

UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE
POLIFENOLES EN LA RAIZ DE LA PLANTA *Krameria*
lappacea “RACTANIA”

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

AUTOR:

ALMENARA VIÑA, KELY GUISELA

ASESOR:

Mgtr. ZEVALLOS ESCOBAR, LIZ ELVA.

CHIMBOTE - PERÚ

2018

TÍTULO:

**CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE
POLIFENOLES EN LA RAIZ DE LA PLANTA *Krameria lappacea*
“RACTANIA”**

JURADO EVALUADOR DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN



Dr. Jorge Luis Díaz Ortega

PRESIDENTE



**Mgtr. Teodoro Walter Ramírez
Romero**

MIEMBRO



Mgtr. Edison Vásquez Corales

MIEMBRO



Mgtr. Liz Elva Zevallos

Escobar

ASESOR

AGRADECIMIENTO

Primeramente agradezco a ti mi Dios por permitirme llegar hasta aquí y guiar cada uno de mis pasos día a día ,gracias a mi familia y a todas las personas que fueron partícipes de este proceso que hoy se ve reflejado en la culminación de mi trabajo de investigación.

Gracias a mi universidad por permitirme y convertirme en un profesional en lo que tanto me apasiona, gracias a cada maestro que hizo parte de este proceso integral de mi formación Dios los bendiga siempre.

DEDICATORIA

Desde que nací han pasado muchos años, desde ese momento he incluso antes de eso ya estabas buscando de ofrecerme lo mejor .Haz trabajado duro y sin importar nada siempre tenías una sonrisa para ofrecer a tu familia, gracias por tu amor incondicional, tus valores, el respeto, la humildad, gracias por encaminar y darle sentido a mi vida y hacer de mí una mejor persona. Fuiste mi motivación más grande para concluir con éxito este proyecto de investigación.

Para ti madre Angélica Viña Rodríguez por siempre mi amor eterno.

EPIGRAFE

La educación formal tiene sus luces y sus sombras. Nuestro esfuerzo, más allá de que hoy seamos graduados, puede servir para dar energía a las luces y hacer desaparecer las sombras.

GRANT SMITH

RESUMEN

Se comprueba a través de técnicas descriptivas los efectos de la especie vegetal analizada en la raíz de la *Krameria lappacea* “RACTANIA”. Que le confiere la actividad Antioxidante y el contenido de polifenoles en el extracto de la raíz.

Introducción: La especie del género *Krameria* perteneciente a la familia Krameriaceae conocida como Ratania del Perú, que tiene el uso en la medicina tradicional recomendado en inflamaciones, episodios de dolor y efectos antioxidantes basados en dichos que es considerado para mi estudio. Esta investigación presenta un

objetivo general: Determinar la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles en la raíz de la *Krameria lappacea* “RACTANIA”, que le permita justificar su empleo en la medicina tradicional. Estas propiedades son beneficiosas ya que son ricos en compuestos fenólicos que poseen propiedades antioxidantes, con la capacidad de inhibir procesos de oxidación en alimentos y del envejecimiento celular y propiedades bactericidas. **Metodología:** corresponde a un estudio de tipo descriptivo que permitirá analizar el efecto antioxidante de la raíz de la *Krameria lappacea* “RACTANIA”, mediante el método de DPPH y contenido de polifenoles totales por el método Folin Ciocalteu. **Resultados:** Se obtuvo la mayor cantidad de polifenoles totales por infusión 278.10 ± 11.81 y DPPH el mayor resultados fue en el extracto metanolico al 80% con un valor de 4306.68 ± 344.21 Nm/1g de muestra seca. **Conclusión,** el extracto obtenido de la raíz de *Krameria lappacea* “RACTANIA”, tiene una capacidad antioxidante y un alto contenido de polifenoles, justificando así su un interés y utilidad en la medicina para la búsqueda de opciones terapéuticas alternativas.

Palabras claves: Antioxidantes, Krameria lappacea, Ractenia

ABSTRACT

The effects of the plant species analyzed on the root of the *Krameria lappacea* "RACTANIA" are checked through descriptive techniques. It gives the antioxidant activity and the content of polyphenols in the root extract. Introduction: The species of the genus *Krameria* belonging to the family *Krameriaceae* known as *Ratania* of Peru, which has the use in traditional medicine recommended in inflammations, pain episodes and antioxidant effects based on sayings that is considered for my study. This research has a general objective: To determine the antioxidant capacity and polyphenol content in the root of *Krameria lappacea* "RACTANIA", which allows it to justify its use in traditional medicine. These properties are beneficial since they are rich in phenolic compounds that have antioxidant properties, with the ability to inhibit oxidation processes in food and cell aging and bactericidal properties. Methodology: corresponds to a descriptive study that will analyze the antioxidant effect of the root of *Krameria lappacea* "RACTANIA", using the DPPH method and total polyphenol content by the Folin Ciocalteu method. Results: The highest amount of total polyphenols was obtained by infusion 278.10 ± 11.81 and DPPH the highest results were in the 80% methanol extract with a value of 4306.68 ± 344.21 Nm / 1g of dry sample. Conclusion, the extract obtained from the root of *Krameria lappacea* "RACTANIA", has an antioxidant capacity and a high content of polyphenols, thus justifying its interest and usefulness in medicine in the search for alternative therapeutic options.

Keywords: Antioxidants, Krameria lappacea, Ractenia.

INDICE

AGRADECIMIENTO	iv
DEDICATORIA.....	v
EPIGRAFE	vi
RESUMEN	vii
ABSTRACT.....	viii
INDICE DE GRÁFICOS Y TABLAS	x
I. INTRODUCCIÓN	1
II. REVISIÓN LITERARIA	5
2.1. Antecedentes	5
2.2. Bases Teóricas de la Investigación	8
III. HIPOTESIS	14
IV. METODOLOGIA	15
4.1. Diseño de la investigación	15
4.2. Población y muestra	18
4.3. Definición y operacionalización de variables e indicadores.....	18
4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos:.....	19
4.5. Plan de análisis.....	20
4.6. Matriz de consistencia:.....	20
4.7. Principios éticos:	21
V. RESULTADOS.....	22
5.1. Resultados	22
5.2. Análisis de Resultados:.....	26
VI. CONCLUSIÓN.....	30
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	31

INDICE DE TABLAS Y GRAFICOS

TABLA 1: Contenido de polifenoles totales por gramo en la raíz de *Krameria lappacea* “RACTANIA”

GRÁFICO 1: Curva de calibración de polifenoles totales utilizando catequina como estándar a 700 nm.

TABLA 2: Capacidad antioxidante en la muestra de la Raíz de *Krameria lappacea* “RACTANIA”.

GRÁFICO 2: Curva de calibración del DPPH utilizando Trolox como estándar a 515 nm.

I. INTRODUCCION

El hombre desde tiempos remotos, empleó productos tomados de la naturaleza con el propósito de curar los males que le aquejaban. A medida que avanzaron las ciencias médicas y de modo particular el conocimiento teórico de la medicina, el uso de estos recursos se fue sentando sobre bases cada vez más científicas y mantiene una amplia validez a pesar del poderío y de la competencia de la Química Farmacéutica.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) a adoptado resoluciones que ponen de manifiesto la necesidad de racionalizar el empleo de los productos derivados de las plantas medicinales con el objetivo de limitar la prescripción, de aquellos productos de fitoterapia que carezcan de estudios previos para avalar el uso de los mismos, o de plantas de las que no se conocen suficientemente los riesgos de su utilización.¹

El pobre conocimiento de la naturaleza fitoquímica de los compuestos presentes en la raíz de la *Krameria lappacea* “RACTANIA” y las insuficientes evidencias experimentales de su capacidad farmacológica antioxidante, limitan la fundamentación científica de su empleo etnobotánico y el desarrollo de formulaciones farmacéuticas enriquecidas en metabolitos bioactivos con potenciales aplicaciones terapéuticas. En plantas, al igual que en animales y en humanos, la ubicuidad de las Especies Reactivas del Oxígeno, determina la existencia de una serie de sistemas antioxidantes que incluyen enzimas (antioxidantes enzimáticos) y metabolitos de bajo tamaño molecular.²

Los radicales libres son partículas inestables que perdieron un electrón y son altamente reactivas. No son completamente dañinos, ya que nuestro propio organismo los fabrica en cantidades moderadas para luchar contra bacterias y virus. Los radicales libres producidos por el cuerpo para llevar a cabo determinadas

Funciones son neutralizadas fácilmente por nuestro propio sistema antioxidante. El problema para nuestras células se produce cuando se da un exceso sostenido de radicales libres en nuestro sistema, a través de los años, situación en la cual nuestro sistema antioxidante requiere de los antioxidantes de la dieta. El incremento de los radicales libres por encima de la cantidad de sustancias antioxidantes, conduce al estrés oxidativo, lo que produce daño celular ³.

