



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

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

CONTENIDO DE POLIFENOLES Y ACTIVIDAD
ANTIOXIDANTE EN *Sonchus oleraceu l. "CERRAJA"*
TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PARA OPTAR EL GRADO DE
BACHILLER EN FARMACIA Y BIOQUÍMICA

AUTOR

MILLONES AGUILAR CYNTHIA VIRIDIANA

ASESOR

Mgtr. LIZ ELVA ZEVALLOS ESCOBAR

CHIMBOTE _ PERU

2018

TITULO:

CONTENIDO DE POLIFENOLES Y ACTIVIDAD

ANTIOXIDANTE EN *Sonchus Oleraceu L.*

"Cerraja"

EQUIPO DE TRABAJO

AUTOR

MILLONES AGUILAR CYNTHIA VIRIDIANA

ASESOR

ZEVALLOS ESCOBAR, LIZ ELVA

JURADO EVALUADOR

Dr. DÍAZ ORTEGA JORGE LUIS

Presidente

Mgtr. RAMÍREZ ROMERO WALTER TEODORO

Miembro

Mgtr. VÁSQUEZ CORRALES ÉDISON

Miembro

FIRMA DEL JURADO EVALUADOR

Dr. DÍAZ ORTEGA JORGE LUIS
PRESIDENTE

Mgtr. RAMÍREZ ROMERO WALTER TEODORO
MIEMBRO

Mgtr. VÁSQUEZ CORRALES ÉDISON
MIEMBRO

Mgtr. ZEVALLOS ESCOBAR LIZ ELVA
ASESOR

AGRADECIMIENTO:

A Dios, por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo el periodo de estudio.

A mis padres por ser mi pilar fundamental y haberme apoyado incondicionalmente, pese a las adversidades e inconvenientes que se presentaron.

A mi hermano y toda mi familia por el apoyo y cariño brindado.

Agradezco a los todos docentes que, con su sabiduría, conocimiento y apoyo, motivaron a desarrollarme como persona y profesional.

DEDICATORIA:

En la tarea de nuestra crianza, quienes tienen la responsabilidad primordial de aportar a nuestro debido desarrollo como seres de bien, son nuestros padres.

Sin embargo los abuelos se hacen presentes como nuestros segundos padres brindándonos su amor, cariño y comprensión.

Siempre en mi corazón

FELICITA Y BENJAMIN

EPÍGRAFE:

“No hay fórmulas secretas para el éxito. Es el resultado de las cualidades que Dios nos dio, no es suficiente con desear triunfar hay que prepararse, trabajar duro y aprender de los errores” ...

RESUMEN

Las plantas medicinales siempre han ocupan un lugar destacado y durante mucho tiempo fue el principal recurso terapéutico utilizado para tratar la salud de las personas y sus familias. El consumo de frutas y verduras, ha sido asociado con la protección contra ciertas enfermedades, tales como enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares e incluso cáncer. El objetivo fue determinar contenido de polifenoles y la actividad antioxidante en *Sonchus oleraceus*. La metodología para la determinación de la actividad antioxidante según el método de DPPH (2,2, Difenil-1-Picril Hidrácilo) cuyo estándar de referencia se utilizó Trolox y para la determinación de polifenoles totales según el método de Folin –Ciocalteu. Los resultados muestran que el contenido de polifenoles en el extracto metanólico; infusión y decocción fue en las flores 6.86 ± 0.36 , 14.39 ± 11.81 y 18.87 ± 0.29 mg de catequina eq/ g de muestra, en tallos 4.89 ± 0.09 , 10.03 ± 0.34 y 11.07 ± 0.18 , en cuanto a las hojas 13.24 ± 1.14 20.93 ± 0.45 y 24.95 ± 0.15 , respectivamente. Para para la determinación de la actividad antioxidante en el extracto metanólico, infusión y decocción se obtuvo en las flores 293.93 ± 5.97 , 49.17 ± 1.57 y 51.36 ± 0.06 ; en el tallo 231.99 ± 4.68 , 46.18 ± 0.48 y 29.55 ± 0.9 ; y en las hojas 449.79 ± 4.26 ; 87.96 ± 0.26 y 78.01 ± 1.04 mM Trolox eq / g de muestra seca, respectivamente. Se concluye que se logró determinar la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles en *Sonchus oleraceus*.

Palabras claves: capacidad antioxidante, polifenoles, *Sonchus oleraceus*.

ABSTRACT

Introduction: Medicinal plants have always been prominent and for a long time it was the main therapeutic resource used to treat the health of people and their families. Humans need oxygen for the production of energy. However, the excess of oxygen in the cells is harmful due to the formation of reactive species generated during its oxidation. To counteract the harmful effect of O₂ and derivatives, the cell has mechanisms capable of removing the toxic products of O₂. These defense mechanisms are known as antioxidant system (AOX), responsible for maintaining the balance of oxidation reduction and cell survival reactions. The consumption of fruits and vegetables, has been associated with protection against certain diseases, such as cardiovascular and cerebrovascular diseases and even cancer

Objectives: determine the antioxidant activity and content of total polyphenols in *Sonchus oleraceus*

Methodology: Determination of antioxidant activity according to the method of DPPH (2,2, Difenil-1-Picril Hidrácilo) whose reference standard was used Trolox and for the determination of total polyphenols according to the Folin-Ciocalteu method.

Results: The amount of total polyphenols expressed in mg of catechin eq / g of sample dried flowers, where in the methanolic extract was obtained 6.86 ± 0.36 , in infusion was observed 14.39 ± 11.81 and subjected to decoction was 18.87 ± 0.29 , Presenting greater amount in extraction by decoction, in terms of the stems was obtained in dry sample 4.89 ± 0.09 , in the infusion was 10.03 ± 0.34 , in the decocto 11.07 ± 0.18 was obtained, as for the leaves, 13.24 ± 1.14 was obtained in dry sample, in the infusion was obtained 20.93 ± 0.45 and in decoction 24.95 ± 0.15 , in the same way for the determination of the antioxidant capacity for the methanolic extract in flowers was 293.93 ± 5.97 , in infusion 49.17 ± 1.57 , and the sample subjected to decoction was

51.36 ± 0.06 expressed in mM Trolox eq / g dry sample, as for the stems 231.99 ± 4.68, infusion 46.18 ± 0.48, the decoction was 29.55 ± 0.9, as for the leaves, 78.01 ± 1.04 was obtained. expressed in mM Trolox eq / g dry sample, **Conclusion:** it was possible to determine the antioxidant capacity and content of total polyphenols in *Sonchus oleraceus*.

