

UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

**FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUÍMICA**

**CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES Y
CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE HOJAS DE**

Annona chirimola (CHIRIMOYA)

**Tesis para optar el Título Profesional de Químico
Farmacéutico**

Autor:

RODOLFO FERNANDO HUAYHUASH HUAMANCHUMO

ORCID: 0000-0002-2148-7976

Asesor:

LIZ ELVA ZEVALLOS ESCOBAR

ORCID: 0000-0002-0506-3647

CHIMBOTE

2019

TÍTULO:

**CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES Y
CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE HOJAS DE *Annona*
chirimola (CHIRIMOYA)**

EQUIPO DE TRABAJO

AUTOR

Rodolfo Fernando Huayhuash Huamanchumo

ORCID: 0000-0002-2148-7976

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Estudiante de Pregrado,
Chimbote, Perú

ASESOR

Mgtr. Zevallos Escobar, Liz Elva

ORCID: 0000-0003-2547-9831

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Facultad de Ciencias de
La Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Chimbote, Perú

JURADO

Mgtr. DIAZ ORTEGA, JORGE LUIS

ORCID: 0000-0002-6154-8913

Mgtr. RAMIREZ ROMERO, TEODORO WALTER

ORCID: 0000-0002-2809-709X

Mgtr. VASQUEZ CORALES, EDISON

ORCID: 0000-0001-9059-6394

JURADO EVALUADOR

Dr. DIAZ ORTEGA, JORGE LUIS
PRESIDENTE

Mgtr. RAMÍREZ ROMERO, TEODORO WALTER
MIEMBRO

Mgtr. VASQUEZ CORALES, EDISON
MIEMBRO

Mgtr. ZEVALLOS ESCOBAR, LIZ ELVA
ASESOR

AGRADECIMIENTOS

Agradecer eternamente a dios, por darme su bendición y por permitirme superar adversidades y obstáculos día tras día, por darme fuerza moral y sobre todo por haberme indicado el camino correcto hasta el día de hoy.

Agradecer a mis maestros, por su confianza, por su paciencia, porque me permitieron crecer como estudiante y como persona, saber que puedo ser útil a la sociedad y no perderme en el camino.

Agradecer a mi madre, Gladys Huamanchumo Salgado, por su esfuerzo, por su apoyo, por su cariño, por su plática y por todo su apoyo incondicional que puso en mí.

Agradecer a mi hermano Alexis Huayhuash Huamanchumo que con sus palabras siempre me hicieron mejorar como persona y nunca recaer ante nada.

A mi Asesora Liz Zevallos Escobar, por sus aportes correctos y paciencia, para poder así culminar el presente trabajo de investigación.

DEDICATORIA

A Dios:

Por darme fuerza y sabiduría en
los momentos más difíciles ,
salud y poder realizar lo que me
propuse desde el inicio.

A mi madre:

Gladys Huamanchumo Salgado, por
su sacrificio incondicional y esfuerzo
diario, me motivaron día a día.

A mi hermano:

Alexis Huayhuash por su
motivación y aliento,
significo mucho para mí.

RESUMEN

Las plantas han contribuido en mejorar la vida de las personas, cada una de las propiedades han ayudado a encontrar una fuente de principios que fortalezcan al ser humano en salud. El objetivo de la investigación fue determinar el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante de las hojas *Annona chirimola* (chirimoya). Es un estudio de tipo descriptivo que tuvo como metodología la determinación del contenido de polifenoles totales utilizando el método de Folin – Ciocalteu teniendo como patrón catequina y para la capacidad antioxidante se usó el método de 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) teniendo como patrón Trolox. Se recolectaron las hojas en buen estado fitosanitario, se desinfecto, se secó, pulverizo y se preparó el extracto metanólico al 80 % tomando las hojas secas de *Annona chirimola*, luego se agregaron los reactivos, se agitaron vigorosamente, se llevaron oscuridad por unos minutos y finalmente se realizó la lectura en el espectrofotómetro. Resultando el contenido de polifenoles totales en el extracto metanólico de las hojas fue de $51. \pm 0.88$; mg de catequina eq/g de muestra seca respectivamente de promedio. La capacidad antioxidante muestra como resultados en el extracto metanólico en hojas fue de $381,03 \pm 10.68$ mM Trolox eq. /g de muestra seca. Se concluye que las hojas de *Annona chirimola* tienen un buen contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante.

Palabras clave: *Annona chirimola*, antioxidante, DPPH, polifenoles.

ABSTRACT

Plants have contributed to improving people's lives, each of the properties has helped to find a source of principles that strengthen the human being in his health. The objective of the investigation was to determine the content of total polyphenols and the antioxidant capacity of *Annona custard apple* leaves. It is an experimental study whose methodology was the determination of the content of total polyphenols using the Folin - Ciocalteu method having as a catechin standard and for the antioxidant capacity the 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (DPPH) method was used having as a Trolox pattern. The leaves were collected in good this phytosanitary, disinfected, dried, pulverized and the 80% methanolic extract was prepared by taking the dried leaves of *Annona chirimola*, then the reagents were added, they were vigorously shaken, they were dark for a few minutes and Finally, the reading was performed on the spectrophotometer. The content of total polyphenols in the methanolic extract of the leaves was $51. \pm 0.88$; mg of catechin eq / g of dry sample respectively on average. The antioxidant capacity shows as results in the methanolic extract in leaves was 381.03 ± 10.68 mM Trolox eq. / g of dry sample. It is concluded that *Annona chirimola* leaves have a good content of total polyphenols and antioxidant capacity.

Keywords: *Annona custard apple*, antioxidant, DPPH, polyphenols.

