



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

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

**CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CANTIDAD DE
POLIFENOLES TOTALES DEL EXTRACTO
METANOLICO EN HOJAS DE *Echeveria peruviana*
(siempre viva mayor)**

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

AUTOR:

Malqui Aguirre, Lilibeth Militza

ORCID:

0000-0003-0901-9501

ASESOR:

Aznaran Febres German Eduardo Isaac

ORCID:

0000-0002-3151-9564

CHIMBOTE – PERÚ

2019

1. TÍTULO

**CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CANTIDAD DE
POLIFENOLES TOTALES DEL EXTRACTO
METANOLICO EN HOJAS DE *Echeveria peruviana*
(siempre viva mayor)**

EQUIPO DE TRABAJO

AUTOR

Malqui Aguirre, Lilibeth Militza

ORCID: 0000-0003-0901-9501

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote,

Estudiante de Pregrado, Chimbote, Perú

ASESOR

German Aznaran Febres

ORCID:

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Facultad de Ciencias

de La Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica,

Chimbote, Perú

JURADO

Diaz Ortega, Jorge Luis

ORCID: 0000-0002-6154-8913

RamirezRomero, Teodoro Walter

ORCID: 0000-0002-2809-709X

Vasquez Corales, Edison

ORCID: 0000-0001-9059-6394

JURADO EVALUADOR DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

Dr. Jorge Luis Diaz Ortega

Presidente

Mgr. Teodoro Walter Romero Ramírez

Miembro

Mgr. Edison Vasquez Corales

Miembro

DTI German Aznaran Febres

Asesor

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, agradezco a Dios por brindarme salud y por ayudarme a tomar decisiones importantes en mi vida, por darme valentía para seguir este proceso y poder culminar este proyecto de investigación para el grado de BACHILLER, también gracias por no dejarme rendir y seguir dándome las fuerzas para alcanzar todos mis sueños.

Agradezco de todo corazón a mis padres por apoyándome incondicionalmente y animarme para cumplir todas mis metas, también por su gran esfuerzo y sacrificio para brindarme una carrera para el bien de mi futuro, por inculcarme valores con buenos sentimientos, responsabilidades y persistencia para lograr mis objetivos.

Gracias a mis hermanos por siempre brindarme sus apoyos y consejos para poder alcanzar mis logros.

También quiero agradecer de manera especial a la Mgtr. Liz Zevallos Escobar, al Mgtr. Edison Vásquez Corales y a la Q.F Mily Ormeño Llanos quienes fueron de gran apoyo en este proceso que fue muy tedioso gracias por compartirme sus conocimientos y aclararme cualquier duda y gracias por su capacidad para guiarme en mi formación como investigador.

DEDICATORIA

A mis padres por su arduo trabajo para brindarme todo lo necesario para convertirme en profesional sin importarles los sacrificios que conlleva su apoyo incondicional.

A mis familiares quienes me brindaron su apoyo, consejos y paciencia para seguir y cumplir mis metas propuestas y nunca dejarme rendir.

RESUMEN

El uso de remedios de origen vegetal se viene utilizando desde la antigüedad. Tenemos el beneficio de contar con plantas medicinales para todo tipo de dolencias menores e incluso con poderes curativos para enfermedades crónicas. El objetivo de este presente trabajo de investigación es determinar la capacidad antioxidante y la cantidad de polifenoles totales del extracto metanolico en hojas de *Echeveria peruviana*. Para la determinación del contenido de polifenoles se empleó la técnica de Folin Ciocalteu teniendo como patrón catequina, a partir de extracto metanolico 80% de muestra seca y muestra liofilizada y se obtuvo como resultados: El contenido de polifenoles totales en las hojas de *Echeveria peruviana* fue 17.07 ± 1.32 mg de catequina eq. /g en muestra seca y 7.87 ± 1.42 mg de catequina eq. /g en muestra liofilizada. Para determinar la capacidad antioxidante se utilizó el método del DPPH teniendo como principal estándar Trolox a partir de extracto metanolico 80% de muestra seca y muestra liofilizada y se obtuvo como resultados: La capacidad antioxidante de las hojas de *Echeveria peruviana* fue de 282.26 ± 8.80 mM de Trolox /g en muestra seca y 247.91 ± 7.46 mM de Trolox /g en muestra liofilizada. De lo que se concluye que la muestra seca ofrece mayor cantidad de polifenoles totales y capacidad antioxidante.

