva, mientras que, en otras, como la pera, puede tener un efecto inhibitorio. Otras señales hormonales descritas son el ácido abscísico, los jasmonatos, las auxinas, brasinosteroides y las estrigolactonas. Zao concluye que la

	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>	<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
		<b>VERSIÓN:01</b>

acumulación de antocianinas es un serie de pasos complejos regularizados por sendos factores tanto externos como internos, cuyo entendimiento permitirá la producción de frutas con alto contenido de antocianinas mediante mejoramiento genético y manipulación ambiental [19].

- Kim HY et al (Suiza, 2023) hizo una revisión de las propiedades biológicas del maíz morado (*Zea mays L*) teniendo como objetivo su descripción en estudios in vitro como in vivo para lo cual se ejecutó una pesquisa bibliográfica de trabajos en idioma inglés en buscadores tales como PubMed, Science Direct, Instituto Multidisciplinario de Publicaciones Digitales (MDPI), Google Académico entre otros hasta noviembre del 2022. Dentro de sus resultados se describe que los extractos de color de maíz morado poseen varias propiedades biológicas in vitro tales como por ejemplo la antioxidante, anticancerígena, antidiabética, antiobesidad, antiinflamatoria, antimicrobiana, de protección contra el daño de los queratinocitos, entre otras mientras que entre las propiedades biológicas in vivo destacan la anticancerígena, antidiabética, antiobesidad, antiinflamatoria, de mejora de la memoria, contra el estrés oxidativo, antihipertensiva, contra el desarrollo de insectos y larvas, entre otras acciones variadas. Kim concluye que existen múltiples propiedades biológicas del maíz morado exhibidos in vivo e in vitro lo cual podrían llevar al desarrollo de nuevas estrategias para el uso de las antocianinas del maíz morado en los alimentos con un potencial efecto en la salud[2].


- Cai T et al (China, 2023) se planteó como objetivo revisar las antocianinas en los metabolitos del maíz morado, su proceso de biosíntesis, su mecanismo de regulación génica y la trascendencia de los factores ambientales (mencionando como ejemplo al pH, la temperatura, la radiación ultravioleta, y el estrés hídrico) en la acumulación de antocianinas en las plantas. Con este fin se hizo una mini-revisión sistemática de estudios sobre el maíz morado. Dentro de sus resultados se describen los genes reguladores y estructurales del maíz morado, sus vías de síntesis, su valor nutricional y preventivo de enfermedades, de protección de las células, de prevención del cáncer y enfermedades cardiovasculares y de mejora de la visión. Respecto a los factores ambientales se describió que la temperatura baja indujo la expresión de genes reguladores y estructurales mientras que a temperaturas más altas las antocianinas se degradarán debido al aumento de la concentración de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Respecto al efecto de la luz, se afirma que la síntesis y acumulación de antocianina en el maíz morado es el

	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>	<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
		<b>VERSIÓN:01</b>

resultado de la inducción de luz, pero demasiada radiación ultravioleta B inhibiría la síntesis de antocianinas a través del daño al ADN. Cai concluye que el maíz morado, gracias a sus metabolitos como las antocianinas tiene un gran potencial para la industria de suplementos dietéticos, aditivos alimentarios y cosméticos [1].

- Alshamar HA & Dapson RW (Irak, 2021) se planteó como objetivo desarrollar un método de coloración histológica natural en base a las antocianinas extraídas de *Malva sylvestris* (malva común) que reemplace la hematoxilina y eosina. Para tal fin se diseñó un estudio comparativo entre la coloración extraída de la *Malva sylvestris* y la hematoxilina-eosina. Se extrajo las antocianinas de los pétalos de *Malva sylvestris* obteniéndose dos tipos de extractos: uno con capacidad de formar un complejo con el aluminio para colorear el núcleo azul-violeta, y otro con características aniónicas a pH ácido capaz de colorear el citoplasma y colágeno con un tono rosado. Se aplicaron tres protocolos de tinción en cortes histológicos procedentes de colon humano fijados en formaldehído e incluidos en parafina. Dentro de los resultados se describe que se obtuvo una coloración nuclear azul-violeta mediante la interacción de antocianinas con aluminio, sin necesidad de oxidación, logrando un efecto similar a la hematoxilina. Se observó que la antocianina malvidina malonilada tenía una carga aniónica a pH 4.8–4.9, permitiendo su unión a las estructuras citoplasmáticas generando una coloración rojiza similar a la eosina. Se evidencio que la coloración tisular con el extracto de malva presentó una diferenciación clara entre núcleo, citoplasma y colágeno. La comparación con hematoxilina y eosina mostro una gran similitud, logrando una coloración estable y duradera. El método usado permitió obtener un solo colorante natural capaz de realizar ambas funciones (nuclear y citoplasmática), evitando el uso de dos colorantes sintéticos distintos. Alshamar concluye que el uso de antocianinas procedentes de *Malva sylvestris* es una alternativa accesible y ecológica a la coloración convencional con hematoxilina y eosina[20].


- Silva P et al (Suiza, 2021) en su editorial sobre las antocianinas se traza como propósito detallar sus particularidades haciendo énfasis en su efecto en la salud en especial en la diabetes y sus efectos quimiopreventivos y terapéuticos usando como método la descripción simple de estos efectos. Dentro de sus resultados se describe los efectos positivos en enfermedades cardiovasculares, neurodegenerativas y diabetes tipo 2 así como los efectos anticáncer y anti -metastásico. Silva concluye

	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>	<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
		<b>VERSIÓN:01</b>

que se debe evaluar los efectos potenciales de las antocianinas en estudios clínicos apropiados, así como sus interacciones con el microbioma del intestino [5].

- Alshmar HA et al (Irak, 2021) se planteó como objetivo investigar la estabilización molecular y la complejación de las antocianinas naturales para poder producir una coloración selectiva histológica nuclear sin que se produzca la oxidación. Para tal fin, se diseñó un estudio que evaluó la selectividad y la efectividad del extracto de roselle (*Hibiscus sabdariffa*) en comparación con la hematoxilina para la coloración histológica realizándose pruebas espectrofotométricas y comparándolas en las coloraciones en piel, mama y colon. Los resultados mostraron que el extracto de roselle sumado al aluminio y en un pH adecuado forma un complejo estable sin necesidad de oxidación lo cual constituye un hallazgo importante pues se consideraba que la oxidación era un paso obligatorio. Se estableció que la interacción entre las antocianinas y el aluminio permitió la formación de un color del núcleo azul-violeta de forma selectiva. Por su parte, la espectrofotometría determino que la complejación se da en un  $\text{pH} \geq 3.0$  y con una concentración de aluminio adecuada, mostrando un cambio de color del rojo al violeta. Asimismo, la tinción de rosalum tuvo una óptima definición del núcleo, con poca coloración de fondo y una buena diferenciación celular. Al combinarse con la eosina, permitió observarse un buen contraste en los tejidos estudiados. Alshmar concluyó que se puede lograr una buena coloración nuclear con las antocianinas sin la necesidad de usar la oxidación lo que indica que los colorantes naturales constituyen una buena alternativa a la hematoxilina [21].


- Sachdev SS eta al (India, 2021) se marcó como su objetivo evaluar la aptitud de las antocianinas como un colorante histológico. Para tal fin se diseñó un estudio en el cual unos cortes de 4  $\mu\text{m}$  de muestras fijadas anticipadamente con formol que luego se incluyeron en parafina y se sumergieron en jugo de granadas por 2 horas. Se hicieron algunas variaciones como la adición de extracto de limón o ácido acético, el cambio de orientación de los portaobjetos y la refrigeración de la solución durante la coloración. Dentro de los resultados, se describen hallazgos positivos como la coloración de las células basales y suprabasales, la membrana basal, las células inflamatorias y las fibras de colágeno adoptando un color magenta. Las variaciones como agregar limón, la orientación horizontal de los portaobjetos y la refrigeración, cada una por separado, mejoraron las características de la coloración. Asimismo, la

	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>	<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
		<b>VERSIÓN:01</b>

adición del ácido acético al 4% y la refrigeración mejoraron la duración en el tiempo de la coloración. Sachdev concluye que las antocianinas pueden servir potencialmente como colorantes histológicos dada su buena disponibilidad, estabilidad del color y ausencia de toxicidad; sin embargo, sugiere se deben seguir estudiando variaciones para lograr mejorar las características de la coloración, así como su duración en el tiempo [22].

- Hussain B et al (Pakistan, 2021) se planteó como objetivo evaluar los efectos tóxicos de la hematoxilina en el riñón del pez *Cirrhinus mrigala*. Para ello se diseñó un método experimental en la cual se expuso los peces a diferentes concentraciones de hematoxilina en 5 grupos (1 µg/L, 2 µg/L, 4 µg/L, 8 µg/L y 18 µg/L) comparándose con un grupo control. Se hizo el procesamiento histotecnológicos de los riñones de los peces y se hizo el corte y coloración con hematoxilina haciendo un análisis estadístico posterior (análisis de varianza unidireccional). Dentro de los resultados se observó una mortalidad inmediata de peces con una exposición a una concentración de hematoxilina de 0,08 g/L (CL50), pero a 0,008 mg/L y 0,018 mg/L se observó un gran daño del tejido renal con reducción significativa en el crecimiento de los peces. Las alteraciones renales que se observaron fueron: degeneración tubular, vacuolización, contracción glomerular, reducción del lumen, congestión renal, glomerulonefritis, ausencia de espacio de Bowman, necrosis de los tejidos intersticiales hematopoyéticos, obstrucción de túbulos, necrosis glomerular y aumento del espacio entre la cápsula de Bowman y el ovillo glomerular. Hussain concluyó que una pequeña cantidad de hematoxilina liberada en efluentes puede resultar bastante tóxica para la fauna acuática [8].


- Enaru B et al (Rumania, 2021) se planteó como objetivo dar una visión general de la estabilidad de las antocianinas revisando los factores que contribuyen más en su estabilidad y si el efecto de estos factores es positivo o negativo. Para ello se realizó una revisión de la literatura respecto a la estabilidad de las antocianinas. Dentro de los hallazgos se describe que las antocianinas tienen funciones en la vida vegetal, (dispersión de semillas, polinización y desarrollo de los órganos vegetales) y a nivel industrial como pigmentos naturales debido a la variedad de colores que producen (rojo, azul y morado). Adicionalmente, se describe propiedades antioxidantes, anticancerígenas, antiinflamatorias y antimicrobianas, que podrían ayudar en la lucha de entidades como obesidad, diabetes y neoplasias. Se hace

 Universidad Norbert Wiener	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR          EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y          GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>	<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
		<b>VERSIÓN:01</b>

hincapié que las antocianinas tienen una baja estabilidad influenciada por factores como los sulfitos, el oxígeno, la temperatura, la luz, el ácido ascórbico, pH, las enzimas y la copigmentación. El autor concluye que existen muchos factores que afectan la estabilidad y biodisponibilidad de las antocianinas siendo su uso principal como colorantes, pero también tienen propiedades antioxidantes, anticancerígenas, antitumorales, antimutagénicas y antidiabéticas. Debido al efecto ambiental en la estabilidad de las antocianinas se han desarrollado diversos sistemas para aumentar su biodisponibilidad (como liposomas, microcápsulas o emulsiones) por lo que se asume que los efectos de las antocianinas podrían ser más potentes recomendándose futuros estudios en la acción de cada factor y en cómo reducir su impacto negativo en la estabilidad de las antocianinas [13].


- Dina H (Irak, 2021) se planteó como objetivo analizar un colorante natural procedente del *Daucus carota* L. (zanahoria) como una alternativa a los colorantes histológicos sintéticos tradicionales. Para tal fin se diseñó un estudio que comparó la coloración histológica del *Daucus carota* L y los colorantes convencionales en diferentes tipos de tejidos. Dentro de los resultados se observó que el colorante de la *Daucus carota* L es efectivo teniendo afinidad para algunos componentes celulares. La intensidad y selectividad de la coloración fueron dependientes del pH y del método de fijación tisular. Se observó una diferenciación adecuada de las estructuras celulares, aunque en ciertos casos la coloración tuvo menos intensidad que los colorantes tradicionales. El colorante procedente del *Daucus carota* L es estable bajo ciertas condiciones específicas, pero tiene limitaciones en su durabilidad y contraste en comparación con colorantes convencionales. Dina concluyó que el colorante procedente del *Daucus carota* L es una buena alternativa para la coloración histológica pero se necesita su optimización para lograr una eficiencia similar a los colorantes convencionales [23].