La incapacidad de nuestro cuerpo para neutralizar los radicales libres a los que nos exponemos diariamente, nos obliga a recurrir a nutrientes que tengan la propiedad de neutralizarlos. Podemos decir que un nutriente tiene propiedades antioxidantes cuando es capaz de neutralizar la acción de una molécula inestable, es decir un radical libre, sin perder su propia estabilidad., El consumo de frutas y verduras, ha sido asociado con la protección contra ciertas enfermedades, tales como enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares e incluso cáncer, dicha actividad que se atribuye a los diferentes antioxidantes contenidos en ellos, como vitamina C, vitamina E, beta-caroteno, también se debe a otros compuestos tales como polifenoles y flavonoides (flavonas, isoflavonas, catequinas) que son componentes que se consumen en la dieta y, que manifiestan una fuerte capacidad antioxidante. Es por esta razón que resulta importante determinar la capacidad antioxidante de las diferentes frutas, vegetales y plantas medicinales ³.

El estrés oxidativo es una condición celular en donde debido a un desequilibrio entre agentes oxidantes y antioxidantes, la membrana de la célula pierde sus funciones y la conduce a muerte celular. Para prevenir este tipo de muerte celular, la implementación de antioxidantes es una aliada importante. Por esta razón, es de vital importancia realizar y conocer la investigación en plantas medicinales para extraer

Sus efectos antioxidantes por ser provenientes de plantas llamados también Fito antioxidantes y comprobar sus efectos por medio de investigación ⁴.

Los compuestos fenólicos están presentes en todo el reino vegetal y la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos se atribuye a su facilidad para ceder átomos de hidrógeno de un grupo hidroxilo aromático a un radical libre y a la posibilidad de deslocalización de cargas en el sistema de dobles enlaces del anillo aromático. Los compuestos fenólicos poseen además una estructura química ideal para captar iones metálicos (principalmente divalentes, como el hierro (II) y cobre (II)) y, por tanto, para inhibir la formación de radicales libres a través de reacciones.⁵

Esta investigación se realizó por el método de secuestro de radicales libres DPPH, para poder determinar el contenido de antioxidantes en la raíz de la *Krameria lappacea* “RACTANIA”, mediante el método de Folin –Ciocalteu, permite observar la Concentración de Polifenoles Totales demostrando de manera experimental la acción terapéutica de la raíz obtenido de la *Krameria lappacea* “RACTANIA”, que nos permita justificar su empleo en la medicina tradicional.

La planta que se investigó no cuenta con estudios presentes pero por los dichos populares antes mencionados, refiere que las reacciones que causa este tipo de plantas son satisfactorias ante algunos problemas de salud, por lo cual le da propiedad para ser utilizada como antioxidante. Se justifica para que en la actualidad tenga un interés a cerca de la medicina herbolaria y la búsqueda de opciones terapéuticas alternativas que tiene la corteza en una creciente satisfacción hacia la medicina convencional, tanto por su falta de éxito en algunas enfermedades como por los efectos colaterales que ciertos medicamentos provocan.

El siguiente proyecto de investigación tiene como **Objetivo general:** Determinar la capacidad antioxidante en la raíz de la *Krameria lappacea* “RACTANIA”.

Objetivo Específico: Conocer el contenido de polifenoles en la raíz de la *Krameria lappacea* “RACTANIA” que permita justificar su empleo en la medicina tradicional.

II. REVISION DE LITERATURA

2.1. ANTECEDENTES.

En el año 2011 Escalona⁸ en Cuba, realizó una Evaluación de la actividad antioxidante y antimicrobiana de extractos de hojas de *Tamarindus indica* L. como premisa para su introducción en la medicina complementaria. En un modelo experimental de toxicidad hepática con tetracloruro de carbono (CCl₄), demostraron la actividad hepatoprotectora aunque su efectividad resultó menor en comparación con la de un extracto fluido en etanol al 80%. Además, fueron evaluadas dos fracciones del extracto fluido ricas en flavonoides, las que resultaron tan activas como el extracto de partida. En este sentido, se ha sugerido que la actividad hepatoprotectora se asocia con un mecanismo antioxidante, y que son las fracciones fenólicas y flavonólicas las responsables de dicha actividad. Ello fue evidenciado a través de dos técnicas químicas: la inhibición del radical 2,2 difenil -1-picrilhidracilo (DPPH) y la inhibición del radical superóxido. Estas propiedades antioxidantes es una opción a considerar como alternativa terapéutica asociadas al estrés oxidativo que constituyen en la actualidad un problema de salud.

Paredes M.⁹ en Mayo del año del 2013 determino la actividad antioxidante de cuatro plantas nativas del ecuador. Actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de: *Opuntia soederstromiana*, *Dononea viscosa*, *Bactris gasipaes* y *Mauritia flexuosa* utilizando como metodología el método de Capacidad atrapadora del Radical o del 2, 2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) a distintas concentraciones de extracto de cada planta: 200ug/mL, 150ug/mL, 100ug/mL, 50ug/mL finalmente procedieron a la investigación y experimentación farmacológica donde se efectuó la evaluación de la actividad antioxidante.

La tesis realizada por Guimet Rojas R. ⁽¹⁰⁾ en Iquitos el año 2012 menciona que el cuerpo humano fábrica de manera equilibrada antioxidantes y radicales libres, pero cuando se en exceso provoca una alteración en la síntesis y degradación que al producirse inevitablemente el estrés oxidativo facilita la generación de estos radicales, que se encuentran destinados a provocar enfermedades degenerativas como el cáncer, artrosis, enfermedades cardiovasculares, entre otros, el objetivo de esta tesis fue determinar la actividad antioxidante in vitro y conocer la concentración de polifenoles totales, por lo tanto se obtuvieron los extractos metanólicos a partir de las hojas que previamente fueron secados en estufa y molidos, en el caso de los antioxidantes fue por maceración de 48 horas a temperatura ambiente y para polifenoles totales fue por maceración a 60°C, y como resultado final los polifenoles totales son cuantificados por el método de Folin-Ciocalteu y la capacidad antioxidante se midió por el método de DPPH.

Según Cruzado M. et al. ⁽¹¹⁾ evaluaron en el año 2013 el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante de diversos extractos de alcachofa (*Cynara scolymus* L.), presentando el contenido de compuestos fenólicos expresados como mg de ácido gálico varía entre 93 y 117 mg por gramo de muestra, dependiendo del tipo de extracto analizado y de la forma de ser procesado. La actividad antioxidante de un gramo de la muestra con mayor contenido de compuestos fenólicos es comparable a la actividad de 47 mg de ácido gálico.

En Lima, Bardales ⁶ el año 2014 publico una tesis “capacidad antioxidante de *Averrhoa carambola* l. (carambola) frente a sistemas generadores de radicales libres” El estudio realizado es de tipo analítico y experimental, donde se obtuvieron

Extractos acuosos del fruto y hoja frescos de *Averrhoa carambola* L. (Carambola), que se determinó cuantitativamente los contenidos de polifenoles, flavonoides y vitamina C, también se evaluaron sus propiedades mediante reacciones con el radical libre estable DPPH. Los resultados muestran en las hojas presencia de una una mayor concentración de antioxidante que el fruto de la *Averrhoa carambola* L. (carambola).