ÍNDICE

AGRADECIMIENTO.....	5
DEDICATORIA.....	6
RESUMEN.....	7
ABSTRACT.....	8
I. INTRODUCCIÓN.....	11
II. REVISIÓN DE LA LITERATURA.....	15
2.1. Antecedentes.....	15
2.2. Bases Teóricas.....	17
2.2.1. Taxonomía.....	18
2.2.2. Extracto metanólico.....	18
2.2.3. Antioxidante.....	18
2.2.4. Metabolismo oxidativo.....	18
2.2.5. Polifenoles.....	19
2.2.6. Métodos de determinación de polifenoles y antioxidante.....	20
III. HIPÓTESIS.....	21
IV. METODOLOGÍA.....	22
4.1. Diseño de la investigación.....	22
4.2. Población y muestra.....	25
4.3. Definición y operacionalización de variables e indicadores.....	26
4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	27
4.5. Plan de análisis.....	27
4.6. Matriz de consistencia.....	28
4.7. Principios éticos.....	29
V. RESULTADOS.....	30
5.1. Resultado.....	30
5.2. Análisis de Resultados.....	32
VI. CONCLUSIÓN.....	35
6.1. Conclusiones.....	35
REFERENCIAS.....	37
ANEXOS	

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1: Cuantificación de polifenoles totales de las hojas de <i>Annona chirimola</i> (chirimoya) expresado en mg de catequina eq. /g muestra seca.....	30
--	----

TABLA 2: Capacidad antioxidante de las hojas de <i>Annona chirimola</i> (chirimoya) expresado en mM de Trolox eq. /g muestra seca.....	31
--	----

I. INTRODUCCIÓN

Hoy en día la calidad de vida, no está solo relacionado a un medicamento, sino también a un alimento balanceado, así mismo a las plantas que se han convertido en una riqueza propia de cada país, en este tiempo son indispensable investigaciones que caractericen especies nuevas o demuestren efectos inesperados, es tanto de interés que con los años se ha conseguido ayudar en la prevención, diagnóstico, cura, como tratamiento de una diversa cantidad de enfermedades, con ello se inicia tras su uso una cultura de consumo para la vida saludable, pero también surgen errores que originan sobredosificación, efectos adversos, intoxicaciones hasta la propia muerte. ¹

Las plantas han contribuido en mejorar la vida de las personas, cada una de las propiedades han ayudado a encontrar una fuente de principios que fortalezcan al ser humano en su salud. Las asociaciones universales, por ejemplo, la Organización Mundial de la Salud (OMS) se han centrado últimamente en recuperar la información de los grupos locales de personas y la utilización de plantas con dinamia terapéutica. ²

Perú tiene una práctica de uso de plantas notable que depende de una variedad aun poco descubierta, entre ellas por su gran vegetación y regiones de desarrollo de especies de plantas lleno de productos orgánicos que apenas han sido analizados en su dimensión realmente medicinal y restaurativa. ³

En el desarrolla de una defensa natural, las plantas subsisten frente a patógenos por sustancias fenólicas que en su verdadera capacidad pueden ser antimicrobianas, antioxidantes, protectoras, embellecedoras, mientras más altas todas estas se potenciarán las actividades, estos metabolitos son en su mayoría principios que brindan vida a toda especie. ⁴

Aunque no todo está dicho un compuesto de polifenol permite a las personas alentar y evitar patologías dependientes del procedimiento de estrés o reacciones oxidativa a nivel celular, etapas que pueden exacerbar infecciones, estados inmunes, mientras que esto ha llevado a que se conviertan en un sustento como elementos útiles para el bienestar.⁵

Las hojas de las plantas han creado en su interior una forma de contrarrestar en el hombre con el mismo la oxidación de los lípidos y los tejidos, a lo largo de estas líneas se caracteriza su poder como agente preventivo del cáncer como otros alcances variado de actividades comunes, incluido un desarrollo no válido de microorganismos, para ser utilizado como un eficaz antiinfeccioso, antihipertensivo, celular y soporte cauteloso contra enfermedades cardiovasculares.⁶

La especialidad de estos metabolitos secundarios son, dinámica y velocidad con que logran el secuestro extremo del radical libre liberado ante un estrés, el tomar un enlace de hidroxilo presente en el anillo fundamental, consigue neutralizar su concentración.

7

El origen de toda enfermedad se acelera o inicia por un shock oxidativo, elevada reacción química celular, de reducción u oxidación molecular, ese proceso simula un desarrollo interrumpido por fuerzas que hacen envejecer a las células, por ello estos prefieren tener aliados que puedan interrumpir ese ataque orgánico que puede dar origen a patologías tan graves como el Cáncer.⁸

Annona chirimola tiene un lugar dentro de un grupo de plantas que se reconoce como un fruto dulce verdoso, con una visible cantidad de sus semillas en su interior, sus hojas tienen una forma lanceolada que guardan taninos, saponinas, terpenoides, flavonoides, minerales, lignanos, alcaloides, saponinas y aceites básicos.⁹

Las hojas de esta especie se desarrollan en la zona andina con una atmósfera suave y puede llegar a una altura de 3 metros, lo sorprendente de esto son sus productos orgánicos frutos de sentido dulce. Se ha utilizado de manera frecuente en problemas, por ejemplo, repelente de insectos, antipirética, analgésico, hipoglucemia, hipertensión, debido a sus compuestos fenólicos.¹⁰

Las patologías son repetitivas y tienen varias etiologías o puntos de partida que pueden delinear una vida crítica o una baja calidad de vida, cuyo factor principal es el estrés, presión que impulsa las sensaciones y los sentimientos, desagradable con una alta centralización de radicales libres que produce un daño hasta mental enfocado en ello, hoy *Annona chirimola* está siendo parte de ser una fuente de nuevos fármacos.¹¹

Por lo detallado se puede dar respuesta a la pregunta ¿Cuál es el contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante de las hojas de *Annona chirimola* (chirimoya)?