Palabras Clave: capacidad Antioxidante, DPPH, Catequina, liofilizado, *Echeveria peruviana*, Polifenoles.

ABSTRACT

The use of remedies of plant origin has been used since ancient times. We have the benefit of having medicinal plants for all kinds of minor ailments and even with healing powers for chronic diseases. The objective of this present research work is to determine the antioxidant capacity and the amount of total polyphenols of the methanol extract in peruvian echeveria leaves. For the determination of the polyphenol content, the Folin Ciocalteu technique was used, having as a catechin standard, from 80% methanol extract of dry sample and lyophilized sample and the results were obtained: The content of total polyphenols in the leaves of Echeveria peruviana was $17.07 + 1.32$ mg of catechin eq. / g in dry sample and $7.87 + 1.42$ mg of catechin eq. / g in lyophilized sample. To determine the antioxidant capacity, the DPPH method was used, with Trolox as the main standard based on 80% methanol extract of the mint sample and lyophilized sample and the results were obtained: The antioxidant capacity of the leaves of Echeveria peruviana was $282.26 + 8.80$ mM of Trolox / g in dry sample and $247.91 + 7.46$ mM of Trolox / g in lyophilized sample. It is concluded that the dry sample offers a greater amount of total polyphenols and antioxidant capacity.

Keywords: Antioxidant capacity, DPPH, Catechin, lyophilisate, peruvian Echeveria, Polyphenols.

INDICE

EQUIPO DE TRABAJO	iii
JURADO EVALUADOR DE TRABAJO DE INVESTIGACIÓN	iv
AGRADECIMIENTO	v
DEDICATORIA	vi
RESUMEN	vii
ABSTRACT	viii
INDICE DE CUADROS	xi
I.INTRODUCCION:	1
II.REVICION DE LITERATURA:	3
2.1. Antecedentes	3
2.2. Bases Teóricas de la Investigación	5
III.HIPOTESIS	3
IV.METODOLOGIA	3
4.1. Diseño de investigación	13
4.2. Obtención de la droga vegetal	13
4.3. Población y muestra Población vegetal	15
4.4.Definición y operacionalización de variables e indicadores	5
4.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	16
4.6. Plan de análisis	16
4.7. Matriz de Consistencia	17

4.8. Principios Éticos	18
V. RESULTADOS	18
5.1. Resultados	18
5.2. Análisis de resultados	19
VI. CONCLUSIONES	20
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	21
ANEXOS	27

INDICE DE TABLAS

TABLA 1: Promedio y desviación estándar de contenido de polifenoles totales de muestra seca y liofilizado en extracto metanólico de las hojas de <i>Echeveria peruviana</i> siempre viva mayor expresado en mg de catequina eq/g.....	18
TABLA 2: Promedio y desviación estándar de la capacidad antioxidante de muestra seca y liofilizado en extracto metanólico de las hojas de <i>Echeveria peruviana</i> siempre viva mayor expresado en una concentración eq mm de trolox /g de muestra	19

INDICE DE ANEXOS

ANEXO N°1: Curva de Calibración de Polifenoles Totales utilizando catequina como estándar.....	28
ANEXO N°2: Curva de Calibración de DPPH utilizando trolox como estándar	29
ANEXO N°3: Constancia de <i>Echeveria peruviana</i>	30
ANEXO N°4: Recolección de planta (Secado).....	31
ANEXO N°5: Molienda -contenido de polifenoles.....	31
ANEXO N°6: Actividad antioxidante.....	32

II. INTRODUCCIÓN

El presente proyecto de investigación proviene del proyecto línea de la Escuela de Farmacia y Bioquímica denominada Estudio de Plantas Medicinales de Interés Terapéutico.