- Colombo R et al (Italia, 2021) se planteó como objetivo de su revisión mostrar las propiedades biológicas in vitro e in vivo, su uso alimentario y no alimentario, los métodos de extracción de las variedades de maíz pigmentadas y los perfiles de metabolitos secundarios en relación con el color del maíz. Para ello se diseñó un estudio de revisión respecto a la extracción de metabolitos del maíz coloreado, sus efectos en la salud y su uso potencial. Dentro de los resultados se describen trabajos en animales hechos in vitro como in vivo sobre los efectos

	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>	<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
		<b>VERSIÓN:01</b>

antibacterianos, antimutagénicos, antioxidantes, antiinflamatorios, sobre el síndrome metabólico, la diabetes, el metabolismo de los lípidos y glucosas, y la neuroprotección de los extractos del maíz pigmentado en la salud animal y humana. Además, se describe que las antocianinas son afectadas por el pH, exposición a la luz y a la temperatura durante el almacenamiento, y tienden a degradarse en otros productos. Son varias las investigaciones realizadas in vitro e in vivo que han evidenciado las propiedades saludables (antibacterianas, antimutagénicas, antioxidantes, antiinflamatorias, anticancerígenas, hipoglucémicas e hipolipidémicas) de las variedades de maíz pigmentado, principalmente por su contenido de carotenoides, antocianinas y polifenoles. Se indica que el tratamiento térmico en el maíz morado provocó disminuciones significativas en la concentración de las mezclas polifenólicas y la actividad antioxidante y también alteró la composición polifenólica. Colombo concluye que existen numerosos metabolitos secundarios pertenecientes a diferentes clases químicas de compuestos en maíz coloreado (semilla, grano, maíz, cáscara y productos derivados del salvado) y se han implementado diversos enfoques para la extracción de estas moléculas. Se afirma que la importancia de la estabilidad de los extractos derivados de maíz pigmentado es clave para su uso potencial como productos alimenticios [6].


- Hartika G (Indonesia, 2021) se planteó como objetivo evaluar la calidad de los colorantes de origen natural usados en las coloraciones histológica de tejidos tanto animales y vegetales, evaluando su composición química y los factores que intervienen para producir una correcta coloración tisular. Para tal fin, se hizo una revisión sistemática de trabajos de los colorantes naturales en histología entre los años 2010-2020, usando como bases de datos Science Direct, PubMed, Centro Nacional para la Información Biotecnológica (NCBI), Research Gate y Google Scholar. Como resultado, se reconocieron múltiples compuestos químicos en los colorantes naturales dentro de los cuales destacan los flavonoides, alcaloides, saponinas, taninos, antocianinas, betalaínas y curcuminoides. Por otro lado, la efectividad de la tinción obedece a factores como la concentración del colorante, el tiempo de tinción, el pH, el método y el solvente utilizado. Ciertos colorantes mostraron una alta afinidad por ciertos tipos de tejidos tales como el Cúrcuma longa que tiñe las fibras de colágeno y el músculo, y el Hibiscus sabdariffa, para la tinción de la piel y el tejido cerebral. Hartika concluye que los colorantes naturales

	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>	<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
		<b>VERSIÓN:01</b>


representan una buena alternativa a los convencionales por ser más ecológicos, no obstante, se requieren de más estudios que evalúen su estabilidad, duración y aplicaciones en las técnicas histopatológicas[24].

- Urquizo EP et al (Ecuador, 2019) se planteó como objetivo estudiar la sustracción de antocianinas del maíz morado y su uso como un indicador químico para la identificación cualitativa de elementos tanto neutros, ácidos y básicos. Para tal fin se diseñó un tipo de investigación básica, aplicada y experimental. El extracto de maíz morado se utilizó como un indicador en actividades experimentales de una clase de química llevada a cabo por estudiantes de bachillerato y universitarios durante los años 2018 a 2019. Como resultado se describe que el extracto de maíz morado resultó ser un indicador relevante pues facilitó identificar de manera correcta a los estudiantes las sustancias ácidas, neutras y básicas mediante el cambio de color del indicador en clara relación con el pH de las sustancias estudiadas. Urquizo concluye que el extracto de maíz morado es un elemento útil y práctico que facilita la observación de las propiedades ácidas y básicas de distintas sustancias en actividades educativas [14].

- Kayesh E et al (Polonia, 2013) se planteó como objetivo estudiar el rol de las antocianinas en el color que adoptan las cáscaras de las frutas, estudiando tanto genes como procesos bioquímicos comprendidos en la biosíntesis de antocianinas y cómo estos influyen en el aspecto que adoptan las frutas. De esta manera, se hizo una revisión de artículos de investigación sobre las antocianinas, sus genes estructurales involucrados en su producción y el impacto de estas expresiones génicas en la coloración de las cáscaras de la fruta. Se usó a la *Vitis vinifera* (uva) como modelo de cultivo. Dentro de sus resultados se describe que la biosíntesis de antocianinas es regularizada por genes estructurales como la fenilalanina amoníaco-liasa, chalcona sintetasa y antocianidina sintetasa las cuales son regulados por el factor de transcripción MYB. También se describe que los niveles de expresión de dichos genes se relacionan positivamente con la concentración de antocianinas. Se resalta que existe una relación entre la coloración de la cáscara de la fruta y la expresión de los genes del fenilpropanoide y los flavonoides. Kayesh concluye que la coloración de la cáscara de las frutas y la biosíntesis de antocianinas, así como la expresión de sus genes están estrechamente relacionadas lo que permitiría mejorar tanto la apariencia como la calidad de las frutas de manera controlada [3].


 Universidad Norbert Wiener	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR          EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y          GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>	<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
		<b>VERSIÓN:01</b>

- Horbowicz M et al (Polonia, 2008) se planteó como objetivo estudiar el papel de las antocianinas como pigmentos biológicos, su presencia en frutas y verduras, su determinación cualitativa- cuantitativa y las ventajas de su consumo en la salud humana. Con tal fin, se diseñó una revisión bibliográfica de estudios relacionados a la presencia de antocianinas en distintos vegetales mediante métodos clásicos por espectrofotometría y métodos contemporáneos por Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC) que puedan identificar las antocianinas en ellas. Como resultado se describe la presencia de antocianinas en una amplia gama de frutas y vegetales tales como la mora, las frambuesas rojas y negras, los arándanos azules, las cerezas, las grosellas, la naranja roja, las bayas de saúco, las uvas y en verduras como la cebolla roja, el rábano, la col lombarda, el hinojo, la lechuga roja, la berenjena, la patata roja y el boniato morado. Se destaca que el nivel de antocianinas en las frutas es mucho mayor que en las verduras. También se describe que el procesamiento y el almacenamiento a baja temperatura pueden mejorar la estabilidad de las antocianinas mencionándose que se induciría a una lenta destrucción de los pigmentos. Al aumentar la temperatura, las antocianinas pueden transformarse en chalconas, que se forman de manera inestable, y estas se degradan aún más a productos de color marrón. Por otro lado, la luz es perjudicial para las antocianinas. Se considera que las antocianinas aciladas se afectan menos por la luz, con solo una pequeña diferencia en su estabilidad al exponerse a la luz cuando se comparan con las almacenadas en oscuridad. Horbowicz concluye que las antocianinas son beneficiosas para la salud, teniendo un efecto protector en trastornos cardiovasculares y algunas neoplasias malignas. También mejoran la agudeza visual tanto en animales como humanos [15].
- Dangles, Elhabiri & Brouillard (Francia, 1994) se planteó como objetivo investigar la complexación entre los iones de aluminio y un modelo sintético de antocianina en una solución acuosa evaluando tanto su estabilidad y la variabilidad de su color. Para tal fin, se diseñó un estudio un estudio espectroscópico, cinético y termodinámico en un rango de pH entre 2 y 5. Se midió el coeficiente de estabilidad de los complejos formados, se analizó las formas de pigmento en función del pH y se hizo espectroscopia para evaluar los cambios estructurales tras la complexación con aluminio. Dentro de los resultados, se identificaron complejos de aluminio con antocianinas en diversas formas, incluyendo tanto las especies coloreadas como en las incoloras. La estabilización del color ocurrió en un rango de pH estrecho cuando

 Universidad Norbert Wiener	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR          EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y          GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>	<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
		<b>VERSIÓN:01</b>

la complexación es máxima. Se estableció que la forma aniónica quinonoidal de la antocianina es muy importante en la serie de pasos asociados a la complexación con aluminio. También, se advirtió que la complexación provoca un cambio de color del rojo flavylum a un tono púrpura intenso. La interacción pigmento-metal es más fuerte en metanol que en el agua, lo que revela que la atracción electrostática es fundamental en la estabilidad del complejo. La cinética de la reacción fue quien determinó que la tasa de formación de los complejos dependiera del pH y de la disponibilidad de la forma aniónica del pigmento. Dangles concluye que el aluminio es muy efectivo para estabilizar y modular el color de las antocianinas en condiciones ligeramente ácidas, lo que probablemente tenga implicaciones industriales al usar colorantes naturales [25].

- Al-Tikritti SA et al (Inglaterra, 1978) se planteó como objetivo evaluar el uso de extracto de mora (*Rubus fruticosus*) como una alternativa natural a la hematoxilina para la tinción histológica nuclear. Para tal fin, se diseñó un estudio que comparo el *Rubus fruticosus* con la hematoxilina para la tinción nuclear. Para ello, se extrajo un tinte de las moras y se probaron diferentes formulaciones con sales metálicas (cloruro de aluminio y cloruro férrico) para optimizar la coloración histológica. Se realizaron estudios de espectrofotometría y cromatografía para compararlo con la hematoxilina. Las coloraciones se usaron en muestras histológicas cuyo medio de fijación fue el formol, Zenker, Carnoy y secciones congeladas, con evaluaciones en diversas técnicas histológicas como el Escarlata azul Martius, el ácido peryódico de Schiff y el Van Gieson. Dentro de sus resultados, se observó que la solución de mora produjo un color del núcleo azul-violeta intenso, casi indistinguible de la hematoxilina, excepto por un suave tono verdoso. La coloración tuvo una buena afinidad por el núcleo celular y estuvo estable por más de 18 meses bajo exposición a la luz. Se determinó que el componente activo es una antocianina, identificada como cianidina, con un pico de absorción en 530 nm. La adición de iones de aluminio produjo un desplazamiento batocrómico (cambio en la absorción hacia longitudes de onda mayores), confirmando la interacción entre la antocianina y los metales. La coloración fue efectiva en distintos tipos de muestras y se pudo utilizar en combinación con colorantes tradicionales sin afectar los resultados. Al-Tikritti concluye que la antocianina extraída de la mora (Antocianina BB) es un colorante nuclear viable y estable, con un rendimiento semejante a la hematoxilina. Su fácil


	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>	<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
		<b>VERSIÓN:01</b>

obtención, bajo costo y resistencia a la decoloración hacen que sea una buena alternativa para el reemplazo de la hematoxilina[26].

### 9.1.2. Nacionales

- Moya-Salazar MJ et al (Lima, 2023) se planteó como objetivo el validar el uso de un colorante extraído de la uva (*Vitis vinifera*), como una alternativa a la tinción de Papanicolaou en citología cervical, buscando reducir costos y toxicidad. Para tal fin, se diseñó un estudio en el cual se recolectaron muestras de dos variedades de uva (Tempranillo y Malbec) usándose tres métodos de extracción del colorante los cuales fueron el uso directo de productos pre-fermentados, la aplicación de fragmentos de cáscara de uva en las muestras, y la extracción alcohólica. Se realizaron pruebas en 30 muestras cervicales siguiendo un protocolo doble ciego y se compararon los resultados con la tinción convencional de Papanicolaou. Dentro de los resultados se menciona que la coloración con Vinatela resalto estructuras basófilas como los núcleos celulares y los bordes citoplasmáticos. También se encontró que *V. vinifera* Malbec tuvo un mejor desempeño en la tinción en comparación con *V. vinifera* Tempranillo. El tiempo óptimo aproximado de coloración fue de 12 minutos. Asimismo, la coloración con Vinatela consiguió un índice de calidad de tinción de 0.89, cercano al de la tinción de Papanicolaou convencional que fue de 0.94, lo que representa una buena capacidad para la identificación celular. Se destaca también el efecto ecológico positivo del uso de colorantes naturales. Moya-Salazar concluye que la vinatela, obtenido de la uva Malbec, es una buena alternativa para la coloración nuclear convencional citológica cervical por su buena afinidad por estructuras basófilas y su reducido impacto ambiental [27].


- Sanchez JA (Lima, 2021) se planteó como objetivo determinar la utilidad del colorante de maíz morado para el método Papanicolaou de coloración citológica en extendidos cervicovaginales, siendo el diseño del trabajo de tipo comparativo, cuantitativo y descriptivo, de nivel aplicado obteniéndose para ello una muestra de cien portaobjetos de extendidos por duplicado de un universo total de tres mil portaobjetos obtenidas de un puesto de salud de Lima Sur usándose un instrumento de evaluación realizado por tres consultores. El borde nuclear se pudo colorear con

	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>	<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
		<b>VERSIÓN:01</b>

una calidad de 68.25 y 97,50 % para el maíz morado y Hematoxilina de Harris respectivamente. La cromatina se pudo colorear con una calidad de 66.50 y 97 %, para el maíz morado y Hematoxilina de Harris respectivamente. La diferenciación del citoplasma se pudo coloreara con una calidad de 83,50 y 98 % para el maíz morado y Hematoxilina de Harris respectivamente, y la calidad de la diferenciación del fondo del frotis fue del 88,75 y 99 % para el maíz morado y Hematoxilina de Harris respectivamente. Sanchez concluye que la calidad de colorante fue 76.75 y 98 % para el maíz morado y Hematoxilina de Harris respectivamente mencionado que el maíz morado demostró ser una alternativa como colorante tisular del núcleo celular en los papanicolaous procedentes del cérvix-vagina [10].