Este estudio propone los siguientes objetivos:

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar el contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante de las hojas de *Annona chirimola* (chirimoya).

OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar el contenido de polifenoles totales de las hojas de *Annona chirimola* (chirimoya) expresado en mg de catequina eq. /g muestra seca
- Determinar la capacidad antioxidante de las hojas de *Annona chirimola* (chirimoya) expresado en mM de Trolox eq. /g muestra seca.

II. REVISION DE LA LITERATURA

2.1. Antecedentes

Santos ¹² estudio por primera vez las hojas de *Annona chirimola*. Uso dos métodos para la cuantificación uso la técnica de Folin Ciocalteu y para lo antioxidante el 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH). Como resultado obtuvo compuestos fenólicos, catequina, galocatequina, galocatequina, afzelechincatequina y procianidina tetramer y la capacidad antioxidante.

Sánchez ¹³ et al, el año 2019 averiguo la cantidad de flavonoides y la actividad antioxidante de las hojas de *Annona chirimola*. Uso dos métodos para la cuantificación uso la técnica de Folin Ciocalteu y para lo antioxidante el 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH). Entre sus resultados la hoja de chirimoya encontró un poder antioxidante igual a 0,86 mg igual a trolox/mg en extracto seco.

Albuquerque ¹⁴ el año 2016 estudio la actividad antioxidante de *Annona chirimola* y determino los compuestos fenólicos. Uso dos métodos para la cuantificación uso la técnica de Folin Ciocalteu y para lo antioxidante el 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH). Se halló resultados con una anti oxidación potente por sus flavonoides en un promedio de 44.7 equivalentes de epicatequina/ 100 g.

Loizzo ¹⁵ estudio el 2012 los extractos lipófilos y fenólicos del mesocarpio de chirimoya. Uso el método para las cuantificaciones técnica Folin Ciocalteu, encontrando una cantidad superlativa de flavonoides desde 6299 y 9603 mg /kg- de peso seco.

Gupta ¹⁶ el año 2011 estudio *Annona chirimola* y su contenido de antioxidantes mediante el ensayo de la capacidad de absorción de los radicales de oxígeno. Como resultados se demostró una mayor capacidad de absorción de radicales libres con ello denota su poder antioxidante.

Barreca et al, ¹⁷ estudio la capacidad antioxidante de hojas de *Annona chirimoya*. Usó la técnica del 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH). Como resultado halló que tenían actividades poderosas antioxidante, por su concentración flavanólica y procianidina.

Baskar ¹⁸ estudio 4 especies de *Annona*, *asquamosa*, *muricata*, y *reticulata* en sus hojas. Usó dos métodos para la cuantificación: uno la técnica de Folin Ciocalteu y para lo antioxidante el de 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH). Los resultados indicaron que mostró la mayor capacidad antioxidante

2.2. BASES TEÓRICAS

2.2.1. Descripción Taxonómica de *Annona chirimola*

Familia: Annonaceae

Género: *Annona*

Especie: *Annona chirimola*

Nombre común: Chirimoya, chirimoyo, *Annona*.

Parte de uso: flores, hojas, semillas, fruto. ¹⁹

Composición Química

La composición química detalla polifenoles, muchos taninos, altos flavonoides, antocianinas, cumarinas, alcaloides, saponinas, antraquinonas, glicósidos cianogénicos, esteroides, fitoesteroles, triterpenoides, carotenoides, glucósidos, vitaminas y carbohidratos. ²⁰

Descripción botánica

La chirimoya es una especie andina, crece en lugares muy elevados, en quechua se dice chirimuya, significado, semillas frías. El fruto tiene forma de un corazón, las hojas es de tamaño mediano, está recubierto de una piel verdosa, lanceolada, su fruto en su interior es de color blanco y tiene semillas negras. ²¹

Propiedades medicinales

Popularmente se ha usado como antioxidante, hipoglucemiante, insecticida, antiparasitario, en problemas intestinales, antiespasmódico, antipirético, analgésico, hiperglicemia, hipertensión. ²²

2.2.2. Extracto metanólico

Llevar a un volumen de alcohol de tipo metanol luego de medir la cantidad de materia vegetal seca o fresca diluir en 100 ml de agua estéril, hasta alcanzar un proceso de desprendimiento de los metabolitos según su polaridad o lipofilia, se incluye la hierba y se asegura el compartimiento, dejándolo reposar o macerar durante 5 a 7 días, lo que depende de cada planta específicamente. ²³

2.2.3. Antioxidante

Es el proceso de defensa endógena o exógena según el organismo que adapte o sea inherente a él, su claro trabajo es poder reducir o disminución del impacto oxidativo celular, obligando que se disminuya la ganancia de electrones y la pérdida de las mismas del átomo de hidrógeno con la recaptura de todo espacio desapareado del oxígeno, con ello se da la captura libre de electrones y la pérdida de oxígeno. ²⁴

2.2.4. Metabolismo oxidativo

Este proceso se da en la célula donde aparece oxígeno O_2 , que es reducido por una molécula de agua H_2O así aceptara 4 electrones que es metabolizado por una enzima compleja la citocromo-oxidasa en la mitocondria, cuando esta molécula de oxígeno acepta un electrón forma los famosos radicales libres por estar desapareado el oxígeno. ²⁵

Radicales libres

Estas son especies químicas con estructuras muy inestables productos de una alta atracción del oxígeno por electrones del hidrogeno o el agua esta formación cuando no controlado se genera el popular EROS. ²⁶

2.2.5. Polifenoles

Sustancias orgánicas en su mayor parte en las plantas, que se sintetizan en gran cantidad, como producto de su digestión secundaria, algunos de sus fundamentales utilidades fisiológicas son de defensa, estrés y patógenos. Existen varios tipos de polifenoles con la característica en su estructura varía según número de anillos de fenol y siempre junto a una molécula de azúcar o radical. ²⁷

Clases de polifenoles

La fórmula general es una estructura de anillos aromáticos aunque sea uno unida a un grupo hidroxilo existen más de 8000 de estas especies así se tiene los siguientes:

Primero: ácidos fenólicos

Segundo: flavonoides

Tercero: taninos. ²⁷

De los presentados estos tienen 3 anillos y de estos dos son aromáticos (A y B) y uno heterociclo (anillo C) por ello se identifica ya 12 familias de estos compuestos.