Key words: antioxidant capacity, total polyphenols, *Sonchus oleraceus*

II. INDICE DE CONTENIDOS:

AGRADECIMIENTO:	v
DEDICATORIA:	vi
Epígrafe:	vii
RESUMEN	viii
ABSTRACT.....	ix
INDICE DE CONTENIDOS:	xi
INDICE DE TABLAS	xii
INDICE DE GRAFICOS	xii
I.- INTRODUCCIÓN:.....	1
Objetivos de la investigación:	3
Objetivo general	3
Objetivo específico.....	3
II. REVISION DE LA LITERATURA:	4
2.2.- Bases teóricas de la investigación:	6
2.2.1. Sonchus oleraceus L. "Cerraja"	8
2.2.2. Daño o estrés oxidativo	8
2.2.3. Radicales libres (RL).....	8
2.2.4. Antioxidantes	9
2.2.5. Determinación de la Actividad antioxidante.....	12
2.2.6. Determinación de Polifenoles totales	12
III. HIPÓTESIS.....	13
IV.- METODOLOGIA.....	14
V. RESULTADOS.....	21
5.2 Análisis de Resultados	23
VI. Conclusiones.....	26
REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:	27
ANEXO	36

INDICE DE TABLAS

TABLA 1: Contenido de polifenoles totales por gramo de hojas, flores y tallos de *Sonchus oleraceus* “cerraja”21

TABLA 2: Capacidad antioxidante de las hojas, flores y tallos de *Sonchus oleraceus* “cerraja”22

INDICE DE GRAFICOS

GRAFICO 1: Curva de calibración de polifenoles totales utilizando catequina como estándar a 700 nm.....37

GRAFICO 2: curva de calibración (o estándar) del Trolox como estándar de la actividad antioxidante con una longitud de onda de 515 nm.....38

I.- INTRODUCCIÓN:

La utilización de las plantas como agentes terapéuticos en la atención primaria de la salud, se ha mantenido a lo largo del tiempo y puede afirmarse que aproximadamente el 80% de la población mundial todavía depende en gran parte de los tratamientos tradicionales que implican el uso de extractos de plantas o de sus principios activos. ¹

Las plantas medicinales siempre han ocupado un lugar destacado y durante mucho tiempo fue el principal recurso terapéutico utilizado para tratar la salud de las personas y sus familias. ²

En algunas comunidades, donde grupos étnicos utilizan la Fitoterapia popular entre sus terapéuticas ancestrales, las plantas medicinales forman parte de su acervo cultural. Asimismo, en aquellos contextos culturales, donde la población de escasos recursos económicos, tiene dificultad para recibir atención médica y a tener acceso a medicamentos, también se recurre a la medicina tradicional. ¹

ornamentalmente, también es hortícola, sus hojas son consumidas en ensaladas.” Su importancia reside en la medicina natural que son usadas en infusiones, heridas y jugos. ³

Los seres humanos necesitan oxígeno (O_2) para la producción de energía. Sin embargo, el exceso de oxígeno en las células es nocivo debido a la formación de especies reactivas generadas durante su oxidación. Para contrarrestar el efecto nocivo del O_2 y sus derivados, la célula cuenta con mecanismos capaces de remover los productos tóxicos del O_2 . Estos mecanismos de defensa son conocidos como sistema antioxidante

(AOX), encargado de mantener el equilibrio de las reacciones de óxido reducción y supervivencia celular. El sistema. ⁴

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. 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, que son componentes que se consumen en la dieta y, que manifiestan una fuerte capacidad antioxidante. ⁵

Las propiedades benéficas de los polifenoles destacan al ser ingeridos, por ejemplo, a nivel del organismo humano cuando existe un desbalance entre la producción de radicales libres y antioxidantes se produce lo que se llama el estrés oxidativo. ⁶

Las plantas y las especias, especialmente las especias aromáticas y sus extractos, han tenido un creciente interés tanto, en la industria alimentaria como en la investigación científica, debido a sus propiedades antioxidantes y antimicrobianas, que les permite competir con otros antioxidantes naturales y con los sintéticos utilizados actualmente. Dichas propiedades se deben a gran cantidad de sustancias, como, flavonoides, terpenoides, carotenoides, vitaminas. ⁷

OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN:

Objetivo general

Determinar el contenido de polifenoles totales y la actividad antioxidante de las hojas, flores y tallos de *Sonchus oleraceu L. "Cerraja"*.

Objetivo específico

Cuantificar los polifenoles presentes en *Sonchus oleraceu L.*

II. REVISION DE LA LITERATURA:

2.1.-Antecedentes:

Criollo³ en el 2015 Evaluó la actividad cicatrizante de la planta cerraja (*Sonchus oleraceus* L.) en ratones (*Mus musculus*), con el propósito de rescatar los saberes ancestrales y aprovechar las propiedades medicinales que nos brinda la planta. En el análisis cualitativo se determinó que la planta contiene metabolitos secundarios en muestra seca mayor cantidad flavonoides, taninos, fenoles y en fresco en menor proporción. Para la evaluación cicatrizante se utilizó 18 ratones, divididos en 3 grupos de experimentación, con diferentes concentraciones al 20 %, 40 % y 80 % c induciendo heridas 2 cm de longitud, 2 mm de profundidad. Concluyo que el extracto hidroalcohólico cerraja (*Sonchus oleraceus* L.) resulta eficaz y con mayor efecto en concentración al 80% tiene una actividad cicatrizante mayor a los demás tratamientos presentando una cicatrización de 9 días.

Martínez⁸ en el 2014 realizo un estudio que tuvo por objetivo evaluar el efecto antipirético del extracto de kanacho en ratas de laboratorio (*Rattus norvegicus*) induciendo fiebre con levadura de cerveza. Se trabajó con cuatro grupos de ratas, a un grupo se le administro una dosis media de kanacho (500 mg/kg), al otro una dosis mayor (1000 mg/kg), a otro paracetamol como control positivo (500 mg/kg) y un grupo control que recibió suero fisiológico como placebo. Se midieron las temperaturas a las 0 horas (hora basal), 30, 60, 120 y 180 minutos posteriores a la administración de los tratamientos. Se evidencio que la dosis mayor de 1000 mg/kg/día es la que muestra mayor actividad antipirética debido a que en los minutos 60, 120 y 180 se observaron diferencias significativas respecto a la media.

Chuisaga et al⁹ En el año 2014 realizaron un estudio de la actividad antimicrobiana, antimicótica y tóxica de 6 extractos tanto acuosos como alcohólicos de: Ajenjo, cerrojo, chuquiragua, matico, infante y gañal, encontrándose que sólo el matico presenta actividad antimicrobiana para *S. aureus*, en la concentración de 1000 y 10000 p.p.m. En cuanto a la actividad tóxica, se encontró que los extractos de ajenjo, gañal y chuquiragua presentan un DL50 inferior a 1000 p.p.m., considerándose como plantas activas. En la actividad antimicótica se encontró que los extractos probados no presentan esta actividad para los hongos utilizados

Rangika¹⁰ en 2014, Realizo una investigación donde ofrece información sobre los factores que influyen en el potencial antioxidante de *S. oleraceus* L. in vivo, in vitro, durante la cocción y la digestión gastrointestinal in vitro. Estos los resultados proporcionan la base para: (1) fomentar el consumo de sus brotes frescos como un alimento rico en antioxidantes; (2) mejorar aún más sus actividades antioxidantes a través de manipulación de agronomía, ecotipo y reproducción; (3) desarrollando sus cultivos celulares como plataforma comercial para la producción de Fito-antioxidantes destinada a la formulación de suplementos o aditivos alimentarios en la industria biofarmacéutica.