- Apaza TL (Arequipa, 2016) realizo su estudio en el Hospital Honorio Delgado Espinoza planteándose como objetivo contrastar la tinción tisular del núcleo celular realizado por el maíz morado y la Hematoxilina en cortes del proceso histotecnológico de estructuras tisulares anatómicas, para lo cual diseño un estudio de tipo comparativo, experimental y transversal habiéndose estudiados cien tipos de tejido procedente de apéndice, próstata, piel y estómago seleccionándose dos portaobjetos por cada pieza anatómica coloreándose con Hematoxilina-Eosina y Maíz Morado- Eosina. De esta manera, se obtuvo un puntaje promedio sobre ocho de 7.08 y 7.99 para el maíz morado y la hematoxilina con la eosina respectivamente concluyendo que la tinción del maíz morado podría considerarse una alternativa de coloración nuclear dada su asequible producción, precio y gran disponibilidad resaltándose que los microscopistas mencionaron que el 98% de tinciones hechas con el Maíz Morado-Eosina se consideraron aprobadas resaltando su utilidad diagnostica, un 2% lo considero no aceptables, y un 100% considero la coloración Hematoxilina-Eosina aceptable [11].

- Uriol PO (Lima, 2004) realizo su estudio en el Hospital “Dos de Mayo” y “María Auxiliadora” fijándose como meta la evaluación de la coloración del núcleo celular efectuado por el maíz morado en corte producto del procesamiento histotecnológico de productos tisulares anatómicos siendo su investigación del tipo experimental y comparativa. Unas 100 muestras de próstata, ganglio, piel, estómago y apéndice se colorearon una parte con Hematoxilina- Eosina y la otra con maíz morado haciéndose posteriormente una evaluación simple ciego viéndose el patrón de tinción (que incluían tinción de los bordes del núcleo, Imagen histológica, grado

	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>	<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
		<b>VERSIÓN:01</b>

de diferenciación citoplasma con el núcleo, tinción de la Cromatina y tinción del núcleo) y las impresiones de los microscopistas sobre la utilidad para realizar el diagnóstico. Se obtuvo como resultados un puntaje promedio de 8.42 y 9.98 para las tinciones de Maíz Morado con la eosina y Hematoxilina junto con la eosina. El puntaje concluyente de la tinción proveniente del maíz morado fue 76, 21 y 3% para las calificaciones de buena, regular y mala respectivamente; mientras que la hematoxilina obtuvo un 100% de calificación buena. Respecto a las impresiones de los microscopistas que analizaron las tinciones considerando la utilidad para realizar el diagnóstico se obtuvo 98 y 100% para el maíz morado-eosina y la hematoxilina – eosina respectivamente. Uriol concluye que la coloración del maíz morado es una opción adecuada de tinción nuclear destacando su precio, fácil proceso de extracción y disponibilidad [12].

- Rabanal-Atalaya M et al (Cajamarca, 2021) en su revisión se propuso como objetivo el análisis de las antocianinas procedentes del maíz morado describiendo su estructura química, tipos y elementos que inciden en su color y estabilidad, sus variedades en el Perú, y sus diferentes actividades biológicas en especial su propiedad antioxidante. Para ello se recabo artículos científicos entre el 2014 y el 2021, en las bases de datos de Google Scholar, Biblioteca Virtual del Concejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica (CONCYTEC), PubMed, Scopus, y Web of Science. Dentro de sus resultados se describe el estado recomendable de extracción de las antocianinas es 1 gramo de muestra junto con agua (15 mL) con una agitación constante por un tiempo de 15 minutos a temperatura de 90 grados centígrados, destacando su alto efecto antioxidante tanto in-vitro como in-vivo. Dentro de sus resultados se describe la estructura de la antocianina dentro de la agrupación de flavonoides al ser glucósidos de las antocianidinas como una estructura básica de un núcleo de flavona con un anillo aromático benzopirilio y otro del grupo fenólico. La estabilidad de las antocianinas dependería del tipo de pigmento antocianínico, oxígeno, temperatura, el ácido ascórbico, luz, enzimas y el pH. Las razas del maíz morado peruanas derivarían de una raza conocida como Kculli y son varias tales como por ejemplo huancavelicano, caraz, canteño, negro de Junín, Cuzco, arequipeño, entre otras razas. Así también, se describen sus actividades antioxidantes y biológicas benéficas en la obesidad, anticancerígenas, disminuyendo la opacidad del lente (visual) y en el sistema cardiovascular. Rabanal-Atalaya concluye que el

	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>	<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
		<b>VERSIÓN:01</b>

método de extracción de las antocianinas preferido es el clásico por su poco precio para su producción, fácil mantenimiento, estableciendo claramente las condiciones óptimas para su proceso de extracción. También se concluye que las antocianinas tienen múltiples propiedades biológicas potencialmente benéficas en la salud [4].

## 9.2. Bases teóricas:

### 9.2.1. Variable desenlace

#### 9.2.1.1 Coloración de maíz morado

- **Conocimientos generales del maíz morado**

El maíz morado, también llamado Zea Mays, es una variación de maíz que se produce en los Andes de Perú y Bolivia principalmente. Tiene un significado cultural y simbólico al haberse utilizado en rituales y ceremonias, y se considera un alimento sagrado. Tiene un color morado que lo distingue que se debe a la presencia de las antocianinas, un tipo de pigmento flavonoide con propiedades antioxidantes y con muchos beneficios para la salud. Tiene un largo tiempo de uso en la cocina tradicional andina, donde se utiliza para preparar una variedad de postres, panes y bebidas, incluyendo la conocida "chicha morada".

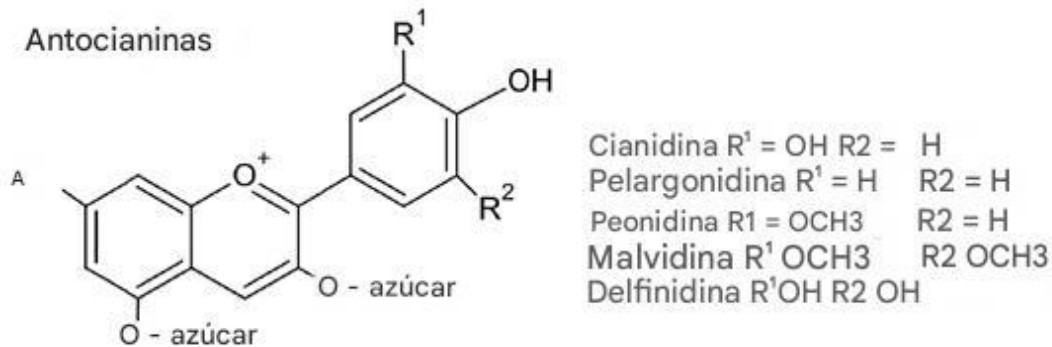
El maíz morado destaca también por su contenido nutricional. Es rico en fibra, vitamina C y la vitamina B) y minerales (tales como zinc y el hierro). Además, las antocianinas han demostrado efectos valiosos como mejoramiento de la salud ocular y una disminución del riesgo de problemas cardiológico -vasculares.

Las propiedades antioxidantes del maíz morado se atribuyen principalmente a las antocianinas, que alivian el efecto negativo a causa de los radicales libres en nuestra economía. Por su alto contenido en antioxidantes, es un ingrediente conocido en la industria de suplementos dietéticos y productos saludables.

Estas sustancias también pueden tener efectos antiinflamatorios y anticancerígenos. Algunos estudios sugieren que una alimentación compuesta regularmente por alimentos con

bastantes antocianinas podría mejorar la salud metabólica y neuronal.

En la actualidad, la popularidad del maíz morado ha crecido más allá de su región de origen, y se ha comenzado a cultivar en otras partes del mundo debido a su atractivo color y beneficios nutricionales[2-6, 15, 16].




Fuente: Colombo, R., L. Ferron, and A. Papetti Colored Corn: An Up-Date on Metabolites Extraction, Health Implication, and Potential Use. *Molecules*, 2021. [6] (traducción)

- **Procedencia del Maíz Morado**

El maíz morado, también celebre como maíz de color púrpura, se origina en la región de los andes de Sudamérica, particularmente en áreas que corresponden actualmente a Perú y Bolivia siendo cultivado por civilizaciones indígenas desde hace siglos formando parte importante de su dieta y cultura. Los incas lo valoraban por sus cualidades alimenticias y por su uso en ceremonias y actividades rituales. En el Perú es muy conocida por su uso en la tradicional chicha morada.

La diversidad genética del maíz morado es rica y ha sido estudiado en agronomía al adaptarla a diferentes microclimas y condiciones de cultivo. Actualmente es reconocido internacionalmente por sus beneficios para la salud y su potencial como superalimento. La investigación sobre sus propiedades

	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>	<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
		<b>VERSIÓN:01</b>

nutricionales y funcionales han aumentado mostrando su valor en la dieta y en relación con la agricultura sostenible y la biodiversidad [2-6, 15, 16].

- **Componentes químicos del maíz morado**

Es rico en compuestos químicos. La composición química del maíz morado incluye los siguientes componentes:

1. Antocianinas: son pigmentos fenólicos responsables de su color, sus cualidades antioxidantes y otras potenciales ventajas en la salud. Las antocianinas más comunes encontradas en el maíz morado son:


- Cianidina-3-glucósido
- Cianidina-3-sambubiosido
- Cianidina-3-rutinosido

2. Polifenoles: los cuales contribuyen a su actividad antioxidante. Incluyen los ácidos caféico, p-cumárico y ferúlico, que son destacados por sus cualidades en la salud.

3. Carbohidratos: contiene una gran cantidad de carbohidratos, principalmente de almidón que representa un 70 a 80% de su peso seco. El tipo de almidón presente varía dependiendo de su estructura y digestibilidad dependiendo de la variedad del maíz.

4. Proteínas: representan un 8 a 10% de su composición. Estas proteínas son esenciales para diversas funciones biológicas e incluyen aminoácidos esenciales.

5. Fibra dietética: tiene un contenido de fibra considerable, que puede contribuir a la salud del tracto gastro-intestinal y a la regulación sérica de los valores de los azúcares.

	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>	<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
		<b>VERSIÓN:01</b>

6. **Minerales:** Se describen hierro, magnesio, fósforo, zinc y potasio que son necesarios para diversas funciones metabólicas.

7. **Vitaminas:** El maíz morado es una fuente de varias vitaminas, entre ellas varias del grupo B, como por ejemplo la niacina, riboflavina y tiamina. También contiene vitamina E, que funciona como un antioxidante.


8. **Lípidos:** Aunque en menor proporción, también contiene grasas, que son esenciales para el metabolismo y la absorción de ciertas vitaminas[2-6, 15, 16].

- **Componentes químicos de la antocianina**

Las antocianinas se consideran estructuras fenólicas vinculadas al grupo de los flavonoides y se caracterizan por su estructura química basada en un núcleo de cationes de 2-fenilbenzopirán. Esta estructura incluye un anillo aromático unido a un heterociclo que contiene oxígeno, que a su vez se conecta a un tercer anillo aromático a través de un enlace C–C. La configuración resultante forma una estructura esquelética altamente conjugada de tipo C6-C3-C6. Las antocianinas son generalmente glucósidos de antocianidinas, que poseen una conformación básica que puede incluir un anillo de tipo bencénico, un heterociclo y grupos -OH.

Los principales aglicones o antocianidinas que se encuentran como unidades monoméricas dentro de las antocianinas incluyen:

- Petunidina (Pt)
- Peonidina (Pn)
- Delfinidina (Dp)
- Pelargonidina (Pg)
- Malvidina (Mv)
- Cianidina (Cy)

 Universidad Norbert Wiener	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR          EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y          GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>	<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
		<b>VERSIÓN:01</b>


Cada una de estas antocianidinas presenta variaciones en su estructura, principalmente en la disposición y la cantidad los grupos hidroxilo, que son responsables de los variados tonos de color que muestran las antocianinas como el rojo, azul, violeta o magenta. Además, el pH del medio en el que se encuentran las antocianinas influye en su coloración, lo que provoca variaciones de tonalidades.