Con todo se conocen flavonoles, flavonas, chalconas, etc. ²⁸

Propiedades de los polifenoles

Cuentan con una actividad y capacidad tan dinámica en lo medicinal que se registran ya estudios sobre células cancerígenas, porciones de heridas o úlceras, deterioro cognitivo, expansión de bacterias, virus y hongos deteniéndolas a todos. Un mecanismo esta en formación de complejos que paralizan enzimas o células, sustancias químicas como radicales libres o hasta detener el proceso celular anormal. ²⁸

2.2.6. Métodos determinación de polifenoles totales

Método ABTS

Este método se centra en una reacción de la sustancia ABTS o radical ABTS, que es consecuencia de este más persulfato de potasio que luego son incubados a temperatura común no mayor de 25°C en un espacio oscuro dentro de 16 horas.²⁹

Método DMPD

Este en su caso se basa en el uso de una disolución DMPD en volumen de 1 en 100 mL de ácido acético/ acetato de sodio, luego agregar cloruro férrico en disolución esto genera cationes de color y se referencia como TEAC (actividad equivalente a Trolox).²⁹

Método de Folin Ciocalteu

El reactivo de Folin Ciocalteu es una disolución del compuesto de fosfotungstato-molibdato que logra atrapar a uno o más electrones fundamentada en las reacciones redox observándose productos azules según la longitud de onda.³⁰

2.2.7. Determinación de la Actividad antioxidante por el método DPPH

Para esta técnica se espera la reducción del 2,2-difenil-1-picrilhidracilo o DPPH, a su compuesto 2,2-difenil-1-picril hidracina, ya que el anterior es una sustancia que ausenta unos octetos, dejando un lugar o electrón desapareado que consigue una absorbancia emitiendo un color azul-violeta cambiando a amarillo claro cuando tiene contacto con los radicales libres.³¹

III. HIPOTESIS

Las hojas de *Annona chirimola* (chirimoya) tienen un alto contenido de polifenoles que le brindan su capacidad antioxidante.

IV. METODOLOGIA

4.1. DISEÑO DE INVESTIGACIÓN

El presente trabajo de investigación corresponde a un estudio de tipo descriptivo, con un nivel de orientación cuantitativo.

Materiales

- Metanol (Merck)
- Agua
- DPPH (Merck)
- Trolox (Merck)
- Reactivo de Folin Ciocalteu (Merck).

Equipos

- Espectrofotómetro UV-visible (ÚNICO 2800)
- Balanza analítica (Ohaus)
- Estufa (Mettler)

Obtención de la droga vegetal (Tomado de Fustamante V.) ³²

La muestra analizada fue obtenida en junio del 2017 en el distrito de Santa, región de Ancash.

El estudio se ha realizado con las hojas de la planta, estas fueron cortadas y secadas en estufa a 45° C durante 4 horas, posteriormente pulverizadas y almacenadas a 4 C° en un frasco ámbar.

Preparación del extracto metanólico - MeOH 80% (Extracción exhaustiva).
(Tomado de Fustamante V.) ³²

Para realizar la extracción se utilizó la muestra seca y pulverizada, se pesó exactamente 0,2525 g de hojas, se añaden 15 mL de metanol al 80% + ácido fórmico al 0,1% en tubo. Luego el tubo se envolvió con una capa de aluminio y se colocó sobre el agitador magnético durante 30 minutos, después de ello se centrifugó a 6000 rpm (revoluciones por minuto) durante 5 minutos, se retiró el sobrenadante y se transfirió a una fiola de 50 mL (envuelto con una capa de aluminio), este proceso de extracción se realizó 3 veces, finalmente se llevó a volumen con el solvente y se conservó en un congelador hasta el momento del análisis.

Determinación de polifenoles totales mediante el método de Folin – Ciocalteu.
(Tomado de Fustamante V.) ³²

En una fiola de 10 ml se agregó 2,5 ml de agua tipo 2, después se añadió el estándar de catequina a concentraciones de 0,5; 1; 2,5; 5 % y 10 ppm (mg/L) para la obtención de la curva de calibración a las demás fiolas se adicionó 50 μ L y 100 μ L de extracto metanólico de las hojas. Posteriormente se agregó 500 μ L de reactivo de Folin Ciocalteu y se llevó a oscuridad por 5 minutos. Pasado los minutos se agregó 2 ml de carbonato de sodio al 10%, seguidamente se aforó con agua tipo 2 y se llevó a oscuridad por 90 minutos, finalmente se realizó la lectura en el espectrofotómetro ÚNICO 2800 UV/Vis a una longitud de onda de 700 nanómetros.

Determinación de la capacidad antioxidante según el método de DPPH (Tomado de Fustamante V.) ³²

Preparación del DPPH:

Se preparó 100 mL de solución, se pesó 2.3 mg de DPPH y se aforó a 100 mL con metanol (0.06 mM).