Tovar ¹⁷ en el año 2013 realizó una investigación “determinación de la actividad antioxidante por DPPH y ABTS de 30 plantas recolectadas en la eco región cafetera” se evaluó la actividad antioxidante de los extractos crudos de metanol y diclorometano de 30 plantas a 8 diferentes familias y caracterizar por medio de un perfil cromatográfico para obtener flavonoides, que se trabajó con la parte aérea de las plantas por maceración pasiva y se reconoció la actividad antioxidante por medio de dos modelos in vitro, DPPH y ABTS; teniendo un estándar o control positivo Hidroquinona .A través de los espectros UV-Vis de las señales cromatográficas se logró identificar que los flavonoides en mayor cantidad fueron flavonas y flavonoles. Los resultados mostrados fueron por *Tovomita guianensis* (Clusiaceae) con un alto porcentaje de antioxidante de 54,97% y una concentración mayor de flavonoides lo cual es muy prometedor y podría analizarse con más detalle como alternativa natural.

2.2. BASES TEÓRICAS DE LA INVESTIGACIÓN

2.2.1. ANTIOXIDANTE

Un antioxidante es cualquier sustancia que al encontrarse a bajos niveles de concentraciones en existencia de un sustrato oxidable, esta retarda la oxidación de la misma, por lo cual en el organismo los antioxidantes pueden encontrarse como sistemas antioxidantes que coexisten en la propia célula ya que cooperan un grupo complejo y variado de moléculas que preservan los sitios biológicos clave mediante el equilibrio de las mismas contra las lesiones oxidativas, es decir la salud de nuestro organismo necesita de un eficiente sistema de defensa antioxidante que ejecute el deterioro ocasionado por los radicales libres y por otras especies de oxígeno reactivo.¹⁰ Los antioxidantes tienen la capacidad de estabilizar frente a los radicales libres evitando la peroxidación lipídica, proceso que está involucrado en el desarrollo de diferentes enfermedades comunes, en las que se incluyen la aterosclerosis y desórdenes neurodegenerativos.¹⁰

2.2.2. EFECTO ANTIOXIDANTE DE LOS FENOLES

Los fenoles son muy susceptibles a la oxidación, por lo tanto tienen un carácter marcadamente antioxidante, ya que experimentarán la oxidación antes que otras especies susceptibles de ser oxidadas y en consecuencia las protegerán frente a esos ataques oxidantes (p.ej., luz, radicales libres, químicas, etc.). Por otra parte, las estructuras fenólicas complejas tienen la capacidad de recuperar su estado reducido mediante un equilibrio redox muy favorecido por las interacciones de otros grupos funcionales de sus estructuras químicas con distintos metabolitos presentes en el medio. Con lo cual una vez oxidadas van a recuperar su hidroxilo recuperando su

Capacidad antioxidante, evitando nuevamente la oxidación de otros elementos de interés del medio (p.ej., proteínas, nutrientes, azúcares, etc.)⁷

2.3. ESTRÉS OXIDATIVO

Es aquella situación en la que las células están expuestas a un ambiente pro oxidante y los mecanismos defensivos antioxidantes son sobrepasados de forma que se llega a afectar el estado redox celular. Necesitamos el oxígeno y en la respiración celular se van creando los radicales libres, y como consecuencia estos radicales libres generando daño en las células debido a la oxidación de los lípidos, proteínas, DNA y enzimas, lo que producen una reacción en cadena, que genera mayor incremento de radicales libres y por lo tanto aumento del daño celular nuestra salud , utilizando al electrón suelto y a través de una transformación química en ese ataque cambian también a otras moléculas a radicales libres, por lo tanto estas moléculas no solo se generan de manera inapelable sino que por otros factores también se pueden generar.¹²

2.3.1. RADICALES LIBRES Y LA OXIDACION

Los radicales libres son sustancias químicas que presentan un electrón desapareado en su capa más externa, el cual los hace más inestables y reactivos, por lo cual están preparados para captar un electrón a partir de una molécula más estable, para llegar a su estabilidad, convirtiéndose en un radical libre. Entre las especies reactivas del oxígeno o sustancias pro oxidantes más comunes y de mayor importancia biológica están el radical hidroxilo (HO), el anión superóxido (O₂ .-) y el peróxido de hidrógeno (H₂O₂), el último a pesar de no tener electrones desapareados, porque no es propiamente un radical libre, se encuentra estrechamente en conjunto con la

generación de radicales el cual reacciona instantáneamente con casi todo tipo de moléculas en los seres vivos, tales como lípidos, proteínas y bases del ácido desoxirribonucleico (ADN).^{6,12}

Tovar J.¹³ Determino la actividad antioxidante de 30 plantas recolectadas en la Ecorregión cafetera de Colombia. define al DPPH que un radical libre estable se debe a la deslocalización de un electrón desapareado sobre la molécula completa, por lo cual la molécula no se dimeriza como en todos los casos lo hacen los radicales libres, esta deslocalización del electrón aumenta el típico color violeta del radical, cuando la solución reacciona con el sustrato antioxidante que puede donar un átomo de hidrogeno el color violeta se desvanece, y este cambio de color es revisado y monitoreado espectrofotométricamente y es empleado para determinar los parámetros para las propiedades antioxidantes.¹³

2.3.2. TECNICA PARA DETERMINAR POLIFENOLES TOTALES

- **Determinación de fenoles totales (FT)**

Para determinar los fenoles totales se utilizara un reactivo con una mezcla de ácidos fosfowolfrámico y fosfomolibdico ambos en medios básicos, el cual se reducen al oxidar los compuestos fenólicos, generando óxidos azules de wolframio (W_8O_{23}) y molibdeno (Mo_8O_{23}). La absorbancia del color azul desarrollado se mide a 765 nm.

2.3.3. TECNICA PARA DETERMINAR LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

- **Método DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo)**

Este método se basa en la reducción de la absorbancia medida a 515 nm del radical DPPH, por antioxidantes. Con modificaciones el método se basa en la medida de la absorbancia del radical DPPH• 100 μ M (3,9 mL) disuelto en metanol al 80%, a la

Longitud de onda de 517 nm. Se añade 0,1 mL de la muestra o patrón, la mezcla se homogeniza cuidadosamente, y se mantiene en la oscuridad durante 30 minutos. Las medidas de absorbancia a 517 nm se realizan antes de añadir la muestra (A0) y pasados los 30 y 60 minutos (Af). La concentración de DPPH en el medio de reacción se calcula a partir de una curva de calibrado obtenida por regresión lineal. Los resultados se expresan en TEAC, o sea, actividad equivalente a Trolox ($\mu\text{M/g}$ de muestra peso fresco). El antioxidante sintético de referencia Trolox, a una concentración de 0,08-1,28 mM en disolución de metanol al 80%, se ensaya en las mismas condiciones, expresándose los resultados en TEAC y VCEAC.¹²

METODO DE FOLIN CIOCALTEU (FC)

Entre los métodos para la medición de fenoles totales se encuentra el de FC, uno de los métodos más antiguos para determinar el contenido de fenoles totales. Esta prueba consiste en mezclar tungstato y molibdato en un medio altamente básico (Na_2CO_3 al 5-10 %, acuoso). Los polifenoles son fácilmente oxidables en medio básico quienes reaccionan con el molibdato formando óxido de molibdeno MoO_4 , este compuesto puede ser identificado y cuantificado por espectroscopía de uv/vis debido a que absorbe a una longitud de 750 nm. El contenido de fenoles totales generalmente, se expresa en equivalentes de ácido gálico. La prueba de FC es similar a la de ABTS ya que ambos métodos ayudan a la determinación de polifenoles y monofenoles. La ventaja del método de FC sobre ABTS es que FC está relacionado con la aparición de una absorbancia que es consecuencia de la aparición de color debido a la reacción, no a una disminución de la absorbancia como ocurre con la prueba de ABTS. Otra de las ventajas es que ésta prueba (FC) no requiere de una estandarización de las condiciones del análisis. Aunque, si bien el método de FC no

Está relacionado con la medición de actividad antioxidante, parece ser uno de los mejores métodos para estimar esta actividad antioxidante en alimentos, con la excepción de que la muestra no contenga una cantidad de proteínas significativa.¹⁶

TAXONOMIA DE LA RATANIA

División: Angiospermae

Clase: Dicotiledónea

Familia: *Krameriaceae*

Género: *Krameria*

Especie: *Krameria lappacea*

Nombre Común: “ratania del Perú”, “ractania”, “rataña”, “aretas”

ORIGEN Y DISTRIBUCION

Origen: Es originario del Perú, de las Cordillera de los Andes, donde crece a una altura de 520-3300 m.s.n.m, en terreno secos, arenosos o de grava. Simpson et al. 1989.