Las antocianinas pueden sufrir modificaciones estructurales tales como la acilación y glicosilación dando origen a una variedad de formas con distintas propiedades de estabilidad y color. Las presentaciones más habituales son los glucósidos, como la pelargonidina y la cianidina de tipos 3-glucósidos.

Los grupos funcionales en las antocianinas, como los grupos hidroxilo (-OH), metoxilo (-OCH<sub>3</sub>), glucósidos y acilo, juegan un papel decisivo en sus propiedades. Estos grupos determinaran su estabilidad química y color, su solubilidad en agua y su capacidad para interactuar con otros compuestos, como los copigmentos, que pueden estabilizar la estructura de las antocianinas frente a agentes influyentes tales como la luz y la temperatura. Estos grupos también son responsables de las propiedades antioxidantes de las antocianinas y de su potencial para concurrir en reacciones de esterificación y sustitución.

Además, las antocianinas pueden interactuar con iones metálicos como el Fe<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup> y otros, formando complejos metálicos que contribuyen a la solidez química de las antocianinas dando un color estable lo cual tiene aplicaciones en la industria de alimentos y bebidas.

La estructura química de una antocianina puede representarse de manera simplificada como una cadena que incluye un anillo

	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>	<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
		<b>VERSIÓN:01</b>

bencénico, un heterociclo y grupos -OH en diferentes posiciones, lo que resulta en una estructura altamente compleja que puede variar según las modificaciones que sufra. [1-6, 15, 16, 28].

- **Conceptos generales sobre el color en el maíz morado**

El maíz morado produce su color característico debido a la presencia de antocianinas. Estas antocianinas dan color a diversas plantas y frutas y son especialmente responsables de las tonalidades azuladas, moradas y rojas. En el caso del maíz morado, las antocianinas existentes se consideran principalmente la cianidina-3-O-glucosido y la pelargonidina, entre otras. [3]

- **Mecanismos de producción del color:**


1. Copigmentación:

- Intermolecular: Las antocianinas pueden formar complejos con otras moléculas colorantes incoloras a través de interacciones no covalentes que incluyen apilamiento  $\pi$ - $\pi$ , enlaces de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas. Esta copigmentación estabiliza y aumenta la intensidad del color.

- Intramolecular: Este tipo de copigmentación sucede dentro de las propias moléculas de antocianinas, donde grupos funcionales específicos interactúan entre sí, lo que contribuye a la estabilidad y al color.

- Auto-asociación: Las antocianinas pueden auto-asociarse debido a interacciones hidrofóbicas, formando estructuras que protegen a los pigmentos de la hidrólisis, lo que mejora la estabilidad y la expresión del color.

2. Complejación metálica: Las antocianinas pueden unirse a iones metálicos (como  $\text{Fe}^{2+}$  o  $\text{Al}^{3+}$ ), formando complejos que ayudan a estabilizar e intensifican la expresión del color [1-6, 15, 16, 28].

	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>	<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
		<b>VERSIÓN:01</b>

- **Variaciones del color del maíz morado**

Las variaciones pueden deberse a varios factores:


- pH del medio: se observa de color rojo en condiciones ácidas, moradas en pH neutro y azulado en ambientes alcalinos.
- Concentración de antocianinas: A mayor concentración se observan tonalidades más intensas u oscuras.
- Condiciones ambientales: Factores a mencionar como, por ejemplo: luz, presencia de oxígeno y temperatura también tienen un efecto en la estabilidad y por lo tanto la variación en el color de las antocianinas.
- Interacciones con otras sustancias: La presencia de otros compuestos como azúcares y otros polifenoles puede inducir cambios en el color debido a la copigmentación, lo que lleva a diferentes tonalidades y mejor estabilidad del color [1-6, 15, 16, 28].

- **Variables influyentes en la estabilidad de la antocianina**

1. pH: Las antocianinas podrían hallarse en formas variadas supeditándose al valor del pH del medio, lo que afecta su estabilidad y color. Son más estables en un rango de pH de 2 a 3, pero su estabilidad disminuye en condiciones neutras o alcalinas, lo que provoca cambios en su color y su posible degradación.

2. Temperatura: Las altas temperaturas aceleran la degradación de las antocianinas, ya que esto puede conducir a la desglucosilación y a la conversión en productos degradativos como chalconas. La cinética de degradación es endotérmica y se incrementa con el aumento de la temperatura.

3. Luz: La exposición de una antocianina a la luz, especialmente a rayos de tipo ultravioleta, puede ocasionar degradación significativa de las antocianinas, reduciendo su vida útil y

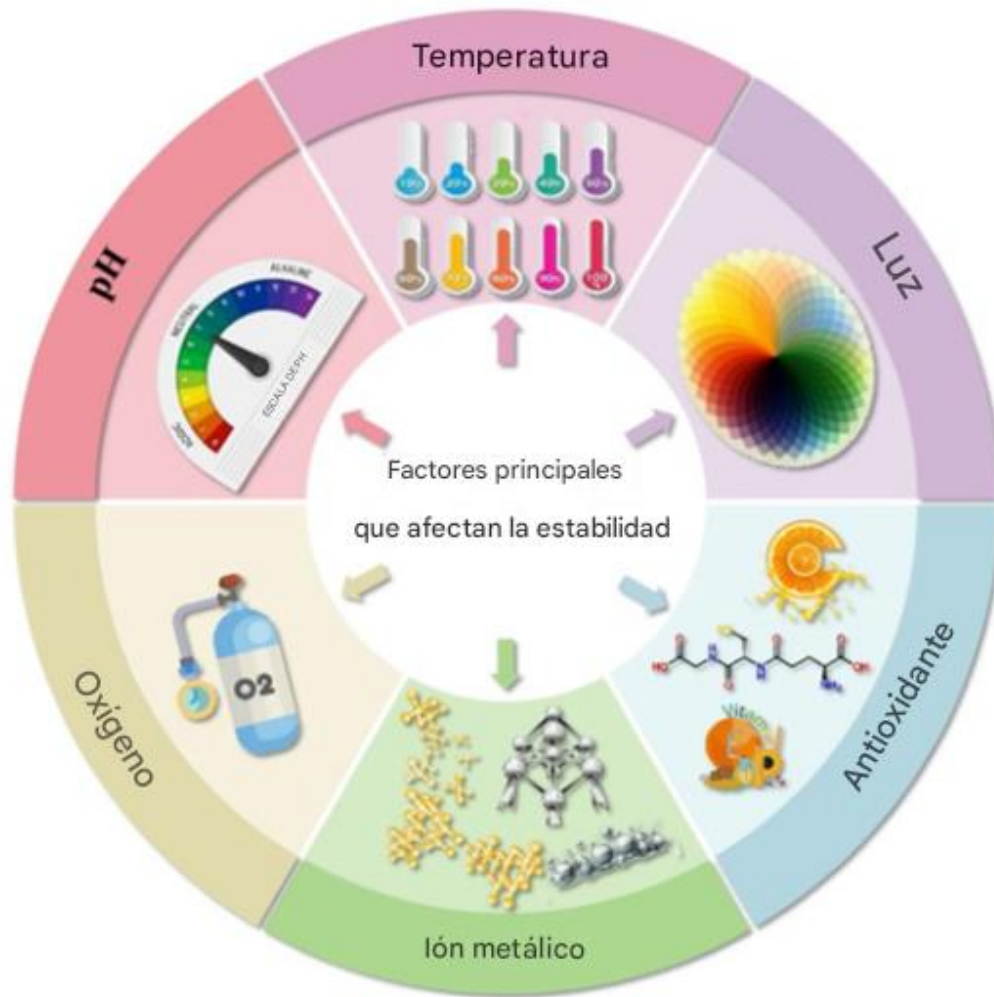
 Universidad Norbert Wiener	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR          EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y          GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>	<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
		<b>VERSIÓN:01</b>

produciendo compuestos degradativos. Aunque la luz puede promover la biosíntesis de antocianinas, su efecto negativo durante el almacenamiento debe tenerse en cuenta.

4. Oxígeno: La interacción de las antocianinas con el oxígeno provoca su degradación a través de mecanismos de oxidación. La carga de oxígeno puede acelerar la degradación. Se ha observado mayor estabilidad de las antocianinas en ambientes anóxicos o en condiciones de vacío.

5. Iones metálicos: La presencia de ciertos iones metálicos puede afectar la estabilidad de las antocianinas. Algunos iones metálicos, como  $Zn^{2+}$  y  $Ca^{2+}$ , pueden mejorar su estabilidad, mientras que metales como  $Fe^{2+}$  pueden tener efectos duales, estabilizando el color, pero promoviendo su degradación en ciertas condiciones.

6. Otros factores: La humedad puede influir negativamente, promoviendo reacciones de oxidación. Además, impurezas, enzimas y microorganismos pueden degradar las antocianinas, reduciendo su efectividad en aplicaciones como colorantes o en la salud [2-6, 15, 16].




Fuente: Xue, H., et al., Factors affecting the stability of anthocyanins and strategies for improving their stability: A review. FoodChem X, 2024. [16] (traducción)

- Exposición a los rayos solares y expresión del color**

La exposición a los rayos del sol repercute en la expresión del color de las antocianinas de varias maneras, principalmente a través de la regulación de su biosíntesis y su estabilidad en presencia de diferentes tipos de luz.

1. Regulación de biosíntesis: La luz tiene un papel trascendental en la síntesis de antocianinas, donde diferentes longitudes de onda tienen efectos distintos. La luz azul es efectiva para inducir la expresión génica vinculada a la biosíntesis de antocianinas, lo que resulta en un aumento en su acumulación en las plantas. Esto se

	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>	<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
		<b>VERSIÓN:01</b>

debe a que la luz activa ciertos factores de transcripción que son esenciales para la producción de estos pigmentos.


2. Degradación por luz ultravioleta: la luz solar también puede tener efectos adversos, especialmente la radiación ultravioleta, al acelerar la degradación de las antocianinas reduciendo su vida media al generar productos intermedios que descomponen las antocianinas en compuestos como chalconas, que son menos coloridas e incluso incoloras. Este proceso de degradación reduce la cantidad de antocianinas y puede alterar el color de los tejidos vegetales que las contienen.

3. Intensidad de luz: Se ha observado que los niveles óptimos de luz favorecen la producción de antocianinas, mientras que condiciones con luz insuficiente limitan su síntesis y de esta manera la expresión del color. En condiciones de luz adecuada se logra la máxima acumulación y estabilidad de antocianinas, contribuyendo a la intensa coloración vista en frutas y flores.

4. Mecanismos de mantenimiento del color: las antocianinas pueden tener mecanismos para evitar la descomposición por luz, como los efectos de copigmentación que pueden proteger a las antocianinas de la degradación. Esta interacción permite mantener la intensidad del color al mejorar la estabilidad ante la luz.[2-6, 15, 16].

- **Exposición a la temperatura y expresión del color de las antocianinas**

1. Degradación térmica: Las antocianinas son sensibles a las variaciones de temperatura. El proceso de degradación de las antocianinas es endotérmico y se acelera por el incremento térmico. Conforme este incremento se produce, la constante de

	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>	<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
		<b>VERSIÓN:01</b>

degradación se incrementa con disminución de la vida media de las antocianinas causando pérdida de su color.

2. Vías de degradación: Existen dos principales vías de degradación térmica para las antocianinas.

- La primera es la desglucosilación donde las antocianinas se convierten en antocianidinas y luego son transformadas en compuestos como metanol, chalconas y derivados de ácidos benzoicos.
- La segunda es la apertura del anillo de las antocianinas, que también conduce a la formación de chalconas, que son pigmentos de color amarillo.


3. Estabilidad a diferentes temperaturas: Las antocianinas muestran una mejor estabilidad a temperaturas bajas, lo que sugiere que condiciones frescas preservarían su estructura y color. Adicionalmente se ha observado que temperaturas elevadas desestabilizan interacciones no covalentes que contribuyen a la copigmentación—un fenómeno donde las antocianinas se asocian con otros compuestos para mejorar su estabilidad y color.

4. Influencia en la síntesis de antocianinas: Se ha observado que la temperatura elevada induce al aumento de factores de transcripción negativos los cuales inhiben la expresión génica vinculada con la biosíntesis de antocianinas, mientras que temperaturas más bajas favorecen la expresión de estos genes.[2-6, 15, 16].

- **Influencia del pH en la expresividad del color de la antocianina**

El pH tiene un papel importante en la expresividad del color de la antocianina debido a sus propiedades iónicas y a la estructura molecular de estas sustancias. Las antocianinas existen en sendas maneras supeditadas al pH del medio:

- pH bajo ( $\text{pH} < 2$ ): Las antocianinas prevalecen en una

	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>	<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
		<b>VERSIÓN:01</b>

condición catiónica (flavylium), la cual es responsable de los tonos rojos intensos.