Vilela et al¹¹ en el 2010 realizaron una investigación que tuvo por objeto de estudio evaluar las bases científicas para el uso tradicional de *Sonchus oleraceus* utilizando modelos inflamatorios in vivo. El SoHE en dosis de prueba de 100-300 mg / kg p.o. demostraron efectos antiinflamatorios por edema de pata reducido inducido por carragenano, inhibieron el reclutamiento de leucocitos en la cavidad peritoneal y

redujeron la respuesta febril inducida por LPS, el extracto administrado a 300 mg / kg p.o. tuvo un efecto antiinflamatorio más fuerte que la indometacina o la dexametasona.

2.2.- Bases teóricas de la investigación:

2.2.1. *Sonchus oleraceus* L. "Cerraja"

El género *Sonchus* L. perteneciente a la familia de las Asteráceas (Compuestas) esta difundida ampliamente en el mundo su origen se encuentra en el sur de Europa y norte de África, actualmente está presente en casi todo el mundo. *Sonchus oleraceus* L es considerada una de las malezas más abundantes. ¹²

2.2.2.1. Características botánicas

Sonchus oleraceus L. Es una Hierba de 30-45 cm. de altura, erecta, anual o bianual, dependiendo de las condiciones ambientales. Se desarrolla en campos de cultivo, sobre todo huertas, viñas, tierras fértiles y regadíos. Se recolectan los brotes tiernos, recogidos en primavera, antes de la floración y antes de que hayan formado las sustancias que dan el sabor amargo de las plantas maduras. Con las partes vegetativas con látex lechoso; **tallo** algo carnosos, poco ramificado; **hojas** inferiores subarrosetadas, lanceoladas con lóbulos irregulares dentados, Inflorescencia en capítulos, con flores hermafroditas, de un característico color amarillo intenso. Se multiplica por medio de semillas (aquenios) de alto poder germinativo. **Fruto** aquenio con pelos sedosos (papus). Se encuentra en suelos húmedos, lugares abiertos o sombreados. Silvestre. ^{13,14,15}

2.2.2.2. Clasificación taxonómica:

Nombre común: *Cerraja*

Familia: *Asteraceae*

Género: *Sonchus*

Especie: *S. Oleraceus*

Nombre científico: *Sonchus Oleraceus* L. ⁸

2.2.2.3. Partes utilizadas

Se utiliza todas las partes de la planta: tallo, hojas, flores. ⁹

Uso comestible

Se consumen en ensaladas aliñadas con aceite y sal, a veces se emplean en la confección de empanadillas. ¹⁵

Uso medicinal

- Para tratar problemas hepáticos “hígado.”
- En forma de emplastos sobre heridas con pus que se encuentre infectadas y también sobre el estómago. Sus hojas se aplican como cataplasma sobre la parte de la herida.
- Para el dolor de estómago el jugo es un excelente remedio. ⁹

2.2.2.4. Composición Química

Flavonoides: apigenina, kaempferol, luteolina.

Otros: oxidasas, Terpenoides, linarina, cinarina, isocinarina, cosmosiína, crepidiásido A, vitamina C, pirísidos B y C, taraxasterol. ⁸

2.2.2. Daño o estrés oxidativo

El estrés oxidante es una condición que se manifiesta en el organismo cuando la producción de sustancias altamente reactivas supera los mecanismos antioxidantes ya sea por un déficit de estas defensas o por un incremento exagerado de la producción de especies reactivas del oxígeno. Todo esto trae como consecuencia alteraciones de la relación estructura-función en cualquier órgano, sistema o grupo celular especializado, dando como consecuencia numerosas enfermedades como cáncer, diabetes y alteraciones cardiovasculares. ^{16,17}

2.2.3. Radicales libres (RL)

Los radicales libres son moléculas que contienen su última orbita uno o más electrones desapareados, los cuales le otorgan a este carácter paramagnético que las torna muy inestables y altamente reactivas con capacidad para combinarse inespecíficamente, con las diferentes moléculas que integran la estructura celular y los derivados de estas, y con la capacidad de atacar cualquier tipo de biomoléculas. ²⁴

2.2.3.1 Formación de los radicales libres

Se forman por de diversos mecanismos, siendo la adición de un electrón a una molécula estable el más común. Una vez que estos son formados, buscan la forma de conseguir una configuración electrónica estable, razón por la cual interactúan con otras moléculas a través de reacciones de óxido reducción (redox). En tal circunstancia, hay

una transferencia de electrones que implican la reducción (ganancia de electrones) y oxidación (pérdida de electrones) de las moléculas participantes. Existe una reacción en cadena, ya que al reaccionar un radical libre con una molécula no radical esta última pasa a ser un RL. Los radicales libres se liberan durante el metabolismo humano, y también se producen por contaminantes ambientales, (atmosféricos, acuáticos, de suelos), radiaciones (ultravioleta, gamma, hertziana). ^{18,19}

2.2.4. Antioxidantes

Los antioxidantes son un conjunto de compuestos químicos o productos biológicos que anulan de una manera directa o indirecta los efectos perjudiciales de los radicales libres u oxidantes, tales como oxidación a lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, alterando las funciones celulares. ²⁰

Sistema de antioxidantes no enzimático o exógeno

Compuesto por los depuradores de radicales libres, los cuales logran retrasar la producción y acción de los radicales libres. Están presentes en este sistema; el glutatión, ácido lipoico, la bilirrubina, las ubiquinonas, los flavonoides, la vitamina E, la vitamina C, la vitamina A, los carotenoides, acetil-L- carnitina, coenzima Q10, curcumina, Nacetil-cisteína (NAC), resveratrol, selenio, vitamina B; mientras que los minerales selenio, cobre, zinc y magnesio forman parte de la estructura molecular de algunas de las enzimas antioxidantes. Los flavonoides que se encuentran en determinados alimentos interactúan con la especie reactiva para producir complejos estables o de menor reactividad. ^{21,22}

Sistema de enzimas antioxidantes o endógenas

Incluye a enzimas como Superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GSH-PX), tiorredoxina reductasa y glutatión reductasa. ²³

Superóxido dismutasa (SOD)

Dismutan el oxígeno para formar peróxido de hidrógeno y su principal función es la protección contra el anión Superóxido. Su acumulación se evita por el sistema de catalasa/glutatión peroxidasa, transformándolo en oxígeno no molecular, agua y glutatión oxidado. Las células humanas poseen una enzima SOD en la mitocondria con manganeso en su centro activo, y una enzima SOD con zinc y cobre en su centro activo, presente en mayor cantidad en el citosol. ^{24,25.}

Catalasa (CAT)

Tiene una amplia distribución en el organismo humano, alta concentración en hígado y riñón, baja concentración en tejido conectivo y epitelios. La catalasa se encuentra principalmente en los peroxisomas, y su función principal consiste en eliminar el H₂O₂ generado de la β -oxidación de los ácidos grasos. ²⁶