Determinación de la capacidad antioxidante

En una cubeta se adicionó 1450µL(micro litro) de DPPH a 0.06 mM, se llevó a leer al espectrofotómetro a una longitud de onda de 515nm para obtener la absorbancia a tiempo cero (DPPH t0), luego de ello se le agregó 50µL del extracto de hojas respectivamente y se colocó a oscuridad por 15 minutos para que reaccione, finalmente se obtuvo la absorbancia a tiempo 15 (DPPH t15).

El análisis se realizó por triplicado en la muestra.

Como estándar se utilizó el Trolox a concentraciones de 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8 mM, para obtener la curva de calibración. ³²

Para determinar el % de inhibición se utilizó la siguiente formula:

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{\text{DPPH t0} - \text{DPPH t15} \times 100}{\text{DPPH t0}}$$

(DPPH t0): absorbancia a tiempo cero

(DPPH t15): absorbancia a tiempo 15

4.2. Población y muestra.

a) Población vegetal: Hojas de que se obtuvo de la zona del Distrito de Santa - Ancash.

b) Muestra vegetal: Se trabajó con las hojas en un total de 200 gr de peso de *Annona chirimola* (chirimoya)

Criterios de exclusión:

Todas las hojas con plagas y en mal estado.

Hojas recolectadas mayor de 3 días.

Criterios de inclusión:

Hojas en buen estado sin plagas

Hojas recién recolectadas.

4.3 Definición y operacionalización de variables e indicadores.

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Indicador
Contenido de Polifenoles de hojas de <i>Annona chirimola</i>	Grupo de moléculas que comparten la característica estructural de poseer anillos aromáticos según eso serán simples o complejas.	Folin-Ciocalteu	mg catequina eq./g muestra seca
Capacidad antioxidante de los extractos de las hojas de <i>Annona chirimola</i>	Sustancia con el poder de reducir o disminuir el impacto oxidativo celular, obligando que se disminuya la ganancia de electrones y la pérdida de las mismas del átomo de hidrógeno con la recaptura de todo espacio desapareado del oxígeno.	Capacidad de secuestro y/o inhibición de radicales libres. (DPPH)	mM trolox eq./g muestra

4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Se utilizará la observación directa, medición, registro y otras características que se observen en la evaluación del efecto antioxidante y cuantificación de polifenoles. Los datos obtenidos fueron registrados en fichas de recolección de datos.

4.5. Plan de análisis.

Los datos fueron procesados en una base de datos Microsoft Excel 2016 para luego ser procesados los resultados, el análisis utilizó promedios y desviación estándar y fueron presentados a través de tablas y gráficos.

4.6 Matriz de consistencia

TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN	FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPOTESIS	VARIABLE	DISEÑO Y TIPO DE INVESTIGACIÓN	POBLACIÓN Y MUESTRA	PLAN DE ANALISIS
Contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante de las hojas de <i>Annona chirimola</i> (chirimoya)	¿Cuál es el contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante de las hojas de <i>Annona chirimola</i> (chirimoya)	<p>Objetivo general Determinar el contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante de las hojas de <i>Annona chirimola</i> (chirimoya)</p> <p>Objetivos específicos -Determinar el contenido de polifenoles totales de las hojas secas de <i>Annona chirimola</i> (chirimoya) expresado en mg de catequina eq. /g muestra seca -Determinar la capacidad antioxidante de las hojas secas de <i>Annona chirimola</i> (chirimoya) expresado en mM de Trolox eq. /g muestra seca.</p>	Las hojas de <i>Annona chirimola</i> (chirimoya) tiene un alto contenido de polifenoles que brindan su capacidad antioxidante.	<p>Dependiente: Capacidad antioxidante de hojas de <i>Annona Chirimola</i></p> <p>Independiente Contenido de Polifenoles de hojas de <i>Annona chirimola</i></p>	Estudio de tipo descriptivo, de nivel cuantitativo.	<p>Población vegetal: Conjunto hojas de <i>Annona chirimola</i></p> <p>Muestra vegetal: Se emplearan aproximadamente 10g de hojas de <i>Annona chirimola</i></p>	Estadística Descriptiva (promedios y desviación estándar)

4.7. Principios éticos

Para el presente trabajo, se orientó en su estudio mantener como referencias el Código de ética elaborado y revisado por el emblemático rector de la casa de estudios, unificado también a la base legal del Código de Núremberg, la Declaración de Helsinki y la Declaración Universal acerca de bioética y derechos Humanos de la UNESCO.³³

V. RESULTADOS

5.1 Resultados

Tabla 1: Cuantificación de polifenoles totales de las hojas de *Annona chirimola* (chirimoya) expresado en mg de catequina eq. /g muestra seca

Tipo de muestra	Parte de la planta	Tipo de extracto	Polifenoles totales (mg de catequina eq./g de muestra seca)
<i>Annona</i>	Hojas	Metanólico	59.1± 0.88
<i>chirimola</i>		80%	

Fuente: Datos propios de la investigación

Tabla 2: Capacidad antioxidante de las hojas de *Annona chirimola* (chirimoya) expresado en mM de Trolox eq. /g muestra seca.

Tipo de muestra	Parte de la planta	Tipo de extracto	mM Trolox Eq./1 g muestra seca
<i>Annona chirimola.</i>	Hojas	Metanólico (80%)	381.03 ± 10.81

Fuente: Datos propios de la investigación

5.2. Análisis de resultados

A partir de las curvas patrón calibradas se pueden seguir con el estudio y análisis de la cantidad de polifenoles totales presentes en el extracto metanólico de *Annona chirimola* y su capacidad antioxidante.

Con respecto a la Tabla 1 la cuantificación de polifenoles totales expresados en catequina equivalente por gramo de muestra seca de hojas de *Annona chirimola*, los resultados obtenidos muestran que las hojas contienen un promedio $59,1 \pm 0.88$ mg de catequina/g de hojas secas.