Distribución: Se encuentra distribuida en las zonas andinas del Perú, Bolivia, Colombia, Ecuador, Chile y Brasil, e incluso se han observado en Centroamérica y México. En el Perú crece en los departamentos de La Libertad, Ayacucho, Cajamarca y Ica.¹⁴

Cosecha y Conservación de la planta

- **Partes aprovechadas:** Raíz, Tallo y hoja.
- **Cosecha:** Durante todas las épocas del año.
- **Clima:** Temperatura anual de 23 a 26.5 °C en las zonas tropicales, temperatura mínima anual entre 20 a 26 °C, soportan una temperatura de 10 °C y la humedad es de 80 a 90%, altitudes de hasta 3200 msnm.

Tallos: Son fuertes de crecimiento determinado cuando se trata de tallos rastreros que dan a la planta un porte abierto, o de crecimiento indeterminado cuando son erguidos y erectos, pudiendo alcanzar hasta 2-4 metros de altura.¹⁴

Hoja: Radicales, alternas, comprimidas y sin nervios aparentes.

Flores: Flores sobre racimos largos terminales.

2.4. COMPOSICIÓN QUÍMICA.

Los metabolitos secundarios presentes en esta planta, entre ellos los compuestos fenólicos (flavonoides, ácidos fenólicos y taninos), son la categoría más grande de compuestos ampliamente distribuidos en el reino vegetal, con actividad biológica y considerada como potenciales agentes antiinflamatorios. La acción fisiológica de la raíz de ratania es causada por el ácido rhatania-tánico, astringente, similar al ácido tánico.¹⁴

2.4.1 ACIDO TÁNICO.

La acción fisiológica de la raíz de ratania es causada por el ácido rhatania-tánico el componente esencial es un ácido tánico que es conocido como el ácido de Rhatania tannic o ácido tánico de *Krameria lappacea*, Por la acción del ácido diluido se descompone en un azúcar cristizable es un homólogo de la tirosina, Contiene también lignina, y pequeñas cantidades de almidón de la goma, similar a la sacarina, y un ácido peculiar, ácido *Kramerico*.¹⁵

Acción y aplicaciones medicinales: Efecto muy activo como antiinflamatorio, astringente, y levemente tónico. Tiene aplicaciones para la administración interna en diarrea crónica, disentería, hemorragia, la incontinencia de la orina, la hematuria, y la hemorragia pasiva de los intestinos. Bajo la forma de infusión se ha utilizado; como

gargarismo en garganta irritada, dolorida; y como gotas astringente para la membrana mucosa de los ojos, de la nariz, etc. ¹⁶

2.4.2. COMPUESTOS FENÓLICOS

Los compuestos fenólicos se originan a través de dos rutas biosintéticas: la ruta del ácido sikímico que conduce, mediante la síntesis de aminoácidos aromáticos (fenilalanina, tirosina), a los ácidos cinámicos y sus derivados. Igualmente algunos de los compuestos fenólicos que vamos a considerar como principios activos de plantas medicinales se originan a través de rutas mixtas que combinan la vía del shikimato y del acetato, es el caso por ejemplo de los flavonoides, o que surgen a través de la combinación de la vía del mevalonato, origen de los compuestos terpénicos, con la vía del sikimato (furano y piranocumarinas, etc.) ¹⁷

Los flavonoides son metabolitos secundarios que se encuentran en todas las partes de las plantas y cumplen una función protectora de ella y sus frutos. Por ejemplo, los flavonoides se encargan de proteger a los vegetales de la incidencia de rayos ultravioletas y visibles, protege a la planta también de los insectos, hongos, virus y bacterias. Además ejercen un efecto antioxidante, controlan la acción de hormonas vegetales y agentes alelopáticos, también se comportan como inhibidores de enzimas. ¹⁸

III. HIPOTESIS

Implícita.

IV. METODOLOGIA

4.1 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

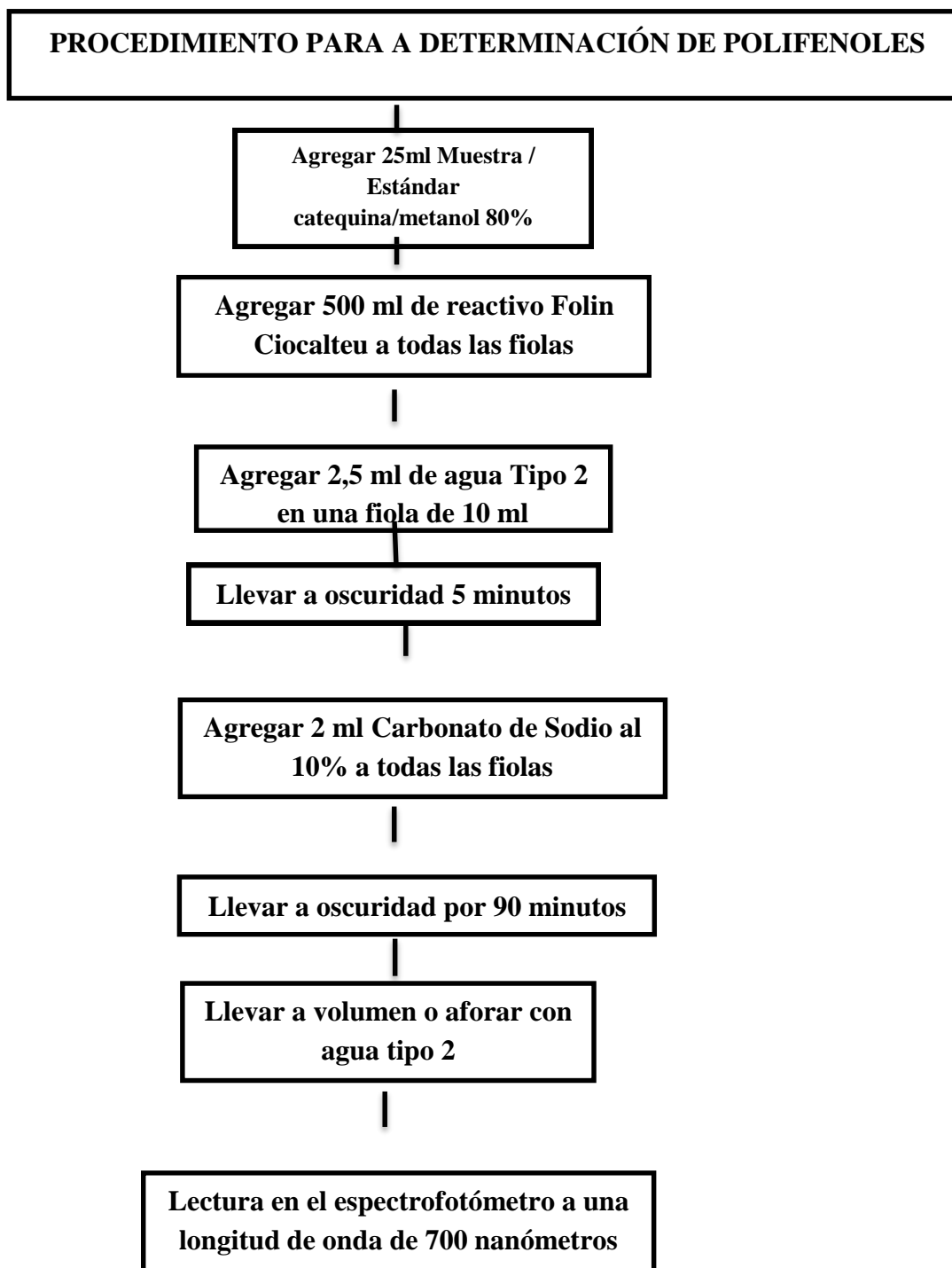
El presente trabajo de investigación corresponde a un estudio de tipo descriptivo, de enfoque cuantitativo.