Glutatión peroxidasa (GPx)

Es una proteína que posee cuatro átomos de selenio y necesita como sustrato esencial al glutatión, el cual es capaz de conjugarse con compuestos potencialmente tóxicos, solubilizar y facilitar su excreción biliar. Se encarga de

la reducción de hidroperóxidos intracelulares, peróxido de hidrogeno, grandes moléculas de peróxidos lipídicos procedentes del ataque de los radicales libres de óxido sobre los lípidos poliinsaturados de las membranas, y sobre productos derivados de las reacciones catalizadas por las enzimas lipoxigenasa. ²⁷

Formas como actúan los antioxidantes

1. Disminuyendo la concentración de oxidantes.
2. Evitando la iniciación de la reacción en cadena al “barrer” (cubrir o detener una reactividad química muy alta), los primeros radicales libres que se forman.
3. Uniéndose a iones metálicos para evitar la formación de especies reactivas.
4. Transformando los peróxidos en productos menos reactivos.
5. Deteniendo la propagación y el aumento de radicales libres. ²⁴

Fuentes naturales de los antioxidantes

Las plantas como fuentes de antioxidantes se pueden utilizar para la preservación del valor nutritivo previniendo el deterioro oxidativo de lípidos y para propósitos medicinales. La mayor parte de la capacidad antioxidante de los vegetales puede ser debida a los polifenoles que poseen características biológicas extensas y, sobre todo su propiedad de secuestro de radicales libres. Los compuestos fenólicos de las plantas son antioxidantes potentes con efectos antimutagénicos y anticarcinogénicos. La actividad antioxidante de los polifenoles se debe a que contienen en su estructura

química un número variable de grupos hidroxilo fenólicos, los cuales reaccionan con los radicales libres.²⁵

2.2.5. Determinación de la Actividad antioxidante

2.2.5.1. Método DPPH (1,1-difenil-2- picrilhidrazilo).

El método DPPH se fundamenta en el método desarrollado por Brand-Williams, consiste en que este radical tiene un electrón desapareado y es de color azul-violeta, decolorándose hacia amarillo pálido por la reacción de la presencia de una sustancia antioxidante, siendo medida espectrofotométricamente a 517 nm.²⁸

La evaluación de actividad antioxidante a través de fuentes generadoras de radicales libres en el sistema de prueba, asume que la oxidación es inhibida en un alto porcentaje por la captura de estos; por tanto, se enfoca en monitorear la capacidad de aditivos y extractos para la captura de radicales o la inhibición de su formación.²⁹

2.2.6. Determinación de Polifenoles totales

2.2.6.1. Método Folin-Ciocalteu

El método original de Folin-Ciocalteu (F-C) se originó en el año 1927 a partir de los reactivos químicos utilizados para el análisis de tirosina, en donde la oxidación de los

fenoles, mediante un reactivo de molibdotungstato, producía un producto coloreado con un máximo de absorbancia a 745-750 nm.³⁰

Se basa en que los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu, a pH básico, dando lugar a una coloración azul susceptible de ser determinada espectrofotométricamente a 765 nm.³¹

2.2.6.2. El reactivo de Folin-Ciocalteu (RF-C)

Formado por una mezcla de ácido fosfotúngstico (H₃PW₁₂O₄₀) y ácido fosfomolibdico (H₃PMo₁₂O₄₀), la cual, a través de la oxidación de los fenoles, es reducida a óxidos azules de tungsteno (W₈O₂₃) y molibdeno (Mo₈O₂₃), respectivamente. Los compuestos fenólicos reaccionan con el RF-C bajo condiciones alcalinas (ajustadas por la solución de carbonato de sodio a pH > 10). La disociación del protón fenólico permite la formación del ion fenolato, el cual es capaz de reducir el RF-C.³²

2.2.6.3. El mecanismo de reacción

Es una reacción redox, por lo que puede considerarse como un método de medida de la actividad antioxidante total. La oxidación de los polifenoles presentes en la muestra, causa la aparición de una coloración azulada que presenta un máximo de absorción a 765 nm, y que se cuantifica por espectrofotometría en base a una recta patrón de ácido gálico.³³

III. HIPÓTESIS

Hipótesis implícita

IV.- METODOLOGIA

4.1 Diseño de Investigación

El presente trabajo de investigación correspondió a un estudio de tipo descriptivo con un enfoque cuantitativo.

4.2 Población y Muestra

Obtención de la droga vegetal

La droga vegetal se obtuvo en el distrito de Nuevo Chimbote (Los Álamos), en la Provincia de Santa, perteneciente al departamento de Ancash.

El estudio se realizó con las hojas, tallos y flores de la planta, en óptimo estado de desarrollo vegetativo y fitosanitario. Las partes de la planta fueron secadas en estufa a 45° C durante 4 horas, posteriormente se pulverizaron y almacenaron a 4 °C hasta que se utilizó.

Obtención del extracto metanólico 80%: Extracción Exhaustiva

Para realizar la extracción se utilizó la muestra seca y pulverizada, cuyo peso de la muestra fue de 0.2830 g (Hojas), 0.2834 g (flores) y 0.2829 g (tallos), a los cuales se le agregó 15 ml de metanol al 80% + ácido fórmico al 0,1%, se colocó sobre el agitador magnético por 30 minutos, luego se llevó a centrifugar a 6000 rpm por 5 minutos y se retiró el sobrenadante. Todo el proceso se repitió por 3 veces, luego se depositó en una fiola de 50 ml, cubriéndola con una capa de aluminio, el proceso de extracción se repitió por 3 veces. Finalmente se aforó, y se guardó hasta el momento donde se realizó el análisis respectivo.

Preparación de la muestra seca en infusión

En un vaso de precipitación se colocó 200 ml de agua tipo 2 se llevó a calor hasta su ebullición luego se retiró y se le agregó 3.03 gramos de muestra seguidamente se cubrió con papel aluminio y se deja en reposo durante 5 minutos, luego se filtra y se deja enfriar para su posterior análisis.

Preparación de la muestra seca en decocción

En un vaso de precipitación se coloca 200 mL de agua tipo 2 más 0.52 gramos de muestra y se somete a ebullición durante 10 minutos se cubre con papel aluminio, luego se filtra y se deja enfriar para su posterior análisis.

Determinación de polifenoles totales mediante el método de Folin - Ciocalteu

En una fiola de 10 ml se agregó 2,5 ml de agua desionizada, después se añadió el estándar de catequina a concentraciones de 0,5; 1; 2,5; 5 y 10 ppm (mg/L) para obtener la curva de calibración, a las otras fiolas se adicionó 100 µL de extracto metanólico al 80%, 200µL de infusión y 200 µL de la decocción. Luego se adiciono 500 µL de Folin Ciocalteu y se llevó a oscuridad por 5 minutos. Pasado los 5 minutos se agregó 2 ml de carbonato de sodio al 10%, luego de ello se aforó con agua tipo 2 para ser llevado 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.

Preparación del 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.