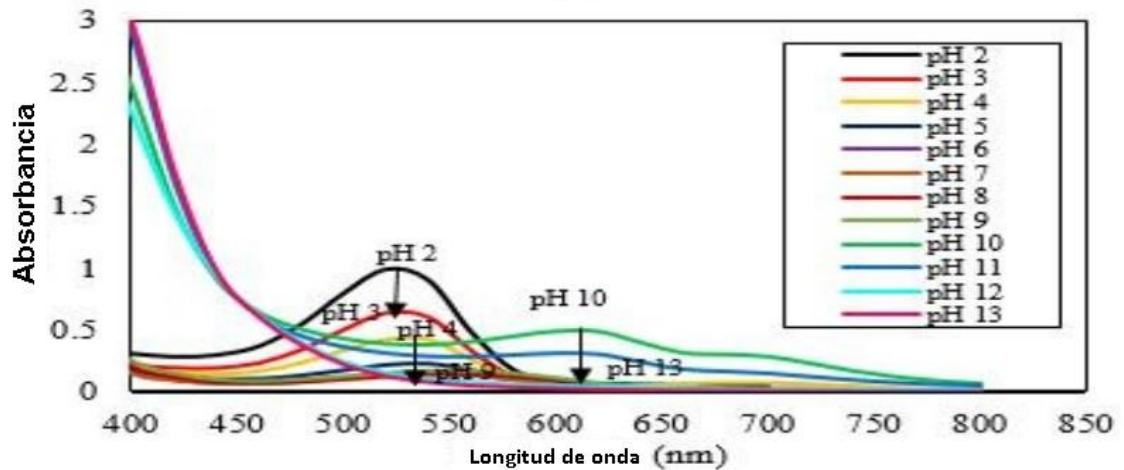
- pH moderado (pH 3-6): En este rango, las antocianinas pueden desprotonarse, lo que conduce a una forma incolora (hemiacetal) o al amarillo (chalcona) debido a la ruptura de estructuras cíclicas.
- pH neutro (pH alrededor de 7): las antocianinas presentan una mayor proporción de formas neutras (quinoides) que contribuyen a colores púrpuras.
- pH alto (pH 8-10): En este rango, las antocianinas se ionizan y tienden a adoptar formas azules (quinoides ionizadas).

Las alteraciones en el color y forma de las antocianinas están relacionadas con la estabilidad de estos compuestos, que es mayor en condiciones ácidas (pH 2-3) y disminuye en medios neutros y alcalinos. La variación de color observados con los cambios de pH (rojo-púrpura-color incoloro-azul) tiene aplicaciones prácticas, como en tiras de prueba de pH, aprovechando la sensibilidad de las antocianinas a los cambios en el pH.

Además, las investigaciones han establecido que la estabilidad de la antocianina es relativamente pobre en condiciones neutrales y alcalinas, lo que implica que no solo el color sino también la funcionalidad de las antocianinas se ven comprometida bajo estas condiciones [2-6, 13-16, 29].



(a)



(b)


Fuente: Wulandari A, Sunarti TC, Fahma F, Enomae T. The potential of bioactives as biosensors for detection of pH. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 2020;460(1):012034.[29]

- **Efecto del tiempo en la pérdida de la expresividad de color en antocianinas**

El paso del tiempo influye en la pérdida de la manifestación del color de las antocianinas a través de varios mecanismos de degradación que se intensifican con el tiempo.

1. Degradación térmica: Con el tiempo, la temperatura juega un papel crucial ya que el proceso de degradación de la antocianina sigue una cinética de primer orden, donde el incremento térmico precipita la degradación y reduce la vida media de los compuestos. Se describe la desglucosilación de las antocianinas a antocianidinas, que pueden transformarse en estructuras de color menos estables, como chalconas y derivados de carboxilo.

2. Oxigenación y luz: La exposición al oxígeno y a la luz,

	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>	<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
		<b>VERSIÓN:01</b>

especialmente la radiación ultravioleta causa degradación de las antocianinas. La interacción con el oxígeno promueve reacciones oxidativas directas y también induce a la formación de productos de degradación que diluyen la fuerza de expresión del color original. Con el transcurrir del tiempo, las antocianinas perderán su color vivo por la oxidación y la formación de compuestos intermedios.

3. Condiciones de pH: La estabilidad de las antocianinas es mayor en condiciones ácidas, pero al cambiar el pH hacia un neutro o alcalino, su estructura puede transformarse y dar lugar a formas menos coloreadas.

4. Concentración de compuestos protectores: La eficacia de antioxidantes como el ácido ascórbico también juega un papel importante. Aunque en algunas situaciones pueden estabilizar las antocianinas, en otros contextos pueden inducir su degradación acelerando las reacciones que alteran su color.

5. Auto-asociación y copigmentación: A medida que las antocianinas se degradan, su capacidad para formar complejos mediante auto-asociación o copigmentación con otros compuestos puede verse comprometida, lo que puede afectar la expresión del color[2-6, 15, 16].

### 9.2.1.2 Coloración de hematoxilina:

La hematoxilina es un pigmentador nuclear obtenido del árbol *Hematoxylon campechianum* (duramen), el cual en un inicio solo lo encontrábamos en Campeche (México). Se extrae del árbol usando agua caliente y luego se precipita de la solución acuosa mediante la urea. La hemateína es el principal producto de oxidación de la hematoxilina y es el responsable de su color característico. La hemateína se puede producir a partir de la hematoxilina mediante dos maneras:

1. Oxidación natural a razón de exponerse al aire o los rayos solares. La solución conservara su capacidad de tinción por mucho tiempo aun considerando que es un proceso de 3-4 meses considerado lento.
2. Oxidación química. Los oxidantes químicos convierten la hematoxilina en hemateína rápidamente, por lo que estas soluciones están listas para su uso inmediatamente después de su preparación, pero tienen una vida útil más corta comparada a la oxidación natural




Figura tomada de Basic and Advanced Laboratory Techniques in Histopathology and Cytology página 71[30].

La hemateína es aniónica, con poca afinidad tisular y no actúa como colorante nuclear sin un mordiente. El catión metálico del mordiente le otorga carga positiva al complejo colorante-mordiente lo cual le deja unirse a sitios aniónicos como lo es, por ejemplo, la cromatina nuclear.

Las soluciones de hematoxilina se clasifican según el mordiente utilizado en:

- Hematoxilinas de alumbre
- Hematoxilinas de hierro
- Hematoxilinas de tungsteno
- Hematoxilinas de molibdeno
- Hematoxilinas de plomo
- Hematoxilinas sin mordiente

	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>	<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
		<b>VERSIÓN:01</b>

La tinción no automatizada con hematoxilina y eosina para cortes de parafina es la siguiente:


1. Desparafinar los cortes al micrótopo y rehidratarlos con una graduación descendente de alcohol a agua.
2. Eliminar los pigmentos de fijación si fuese necesario.
3. Teñir con hematoxilina de alumbre durante el tiempo adecuado conforme al tipo de hematoxilina.
4. Lavar bien con agua corriente del caño hasta que los cortes adquieran un color azul durante 5 minutos o menos.
5. Producir la diferenciación con alcohol ácido al 1 % (Ácido clorhídrico al 1 % en alcohol con una concentración del 70 %) durante unos 5-10 segundos.
6. Lavar bien con agua del caño hasta que los cortes adquieran un color azul nuevamente (10-15 minutos). También se pueden azular sumergiéndolos en una solución alcalina y luego enjuagando con agua del caño durante 5 minutos.
7. Teñir con eosina Yellow al 1 % durante 10 minutos.
8. Lavar con agua corriente del caño durante 1-5 minutos.
9. Deshidratar con alcoholes, aclarar y montar.

Los resultados son los siguientes:

- Núcleo celular: azul/negro
- Citoplasma celular: diferentes tonos de rosa
- Fibras musculares: rosa intenso/rojo
- Glóbulos rojos: naranja/rojo
- Fibrina: rosa intenso[7, 9, 30, 31].

El hemalum es una solución de tinción que se obtiene disolviendo hematoxilina junto con un agente oxidante, una sal de aluminio y un ácido débil en agua[32].

Respecto a la ecotoxicidad de la hematoxilina se han hecho algunos estudios que demuestran que causaría citotoxicidad. Un estudio demostró que la

	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>	<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
		<b>VERSIÓN:01</b>

exposición a Hematoxilina de una concentración de 0.08 g/L (LC50) resultó en la muerte casi inmediata del 50% de los peces. Hubo daño renal tales como degeneración Tubular, vacuolización, congestión, glomerulonefritis, ausencia de Espacio de Bowman y necrosis. Se describió adicionalmente reducción del crecimiento observado en una reducción considerable del peso de los peces expuestos. Estos hallazgos resaltan la toxicidad de la hematoxilina, incluso en concentraciones mínimas, y su repercusión perniciosa en la salud de los organismos acuáticos [8].

### 9.2.2. Variable exposición

#### - Eficacia de la coloración nuclear


El análisis histopatológico de los tejidos es esencial para el diagnóstico microscópico en especial del cáncer. Este procedimiento se basa en la tinción de muestras con colorantes histológicos, como la hematoxilina y eosina, para resaltar los componentes celulares y facilitar su interpretación por los médicos patólogos. Este método ha perdurado prácticamente sin innovaciones por un periodo mayor a cien años, aunque existen variaciones en su aplicación. La variabilidad en la tinción es común en la rutina histotecnológica, tanto dentro de un mismo laboratorio como entre diferentes laboratorios. Esto rara vez es considerado un riesgo clínico, sin embargo, falta evidencia detallada. Las guías profesionales y las prácticas de laboratorio subrayan la significancia de conservar una calidad amplia en la tinción y reducir su variabilidad mediante evaluaciones de calidad internas y externas, pero hasta el momento, la evaluación cuantitativa rutinaria de la tinción con hematoxilina-eosina sigue siendo difícil de lograr [33].

#### - Intensidad de la coloración

Varios factores influyen en la intensidad de las coloraciones histológicas tales como:

##### 1. Afinidad del colorante con la muestra de tejido diana

La afinidad de un colorante por un tejido diana quiere decir su tendencia a unirse a él. Un colorante ácido, como la eosina, se adhiere fuertemente a muestras acidófilas, como las proteínas citoplasmáticas. En cambio,

	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>	<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
		<b>VERSIÓN:01</b>

el colorante ácido muestra afinidad mínima por sustancias basófilas. Además, la afinidad del colorante por un tejido está influenciada por el pH y la concentración de sales inorgánicas presentes en el disolvente.


**2. Geometría de la muestra:** La geometría o la topografía de la muestra también tiene un impacto en la tinción.

- Cuando el tejido es grueso, la penetración del colorante se ve dificultada, lo que provoca que la parte central del tejido se tiña de manera menos efectiva.
- Topografía de la superficie: La superficie de las secciones de parafina es más uniforme que la de las secciones hechas con un criostato, lo que favorece una coloración más eficiente.
- Alteración de la microtopografía del tejido: El alcohol, al ser un fijador coagulante, modifica la estructura tisular y celular. Este efecto de fragmentación causado por el alcohol acelera la penetración del colorante.
- Geometría interna del tejido: La estructura biológica del tejido también puede afectar la tinción; por ejemplo, los canalículos de la médula ósea se tiñen más rápidamente con la tinción de tionina de Schmorl que el tejido conectivo que los rodea.

**3. Concentración del tejido diana:** La cantidad de tejido diana afecta la intensidad de la tinción; a mayor cantidad de tejido diana, más fuerte será la coloración.

**4. Velocidad de reacción:** La rapidez con la que ocurre la reacción en el tejido diana también determina el patrón de tinción. En la reacción de Feulgen, el corto tiempo de reacción solo expone unos pocos grupos aldehído, lo que resulta en un patrón de tinción débil.

**5. Velocidad de pérdida de tinción:** El patrón de tinción se ve fuertemente influido por la velocidad con la que se pierde la tinción. En algunos casos, la pérdida de tinción es intencional, como en los procesos de diferenciación

	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>	<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
		<b>VERSIÓN:01</b>

o distinción. La diferenciación suele eliminar el exceso de tinción en la célula, lo que ayuda a distinguir mejor los organismos [30].

- **Definición nuclear, porcentaje de células correctamente teñidas e intensidad de coloración nuclear**


Estos parámetros están asociados al análisis de la calidad de una coloración histológica y se evalúan cuantitativamente mediante la evaluación de patólogos con muchos años de experiencia de preferencia sin saber que están observando (estudio a ciegas) para así minimizar el sesgo subjetivo. La evaluación se realiza principalmente con la observación con los objetivos de 200× y 400× usando una tabla que describe los factores de Definición nuclear, intensidad de coloración nuclear y porcentaje de células correctamente teñidas.