4.1.1 Obtención del extracto metanolico – MeOH 80% por extracción exhaustiva:

El estudio se realizó con la raíz de la planta, en óptimo estado de desarrollo vegetativo y fitosanitario. Se pesa exactamente cerca de 0,3617 gr, se añaden 15 mL de metanol al 80% + ácido fórmico al 0,1%. El tubo se envuelve con una capa de aluminio y luego se coloca sobre el agitador magnético durante 30 minutos, después se centrifuga a 6000 rpm (revoluciones) durante 5 minutos, se separa el sobrenadante y se coloca en una fiola de 50 mL (envuelto con una capa de aluminio), este proceso de extracción se realiza 3 veces, finalmente se lleva a volumen con el solvente y se guarda en congelador hasta el momento del análisis respectivo.

4.1.2 Diseño y Formulación a el producto

Determinación de polifenoles totales mediante el método de Folin-Ciocalteu.



Determinación de actividad antioxidante según el método de DPPH.

Preparado de DPPH

Se preparó metanol en 100 ml, en el que se necesitó 2.3mg de polvo de DPPH se convirtió a gramos y se obtuvo 0.023 gr y se aforó con metanol en la fiola de 100ml, para tenerlo 0.06Mm.

En una cubeta se adicionó 1450 μ L 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 50 μ L del extracto de la raíz y se colocó a oscuridad por un tiempo de 15 minutos para que reaccione, finalmente se obtuvo la absorbancia a tiempo 15 (DPPH t15). El análisis se realizó por triplicado para cada una de las muestras.

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.

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

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

4.2. POBLACIÓN Y MUESTRA.

Población vegetal: Especie de la raíz de *Krameria lappacea* “**RACTANIA**” que se obtuvo de la Provincia de Parinacochas, departamento de Ayacucho.

Muestra vegetal: Se emplearon aproximadamente 10gr gr de la raíz pulverizada de *Krameria lappacea* “**RACTANIA**”.

Criterios de inclusión:

- Raíz en buen estado vegetativo del *Krameria lappacea* **Ractania**

4.3 DEFINICIÓN Y OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Variable	Definición Conceptual	Definición operacional	Indicador
Capacidad antioxidante de los Extractos de la raíz de la <i>Krameria lappacea</i> “ RACTANIA ”	Sustancia que al encontrarse a bajos niveles de concentraciones en existencia de un sustrato oxidable, esta retarda la oxidación de la misma	Capacidad de secuestro y/o inhibición de radicales libres.	- mM Trolox eq./1g de muestra seca.
Concentración de Polifenoles de la raíz de <i>Krameria lappacea</i> “ RACTANIA ”.	Grupo heterogéneo de moléculas que comparten la característica de tener en su estructura varios grupos bencénicos sustituidos por funciones hidroxílicas	Extractos macerados Decocciones Infusiones	- mg de catequina eq./g de muestra seca, expresados en catequinas.

4.4. TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS

Se utilizó la observación directa, medición, registro de las reacciones de coloración y otras características que se observaron en la medición de las concentraciones de polifenoles totales de la raíz de *Krameria lappacea* “*RACTANIA*” y el efecto antioxidante los datos obtenidos fueron registradas en fichas de recolección de datos.

4.5. PLAN DE ANÁLISIS

El análisis de los datos se presenta a través de las tablas y gráficos. Las tablas indican la capacidad antioxidante equivalente a trolox ($\mu\text{M/g}$ de muestra peso fresco y para el contenido promedio de polifenoles expresados en mg catequina/g de muestra y su desviación estándar. Los gráficos muestran la curva de calibración del estándar.

4.6. MATRIZ DE CONSISTENCIA

TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN	FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPOTESIS	VARIABLE	TIPO DE INVESTIGACIÓN	METODOLOGIA
<p>CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE POLIFENOLES EN LA RAÍZ DE <i>Krameria lappacea</i> “<i>RACTANIA</i>”</p>	<p>¿CUÁL ES LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE POLIFENOLES EN LA RAÍZ DE <i>Krameria lappacea</i> “<i>RACTANIA</i>”?</p>	<p>OBJETIVO GENERAL. Determinar la capacidad antioxidante de la raíz de la <i>Krameria lappacea</i> “<i>RACTANIA</i>”.</p>	<p>Implícita</p>	<p>-Capacidad antioxidante de los Extractos de la raíz de la <i>Krameria lappacea</i> “<i>RACTANIA</i>”.</p> <p>- Concentración de Polifenoles en la raíz de la <i>Krameria lappacea</i> “<i>RACTANIA</i>”.</p>	<p>Descriptivo</p>	<p>Diseño de Investigación: -Determinación de polifenoles totales según el método de Folin-Ciocalteu</p> <p>-Determinación de actividad antioxidante según el método de DPPH.</p>

4.7 PRINCIPIOS ÉTICOS

Se promovió la recuperación del conocimiento tradicional sobre el uso del, no solo para preservar su legado cultural, sino también para registrar información relevante y demostrar científicamente sus efectos terapéuticos que servirán como nuevas fuentes de medicamentos y otros beneficios para la humanidad. La finalidad es contribuir con la protección de la biodiversidad, puesto que es un bien común.

V. RESULTADOS

5.1 Resultados

A continuación se presentan los resultados descriptivos realizados a la raíz de la planta *Krameria lappacea* “RACTANIA”.

Tabla 1 Contenido de polifenoles totales utilizando catequina como estándar a 700 nm.

Muestra	Polifenoles totales (mg de catequina eq./g de muestra seca)
KLR	271.61 ± 7.84
KLRi	278.10 ± 11.81
KLRd	252.33 ± 11.47

Fuente. Datos obtenidos del laboratorio de la universidad Católica los Ángeles de Chimbote.

- KRL: *Krameria lappacea*
Extracto metanolico al 80%.
- KLRi: *Krameria lappacea*
infusión.
- KLRd: *Krameria lappacea* decocto

TABLA 2. Capacidad antioxidante en DPPH utilizando Trolox como estándar a 515 nm. En el extracto de la raíz de *Krameria lappacea* “RACTANIA”.

Muestra	DPPH (mM Trolox Eq./1g de muestra seca)
KLR	4306.68 ± 344.21
KLRi	2347.59 ± 39.90
KLRd	378. ± 38.44

Fuente. Datos obtenidos del laboratorio de la universidad Católica los Ángeles de Chimbote.

- KLR: *Krameria lappacea* extracto metanolico al 80 %
- KLRi: *Krameria lappacea* infusión.
- KLRd: *Krameria lappacea* decocto.
- DPPH: Técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo.
- Trolox: Acido-6-hidroxi-2, 5, 7,8-tetrametilcroman-2-carboxilico(.estándar).

5.2 ANÁLISIS DE RESULTADOS

En la tabla 1 se puede observar la cantidad de polifenoles extraídos, se muestra que en el extracto por infusión presentó una concentración de 278.10 ± 11.81 mg equivalentes de catequina eq./gr muestra seca. Este resultado fue mayor que aquellos de los extractos de metanol con concentración de 271.61 ± 7.84 y decocto con 252.33 ± 11.47 mg eq./gr de muestra seca.