Determinación de la actividad antioxidante según el método DPPH Método DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo)

En una cubeta se adicionó 1450µL 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), posteriormente se le agregó 50µL del extracto de las partes de la planta (hojas, tallos y flores) se colocó a oscuridad durante 15 minutos para que reaccione, finalmente se obtuvo la absorbancia a tiempo 15 (DPPH t15). El análisis se realizó tres veces 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 Mn, para obtener la curva de calibración. ⁵

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

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

4.3. Definición y operacionalización de variables:

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Indicador
Capacidad antioxidante de diferentes preparados de <i>Sonchus oleraceus</i>	Compuestos que en presencia de sustratos oxidables inhiben la oxidación o la retardan	-Capacidad de captar o Inhibir radicales libres (método DPPH) - En cuando hay mayor Captación de radicales libres por un antioxidante, la absorbancia disminuye.	mM Trolox eq/ gr de muestra seca
Cantidad de Polifenoles en hojas, flores y tallo de <i>Sonchus oleraceus</i>	Compuestos que comprenden un anillo aromático, que lleva uno o más sustituyentes hidroxilo, y van desde moléculas fenólicas simples hasta altamente Compuestos polimerizados	Técnica de Folin- Ciocalteu	Mg de catequina eq/gr de muestra seca

4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos:

Se utilizaron la observación directa, registro de reacciones de coloración, medición espectrofotométrica, registrados en fichas de recolección de datos.

4.5. Plan de análisis:

Los datos se procesaron en considerando medidas de tendencia central: promedio, desviación estándar y presentados en tablas con ayuda del Microsoft Excel. Regresión lineal para la calibración del estándar.

Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Se utilizará la observación directa, medición y registro de las reacciones de coloración y otras características que se observen en la medición de las concentraciones totales de polifenoles. Los datos obtenidos serán registrados en fichas de recolección de datos

.

4.6 Matriz de consistencia

TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN	FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPOTESIS	VARIABLE	TIPO DE INVESTIGACIÓN	METODOLOGIA
<p>CONTENIDO DE POLIFENOLES ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y EN hojas, flores y tallos DE LA ESPECIE <i>Sonchus oleraceu</i> L."Cerraja".</p>	<p>¿CUÁLES ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE POLIFENOLES EN hojas, flores y tallos de la especie <i>Sonchus oleraceu</i> L."Cerraja".?</p>	<p>Objetivos generales.</p> <ul style="list-style-type: none"> Determinar la actividad antioxidante y contenido de polifenoles totales en hojas, flores y tallos de la especie <i>Sonchus oleraceu</i> L."Cerraja" <p>Objetivos específicos.</p>	<p>Las hojas, flores y tallos de la especie <i>Sonchus oleraceu</i> L."Cerraja" tienen un alto contenido de polifenoles, por lo tanto, las hojas, flores y tallos de la especie <i>Sonchus oleraceu</i> L."Cerraja" presentan actividad antioxidante</p>	<p>Cuantificación de polifenoles y actividad antioxidante de hojas, flores y tallos de la especie <i>Sonchus oleraceu</i> L."Cerraja"</p> <p>Contenido de polifenoles en las hojas, flores y tallos de la especie <i>Sonchus oleraceu</i> L."Cerraja"</p>	<p>Descriptivo.</p>	<p>Diseño de Investigación:</p> <ul style="list-style-type: none"> Determinación de polifenoles totales según el método de Folin-Ciocalteu Determinación de actividad antioxidante según el método de DPPH.

4.4. Principios éticos

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

V. RESULTADOS

5.1 Resultados

Tabla 1: Contenido de polifenoles totales por gramo de hojas, flores y tallos de *Sonchus oleraceus* “cerraja”

Muestra	Partes de		Polifenoles totales
	La planta	Tipo de extracto	(mg de catequina eq. /g de muestra seca)
<i>Sonchus oleraceus</i>	Hojas	Exhaustiva (Metanol 80%)	13.24 ± 1.14
<i>Sonchus oleraceus</i>	Hojas	Infusión	20.93± 0.45
<i>Sonchus oleraceus</i>	Hojas	decocción	24.95 ± 0.15
<i>Sonchus oleraceus</i>	Flores	Exhaustiva (Metanol 80%)	6.86 ± 0.36
<i>Sonchus oleraceus</i>	Flores	Infusión	14.39 ± 11.81
<i>Sonchus oleraceus</i>	Flores	Decocción	18.87 ± 0.29
<i>Sonchus oleraceus</i>	Tallos	Exhaustiva (Metanol 80%)	4.89 ± 0.09
<i>Sonchus oleraceus</i>	Tallos	Infusión	10.03 ± 0.34
<i>Sonchus oleraceus</i>	Tallos	Decocción	11.07 ± 0.18

Fuente: Datos propios de la investigación

Tabla 2: Capacidad antioxidante de las hojas, flores y tallos de *Sonchus oleraceus* “cerraja”

Partes de			
Muestra	La planta	Tipo de extracto	DPPH
			(mM Trolox Eq. /1 g muestra)
<i>Sonchus oleraceus</i>	Hojas	Exhaustiva (Metanol 80%)	449.79 ± 4.26
<i>Sonchus oleraceus</i>	Hojas	Infusión	87.96± 0.26
<i>Sonchus oleraceus</i>	Hojas	decocción	78.01 ± 1.04
<i>Sonchus oleraceus</i>	Flores	Exhaustiva (Metanol 80%)	293.93 ± 5.97
<i>Sonchus oleraceus</i>	Flores	Infusión	49.17 ± 1.57
<i>Sonchus oleraceus</i>	Flores	Decocción	51.36 ± 0.06
<i>Sonchus oleraceus</i>	Tallos	Exhaustiva (Metanol 80%)	231.99 ± 4.68
<i>Sonchus oleraceus</i>	Tallos	Infusión	46.18 ± 0.48
<i>Sonchus oleraceus</i>	Tallos	Decocción	29.55 ± 0.91

Fuente: Datos propios de la investigación

5.2 Análisis de Resultados

La determinación de fenoles totales es un estudio ampliamente utilizado que permite conocer el contenido de polifenoles presentes, en esta investigación se realizó a través del método de Folin-Ciocalteu. Este método es mundialmente utilizado para la determinación de compuestos polifenólicos en extractos vegetales y tiene muchas variaciones. Aun así, los reactivos utilizados son idénticos en todos los casos, variando únicamente las cantidades usadas y el tiempo esperado para realizar las mediciones espectrofotométricas de las muestras. La sencillez de este método asegura su reproducibilidad, volviéndolo un método altamente fiable ³⁴.

En el anexo N° 01 se muestra la curva de calibración de los polifenoles totales, presenta un coeficiente de determinación de 0.9992 mg de ácido gálico/g de la planta seca, según “absorbancia versus concentración” de ácido gálico, donde se muestra una linealidad en la curva de calibración.

El contenido de polifenoles presente en la tabla 1, nos muestra que la mayor cantidad fue al extracto MeOH 80% en las flores de *Sonchus oleraceus* obteniendo 18.87 ± 0.29 /mg de catequina eq. /g de muestra en extracto en decocción, obteniendo 14.39 ± 11.81 /mg de catequina eq. /g para el extracto en infusión, de muestra seca fue de 6.86 ± 0.36 /mg de catequina eq. /g de muestra seca.