La siempre viva mayor (*Echeveria peruviana*) o Comúnmente llamada hierba puntera, alcachofera de gatos, molodolio, consolva o barba de Júpiter. Es una planta perenne crasulácea con hojas planas y gruesas con los tallos lanceolados; flores con escamas carnosas, cálices de 5 a 9 sépalos y corola de igual número de pétalos¹.

Su nombre de siempre viva mayor es generada por su capacidad para sobrevivir en grandes sequías, siempre nacen hojitas nuevas que dependen del jugo de las hojas más antiguas. Las propiedades medicinales que posee la Siempre viva mayor son muchas. Es una planta beneficiosa para combatir las úlceras, cortes, sabañones, picaduras de avispa, callos y también para quemaduras de fuego².

Un antioxidante es una sustancia natural o sintética que previene la oxidación o inhibe las reacciones promovidas por los radicales libres, como radicales del oxígeno, del nitrógeno y de los radicales lipídicos frente al sistema biológico. Las propiedades antioxidantes les competen a algunas variedades de frutas y hortalizas que cuentan con propiedades beneficiosas contra las enfermedades degenerativas, entre los compuestos que tienen están los fenoles vitamina A, C, E y los carotenoides³.

En la actualidad las personas sufren con problemas en la piel causado por el sol, la contaminación, o por la poca información que manejan de cómo protegerse a causa de ellos algunas personas tiene enfermedades degenerativas, para lo cual las plantas medicinales pueden ayudar a combatir esas enfermedades, Por qué hay muchas plantas que cuentan con propiedades antioxidante. Dado el grado de importancia de uso se llevara a cabo el estudio de la planta medicinal *Echeveria peruviana* siempre viva mayor y su efecto antioxidante.

Por lo tanto se plantea el siguiente problema de investigación: ¿Tendrá capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales el extracto metanolico de las hojas de *Echeveria peruviana* siempre viva mayor? Con el objetivo general de Demostrar la capacidad antioxidante y cantidad de polifenoles totales del extracto metanolico de las hojas de *Echeveria peruviana* de muestra seca y liofilizada.

La metodología realizada fue DPPH. 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 hojas 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 calibración⁴.

OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

1.1 Objetivo General:

- Demostrar la capacidad antioxidante y cantidad de polifenoles totales del extracto metanolico de las hojas de *Echeveria peruviana* de muestra seca y liofilizada.

1.2 Objetivos específicos:

- Determinar la cantidad de polifenoles totales del extracto metanolico de las hojas de *Echeveria peruviana* expresados en mg de catequina eq. /g de muestra seca y liofilizado.
- Determinar la capacidad antioxidante del extracto metanolico de las hojas de *Echeveria peruviana* expresados mM Trolox Eq. / g de muestra seca y liofilizado.

II. REVICION DE LITERATURA:

2.1 Antecedentes

En el año 2018 en Quito – Ecuador, **Ortiz J.** Llevo a cabo su tesis teniendo como título “Estudio in vitro del efecto inhibitorio del extracto de la uvilla (physalis peruviana) sobre cepas de Streptococcus mutans”; teniendo como objetivo evaluar in vitro el efecto inhibitorio del extracto de la uvilla (*Physalis peruviana*) sobre cepas de Streptococcus mutans ATCC® 35668. Se utilizó 20 cajas Petri con agar sangre de cordero, posteriormente en cada caja petri se colocaron 4 discos de 6mm, inmediatamente cada disco fue impregnado con el extracto de uvilla al 30%, extracto de uvilla al 60%, clorhexidina 0.12% como grupo control positivo y agua

destilada como grupo control negativo. Se aplicó la prueba de Wilcoxon para comparar los dos extractos al 30% y 60 %, de igual manera se aplicó el test estadístico de U Mann Whitney y Kolmogorov-Smirnov con un nivel de significancia de 5. Dando como resultado el efecto inhibitorio del extracto de uvilla al 60% con un media de 10,35 y extracto de uvilla al 30 % con una media de 7,85 frente a *Streptococcus mutans*⁵.