Datos que detalla Santos ¹⁷ quien detallo los compuestos fenólicos, catequina, gallocatequina, afzelechincatequina y procianidina.

Resultados que se asemejan por lo presentado por Barreca et al, ¹⁷ en su estudio sobre las hojas de *Annona chirimoya*, determino su concentración flavanólica y procianidina.

También en los datos de Albuquerque ¹⁹ demostró unos flavonoides totales de 44.7 g equivalentes de epicatequina/ 100 g.

En tanto que Díaz E, ³⁵ también compara esos datos con los encontrados en la planta del mismo género *Annona muricata* donde la cantidad hallada es de 2.207g de muestra seca de hojas.

El mecanismo con este método creado por Folin y Ciocalteu es que la disolución del extracto más el compuesto de fosfotungstato-molibdato logra atrapar a uno o más electrones fundamentada en las reacciones redox observándose productos azules según la longitud de onda al interactuar con grupos fenólicos. ²⁹

En lo que corresponde a la Tabla 2 determinación de la capacidad antioxidante por expresados en trolox equivalente por gramo de muestra seca de hojas de *Annona chirimola*, los resultados demuestran que el extracto metanólico de las hojas presenta una actividad de 381.03 ± 10.68 mg con respecto al trolox equivalente.

Datos que se alejan de lo hallado por Sánchez ¹⁸ et al, indicaron que el extracto de hoja de chirimoya es un potencial antioxidante 0,86 mg equivalente trolox/mg extracto seco.

Mientras que Gupta G, ¹⁶ estudio *Annona chirimola* y su contenido de antioxidantes demostró una mayor calidad de absorción de radicales libres con ello denota su poder antioxidante.

Resultados que se asemejan por lo presentado por Barreca D, ¹⁷ en su estudio sobre la calidad antioxidante de hojas de *Annona chirimoya*, determino sus actividades poderosas antioxidante, por su concentración flavanolica y procianidina.

Otro autor como Loizzo M, ²⁰ encontró en su estudio en hojas 6299 y 9603 mg kg⁻¹ de trolox por peso seco.

Lo contrario a Baskar R, ¹⁸ en aquel estudio lo realizo en 3 especies de *Annona*: *asquamosa muricata*, y *reticulada* en sus hojas mostrando todas capacidades antioxidantes.

En tanto que Díaz E, ³⁴ también compara esos datos con los encontrados en la planta del mismo género *Annona muricata* donde la capacidad antioxidante con el reactivo DPPH un valor bajo de 0.022g mM / 100 muestra seca.

López L.³⁶ también evaluó mediante DPPH y halló en las hojas mayores valores en los extractos etanólicos con una capacidad antioxidante de 24.735 ± 0.490 mmol ET/ge.

El mecanismo del efecto antioxidante se da por la disminución de óxido o acciones de oxidación que incluye la pérdida de electrones de hidrógeno con la captación de oxígeno en la partícula, disminución que implica la captación de electrones de hidrógeno con la pérdida de oxígeno, usando DPPH este se reduce de 2,2-difenil-1-picrilhidracilo a 2,2-difenil-1-picril hidracina, ya que el anterior es una sustancia que ausenta unos octetos, dejando un lugar o electrón desapareado que consigue una absorbancia emitiendo un color azul-violeta cambiando a amarillo claro cuando tiene contacto con los radicales libres.^{29,30}

Una relación a este efecto y contenido esta por la concentración presentado ya por Barreca R,¹⁷ en su estudio sobre las hojas de *Annona chirimoya*, determino su concentración flavanólica y procianidina.

VI. CONCLUSIONES

6.1. Conclusiones

- Se determinó el contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante de hojas de *Annona chirimola* (chirimoya)
- El contenido de polifenoles totales de hojas de *Annona chirimola* (chirimoya) se determinó en 59.1 ± 0.88 mg equivalente a catequina/g muestra seca.
- La capacidad antioxidantes de las hojas de *Annona chirimola* (chirimoya) es de 381.03 ± 10.6 mM de Trolox eq. /g muestra seca.

6.2.Recomendaciones

Se recomienda que se utilicen otras pruebas de capacidad antioxidante para comparar su propiedad.

Sería apropiado formular esta planta para evidenciar sus efectos en la conservación de productos.

Referencias Bibliográficas

1. Franco Y, Torres Y. Programa de Sensibilización Sobre Uso Adecuado de Medicamentos a Estudiantes de Educación Media en un Colegio Municipal de Villavicencio. 2018. [Tesis doctoral]. Universidad de los Llanos.2018
Disponible en: <http://repositorio.unillanos.edu.co/handle/001/667>
2. Canigueral S, Dellacassa E, Bandoni A. ¿Plantas Medicinales y Fitoterapia Indicadores de dependencia o factores de desarrollo? Acta farmacéutica bonaerense. 2003;22(3): 265-279.Disponible en:
https://www.researchgate.net/profile/Salvador_Canigueral/publication/233967128_Plantas_Medicinales_y_FitoterapiaIndicadores_de_Dependencia_o_Factores_de Desarrrollo/links/02bfe50d791c40f415000000.pdf
3. Bermúdez A, Oliveira M; Velázquez D. La investigación etnobotánica sobre plantas medicinales: una revisión de sus objetivos y enfoques actuales. Interciencia. 2005;30(8): 453-459. Disponible en:
http://www.scielo.org.ve/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S037818442005000800005
4. Moutounet M, Cheynier V, Sarni-manchado P. Los compuestos fenólicos. En enología: Fundamentos científicos y tecnológicos. Mundi Prensa Libros SA.2000. p. 114-136. Disponible en:
<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=589745>