En la tabla 1, nos muestra los polifenoles presente en los tallos de *Sonchus oleraceus* obteniendo un 4.89 ± 0.09 /mg de catequina eq. /g en decocción, 10.03 ± 0.34 /mg de catequina eq. /g en infusión y 4.89 ± 0.09 /mg de catequina eq. /g en muestra seca.

En la tabla 1, nos muestra los polifenoles presente en las hojas de *Sonchus oleraceus* obteniendo un 24.95 ± 0.15 /mg de catequina eq. /g en decocción, 20.93 ± 0.45 /mg de

catequina eq. /g en infusión y 13.24 ± 1.14 /mg de catequina eq. /g en muestra seca. Observándose una mayor cantidad de polifenoles en las hojas expuestas a decocción.

En el extracto obtenido por metanol muestra un alto contenido de antioxidantes, 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 preformado³⁵.

En el anexo 2, se muestra la curva de calibración de DPPH, que tiene como coeficiente de determinación 0.9996 Mm Trolox (Vit.E) /g muestra seca, teniendo concentración de Trolox versus absorbancia en el que se muestra una linealidad.

En la tabla 2, se evidencia la capacidad antioxidante de *Sonchus oleraceus* se muestra que en el extracto metanólico presentó una concentración de 293.93 ± 5.97 mM eq. /1gr muestra seca presente en las flores. El resultado en la infusión fue de 49.17 ± 1.57 y en decocción fue un rango de 51.36 ± 0.06 mM eq. /1gr de muestra.

En la tabla 2 se muestran resultados de la capacidad antioxidante de los tallos de *Sonchus oleraceus*, evidenciando concentraciones de 231.99 ± 4.68 /mg de catequina eq. /g en muestra seca, en infusión se presentaron resultados entre 46.18 ± 0.48 /mg de catequina eq. /g, en decocción se muestran valores de 29.55 ± 0.91 /mg de catequina eq. /g en infusión

En la tabla 2, se muestran resultados de la mayor capacidad antioxidante presente en las hojas de *Sonchus oleraceus*, donde se muestran 449.79 ± 4.26 /mg de catequina eq. /g en muestra seca, luego se obtuvo 87.96 ± 0.26 /mg de catequina eq. /g en infusión y en por último se obtuvo 78.01 ± 1.04 /mg de catequina eq. /g en decocción.

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 ³⁶.

En el año 2013, se realizó una investigación sobre Valoración de la actividad antioxidante de verduras silvestres, donde se analizó la parte que con mayor frecuencia se consume, donde nos muestra que *Sonchus oleraceus*, si tiene actividad antioxidante, llegando a ocupar el tercer lugar entre todas las verduras con las que se hizo la investigación, dándonos como resultado en las hojas, por el método de Folin-Ciocalteu. 51.33 ± 1.75 y por el método de DPPH nos muestra valores de 1.36 ± 0.02 ³⁷. Tale resultados coinciden con la investigación realizada pues como se pueden observar en las tablas 1 y 2 la mayor cantidad de polifenoles y actividad antioxidante de *Sonchus oleraceus* “cerraja” se encuentran en las hojas de la planta.

Comparando los resultados obtenidos en el presente estudio, con lo publicado por Morales (2011) al analizar muestras de *Sonchus oleraceus*, se observa que el contenido de compuestos fenólicos totales (61mg EAG/g) es ligeramente superior en las plantas de estudiadas en el presente trabajo. Mientras que el contenido de flavonoides totales es de 32,93 mg EC/g extracto metanólico). Respecto a la relación entre flavonoides/fenoles totales, para la cerraja (0,531 mg EC/g). Fueron un poco inferiores a los datos que podemos observar en la tabla 1 ³⁸.

VI. Conclusiones

- Se logró determinar el contenido de polifenoles totales y la actividad antioxidante que se encuentra presentes en las hojas, flores y tallos de *Sonchus oleraceu L. "Cerraja"*. Encontradose La mayor cantidad de polifenoles totales en la hoja en extracto metanólico 24.95 ± 0.15 . catequina mg/muestra seca.
- Para la determinación de la capacidad antioxidante en el extracto metanólico en hojas, se encontró la mayor concentración siendo de 449.79 ± 4.26 expresados en mM Trolox eq / g de muestra seca.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:

- 1) Carrillo T., Moreno R., Moreno G., Importancia de las plantas medicinales en el autocuidado de la salud en tres caseríos de Santa Ana Trujillo, Venezuela, Revista de la facultad de farmacia, 2007: 48(2). **Disponible en:**
<http://www.saber.ula.ve/bitstream/123456789/23889/1/articulo4.pdf>.
- 2) Heisler E, Budó M, Denardin M, Marcio C, Heck S, Uso de plantas medicinales en el cuidado de la salud: la producción científica de tesis y disertaciones de enfermería brasileña, Rev. Enfermería Global, 2015. **Disponible en:**
<http://scielo.isciii.es/pdf/eg/v14n39/revision5.pdf>
- 3) Criollo L., Actividad cicatrizante del extracto de cerraja (*Sonchus oleraceus* L.) En ratones (*Mus musculus*), [Tesis] Riobamba, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, 2015. **Disponible en:**
<http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/4528>
- 4) Sánchez V., Méndez N., Estrés oxidativo, antioxidantes y enfermedad, Rev. Invest Med Sur Mex, 2013: 20(3): 161-168. **Disponible en:**
<http://www.medicasur.com.mx/pdf-revista/RMS133-AR01-PROTEGIDO.pdf>
- 5) Oliveira G, Capacidad antioxidante de *Averrhoa carambola* L. (Carambola) frente a sistemas generadores de radicales libres, [Tesis] Lima, Unidad de posgrado, universidad nacional mayor de San Marcos, 2014. **Disponible en:**
http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/3943/1/Oliveira_bg.pdf

- 6) Cofre A, Determinación de polifenoles totales, Actividad Antioxidante y Antocianinas de jugo de Murtilla (*Ugni molinae* turcz) obtenido por condensación de vapor, [Tesis] Valdivia, Universidad Austral de Chile, 2015. **Disponible en:** <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2015/fac675d/doc/fac675d.pdf>
- 7) Palomino L, García C, Gil J, Rojano B, Durango D, Determinación del contenido de fenoles y evaluación de la actividad antioxidante de propóleos recolectados en el departamento de Antioquia (Colombia), Revista de la facultad de química farmacéutica, 2009: 16 (3), 388-395.
<http://www.scielo.org.co/pdf/vitae/v16n3/v16n3a13.pdf>
- 8) Kuskoski M., Asuero A., Troncoso A., Mancini-Filho J., Fett R., Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos, Ciênc. Tecnol. Aliment., Campinas, 2005, 25(4): 726-732. **Disponible en:** <http://www.scielo.br/pdf/cta/v25n4/27642.pdf>
- 9) Corrales L., Muñoz M., Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno, Nova - Publicación Científica en Ciencias Biomédicas: 2012: 10(18): 135 – 250. **Disponible en:** <http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v10n18/v10n18a08.pdf>
- 10) Coba P., Mayacu L., Vidari G., Importancia de la actividad antioxidante y evaluación de extractos en etanol del género *Oryctanthus*, Revista de Ciencias de la Vida, 2010: 11(1): 22-30. **Disponible en:** <http://www.redalyc.org/pdf/4760/476047395004.pdf>