En el año 2017 en Quito- Ecuador **Salas S.** Llevo a cabo su tesis teniendo como título “efecto antibacteriano del aceite esencial de *physalis peruviana* vs clorhexidina sobre cepas de streptococcus mutans” .Teniendo como objetivo determinar el efecto inhibitorio del aceite esencial de *Physalis peruviana* (uvilla). Se realizó mediante la técnica arrastre por vapor de agua, comparado con la clorhexidina sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC® 35668™. Se utilizaron concentraciones del 25%, 50%, 75% y 100% del aceite esencial, tomando como control positivo a la clorhexidina al 0.12% y control negativo al agua destilada. Se midió los halos de inhibición a las 24 y 48 horas de exposición; obteniendo resultados mediante pruebas no paramétricas de Kruskal Wallis, que el aceite esencial de *Physalis peruviana* al 75% y 100% posee efecto antibacteriano, sobre cepas de *Streptococcus mutans* ATCC® 35668⁶.

Domínguez A. et al. En abril del 2001 Habana – Cuba realizaron una investigación en la que determinaron Efecto cicatrizante de extracto fluido de hojas de Siempreviva (*bryophyllum pinnata*).teniendo como objetivo indagar sobre el efecto cicatrizante del extracto fluido de las hojas de dicha planta sobre la cicatrización de heridas abiertas en ratas de 8 semanas de nacidas. Se pudo constatar que el extracto fluido con 4,5 % de sólidos totales favorece el proceso de la cicatrización⁷.

Domínguez A. et al en 2000, en Cuba realizaron una investigación en la que determinaron Actividad antiinflamatoria de extracto fluido de hojas de siempreviva (*Bryophyllum pinnatum*) Se indagó sobre la actividad antiinflamatoria de extracto fluido de las hojas de Siempreviva (*Bryophyllum pinnatum*) frente al edema por carragenina en ratas de un peso promedio de 200-250 g. Se pudo constatar que el extracto fluido con 4,5 % de sólidos totales, en dosis de 100 mg/kg de peso tiene efectividad antiinflamatoria⁸.

Castro J. et al realizaron una investigación en la que demostraron tres niveles de harina del fruto de siempre viva (*sempervivum tectorum*) para el crecimiento y engorde de cuyes (*cavia porcellus*) Se realizó en la granja Liendo, en el distrito de Calana, departamento de Tacna, ubicada a una altura de 848 msnm, con una temperatura promedio de 17.7 °C (Senamhi 2010). Se emplearon 40 cuyes entre machos y hembras de la línea Perú y Se recolectó frutos de la planta Siempreviva (*Sempervivum tectorum*) luego de ser secadas al sol, fueron transformadas en harina con una moladora de uso tradicional y proporcionada a cada grupo de cuyes una vez al día, lo cual se llegó a obtener resultados favorables⁹.

2.2 Bases teóricas de la investigación

Estudios químicos y farmacológicos contemporáneos realizados en la especie *Echeveria peruviana* para identificar las propiedades y los compuestos activos de la especie estudiada, de alguna manera apoyan los usos medicinales que se le da a esta planta. Entre los componentes químicos se han identificado: flavonoides, principalmente como monoglicósidos y diglicósidos del kaempferol y quercetina, además de cumarinas, ácido cítrico y ácido málico, así como taninos y otros

polifenoles. Además se han identificado glicósidos de quercetina, isoramnetina, escutalereina y astragalina¹⁰.

2.2.1 Características Botánicas

2.2.1.1 Grupo Taxonomía:

REINO: Planta

CLASE: Equisetopsida

SUBCLASE: Magnoliidae

ORDEN: Saxifragales

SUPERORDEN: Myrothamnanae

FAMILIA: Crassulaceae

GÉNERO: Echeveria

ESPECIE: E. peruviana

Características morfológicas del género

Plantas anuales o perennes; hojas carnosas, enteras, planas, cilíndricas o agrupadas en rosetas basales. Flores hermafroditas, pentámeras de ordinario. Con los mismos números de sépalos que pétalos y carpelos en general doble número de estambres. Sépalos carnosos, libres comúnmente rosados-rojizos, amarillo y blancos; carpelos separados, folículos en la madures desde erecto hasta estrellados¹.