5. Muñoz A. Evaluación de la capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en recursos vegetales promisorios. Rev. Soc. Quím. Perú, Lima.2007;73(3):142-149. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810634X2007000300003&lng=es&nrm=iso
6. Venereo J. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. Rev Cub Med Mil. 2002;31(2): 126-133. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0138-65572002000200009
7. Martínez S, González J, Culebras J, Tuñon M. Los flavonoides: Propiedades y acciones antioxidantes. Nutr Hosp. 2002; 17(6): 271-278. Disponible en: <http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/3338.pdf>
8. Coronado M. Vega S, Gutiérrez L, Vazquez M. Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. Rev. chil, nutri. 2015. 42(2):206-212. Disponible en: <http://www.scielo.cl/pdf/rchnut/v42n2/art14.pdf>
9. Castillo E, Jiménez J, Delgado M. Metabolitos secundarios de las familias annonaceae, solanaceae y meliaceae usadas como control biológico de insectos. Tropical and Subtropical Agroecosystems. 2010;12: 445 -462. Disponible en: <http://www.revista.ccba.uady.mx/ojs/index.php/TSA/article/view/509/425>
10. González E. Chirimoya (*Annona cherimola* Miller), frutal tropical y sub-tropical de valores promisorios. *Cultrop*. 2013; 34(3) [citado 2016-09-12], pp. 52-63. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362013000300008

11. Cortes D. Nuevos fármacos inspirados en Annonáceas. Rev. Bras. Frutic.2014;36(1):22. Disponible en:
https://www.researchgate.net/publication/273255714_Nuevos_farmacos_inspirados_en_Annonaceas
12. Santos S. Profiling of lipophilic and phenolic phytochemicals of four cultivars from cherimoya (*Annona cherimola* Mill.). Food chemistry. 2016;211(1): 845-852. Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814616308123>
13. Sánchez G. Compuestos fenólicos y actividad antioxidante de los extractos de la hoja de chirimoya (*Annona cherimola* Mill). Revista Colombiana de Química, 2019,48(2):21-26. Disponible en:
<https://revistas.unal.edu.co/index.php/rcolquim/article/view/76029>
14. Albuquerque T. Nutritional and phytochemical composition of *Annona cherimola* Mill. fruits and by-products: Potential health benefits. Food chemistry, 2016;193(1):187-195. Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814614009303>
15. Loizzo M. Radical scavenging, antioxidant and metal chelating activities of *Annona cherimola* Mill. (cherimoya) peel and pulp in relation to their total phenolic and total flavonoid contents. Journal of Food Composition and Analysis. 2012;25(2): 179-184. Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889157511001967>
16. Gupta G. The antioxidant properties of the cherimoya (*Annona cherimola*) fruit. *Food Research International*. 2011, ;44(7):2205-2209. Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996910004138>

17. Barreca D. Evaluación de las propiedades antioxidantes y citoprotectoras de la fruta exótica *Annona cherimola* Mil. (Annonaceae). *Food Research International*, 2011;44(7): 2302-2310. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0963996911001335>
18. Baskar R. Estudios antioxidantes in vitro en hojas de especies de *Annona*. 2007;45(5). Disponible en: <http://nopr.niscair.res.in/handle/123456789/5257>
19. Carneiro L. Actividades antinociceptivas y antiinflamatorias de extractos de hojas de *Annona tomentosa*. *RE Fr. Journal of integrative medicine*, 2017,;5(15):379-387. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2095496417603492>
20. Da Costa C. Actividades antinociceptivas y antiinflamatorias del extracto etanólico de atemoya *Annona crassiflora* Mart. En ratas. *Inflammo pharmacology*. 2019;27(2):397-408. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10787-017-0426-0>
21. Do Nascimento H. Actividades antinociceptivas y antiinflamatorias del extracto etanólico de atemoya (*Annona cherimola* Mill x *Annona squamosa* L.). *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 2017;11(8):p. 224-232. Disponible en: <https://academicjournals.org/journal/AJPP/article-abstract/747707A64307>
22. Cheng C. Cuatro alcaloides de *Annona cherimola*. *Phytochemistry*, 2001;56(7):753-757. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0031942200004866>

23. Toribio M. *Stapylococcus aureus* sensible a extractos metanólicos obtenido de plantas nativas de la provincia de La Pampa, Argentina. *Ciencia Veterinaria*, 2017;11(1). Disponible en:
<http://170.210.120.129/index.php/veterinaria/article/view/1877>
24. Molina E. El papel de los antioxidantes como desaceleradores del envejecimiento. *ReNut.* 2012,6(3):1109-1119. Disponible en:
<http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/3338.pdf>
25. Castañeada B. Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas. *Horizonte Médico.* 2008;8(1):56-72. 22. Disponible en:
http://www.medicina.usmp.edu.pe/medicina/horizonte/2008_1/Art4_Vol08_N1.Pdf
26. Surco F. Actividad antioxidante de los metabolitos flavonoides causados por la microflora intestinal humana. *Revista de la Sociedad Química del Perú.*2017; 82(1), 29-37. Disponible en:
http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2016000100004&lng=es&tlng=en
27. Díaz G, Escobar W, Pizarro E. Estrés Oxidativo Cuando el equilibrio se pierde. 2015;(1): 33-39. Disponible en:
<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=4736013>
28. Díaz L. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. 2002;31(2):126-33. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/mil/v31n2/mil09202.pdf>
29. Radice M. Determinación de polifenoles en cinco especies amazónicas con potencial antioxidante. *Revista Amazónica Ciencia y Tecnología.* 2017; 6(1):55-64. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6145606>