Los flavonoides poseen un gran número de grupos hidroxilos formando glicosidos, que son de carácter polar por lo que son ligeramente solubles en disolventes polares y semipolares como el metanol, etanol y agua²¹. La diferencia significativa entre los extractos se podría deber a la capacidad de los disolventes y a la temperatura para extraer los metabolitos, esto explica el alto contenido del extracto que se muestra en la (tabla 01) demostrando que el disolvente utilizado en el proceso de extracción juega un rol muy importante, considerando la polaridad tanto del disolvente como del compuesto fenólico. Por consiguiente al usar el disolvente de alta polaridad el agua y semipolar metanol puede ocurrir que se rompa la membrana celular y mejore la extracción, lo que explica el alto porcentaje de concentración de metabolitos. Sin embargo el extracto obtenido por decocto también presenta concentración de polifenoles lo cual se podría explicar por la aplicación de temperatura facilite su extracción mediante una extracción forzada, ya que también hay fenoles que pueden ser inactivados con la calor y se realice una extracción forzada demostrando así una desventaja frente a los polifenoles termolábiles.

Según Díaz C, et al.²⁰ Evaluaron en el año 2013 Los compuestos fenólicos y actividad antioxidante in vitro de 6 plantas peruanas, entre ellas *Krameria triandra* “RACTANIA”, los resultados permiten destacar la alta actividad in vitro en los ensayos de inhibición de radicales DPPH de la raíz de *Krameria triandra* “RACTANIA”, esto debido a su gran contenido de sustancias antioxidantes, entre ellos el contenido de polifenoles.

Esta investigación sirve como un antecedente de confirmación frente al efecto antioxidante y un alto contenido de polifenoles ya que pertenece a la misma familia de mi planta investigada en donde en la parte experimental se realizó con los mismos ensayos y métodos. Determinación de compuestos fenólicos mediante el método de Folin-Ciocalteu, Actividad antioxidante mediante el test de DPPH, La capacidad de antioxidante total o TEAC se trabajó con un estándar Trolox de los extractos con mayor actividad antioxidante en un 71 % con respecto a la del control positivo trolox (100%). De las plantas evaluadas en la presente investigación resulta ser el más activos *Krameria trianda* “RACTANIA” frente a los demás extractos y llegando a ser potente en el control positivo de todos los ensayos trabajados.

En la tabla 2 se evidencia la alta capacidad antioxidante perteneciente al extracto de *Krameria lappacea* “RACTANIA” se muestra que en el extracto metanolico presentó una concentración de 4306.68 ± 344.21 nM eq. /1gr muestra seca. Este resultado fue mayor que aquellos de los extractos de infusión con concentración de 2347.59 ± 39.90 y decocto con 378.04 ± 38.44 nM eq. /1gr de muestra seca.

En el extracto obtenido por metanol muestra un alto contenido mostrado en la (tabla 02), esto se debe al radical libre DPPH que es estable en su formación por fácil disolución en metanol que mide la capacidad de los antioxidantes presentes en una muestra para capturar el radical libre preformado.^{20,21}

Las diferencias que se muestran en la concentración de la muestra se da por la exposición a altas temperaturas y otra podría ser por el mecanismo de reacción del DPPH con los antioxidantes en relación a su estructura de los mismos, es decir un antioxidante con mayor acceso al radical mostrará mejor actividad antioxidante teniendo presente que el DPPH está impidiendo estéricamente.^{23,24} .Entonces esta diferencia podría estar basada en la

reacción reversible del radical DPPH con fenoles y sus derivados lo cual indica una baja lectura en la actividad antioxidante.(Tovar,2013).

El DPPH es un radical estable cuando esta disuelto en metanol aparece de color púrpura característico, cuándo se produce una reacción con la sustancia antioxidante dona un hidrogeno y es capturado el radical libre produciendo una decoloración al color amarillo ligero o transparente, este método se determina mediante el grado de coloración de compuestos en una solución metanolica de DPPH.²⁵

Los antioxidantes son sustancias que detienen o previenen una cadena de propagación Oxidativa, mediante la estabilización del radical libre²⁰. En el cuerpo podemos encontrar radicales libres inestables que contienen un electrón no apareado, para adquirir su estabilidad buscan electrones de otras moléculas. Cuando estas moléculas se ven atacadas por los radicales libres se produce una alteración molecular en su estructura, convirtiéndose así en radicales libres provocando daños celulares ya que la excesiva producción induce a alteraciones biológicas denominado estrés oxidativo.²³

Carini et al, ²¹ evaluaron en el año 2002 el extracto de la raíz de *Krameria trianda* “*RACTANIA*”, estandarizado en su contenido de lignanos, demostraron que es capaz de proteger a los queratinocitos del daño causado por radiación UV- B.14.Los resultados de este estudio indican el uso potencial antioxidante foto protector de los extractos de la raíz como antioxidantes tópico, captadores de radicales contra el foto daño de la piel haciendo del extracto de la raíz de ratania un buen candidato para el desarrollo de bloqueadores de origen natural. Según los estudios reportados en la raíz de *Krameria trianda* “*RACTANIA*” demuestran tener un alto contenido de polifenoles que le brinda la propiedad de ser antioxidante con potenciales beneficios para la salud, como antienvjecimiento, antiinflamatorio, anticancerígeno y como defensa ante los altos niveles de radiación.

En el cuerpo humano tenemos diferentes sistemas de defensa antioxidante tanto enzimáticos como no enzimáticos que protegen al organismo de los riesgos que conlleva al estrés oxidativo.²⁶ Entre ellos se destacan las actividades enzimáticas de superóxido dismutasa (SOD), glutatión peroxidasa (GPX), y catalasa (CAT); alfa-tocoferol (vitamina E), Flavonoides y polifenoles. En presencia del oxígeno molecular exige contar con una batería múltiple de defensa contra los diversos radicales libres de oxígeno, teniendo la función de impedir su formación y por otro lado neutralizar una vez formados, para preservar la integridad celular, es por ellos que los antioxidantes son esencialmente importantes para el organismo por la capacidad que tienen de proteger a las macromoléculas biológicas contra el daño oxidativo. La manera de lograrlo es cediendo electrones a los radicales libres lo cual detiene efectivamente el ciclo dañino.²⁷

En general los antioxidantes y metabolitos como los compuestos fenólicos es una fuente muy importante ya que en esta investigación se precisa el estudio de estos compuestos que demuestran y cumplen un rol de protección beneficioso para la salud sobre todo en enfermedades degenerativas, esta propiedad se encuentra en el extracto de la raíz de *Krameria lappacea* “RACTANIA” que demuestra el contenido de un alto porcentaje de polifenoles y capacidad antioxidante.

VI. CONCLUSIONES

- En la cuantificación del contenido de polifenoles con estándar de catequina en la raíz de *Krameria lappacea* “RACTANIA” el resultado mayor fue por infusión con valores de $278.10 \pm 11,81$ mg equivalentes de catequina / g muestra seca.
- La capacidad antioxidante mediante DPPH en la raíz de *Krameria lappacea* “RACTANIA” el resultado mayor fue en el extracto metanolico con valores de 4306.68 ± 344.21 $\mu\text{mol}/1\text{g}$ de muestra seca.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Organización Mundial de la salud. Directrices generales para metodologías e investigación y evaluación de la medicina tradicional. OMS/EDM/TRM/2000.1. Ginebra, Suiza, 2000. Disponible en: <file:///C:/Users/TOSHIBA/Desktop/TESIS/MODELO%20PARA%20KA%20INTRODUCCION.pdf>
2. Valenzuela Francisca S. Importancia de los antioxidantes en plantas, Academia de Ciencias de la Región de Murcia, Mayo 2011. Disponible en: <http://www.um.es/acc/importancia-de-los-antioxidantes-en-plantas/>
3. Olivares Bardales G. capacidad antioxidante de averrhoa carambola l. (carambola) frente a sistemas generadores de radicales libres. [Tesis de Grado]. Lima, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 2014. Disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/3943/1/Oliveira_bg.pdf
4. Martinez Rodriguez Jose L, El efecto antioxidante de las plantas medicinales Mexicanas. Unidad Académica de Medicina de la Universidad Autónoma de Zacatecas. Mexico 2017. Disponible en: <http://www.conacytprensa.mx/index.php/ciencia/salud/13521-efecto-antioxidante-plantas-medicinales-mexicanas>
5. Gallego Iradi M. Estudio de la actividad antioxidante de diversas plantas aromáticas y/o comestibles. [Tesis doctoral] Barcelona. Universitat Politècnica de Catalunya. 2016. Disponible en: <https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2117/105811/TMGGI1de1.pdf;jsessionid=D0F71B8369768391E28B749D7FF77E15?sequence=1>
6. KuskoskiI Marta, G. Agustín, Asuero, Troncoso Ana; Mancini-Filho Jorge; Fett Roseane, et al. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. Rev. Soc. Quím. Perú [en línea]. 2005, [citado 20 de Noviembre de 2017]; vol.25, n.4, pp.726-732. Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/cta/v25n4/27642.pdf>