Características morfológicas de la siempre viva mayor

La siempre viva mayor *Echeveria peruviana* o hierba puntera, alcachofera de gatos, molodolio, consolva o barba de Júpiter. Es una planta perenne crasulácea, con hojas planas, gruesas con los tallos lanceolados; flores con escamas carnosas, cálices de 5 a 9 sépalos y corola de igual número de pétalos¹.

2.212 Flavonoides

Son compuestos fenólicos presentes en los vegetales y que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas, la polución ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos, etc. Los flavonoides son compuestos de bajo peso molecular que comparten un esqueleto común de difenilpiranos (C6-C3-C6), compuesto por dos anillos de fenilos (A y B) ligados a través de un anillo C de pirano (heterocíclico). Los átomos de carbono en los anillos C y A se numeran del 2 al 8, y los del anillo B desde el 2' al 6'. Los flavonoides contienen en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo fenólicos y excelentes propiedades de quelación del hierro y otros metales de transición, lo que les confiere una gran capacidad antioxidante^{11, 12}.

2.2.1.3 Quercetina

Es un flavonoide que se encuentra distribuido en el reino vegetal. Se trata de un compuesto polifenólico presente en vegetales, frutas, bebidas no alcohólicas y plantas medicinales. La quercetina retira oxígeno reactivo en forma de aniones superóxidos, radicales hidróxidos, peróxidos lipídicos o hidroperóxidos. De esta manera bloquea el accionar deletéreo de estas sustancias sobre las células. Los

efectos cito protectores de la quercetina es patentar los fibroblastos de la piel humana, queratinocitos, células endoteliales y ganglios sensoriales cultivados en presencia de sulfoxina-butionina, un inhibidor irreversible de la glutatión sintetiza¹³.

2.2.1.4 Taninos

El termino tanino fue introducido por Séguin en 1796 para designar a ciertas sustancias presentes en extractos vegetales capaces de combinarse con las proteínas de la piel, evitando su putrefacción y convirtiéndola en cuero. Estas sustancias tienen propiedades dar reacciones con cloruro férrico, reducir el permanganato de potasio y precipitar con gelatina. Las dos primeras señalan ya su carácter fenólico. Se distinguen dos tipos:

Taninos hidrolizables: son hidrosolubles por ácidos, álcalis y enzimas Se ha distinguido dos tipos de taninos hidrolizables: tanino gálico y elágicos.

Taninos condensados o proantocianidinas, son oligómeros y polímeros flavánicos, están constituidas por catequinas¹⁰.

2.2.15 Polifenoles

Los polifenoles tienen una amplia variedad de compuestos presentes en su estructura molecular, caracterizada por la presencia de uno o varios anillos fenólicos. Se originan principalmente en las plantas, que los sintetizan en gran cantidad, como producto de su metabolismo secundario. La capacidad de los polifenoles para modular la actividad de diferentes enzimas y para interferir en mecanismos de señalización en distintos procesos celulares se puede deber a las características fisicoquímicas de estos compuestos, que les permiten participar en

distintas reacciones metabólicas celulares de óxido-reducción. Sus propiedades antioxidantes justifican muchos de sus efectos beneficiosos¹⁴.

2.2.1.6 Ácido cítrico

El (ácido 2-hidroxi-1,2,3- propanotricarboxílico), es un ácido orgánico que puede ser considerado natural, sin embargo también puede ser sintetizado vía laboratorio, es un ácido orgánico que se encuentra en casi todos los tejidos animales y vegetales. Se utiliza en la industria de alimentos y bebidas como acidificante o antioxidante para preservar o mejorar los sabores, también en la industria farmacéutica como antioxidante para conservar las vitaminas, efervescentes, correctores de pH, conservantes sangre, o en la forma de citrato de hierro como fuente de hierro para el cuerpo, así como en tabletas, ungüentos y preparaciones cosméticas¹⁵.

2.2.1.7 Antioxidantes

Un antioxidante es una sustancia natural o sintética que previene la oxidación o inhibe las reacciones promovidas por los radicales libres, como radicales del oxígeno, del nitrógeno y de los radicales lipídicos frente al sistema biológico³.