Un estudio estableció una tabla conjunta en la que evaluó la tinción nuclear, citoplasmática y la claridad de la tinción estableciendo puntuaciones para su clasificación (puntuación superior a 7 se consideró excelente, una puntuación de 6 o 7 como buena, y una puntuación de 5 o menos como mala). Las secciones calificadas como excelentes o buenas se consideraron adecuadas para el diagnóstico, mientras que las de puntuación baja fueron consideradas inadecuadas. En caso de desacuerdo entre los dos observadores, se consultó a un tercer patólogo experimentado para que resuelva la discrepancia. La coloración nuclear se catalogó con una puntuación de 1 (azul gris), 2 (azul marino) y 3 (azul-morado). Por su parte la claridad o definición de la coloración se catalogó como 1 (ambiguo), 2 (incospicuo) y 3 (distintiva) [34].

**9.2.3. Relación entre exposición y desenlace**

Los cortes coloreados con hematoxilina y eosina pueden tener una baja calidad lo cual puede manifestarse de la siguiente manera:

- Tinción irregular en los cortes.
- Presencia de burbujas o manchas en los núcleos.
- Mala distinción entre núcleos y citoplasma
- Tinción excesiva o insuficiente con hematoxilina o eosina.
- Precipitación de color azul-negro en los cortes teñidos.

	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>	<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
		<b>VERSIÓN:01</b>

Para tales situaciones se recomienda hacer las siguientes correcciones:

- Corregir la deshidratación incompleta del tejido en el procesador; considerar sustituir el xileno por un solvente similar.
- Evitar dejar el tejido en parafina fundida durante períodos largos al realizar la inclusión de los tejidos.
- Asegurarse de que no haya agua ni fijador en la parafina fundida durante la inclusión.
- Mantener un control constante del grosor de los cortes durante la la sección con el micrótomo.
- Asegurar un buen control sobre las concentraciones, el pH y la caducidad de los reactivos de coloración; filtrar la solución de hematoxilina regularmente.
- Verificar que las secciones estén bien secas y a una temperatura adecuada ( $\leq 70$  °C) antes de la tinción, o tratarlas brevemente con etanol absoluto y xileno antes de la tinción.
- Optimizar los tiempos de tinción con hematoxilina y eosina.
- Evitar la sobrediferenciación o infradiferenciación en la tinción con hematoxilina.
- Ajustar los detalles del paso de azulado en la tinción y asegurarse de que el agente azulante se elimine completamente antes de aplicar la eosina [35].

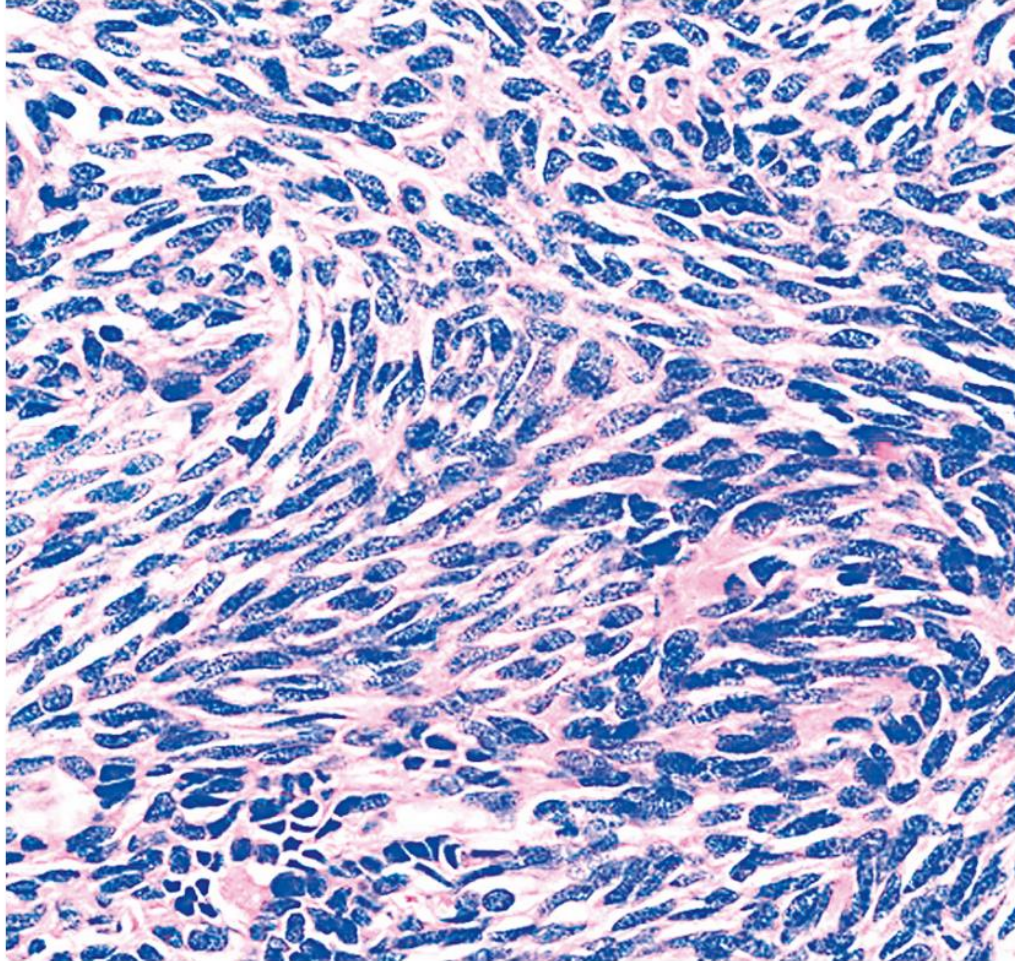


Foto de una coloración de hematoxilina eosina optima con una adecuada coloración nuclear y citoplasmática. Fuente: Wick MR. The hematoxylin and eosin stain in anatomic pathology—An often-neglected focus of quality assurance in the laboratory. *Seminars in Diagnostic Pathology*. 2019;36(5):303-11. [35]

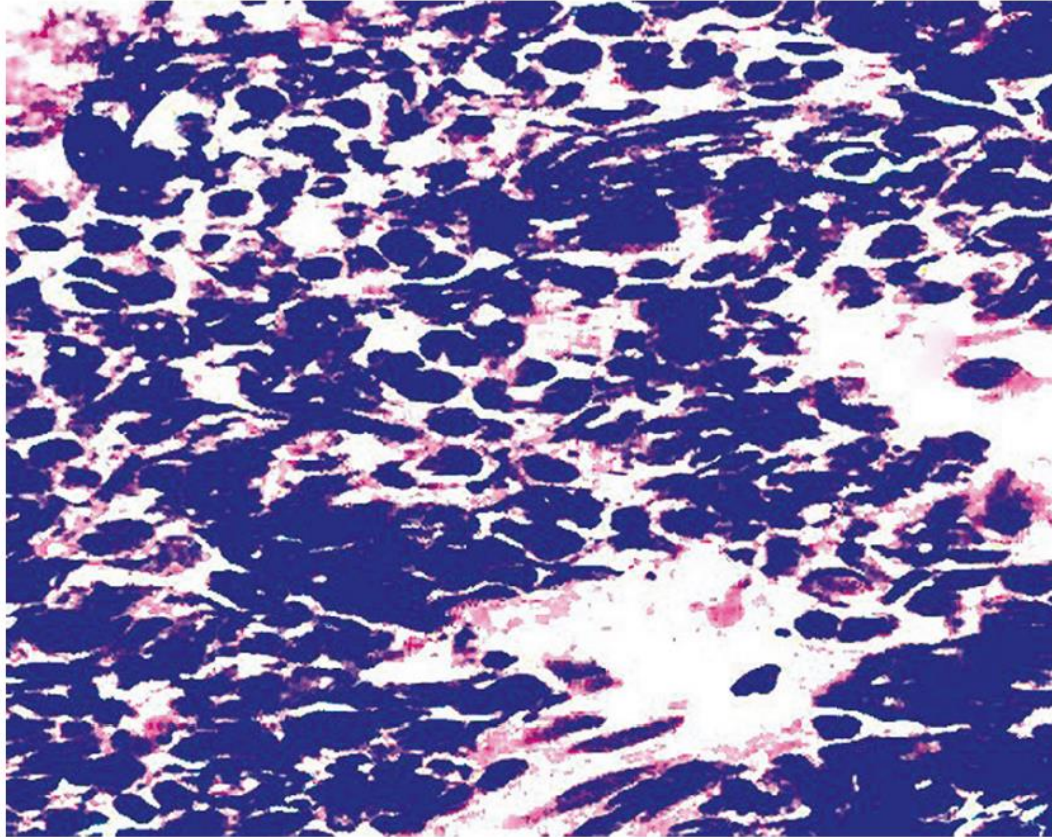



Foto de una coloración inadecuada especialmente del núcleo que puede llevar a interpretaciones microscópicas incorrectas. Fuente: Wick MR. The hematoxylin and eosin stain in anatomic pathology—An often-neglected focus of quality assurance in the laboratory. *Seminars in Diagnostic Pathology*. 2019;36(5):303-11. [35]


### 9.3. Definiciones:

- **Maíz morado:** El maíz morado produce su color característico debido a la presencia de antocianinas. Estas antocianinas dan color a diversas plantas y frutas y son especialmente responsables de las tonalidades azuladas, moradas y rojas. En el caso del maíz morado observaremos como antocianinas preponderantes a la cianidina-3-O-glucosido y la pelargonidina, entre otras. [3]
- **Hematoxilina:** Colorante nuclear usado en la tinción de rutina de hematoxilina-eosina. La hematoxilina se extrae de la corteza del árbol *Haematoxylum campechianum*, que se encuentra principalmente en el estado de Campeche, México. Actualmente también está disponible en las Antillas [30]
- **Antocianina:** La antocianina constituye el conjunto más voluminoso y diverso de pigmentos vegetales fenólicos solubles en agua derivados de la vía de los

	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>	<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
		<b>VERSIÓN:01</b>

fenilpropanoides. La genética y la bioquímica de la vía de biosíntesis de las antocianinas constituyen una rama importante y bien caracterizada del metabolismo de los flavonoides [3]

- **Colorante nuclear:** La hematoxilina de Harris es una buena tinción nuclear rápida. Se realiza una diferenciación posterior para eliminar el exceso de hematoxilina mediante alcohol ácido en la coloración de citología. En histología, se considera a la hematoxilina como un tinte nuclear confiable que pigmenta los núcleos celulares de un negro azulado. [30]
- **Definición nuclear:** Evaluada en la fase analítica del control de calidad microscópica. El control de calidad es un paso crucial, y la interpretación final del portaobjetos siempre la realiza un patólogo colegiado. En el laboratorio de histopatología, las interpretaciones preliminares y finales las realizan únicamente los patólogos junior y senior. Sin embargo, en la parte citológica, el citotecnólogo principal examina los frotis cervicales. El informe final siempre debe ser realizado por el citopatólogo consultor [3].
- **Intensidad de coloración nuclear:** Factores que median en la fuerza de la expresión de la tinción
  - Afinidad del colorante con la muestra de tejido diana: El colorante ácido se une al tejido acidófilo con carga positiva, mientras que el colorante básico se une al tejido basófilo con carga negativa.
  - Geometría de la muestra:
    - Tejido grueso: Menor penetración del colorante
    - Topografía de la superficie: Superficie más uniforme, mejor tinción
    - Microtopografía del tejido: Microtopografía con alteraciones de la fijación del alcohol
    - Geometría interna del tejido
  - Concentración de la muestra diana: Cuanto mayor sea la cantidad de tejido diana, más intensa será la tinción.
  - Velocidad de reacción: Un tiempo de reacción corto suele disminuir la intensidad de la tinción.
  - Tasa de pérdida de la tinción: Una diferenciación excesiva suele eliminar la tinción [30]

	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>	<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
		<b>VERSIÓN:01</b>

- **Porcentaje de células correctamente teñidas:** En el caso de coloraciones de rutina e inmunohistoquímica se hace controles de calidad que incluyen el porcentaje de células correctamente teñidas bajo una coloración específica. En un estudio de Bartos, al analizar el índice Ki-67, se clasificó como el número de células tumorales positivas para Ki-67 dividido por el número total de células neoplásicas. De forma similar se asume que en el caso de la hematoxilina serían dadas por la división entre núcleos teñidos/total de núcleos multiplicado por 100 [36].

## 10. Metodología:

### 10.1. Enfoque de investigación

- Cuantitativo:


Este estudio se considera cuantitativo pues al analizar los factores que influyen positiva o negativamente en la expresión del color del núcleo al usar maíz morado comparado con la hematoxilina estaremos produciendo evidencia empírica estableciendo nexos entre las variables (pH, temperatura) con la intensidad de la coloración usando alguno de los 2 colorantes nucleares descritos. De esta manera facilitaremos más datos medibles (variaciones cuantitativas del pH y temperatura) para poder perfeccionar la técnica de coloración nuclear con maíz morado [37].

### 10.2. Tipo de estudio: básico.

Se considera a este estudio como básico pues mediante la observación de los cambios de las variables influyentes en la expresividad de los colores de las antocianinas se permitirá obtener más datos a los ya existentes para así formular un proceso teórico óptimo para que se obtenga los mejores resultados en las coloraciones histológicas que usen maíz morado como un colorante del núcleo celular [38].