7. Troncoso, L. & Guija, E. Efecto antioxidante y hepatoprotector del *Petroselinum sativum* L. (perejil) en ratas, con intoxicación hepática inducida por paracetamol. *Anales de la Facultad de Medicina*, 68 (4),2007.Disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/3943/1/Oliveira_bg.pdf
8. Olivares Bardales G. capacidad antioxidante de *averrhoa carambola* l. (carambola) frente a sistemas generadores de radicales libres.[Tesis de Grado]. Lima,Universidad Nacional Mayor de San Marcos, 2014. Disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/3943/1/Oliveira_bg.pdf
9. Jorda Amaya D. Marketing de Grupo Agrotecnología. Disponible en: http://www.infoagro.com/documentos/los_compuestos_fenolicos_como_antioxidantes_naturales_superar_situaciones_estres_abiotico.asp
10. Escalona Arranz Julio C. Evaluación de la actividad antioxidante y antimicrobiana de extractos de hojas de *Tamarindus indica* L. como premisa para su introducción en la medicina complementaria.[tesis de grado]Cuba: Universidad de Oriente Facultad de Ciencias Naturales Departamento de Farmacia,2011.Disponible en: http://tesis.repo.sld.cu/355/1/Julio_C%C3%A9sar_Escalona.pdf
11. Mayra Paredes G. Determinación de la actividad antioxidante de cuatro plantas nativas del ecuador. [Tesis]. Quito: Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Central del Ecuador; Mayo del 2013. [Citado 20 noviembre de 2017], pág. 1-120. Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/1901/1/T-UCE-0008-22.pdf>
12. Guimet Rojas R, “Evaluación de la actividad Antioxidante y determinación de polifenoles totales in vitro, de las hojas de ocho morfotipos de *Bixa Orellana* L. [Tesis]. Iquitos: Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad Nacional de la Amazonía Peruana; 2012. Disponible en: <http://dspace.unapiquitos.edu.pe/bitstream/unapiquitos/122/1/EVALUACION%20DE%20LA%20ACTIVIDAD%20ANTIOXIDANTE%20Y%20DETERMINACION%20DE%20POLIFENOLES%20TOTALES%20IN%20VITRO%20DE%20LAS%20HO.pdf>

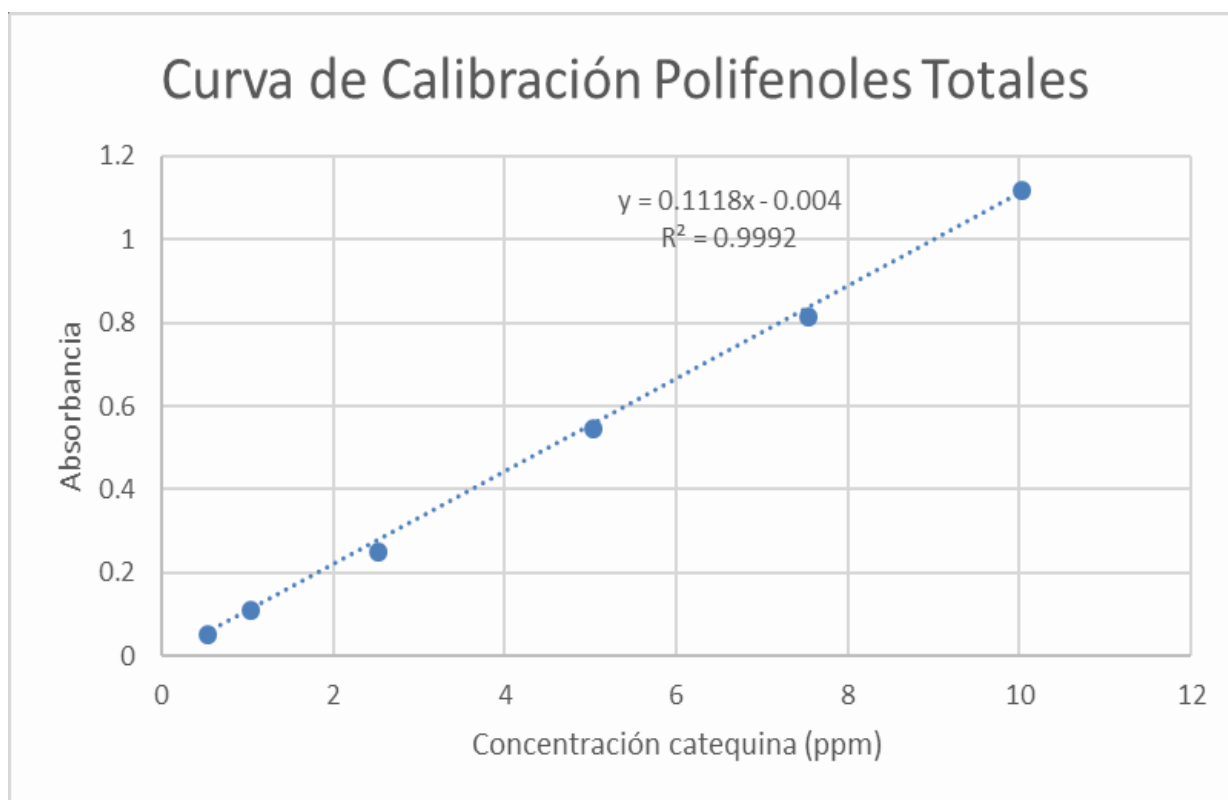
13. Cruzado Martín, Pastor Ana, Castro Nino, Cedrón Juan Carlos, et al, Determinación de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de extractos de alcachofa (*Cynara scolymus* L.). Rev. Soc. Quím. Perú. [en línea]. 2013, [citado 17 de noviembre 2017]; vol.79, n.1, pp. 57-63. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v79n1/a08v79n1.pdf>
14. Femenia J. Flora del Famatima: Pacul (*Krameria lappacea*).Diario Chilecito.com [en línea]Diciembre 2014.[fecha de acceso 05 de mayo del 2018].Disponible en: <http://www.diariochilecito.com.ar/articulo/4847.html>
15. Pérez J. Antioxidantes y alimentos. Ensayos de divulgación científica y humanística. [en línea]. Sin año. [Citado el 17 de Noviembre de 2017]. Disponible en: <http://www.unirioja.es/ensaya/archivos/antioxidantes.pdf>
16. Jennifer Tovar. Determinación de la actividad antioxidante por dpph y abts de 30 plantas recolectadas en la ecoregión cafetera. [Tesis]. Pereira, Colombia: Facultad de Tecnología, Universidad Tecnológica de Pereira, 2013. [Citado el 01 de Noviembre de 2017]; pág. 1-150. Disponible en: <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/11059/3636/1/54763T736.pdf>
17. Gebhardt R. Propiedades antioxidantes y protectoras de extractos de hojas de la alcachofa (*Cynara Scolymus* L.) Contra el estrés oxidativo inducido por hidroperóxido en hepatocitos de rata cultivados. Toxicol. Pharmacol., 1997.Disponible en: <http://www.acofarma.com/admin/uploads/descarga/6537-260a0522c389aafd82a23c13ecc10aecc106ed3e/main/files/Alcachofa.pdf>
18. Arévalo R, Horna, C . "Estudio Fitoquímico y Ensayo Antiinflamatorio del extracto de raíz y Rizoma de la Especie *Euphorbia Hipercifolia* (Lecherita) en animales de Experimentación *Oryctolages Cuniculus*". Tes. Bach. Trujillo-Perú. UNT Fac. Farm. Y Bioq.1985. disponible en:<https://es.scribd.com/document/113478914/Evaluacion-Del-Efecto-Antiinflamatorio-Del-Extracto-Acuoso-de-Las-Semillas-de-Lupinus-Mutabilis>
19. Martínez Vásquez J. “evaluación de la actividad antioxidante de extractos orgánicos de semillas de *heliocarpus terebinthinaceus*”. [tesis de grado]