2.2.1.8 Principales compuestos antioxidantes:

El beta- caroteno son pigmentos vegetales que una vez ingeridos se transforman en vitamina A. Es un componente antioxidante que evita la aparición de cáncer y enfermedades del corazón. También poseen propiedades para la piel, el beta-caroteno junto a la melanina se sitúan en las capas externas de la piel y la protegen de los radicales libres¹⁶.

Vitamina E mediante sus ácidos grasos protegen las membranas celulares de la oxidación la falta de esta vitamina puedes producir cambios degenerativos en células de algunos tejidos como el caso de los músculos y del corazón¹⁶.

vitamina C es uno de los potentes antioxidantes naturales que combate los radicales libres ya que nuestro cuerpo por si sólo es incapaz de neutralizarlos.es de suma importancia que la piel se “arme” con productos que aumenten su capacidad de defensa con el fin de “combatir” cualquier síntoma de envejecimiento¹⁷.

El licopeno, carotenoide responsable del color rojo de los tomates, ha atraído la atención debido a sus propiedades biológicas y fisicoquímicas en la prevención de enfermedades crónicas como cáncer, enfermedades cardiovasculares y neurodegenerativas, e hipertensión. Los antioxidantes, incluyendo al licopeno, interactúan con las especies reactivas del oxígeno, pudiendo mitigar el efecto dañino y jugar un papel significativo en la prevención de dichas enfermedades¹⁸.

2.2.1.9 Funciones de los antioxidantes:

Los antioxidantes actúan en cadenas uniéndose unos con otros con finalidad de neutralizar los radicales libres es necesario que estén coordinados para que tengan una eficiencia máxima y se pueden clasificar de dos tipos según su mecanismo de acción:

Antioxidantes primarios: tienen la capacidad de neutralizar las reacciones mediante cadenas, reaccionando con los radicales libres y convirtiéndose termodinámicamente estables.

Antioxidantes secundarios: son aquellos que actúan retardados en la iniciación de las reacciones de las cadenas¹⁹.

2.2.1.10 Compuestos dietéticos con la capacidad de inducir enzimas antioxidantes

Un sistemas de defensa antioxidantes es la que compete a las enzimas destoxicacion presente en el organismos, como las s-transferasa, y glumilcisteina-sintetasa y NAD (P) H-quinonas – reductasa estas son enzimas de fase 2 son los encargados de dar la conversión de xinobioticos, metabolitos mutagenicos.se cree que si las plantas inducen compuestos dañinos a las enzimas de fase 2 las células son más capaces de combatir a los radicales libres²⁰.

2.2.1.11 Radicales libres

Es una especie química que tiene electrón no aparejado en una órbita externa se y puede producir radicales libres por la capturar de electrones o por una fisión de un enlace covalente²¹.

2.2.1.12 Lesiones inducida por radicales libres

La lesión provocada por los radicales libres en especial los radicales activados por el oxígeno, es un mecanismo de lesión celular. Explicando así las lesiones por sustancias químicas y radiación, el envejecimiento celular, la destrucción de los microbios por la células fagocitadas.

Los radicales son elementos químicos con un electrón desemparejado en su órbita externa, estos estados son inestables por lo cual se da la reacción muy rápida con sustancias orgánicas e inorgánicas. Los radicales inician reacciones auto catalíticas y las molecular que reaccionan con ellas también se convierten en radicales mediante lo cual se alarga la cadena de lesiones²².

2.2.1.13 LIOFILIZACION

La liofilización es un proceso de deshidratación por congelación y sublimación; el contenido líquido de la materia natural se congela y luego se elimina en forma de vapor, bajo condiciones muy controladas de presión y también de temperatura, para dejar una estructura que revierta el estado anterior por adición de agua; si se aplica a sustancias como alimentos, permite que se pueda conservar en el ambiente durante largos periodos pero protegidos del agua, luz y oxígeno²³.