- 11) Delgado L., Betanzos G., Sumaya M., Importancia de los antioxidantes dietarios en la disminución del estrés oxidativo, *Investigación y Ciencia*, 2010: 1(50):10-15. **Disponible en:**
- https://www.uaeh.edu.mx/investigacion/icsa/LI_NutriMole/Gabriel_Bet/importancia.pdf
- 12) Pabón L, Vanegas J, Rendón M, Santos R, MSc. Hernández P, Actividad antioxidante y antibacteriana de extractos de hojas de cuatro especies agroforestales de la Orinoquía colombiana, *Rev Cubana Plantas Medicinales*, 2013:18(1). **Disponible en:**
- http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962013000100008
- 13) Coronado M., Salvador Vega y León Rey Gutiérrez T. Marcela Vázquez F. Claudia Radilla V., Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana, *Rev. Chilena de nutrición*, 2015:42(2). **Disponible en:**
- http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182015000200014
- 14) Castañeda B.; Ramos, E.; Ibáñez, L. Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales peruanas, *Rev. Horizonte Médico*, 2008(8)1:56-72. **Disponible en:**
- <http://www.redalyc.org/pdf/3716/371637117004.pdf>
- 15) Martínez R., Estudio del efecto antipirético del extracto del kanacho (*Sonchus oleraceus* L.) en ratas de laboratorio (*Rattus norvegicus*), [Tesis], Universidad Alas Peruanas, Arequipa, 2014. **Disponible en:**

http://repositorio.uap.edu.pe/bitstream/uap/1352/2/MARTINEZ_ARAPA-Resumen.pdf

- 16) Chuisaca G., León M, Reyes A., Investigación de la actividad antimicrobiana y determinación de DL50 de los extractos de: *Desmodium adscendens*, *Eupatorium*, *Glutinosum*, *Artemisia absinthium*, *Embotrium grandiflorum*, *Chuquiragua insignis* y *Sonchus oleraceus*, [Tesis], Universidad de cuenca, Ecuador, 2014. **Disponible en:** <http://dspace.ucuenca.edu.ec/handle/123456789/7897>
- 17) Rangika S., Actividad Antioxidante de *Sonchus oleraceus* L. [Tesis Doctoral] Universidad Victoria de Wellington, 2014. **Disponible en:**<http://researcharchive.vuw.ac.nz/xmlui/bitstream/handle/10063/3170/thesis.pdf?sequence=2>
- 18) Vilela F., Bitencourt A., Cabral L., Franqui L., Soncini R., Giusti_Paiva A., Efectos antiinflamatorios y antipiréticos de *Sonchus oleraceus* en ratas, *Revista de Etnofarmacología*, 2010:127(3):737-741. **Disponible en:** <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378874109007375>
- 19) Nasif A., Martínez L., Andrada A., Pastoriza A., Contribución a la citogenética de *Sonchus oleraceus* L., Tercera reunión de producción vegetal y primera de producción animal del Noa, Cátedra de Genética. Disponible en: <http://www.faz.unt.edu.ar/images/stories/pdfs/pva/0310.pdf>
- 20) Tello G. Etnobotánica de plantas con uso medicinal en la comunidad de Quero, Jauja, región Junín”, [Tesis] Universidad Nacional Agraria La Molina, Lima, 2015. **Disponible en:** <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/1886/F70.T64-T.pdf?sequence=1>

- 21) Pretel M., Sanchez M., Pérez V., Obón C., Usos y propiedades de las plantas comestibles silvestres de la familia Asteráceas, Horticultura, 2008. **Disponible en:**
http://www.mapama.gob.es/ministerio/pags/Biblioteca/Revistas/pdf_Hort%2FHort2008_207_46_53.pdf
- 22) Maldonado O, Jiménez E, Bernabé Mario, Ceballos G, Méndez E, Radicales libres y su papel en las enfermedades crónico-degenerativas, 2010. **Disponible en:**
https://www.uv.mx/rm/num_anteriores/revmedica_vol10_num2/articulos/radicales.pdf
- 23) Venereo J., Daño Oxidativo, Radicales Libres y Antioxidantes, Rev cubana Med Militar 2002; 31(2):126-33. **Disponible en:**
http://bvs.sld.cu/revistas/mil/vol31_2_02/MIL09202.pdf
- 24) Corrales L., Muñoz M., Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno, Nova - Publicación Científica en Ciencias Biomédicas, 2012; 10(18). **Disponible en:**
<http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v10n18/v10n18a08.pdf>
- 25) Coronado M., Vega S., Rey L., T. Vázquez M., Radilla C., Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana, Rev. Chilena de Nutrición, 2015:42(2). **Disponible en:**
<http://www.scielo.cl/pdf/rchnut/v42n2/art14.pdf>

26) López A., Fernando C., Lazarova Z., Bañuelos R., Sánchez S., Antioxidantes, un paradigma en el tratamiento de enfermedades REVISTA ANACEM. 2012;(1).

Disponible en:

<http://www.revistaanacem.cl/wp-content/uploads/2015/10/AR1.-Antioxidantes-un-paradigma-en-el-tratamiento-de-enfermedades.pdf>

27) Sánchez M., Antioxidantes: Consumo de Antioxidantes naturales en Adultos Mayores de entre 65 y 75 años con Dislipidemia, [Tesis], Universidad Abierta Interamericana, 2013.

<http://imgbiblio.vaneduc.edu.ar/fulltext/files/TC112550.pdf>

28) Martínez J., “Evaluación de la Actividad Antioxidante de Extractos Orgánicos de Semillas de Helicarpus Terebinthinaceus” [TESIS], Universidad Tecnológica de la Mixteca Oaxaca. 2007.

http://jupiter.utm.mx/~tesis_dig/10150.pdf

29) Pérez j, Metodología para la evaluación de ingredientes funcionales antioxidantes: Efecto de fibra antioxidante de uva en status antioxidante y parámetros de riesgo cardiovascular en humanos, [Tesis Doctoral], Universidad Autónoma de Madrid, 2007.

https://repositorio.uam.es/bitstream/handle/10486/1671/6494_perez_jimenez_jara.pdf?sequence=1

30) Ramos E, Castañeda B, Ibáñez L, Evaluación de la capacidad antioxidante de plantas medicinales peruanas nativas e introducidas, REV ACAD PERU SALUD, 2008: 15(1)

http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/rev_academia/2008_n1/pdf/a11v15n1.pdf

31) Mosquera O Niño J Correa J, Buitrago D, estandarización del método de captura de radicales libres para la evaluación de la actividad antioxidante de extractos vegetales, Scientia et Technica Año XI, 2005:1(27)

<file:///C:/Documents%20and%20Settings/Administrador/Mis%20documentos/Downloads/Dialnet-ESTANDARIZACIONDELMETODODECAPTURADERADICALESLIBRES-4838483.pdf>

32) García E, Fernández I, Fuentes A, Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteau, Departamento de Tecnología de Alimentos ETSIAMN. Universitat Politècnico de Valencia 2015.