### 10.3. Diseño de investigación: Comparativo

Mediante este estudio se busca encontrar la combinación asociativa entre las variables de luz y temperatura con la calidad de la coloración buscando que las antocianinas del maíz morado se presenten en su forma más estable que permita una óptima coloración del núcleo celular. De esta forma, modificando las variables causales habría un efecto que podría mejorar o empeorar (calidad de la coloración)

 Universidad Norbert Wiener	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR          EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y          GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>	<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
		<b>VERSIÓN:01</b>

[38].

Asignaremos al grupo de los casos a las láminas producto de las coloraciones nucleares hechos con maíz morado mientras que el grupo de control serán las láminas que usaron la coloración rutinaria de hematoxilina eosina considerada en todo el orbe como una de las más óptimas y que servirá para la comparación. [39].

#### 10.4. Población y criterios de selección:

Casetes de tejidos incluidos en parafina de órganos específicos de apéndice cecal y estómago que hayan sido procesados con un método de histoprocesamiento que incluye uso de xilol solamente realizados en anatomía patológica perteneciente al Hospital MINSA San Juan de Lurigancho durante el periodo enero a diciembre del 2025.

En este caso la población hace referencia a casetes de tejidos incluidos en parafina pues de ellos se obtendrá las láminas para la posterior coloración sea bien hematoxilina eosina o maíz morado que serán en definitiva las láminas a los cuales se dirige el estudio modificando las variables para observar la calidad de la coloración [40].

#### 10.5. Muestra y muestreo:

**Muestra:** está compuesta por 430 láminas portaobjetos provenientes de los casetes conteniendo determinados tejidos (estómago y apéndice cecal) que fueron incluidos en medios de parafina histológica y que se sometieron a un proceso histotecnológico que comprenda xileno en anatomía patológica del Hospital del ministerio de Salud conocido como San Juan de Lurigancho en el periodo enero-diciembre del 2025.


$$\text{Formula: } n = ( Z \times s ) / E )^2$$

- $Z=1.96$
- Desviación estándar (s)=1
- Error tolerado (E) = 0.3

**Muestras necesarias= 43 láminas coloreadas por grupo**

Número de grupos de coloraciones de las láminas:

- Coloraciones = 2 (un grupo coloreadas con Hematoxilina y otro grupo con

	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>	<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
		<b>VERSIÓN:01</b>

Maíz morado). **El grupo de hematoxilina sería (01) un grupo estable** de referencia con temperatura ambiente y pH neutro.

Solamente el grupo de láminas coloreadas con el maíz morado tendría las variaciones en su pH y temperatura.

- pH= con 3 opciones (pH ácido, neutro y básico)
- Temperatura= con 3 opciones (temperatura ambiente, 37 C y 58C)
- **Total de combinaciones para el grupo de coloración de láminas con el maíz morado: 3x3=9**

Total de grupos de coloración de láminas: Hematoxilina (1) + Maíz morado (9)

**Muestras necesarias= 43 (láminas por cada grupo) x 10 (total de grupos) = 430 láminas de coloración**

**Muestreo:** Aleatorio simple

Este muestreo es más útil cuanto más homogénea es la población [40].

#### 10.6. Variables:

##### **Coloración de maíz morado:**

El maíz morado tiene dentro de sus componentes uno que principalmente le da el color conocido como antocianina [4].


##### **Coloración de hematoxilina:**

Compuesto cristalino incoloro obtenido mediante la extracción de palo de tinte (Haematoxylon campechianum) con éter. Puede utilizarse como indicador con un rango de pH de 5 a 6, pero se utiliza principalmente en forma oxidada como colorante nuclear en microscopía. Debido a la carencia de cromóforos, la hematoxilina estrictamente no debería considerarse como colorante. La hematoxilina para que actúe como un colorante debe oxidarse convirtiéndose en hemateína lo que se logra exponiéndola a O<sub>2</sub> atmosférico a la solución base de hematoxilina pero también se puede lograr agregando determinados oxidantes [7, 41].

### Operacionalización de variables

	<b>Definición operacional</b>	<b>Dimensiones</b>	<b>Indicadores</b>	<b>Unidad de medida</b>	<b>Escala</b>	<b>Valor final</b>
1: Coloración de maíz morado:	Es el colorante de origen vegetal de tipo fenólico e hidrosoluble llamado antocianina presente en el maíz morado (2, 4, 15).-	No aplica en el estudio	Color morado del núcleo celular  -adecuada: se ven detalles nucleares  -inadecuada: baja o demasiada intensidad, no se ve detalles nucleares (10).	Intensidad de la coloración:  1+: inadecuada, baja intensidad  2+: adecuada, se ve detalle nuclear  3+: inadecuada, alta intensidad	Ordinal  (gradualidad de la intensidad de la coloración)	No aplica en el estudio
2: Coloración de hematoxilina:	Colorante de uso rutinario en gran parte de laboratorios de histopatología en el mundo obtenido de duramen del árbol haematoxylon campechianum [9].	No aplica en el estudio	Color morado del núcleo celular  -adecuada: se ven detalles nucleares  -inadecuada: baja o demasiada intensidad, no se ve detalles nucleares (10).	Intensidad de la coloración:  1+: inadecuada, baja intensidad  2+: adecuada, se ve detalle nuclear  3+: inadecuada, alta intensidad	Ordinal  (gradualidad de la intensidad de la coloración)	Valor final  No aplica en el estudio

<p>Eficacia de la coloración nuclear</p>	<p>Evaluación de la calidad de la coloración (intensidad de la coloración, definición nuclear, porcentaje de células correctamente coloreadas del núcleo-citoplasma y tiempo de coloración)</p>	<p>Intensidad de la coloración Definición nuclear Porcentaje de células correctamente teñidas del núcleo-citoplasma</p>	<p>Intensidad de la coloración (en una escala de 1 a 5). Definición nuclear (evaluado por un experto en el campo o mediante un sistema de puntuación de 1 a 5). Porcentaje de células correctamente teñidas del núcleo-citoplasma (Porcentaje de células correctamente teñidas (de 0% a 100%).</p>	<p>Intensidad de la tinción: Escala numérica (de 1 a 5). Definición nuclear: Escala numérica (de 1 a 5). Porcentaje de células correctamente teñidas del núcleo-citoplasma: Porcentaje (%).</p>	<p>Escala Likert de 1 a 5: Para intensidad de tinción y claridad de observación.[40] Porcentaje: Para cobertura de tinción (de 0% a 100%).</p>	<p>Promedio ponderado de la puntuación obtenida en cada uno de los indicadores para obtener una medida global de la eficacia.</p>
--	---	---	--	---	--	---

	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>	<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
		<b>VERSIÓN:01</b>

## 10.7. Procedimientos y técnicas:

### 10.7.1. Técnicas

Técnica de recolección de datos mediante un instrumento pre-establecido para ser llenado por un experto

### 10.7.2. Descripción de instrumentos

Se usará un instrumento de recolección de datos que será llenada por 3 microscopistas considerados médicos con amplia experiencia como anatómo patólogos a simple ciego (sin saber el proceso de coloración usado).

Dicho instrumento de recolección de datos evaluará 3 parámetros microscópicos que medirán la eficacia de la coloración nuclear:

1. Definición nuclear (en una escala de 1 a 4)
2. Intensidad de coloración nuclear (en una escala de 1 a 4)
3. Porcentaje de células (núcleo/citoplasma) correctamente teñidas (en una escala de 1 a 4)

También se usará un instrumento de recolección de datos que será llenada por un tecnólogo médico quien codificará las láminas mediante números arábigos únicos no repetibles para un contexto único de combinación de 5 variables (grupo, pH y temperatura), siendo las opciones:


1. Grupo: 2 opciones (Hematoxilina /Maíz Morado)
2. pH: 3 opciones (Ácido/Neutro /básico)
3. Temperatura: 3 opciones (Ambiente/ 37 grados C/ 58 grados C)

### 10.7.3. Validación

Se confecciona un formato para validación de los instrumentos de investigación el cual será evaluado por 3 expertos anatómo-patólogos con una amplia experiencia en diagnósticos microscópicos que garantice la calidad de las observaciones realizadas [42].

### 10.7.4. Confiabilidad

Se evaluará la confiabilidad del instrumento usado para recolectar nuestros datos usando el coeficiente Alfa de Cronbach constatando que las mediciones obtenidas

	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>	<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
		<b>VERSIÓN:01</b>

sean sólidas y estables [42].

## 10.8. Plan de análisis:

### 10.8.1. Recolección de Datos

a. Corte y Coloración: Se realiza cortes al micrótopo de muestras de tejido en cortes distribuidos en 2 grupos (maíz morado y hematoxilina).

- Grupo 1 (Hematoxilina): 1 corte (las variables se establecerán con una temperatura ambiente y pH neutro)
- Grupo 2 (maíz morado): 9 cortes (3 para temperatura y 3 para pH)

b. Evaluación por Expertos: tres expertos anatómo-patólogos evaluarán las láminas coloreadas utilizando una escala de puntaje predefinida en una tabla estándar.

2. Registro de Datos: se confeccionará un archivo de base de datos en Excel donde se registrará las puntuaciones de cada experto para cada muestra según su grupo (Hematoxilina o Maíz morado) y su variante (temperatura y pH).


## 10.9. Aspectos éticos y de integridad científica:

- Debido a que se trabajaran con muestras histológicas, no se requiere el consentimiento informado de los pacientes- La investigación será pasible de revisión y posterior aprobación por un Comité Institucional de Ética e Integridad Científica previo a su puesta en marcha.
- Los datos serán obtenidos y estudiados con precisión garantizando reportar resultados fidedignos.

## 11. Recursos y presupuestos:

**Tabla01.Recursosypresupuestos**


	<b>PRECIO UNITARIO</b>	<b>CANTIDAD</b>	<b>PRECIO TOTAL</b>
<b>RECURSOS HUMANOS</b>			
Tecnólogo Medico	150	1	150


 Universidad Norbert Wiener	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR          EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y          GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>			<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
				<b>VERSIÓN:01</b>
Medico anatomo-patólogo	100	3	300	
<b>RECURSOS MATERIALES Y EQUIPOS (BIENES)</b>				
Laminas con cortes de tejidos	10	1000	10 000	
pH metro	1	200	200	
Termómetro	1	70	70	
<b>SERVICIOS</b>				
Histotecnológicos de proceso	1	500	500	
<b>GASTOS ADMINISTRATIVOS Y/O IMPREVISTOS</b>				
Hojas	0.1	400	40	
Impresiones	0.5	400	200	
Etiquetas	0.2	1000	200	
<b>TOTAL</b>			11660	

## 12. Cronograma de actividades:

**Tabla 02. Cronograma de actividades**


N	Actividad	2025							
		Mes 1	Mes 2	Mes 3	Mes 4	Mes 5	Mes 6	Mes 7	Mes 8
1	Revisión de literatura	X							
2	Planteamiento, formulación del problema, justificación, objetivos e hipótesis	X	X						
3	Definición y planificación metodológica, selección de muestra, definición y operacionalización de variables		X						
4	Recolección de datos de los grupos de coloración hematoxilina y maíz morado			X	X	X			
5	Evaluación por los expertos de los grupos de coloración hematoxilina y maíz morado			X	X	X			
6	Análisis de datos y procesamiento				X	X	X		

 Universidad Norbert Wiener	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR          EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y          GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>						<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003	
							<b>VERSIÓN:01</b>	
7	Redacción de conclusiones y preparación de documento final						X	
8	Revisión por el Comité de Ética							X
9	Planificación de defensa de proyecto de tesis y su sustentación							X


	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>	<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
		<b>VERSIÓN:01</b>