2.2.1.14 DPPH

Es muy utilizado como sustrato para determinar la actividad antioxidante de los compuestos para que sea captado los radicales libres. El método está fundamentado reducir el radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH) en la 2,2-difenil-1-picrilhidrazina por la actividad antioxidante de compuestos que contienen grupos. Es muy renombrado como un radical libre estable adecuado a la deslocalización de un electrón desapareado sobre la molécula completa, por lo cual la molécula no se dimeriza, como es el caso de la mayoría de los radicales libres. Cuando la solución de DPPH mejora con el sustrato antioxidante que puede donar un átomo de hidrógeno²⁴.

2.2.1.15 Folin Ciocalteu

El reactivo que se usa como un patrón está compuesto por fosfotungstos - molibdatos y es una solución muy acuosa de una coloración amarillo que tiene la maravillosa capacidad de poder secuestrar a uno o dos electrones en reacciones oxido -reducción y de poder formar coloraciones azules susceptible de ser determinada espectrofotométricamente a 700 nm²⁵.

III. HIPÓTESIS

Hipótesis implícita

IV. METODOLOGÍA.

4.1. Diseño de investigación

El presente trabajo de investigación corresponde a un estudio de tipo experimental, con un nivel de enfoque cuantitativo.

4.2. Obtención de la droga vegetal

En la realización de este estudio se utilizaron 500 gramos de *Echeveria peruviana* fresca las cuales después de ser recolectadas se deshojaron luego 250g se secaron en estufa a 45° C durante 48 horas y luego se procedió a realizar la pulverización. 250 gramos restantes fueron triturados y filtrado a través de un filtro metálico con un tamaño de poro de 3 mm de diámetro. Posteriormente se liofilizado. El polvo obtenido fue almacenado a temperatura ambiente hasta su procesamiento⁴.

4.2.1 Obtención de extracto metanólico - MeOH 80% (Extracción exhaustiva)

Para realizar la extracción se utilizó la muestra pulverizada y la muestra liofilizada, se pesa exactamente cerca de 0,2513 g por separado de cada muestra, se añaden 15 mL de metanol al 80% a las muestra. Se envolvieron las muestras con una capa de aluminio y luego se colocaron sobre el agitador magnético durante 30 minutos, después se centrifugo 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 realizó 3 veces para cada muestra, finalmente se lleva a volumen con el solvente y se guarda en congelador hasta el momento del análisis respectivo.

4.2.2 Determinación de polifenoles totales mediante el método de Folin – Ciocalteu

En una fiola de 10 ml se agregó 2,5 ml de agua tipo 2, después se añadió el estándar de catequina a concentraciones de 0,5; 1; 2,5; 5 y 10 ppm (mg/L) para obtener la curva de calibración a las demás fiolas se adicionó 100 μ L de extracto metanólico al 80%. Posteriormente se agregó 500 μ L de Folin Ciocalteu y se llevó a oscuridad por 5 minutos. Pasado los minutos se agregó 2 ml de carbonato de sodio al 10%, seguidamente se aforó con agua tipo 2 continuando se llevó a oscuridad por 90 minutos, finalmente se realizó la lectura en el espectrofotómetro ÚNICO 2800 UV/Vis a una longitud de onda de 700 nanómetros. Se realizó este proceso para cada muestra.

4.2.3 Determinación de la capacidad antioxidante según el método de DPPH

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 hojas 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 ya que la concentración del trolox reacciona a la capacidad que posee para neutralizar al radical del DDPH. Para determinar el % de inhibición se utilizó la siguiente formula:

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

Leyenda:

- DPPH t0: Absorbancia de la solución de DPPH control a tiempo 0.
- DPPH t15: Absorbancia de la muestra a tiempo 15 minutos.

4.3. Población y muestra Población vegetal

Hojas de la especie *Echeveria peruviana* que se obtuvieron de zona de nueva esperanza, distrito de Huacrachuco departamento de Huánuco.