30. Garcia E, Segovia F, Lopez A. Determinación de polifenoles totales por el método de Folin- Ciocalteu [Tesis doctoral] España. Universidad Politécnica de Valencia. 2015. Disponible en: <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/52056/Garcia%20Mart%C3%ADnez%20et%20al.pdf?sequence=1>
31. Tovar J. Determinación de la actividad antioxidante por dpph y abts de 30. [Tesis doctoral]. Lima, Perú. Universidad Tecnológica del Perú. 2011. Disponible en: <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/11059/3636/1/54763T736.pdf>
32. Fustamante V. Capacidad antioxidante y contenido de polifenoles en las hojas de Ficus Carica (higo). 2018. [Tesis]. Chimbote: Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote. 2016. Disponible en: <http://repositorio.uladech.edu.pe/handle/123456789/7937>
33. Comité Institucional de Ética en Investigación. Código de Ética para la Investigación. Versión 1 [Artículo en línea] Chimbote, Perú. 2016[citado 21 de mayo de 2019]. Disponible en: <https://erp.uladech.edu.pe/sigec/moduloinvestigacion/?dom=03&mod=012>
34. Flores M. Determinación de la capacidad antioxidante de los extractos de la hojas de guanábana (annona muricata l) obtenidos por diferentes métodos. [Tesis]. Ecuador. 2018. Universidad de Guayaquil. Disponible en: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/28387/1/BCIEQ-T-0257%20Flores%20Corral%20Michael%20Gabriel%3B%20Pel%C3%A1ez%20Mendoza%20Sara%20Rosa.pdf>

35. Díaz E. Efecto de tres niveles de temperaturas de secado en la concentración de antioxidantes y contenido de polifenoles totales presentes en hojas de guanábana (*Annona muricata*), Pucallpa, Perú. [Tesis]. 2018. Universidad Nacional de Ucayali. Disponible en: <http://repositorio.unu.edu.pe/handle/UNU/3902>
36. López L. Evaluación de la actividad antiviral y antioxidante de los extractos de hojas de guanábana (*Annona muricata*). [Tesis]. Mexico.2015. Universidad de 2015. Disponible en: <http://www.repositorioinstitucional.uson.mx/handle/unison/844>

ANEXOS

Anexo 1. Certificado de Herbario

EL DIRECTOR DEL HERBARIUM TRUXILLENSE (HUT) DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO.

Da Constancia de la determinación taxonómica de un (01) espécimen vegetal:

- Clase: Equisetopsida
- Subclase: Magnoliidae.
- Super Orden: Magnolianaes
- Orden: Magnoliales
- Familia: Annonaceae
- Género: ***Annona***
- Especie: ***A cherimola Mill.***
- Nombre común: "chirimoya"

Muestra alcanzada a este despacho por FERNANDO RODOLFO HUAYHUASH HUAMANCHUMO, identificado con DNI: 47091178, con domicilio legal en Urb. El Trapecio Mz. F, Lote 8, Chimbote. Estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote (ULADECH), cuya determinación taxonómica servirá para la realización del Proyecto de Tesis: Contenido de Polifenoles totales y capacidad antioxidantes de hojas de ***Annona cherimola*** "chirimoya".

Se expide la presente Constancia a solicitud de la parte interesada para los fines que hubiera lugar.

Trujillo, 18 de octubre del 2019



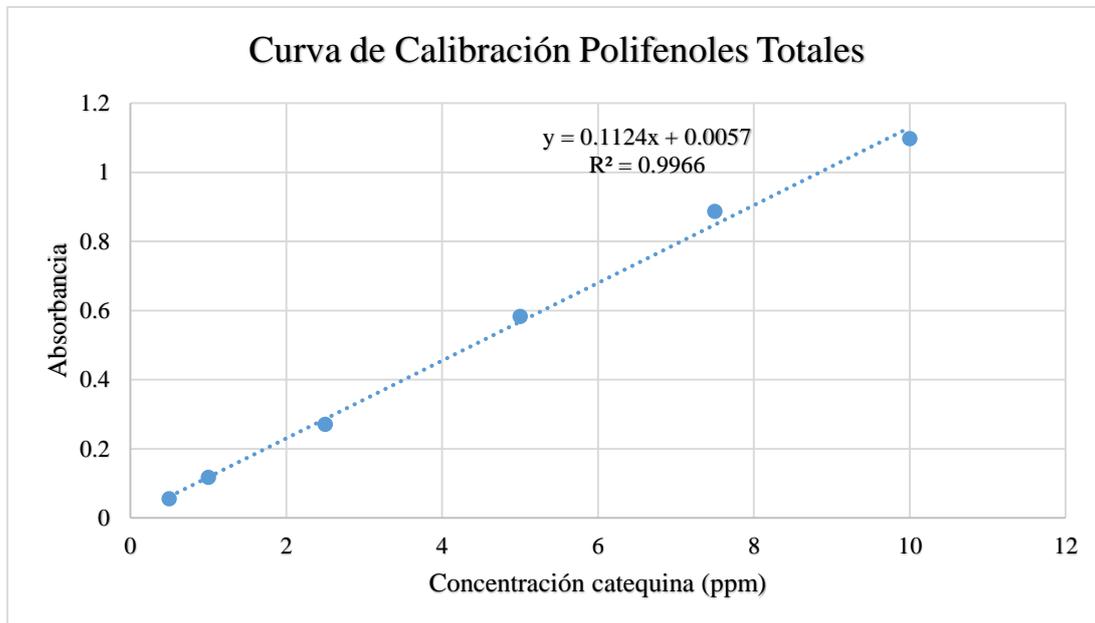
[Handwritten signature]
Dr. JOSÉ MOSTACERO LEÓN
Director del Herbario HUT

Anexo 2. Proceso de determinación de la actividad



Anexo 3.

GRÁFICO 1: Curva de calibración de polifenoles totales (catequina) para Folin-Ciocalteu.



Anexo 4.

GRÁFICO 2: Curva de calibración de DPPH