### 13. Referencias:

1. Cai T, Ge-Zhang S, Song M. Anthocyanins in metabolites of purple corn. *Frontiers in Plant Science*. 2023;14. doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1154535>.
2. Kim HY, Lee KY, Kim M, Hong M, Deepa P, Kim S. A Review of the Biological Properties of Purple Corn (*Zea mays* L.). *Scientia Pharmaceutica*. 2023;91(1). doi: <https://doi.org/10.3390/scipharm91010006>.
3. Kayesh E, Shangguan L, Korir N, Sun X, Bilkish N, Zhang Y, et al. Fruit skin color and the role of anthocyanin. *Acta Physiologiae Plantarum*. 2013;35. doi: <https://doi.org/10.1007/s11738-013-1332-8>.
4. Rabanal-Atalaya M, Medina-Hoyos A. Análisis de antocianinas en el maíz morado (*Zea mays* L.) del Perú y sus propiedades antioxidantes. *Revista Terra Latinoamericana*. 2021;39. doi: <https://doi.org/10.28940/terra.v39i0.808>.
5. Silva P, Mosca L. Editorial for Special Issue: Anthocyanin. *Molecules*. 2021;26(9). doi: <https://doi.org/10.3390/molecules26092496>.
6. Colombo R, Ferron L, Papetti A. Colored Corn: An Up-Date on Metabolites Extraction, Health Implication, and Potential Use. *Molecules*. 2021;26(1). doi: <https://doi.org/10.3390/molecules26010199>.
7. Suvarna SK, Layton C, Bancroft JD. Bancroft's theory and practice of histological techniques. Eighth edition ed. [London?]: Elsevier; 2019.
8. Hussain B, Yaseen H, Khalid Al G, Al-Misned F, Qasim M, Al-Mulhm N, et al. A study on risk assessment of effect of hematoxylin dye on cytotoxicity and nephrotoxicity in freshwater fish: Food and water security prospective research. *Saudi J Biol Sci*. 2021;28(4):2267-71. doi: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.01.019>.
9. Information NCfB: PubChem Compound Summary for CID 442514, Hematoxylin. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Haematoxylin>. (2025). Accessed.
10. Lopez JS: Utilidad del colorante de maíz morado para el método de coloración de papanicolaou en frotices cérvico-vaginales. (2021). Accessed.
11. Apaza. Comparación del colorante de maíz morado (*zea mays* l.) con la tinción de hematoxilina de harris, para nucleos en cortes histológicos de piezas anatómicas en el servicio de anatomía patológica del hospital Honorio Delgado espinoza, arequipa. 2016.: uap; 2016.
12. Uriol P. Aplicación del colorante del maíz morado en la tinción nuclear de células presentes en un corte histológico. UNMSM; 2004.
13. Enaru B, Dretcanu G, Pop TD, Stanila A, Diaconeasa Z. Anthocyanins: Factors Affecting Their Stability and Degradation. *Antioxidants (Basel)*. 2021;10(12). doi: <https://www.mdpi.com/2076-3921/10/12/1967#>.
14. Urquizo E, Sánchez NdJ. Extracto del maíz morado como indicador químico. *Revista Chakiñan de Ciencias Sociales y Humanidades*. 2019:92-104. doi: <https://doi.org/10.37135/chk.002.09.08>.

 Universidad Norbert Wiener	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR  EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y  GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>	<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
		<b>VERSIÓN:01</b>

15. Horbowicz M, Kosson R, Grzesiuk A, Dębski H. Anthocyanins of Fruits and Vegetables - Their Occurrence, Analysis and Role in Human Nutrition. *Vegetable Crops Research Bulletin*. 2008;68:5-22. doi: <https://doi.org/10.2478/v10032-008-0001-8>.
16. Xue H, Zhao J, Wang Y, Shi Z, Xie K, Liao X, et al. Factors affecting the stability of anthocyanins and strategies for improving their stability: A review. *Food Chem X*. 2024;24:101883. doi: <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2024.101883>.
17. Jasphin S, Parampalli Raghavendra A, Charlotte Solomon M, Amuthan A, Mohan Kumar Singh B, Valerina Kairanna N. Anthocyanins: a hue for histology - systematic review. *Malaysian Journal of Science*. 2023;42(1):106-25. doi: <https://doi.org/10.22452/mjs.vol42no1.10>.
18. Mulla SA, Bhattacharjee M, Shrivastava S, Panchmahalkar A. Natural staining-aided cytology: A potential ally of pathologists for early diagnosis of pathological lesions in remote and unequipped setups. *J Oral Maxillofac Pathol*. 2023;27(4):746-7. doi: [https://doi.org/10.4103/jomfp.jomfp\\_348\\_23](https://doi.org/10.4103/jomfp.jomfp_348_23).
19. Zhao Y, Sun J, Cherono S, An J-P, Allan AC, Han Y. Colorful hues: insight into the mechanisms of anthocyanin pigmentation in fruit. *Plant Physiology*. 2023;192(3):1718-32. doi: <https://doi.org/10.1093/plphys/kiad160>.
20. Alshamar HA, and Dapson RW. Anthocyanins from a single botanical source can be used as a replacement for hemalum and eosin. *Biotechnic & Histochemistry*. 2021;96(8):570-8. doi: <https://doi.org/10.1080/10520295.2021.1966507>.
21. Alshamar HA, and Dapson RW. Molecular stabilization and complexation: the secrets of making a nuclear-selective histological stain from naturally occurring anthocyanins without oxidation. *Biotechnic & Histochemistry*. 2021;96(3):161-70. doi: <https://doi.org/10.1080/10520295.2021.1881617>.
22. Sachdev SS, Chettiankandy TJ, Sonawane SG, Sardar MA, Kende PP, Pakhmode V. Toward developing natural histologic stains using anthocyanins: A novel approach. *J Oral Maxillofac Pathol*. 2021;25(1):199. doi: [https://doi.org/10.4103/jomfp.jomfp\\_228\\_20](https://doi.org/10.4103/jomfp.jomfp_228_20).
23. Dina H. Sadiq AMG, Diyar Mohammad Hussein, Hiba Huthaim Qasim. Histology staining with an Alternative Natural Dye (*Daucus Carota L.*). *Annals of the Romanian Society for Cell Biology*. 2021:6080–4. doi: <http://annalsofrscb.ro/index.php/journal/article/view/772/648>.
24. Hartika G, Zulharmita Z, Asra R. Utilization of Natural Dyes Substances for Histological Staining: A Review. *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development*. 2021;9(1):149-58. doi: <http://dx.doi.org/10.22270/ajprd.v9i1.925>.
25. Dangles O, Elhabiri M, Brouillard R. Kinetic and thermodynamic investigation of the aluminium–anthocyanin complexation in aqueous solution. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2*. 1994(12):2587-96. doi: <https://doi.org/10.1039/P29940002587>.
26. Al-Tikritti SA, Walker F. Anthocyanin BB: a nuclear stain substitute for haematoxylin. *Journal of Clinical Pathology*. 1978;31(2):194-6. doi: <https://doi.org/10.1136/jcp.31.2.194>.
27. Salazar Moya J, Rojas-Zumaran V, Vegas C, Salafia A, Contreras-Pulache H. Use of grape-based

 Universidad Norbert Wiener	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR          EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y          GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>	<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
		<b>VERSIÓN:01</b>

stain (Vinatela) on cervical cytology: A Peruvian validation study. *Cytojournal*.20:30. doi:

[https://doi.org/10.25259/cytojournal\\_19\\_2021](https://doi.org/10.25259/cytojournal_19_2021).

28. Pu Jing MS. Purple corn anthocyanins: chemical structure, chemoprotective activity and structure/function relationships. The Ohio State University; 2006. p. 287.

29. Wulandari A, Sunarti TC, Fahma F, Enomae T. The potential of bioactives as biosensors for detection of pH. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. 2020;460(1):012034. doi: <http://dx.doi.org/10.1088/1755-1315/460/1/012034>.

30. Dey P. Basic and Advanced Laboratory Techniques in Histopathology and Cytology 2022.

31. Dubowitz V, MD, PhD, FRCP, FRCPC. Muscle Biopsy. Elsevier Limited; 2021.

32. Cooksey CJ. Hematoxylin in the 21st century. *Biotechnic & Histochemistry*. 2021;96(3):242-9. doi: <https://doi.org/10.1080/10520295.2020.1786725>.

33. Dunn C, Brett D, Cockroft M, Keating E, Revie C, Treanor D. Quantitative assessment of H&E staining for pathology: development and clinical evaluation of a novel system. *Diagnostic Pathology*. 2024;19(1):42. doi: <https://doi.org/10.1186/s13000-024-01461-w>.

34. Ma ZY, Zhang XF, Hu YZ, Zhu MD, Jin J, Qian P. Comparison of staining quality between rapid and routine hematoxylin and eosin staining of frozen breast tissue sections: an observational study. *Journal of International Medical Research*. 2024;52(6):03000605241259682. doi: <https://doi.org/10.1177/03000605241259682>.

35. Wick MR. The hematoxylin and eosin stain in anatomic pathology—An often-neglected focus of quality assurance in the laboratory. *Seminars in Diagnostic Pathology*. 2019;36(5):303-11. doi: <https://doi.org/10.1053/j.semmp.2019.06.003>.

36. Bartoš V, Adamicová K, Kullová M, Pěč M. Immunohistochemical evaluation of proliferative activity (Ki-67 index) in different histological types of cutaneous basal cell carcinoma. *Biologia*. 2012;67(3):610-5. doi: 10.2478/s11756-012-0035-8.

37. Hadi M, Martel C, Huayta F, Rojas R, Arias J. Metodología de la investigación: Guía para el proyecto de tesis. 2023.


38. Torales Benítez JC, Barrios Coronel JI, Ortiz Galeano I, Estigarribia Sanabria GM. Manual de Metodología de la Investigación: una introducción a la Investigación Científica en Ciencias de la Salud. Editorial de la Facultad de Ciencias Médicas. UNA; 2024.

39. David D. Celentano S, MHS and Moyses Szklo, MD, MPH, DrPH. Gordis. *Epidemiologia*. 6th ed. 2019.

40. Iglesias ME. Metodología de la investigación científica - Diseño y elaboración de protocolos y proyectos. Noveduc; 2016.

41. Dorland. *Dorland's Illustrated Medical Dictionary (Dorland's Medical Dictionary)* Saunders; 2011.

42. Saldaña DOT, Huamán DJM, Mego MJSD, Camacho DWMC, Castillo MCAP, Idrogo MCET, et al. Metodología de la investigación una mirada Global Ejemplos prácticos. 2024.

 Universidad Norbert Wiener	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR          EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y          GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>	<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
		<b>VERSIÓN:01</b>

**14. Anexos**


**TABLA DE EVALUACIÓN POR EXPERTO**

**FECHA:** \_\_\_\_\_

**CÓDIGO DE LAMINA:** \_\_\_\_\_ (según la etiqueta del portaobjeto)

	<b>Deficiente</b>	<b>Aceptable</b>	<b>Bueno</b>	<b>Excelente</b>
Definición nuclear				
Intensidad de coloración nuclear				
Porcentaje de células (núcleo/citoplasma) correctamente teñidas				

\_\_\_\_\_  
**Firma y sello del Experto**

 Universidad Norbert Wiener	<b>REGLAMENTO DE ELABORACIÓN DE TESIS PARA OPTAR POR          EL TÍTULO PROFESIONAL, TÍTULO DE ESPECIALISTA Y          GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO</b>	<b>CÓDIGO:</b> UPNW-GTI-REG-003
		<b>VERSIÓN:01</b>

### TABLA DE SEGUIMIENTO DE LAMINA

**FECHA:** \_\_\_\_\_

**CÓDIGO DE LAMINA:** \_\_\_\_\_ (código único establecido por el Tecnólogo Medico)

**Marque con una X**

<b>Características</b>				
Grupo	<b>Hematoxilina</b>	<b>Maíz Morado</b>		
pH	<b>Acido</b>	<b>Neutro</b>	<b>básico</b>	
Temperatura	<b>Ambiente</b>	<b>37 grados C</b>	<b>58 grados C</b>	

\_\_\_\_\_  
**Firma y sello del Experto**




# 4% Similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para ca...

## Filtrado desde el informe

- ▶ Bibliografía
- ▶ Texto mencionado
- ▶ Coincidencias menores (menos de 10 palabras)

## Fuentes principales

- 3%  Fuentes de Internet
- 1%  Publicaciones
- 3%  Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

## Marcas de integridad

### N.º de alertas de integridad para revisión

No se han detectado manipulaciones de texto sospechosas.

Los algoritmos de nuestro sistema analizan un documento en profundidad para buscar inconsistencias que permitirían distinguirlo de una entrega normal. Si advertimos algo extraño, lo marcamos como una alerta para que pueda revisarlo.

Una marca de alerta no es necesariamente un indicador de problemas. Sin embargo, recomendamos que preste atención y la revise.

## Fuentes principales

- 3% Fuentes de Internet
- 1% Publicaciones
- 3% Trabajos entregados (trabajos del estudiante)

## Fuentes principales

Las fuentes con el mayor número de coincidencias dentro de la entrega. Las fuentes superpuestas no se mostrarán.

1	Internet	repositorio.unfv.edu.pe	<1%
2	Trabajos entregados	Universidad Wiener on 2025-06-01	<1%
3	Trabajos entregados	RMIT University on 2019-10-24	<1%
4	Trabajos entregados	Universidad Wiener on 2025-04-14	<1%
5	Trabajos entregados	University of South Florida on 2024-11-09	<1%
6	Internet	ijpsr.com	<1%
7	Internet	www.scielo.org.mx	<1%
8	Trabajos entregados	Universidad Wiener on 2025-11-09	<1%
9	Internet	repositorio.ucp.edu.pe	<1%
10	Trabajos entregados	Universidad Wiener on 2025-10-01	<1%
11	Trabajos entregados	Universidad de Alcalá on 2025-07-04	<1%