- Universidad Tecnológica de la Mixteca. Oaxaca.2007. disponible en:
http://jupiter.utm.mx/~tesis_dig/10150.pdf
20. Tovar del Rio J, Determinación de la actividad antioxidante por dpph y abts de 30 plantas recolectadas en la eco región cafetera.[tesis de grado]. universidad tecnológica de Pereira facultad de tecnología escuela de tecnología química pereira.2013.Disponible en:
<http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/handle/11059/3636/54763T736.pdf;jsessionid=6BBFE8E402764991BBD1ACC822F46A69?sequence=1>
21. Carini M, Aldini G,Orioli M, Actividad antioxidante y fotoprotectora de un extracto lipofilico que contiene Leonignanos de raíces de *Krameria trianda*.Planta Medica [THIEME] Instituto Químico Farmaceutico,Universidad de Milán Italia. 2002;68,193.Disponible en:
<https://www.thieme-connect.de/DOI/DOI?10.1055/s-2002-23167>
22. Diaz C., Doroteo V., Rojas R.,Compuestos Fenolicos y Actividad antioxidante in vitro de 6 plantas peruanas.Revista de la sociedad Quimica del Peru. [Revista SCIELO]Lima.Facultad de ciencias y fisiología,Universidad Nacional Cayetano Heredia.2003. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2013000100003
23. Diaz Martinez H.Actividad antiinflamatoria y antioxidante del extracto hidroalcoholico del latex de *Argemone mexicana* (cardo santo).[tesis para optar el titulo] Lima. Facultad de farmacia y Bioquimica.UNSM.; 2016. Disponible en: <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/5069>

24. Venegas Casanova E, Cuantificación de flavonoides totales y taninos presente en el extracto de hojas de *The sinensis L.* y su capacidad antioxidante. Farmacia Clinica. Universidad Nacional de Trujillo. 2012. Disponible en: [file:///C:/Users/WINDOWS/Downloads/Dialnet-CuantificacionDeFlavonoidesTotalesYTaninosPresente-4369412%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/WINDOWS/Downloads/Dialnet-CuantificacionDeFlavonoidesTotalesYTaninosPresente-4369412%20(1).pdf)
25. Pozo P, Ortiz M, Garrido Fenoles y flavonoides totales y actividad antioxidante de extractos de la hoja de *Lampaya medicinalis* F.Phil.[Revista JPPRES] Departamento de ciencias farmacéuticas, Universidad Católica del Norte. Antofagasta Chile. 2003;1(1),30-38. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/258224408_Fenoles_y_flavonoides_totales_y_actividad_antioxidante_de_extractos_de_hojas_de_Lampaya_medicinalis_F_Phil_Total_phenols_and_flavonoids_and_antioxidant_activity_of_Lampaya_medicinalis_F_Phil_leaf_extr
26. Gallego Iradi M, Estudio de la actividad oxidante de las diversas plantas aromáticas y/o comestible. [tesis doctoral] Barcelona. Universidad Politécnica de Catalunya. Setiembre 2016. Disponible en: <https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2117/105811/TMGGI1de1.pdf;jsessionid=9E2CC056B8F44DAA6D98DD8F39CB4499?sequence=1>
27. Camones Inocente M, Actividad antioxidante y antimicrobiana de los compuestos fenólicos del extracto hidroalcohólico de la corteza de *Triplaris americana* L. (tanganada colorada). [tesis para la obtención del título] Lima. Facultad de farmacia y bioquímica UNMS ; 2009. Disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/1625/Inocente_cm%281%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y

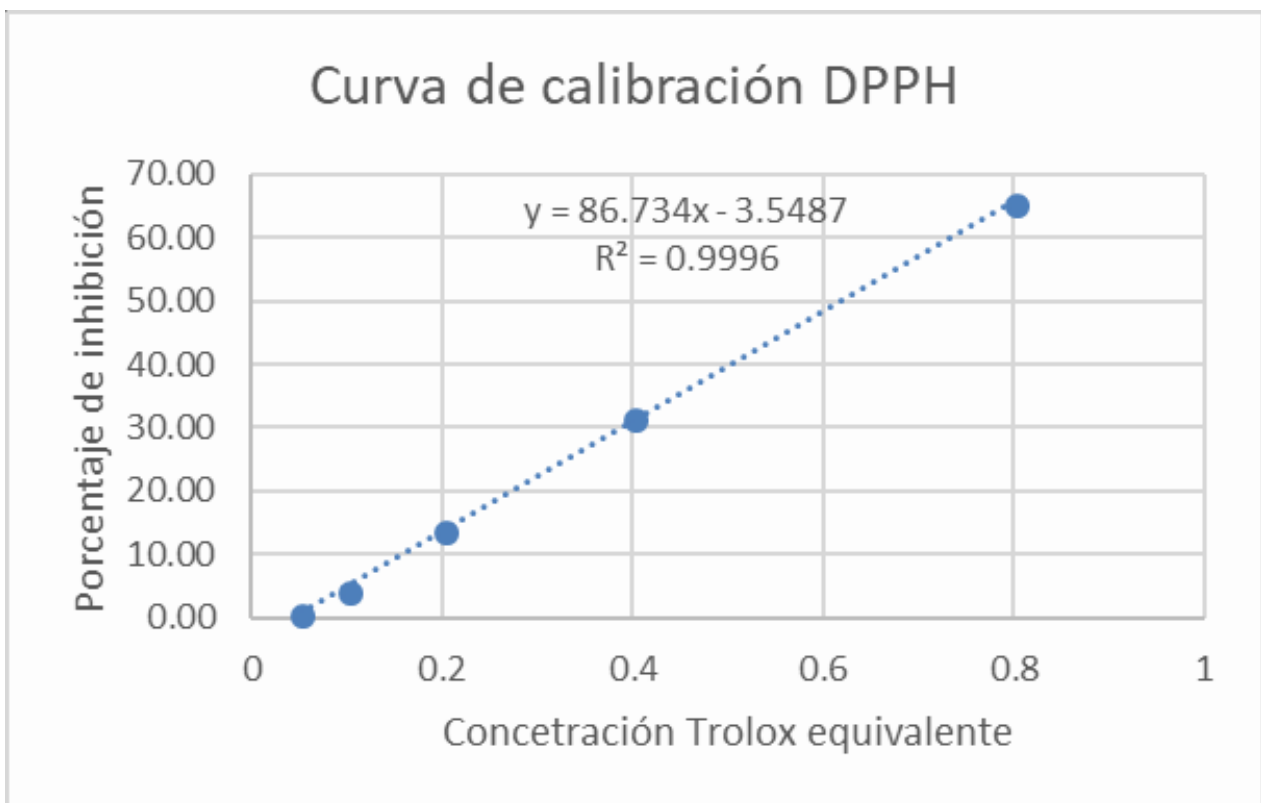
ANEXO

Grafica 1. Curva de calibración de polifenoles totales utilizando catequina como estándar a 700 nm.



Fuente. Datos obtenidos del laboratorio de la universidad Católica los Ángeles de Chimbote.

GRAFICO 2. Curva de calibración de calibración del DPPH utilizando Trolox como estándar a 515 nm.



Fuente. Datos obtenidos del laboratorio de la universidad Católica los Ángeles de Chimbote.