<https://riunet.upv.es/handle/10251/52056>

33) Valenzuela P, evaluación de la actividad antioxidante y determinación del contenido de fenoles totales y flavonoides de hojas de diferentes genotipos de UGNI MOLINAE TURCZ. [TESIS] Santiago, Universidad de Chile, 2015.

<http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/134044/Evaluacion-de-la-actividad-antioxidante-y-determinacion-del-contenido-de-fenoles-totales-y-flavonoides.pdf;sequence=1>

34) Villanueva J. Cuantificación de polifenoles totales en flor de Senna reticulata. [Tesis]. Universidad católica los Ángeles d Chimbote. Perú. 2016. Disponible en:

<http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/386/POLIFENOL-ES-FOLIN-CIOCALTEU-VILLANUEVA-ALAYO-JAREK-BRYAN.pdf?sequence=1>

35) Ramos E, Castañeda B, Ibáñez L, Evaluación de la capacidad antioxidante de plantas medicinales peruanas nativas e introducidas, REV ACAD PERU SALUD 15(1), 2008. **Disponible en:**

http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/rev_academia/2008_n1/pdf/a11v15n1.pdf

36) Echavarría B, Franco A, Martínez A, Evaluación de la Actividad Antioxidante y Determinación del Contenido de Compuestos Fenólicos en extractos de macroalgas del caribe colombiano, vitae, revista de la facultad de química farmacéutica issn 0121-4004 16 (1) 2009. Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. págs. 126-131. **Disponible en:**

<http://www.scielo.org.co/pdf/vitae/v16n1/v16n1a15.pdf>

37) Morales P, Fernández V, Ruiz M, Cámara A, Et al, Valoración de la actividad antioxidante de verduras silvestres, Rev. Innovar y producir para el futuro; 2009; pp 26-29. **Disponible en:**

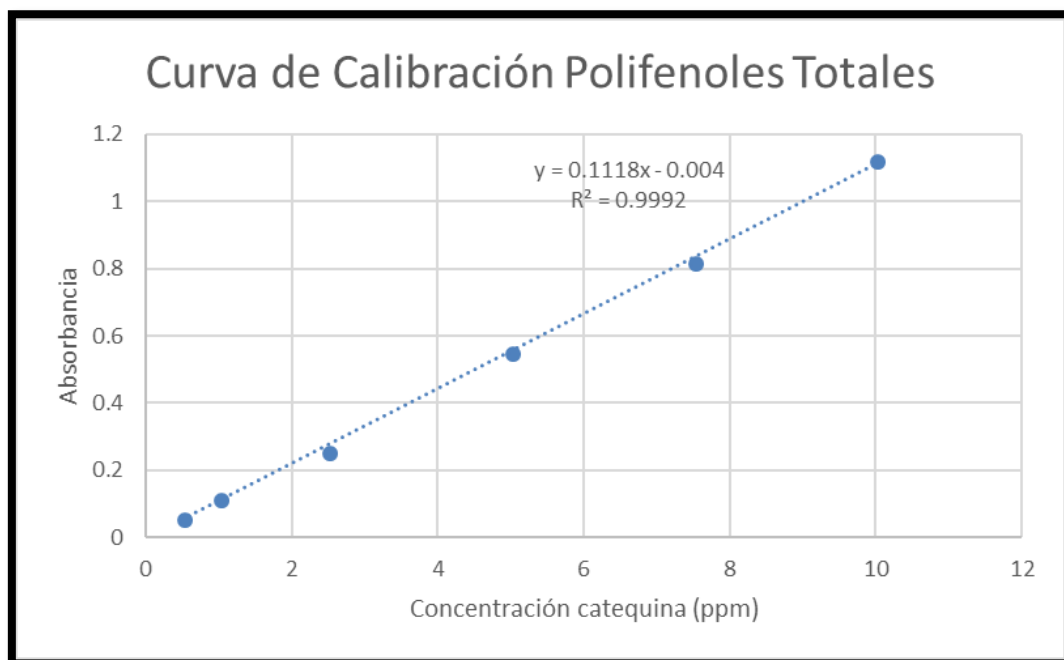
<https://bibliotecadigital.ipb.pt/bitstream/10198/9367/3/C04130003.pdf>

38) Morales P, Vegetales silvestres de uso alimentario, determinación de compuestos bioactivos y valoración de la capacidad antioxidante [Tesis doctoral] universidad complutense de Madrid, España, 2011. **Disponible en:**

<https://eprints.ucm.es/14444/1/T33233.pdf>

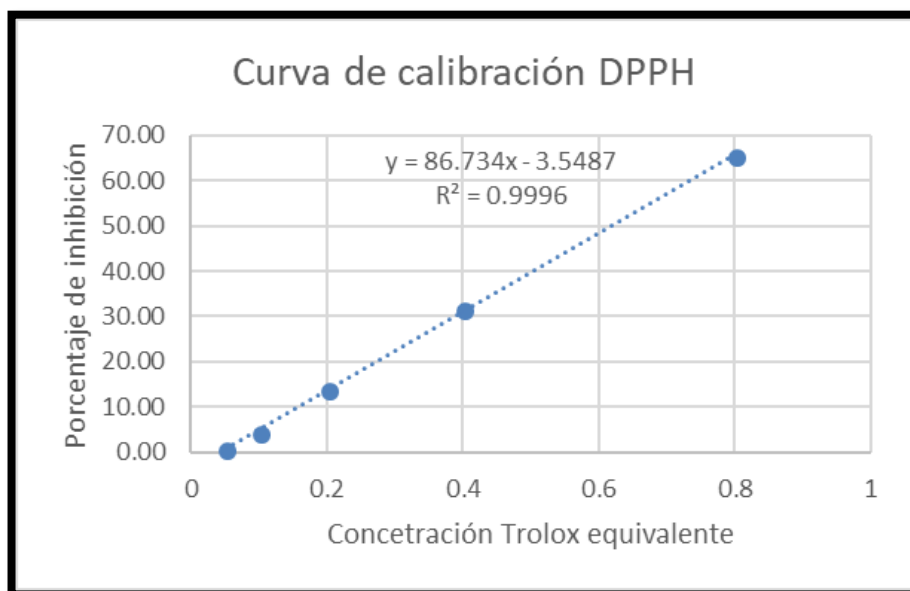
ANEXOS

GRAFICO N° 01: Curva de calibración polifenoles totales.



Fuente: Datos de la investigación

Grafico N° 2: Curva de calibración de DPPH (2,2- difenil-1- picrilhidrazilo)



Fuente: Datos de la investigación