4.4 Definición y operacionalización de variables

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADOR
Capacidad Antioxidante	Son una Fuente muy importante y reductores potentes ya que se debe a sus principales propiedades de óxido - reducción	Capacidad de secuestro y/o inhibición de radicales libres.	mM Trolox eq/g muestra seca.
Cantidad de polifenoles totales	Es un grupo amplio de compuestos del metabolismo secundario de las plantas que desempeñan diversas funciones	Folin - ciocalteu	Mg de catequina eq /g muestra seca

4.5. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Se utilizó la observación directa, medición y registro de las lecturas en el espectrofotómetro. Los datos recolectados son registrados en fichas de recolección de datos.

4.6. Plan de análisis.

Los resultados se presentaron con datos de medida: desviación de estándar, promedio en Microsoft Excel

4.7 Matriz de consistencia

TITULO DE LA INVESTIGACION	FORMULACION DEL PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPOTESIS	VARIABLE	TIPO DE INVESTIGACION	METODOLOGIA
<p>CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CANTIDAD DE POLIFENOLE S TOTALES DEL EXTRACTO METANOLICO EN HOJAS DE <i>Echeveria peruviana</i> (siempre viva mayor)</p>	<p>¿Tendrá capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales el extracto metanolico de las hojas de <i>Echeveria peruviana</i> siempre viva mayor?</p>	<p>Objetivo General:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Demostrar la capacidad antioxidante y cantidad de polifenoles totales del extracto metanolico de las hojas de <i>echeveria peruviana</i> de muestra seca y liofilizada. <p>Objetivos específicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Determinar la cantidad de polifenoles totales del extracto metanolico de las hojas de <i>echeveria peruviana</i> expresados en mg de catequina eq. /g de muestra seca y liofilizado. • Determinar la capacidad antioxidante del extracto metanolico de las hojas de <i>echeveria peruviana</i> expresados mM Trolox Eq. / g de muestra seca y liofilizado. 	<p>Implícita</p>	<p>Capacidad antioxidante de las hojas de <i>echeveria peruviana</i></p> <p>Cantidad de polifenoles totales de las hojas de <i>echeveria peruviana</i></p>	<p>Experimental</p>	<p>Diseño de Investigación:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Determinación de polifenoles totales según el método de Folin-Ciocalteu - Determinación de capacidad antioxidante según el método de DPPH

4.8. Principios éticos

Teniendo en cuenta la Declaración de Helsinki, se promoverá la recuperación del conocimiento tradicional sobre el uso de plantas medicinales, 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. En el caso del manejo de animales de experimentación se realizará con respeto de su bienestar de acuerdo a los propósitos de la investigación, promoviendo su adecuada utilización y evitándoles sufrimiento innecesario.

V. RESULTADOS

Tabla 1:

PROMEDIO Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES DE MUESTRA SECA Y LIOFILIZADO EN EXTRACTO METANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Echeveria peruviana* SIEMPRE VIVA MAYOR EXPRESADO EN mg DE CATEQUINA eq/g.

MUESTRA	EXTRACTO	POLIFENOLES TOTALES (mg DE CATEQUINA EQ. /g DE MUESTRA)
<i>E.M.H Echeveria peruviana (seca)</i>	Metanolico	17.07 ± 1.32
<i>E.M.H Echeveria peruviana (liofilizado)</i>	Metanolico	7.87 ± 1.42

Fuente: Datos propios de la investigación

E.M.H: Extracto Metanolico de Hojas

Tabla 2:

PROMEDIO Y DESVIACION ESTANDAR DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE MUESTRA SECA Y LIOFILIZADO EN EXTRACTO METANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Echeveria peruviana* SIEMPRE VIVA MAYOR EXPRESADO EN UNA CONCENTRACION Eq mM DE TROLOX /g DE MUESTRA

MUESTRA	EXTRACTO	mM Trolox Eq. /1 g de muestra)
<i>E.M.H Echeveria peruviana (seca)</i>	Metanolico	282.26 ± 8.80
<i>E.M.H Echeveria peruviana (liofilizado)</i>	Metanolico	247.91± 7.46

Fuente: Datos propios de la investigación

E.M.H: Extracto Metanolico de Hojas

5.2 Análisis de resultados:

El análisis de la presencia de polifenoles totales en las hojas de *Echeveria peruviana* se realizó mediante el ensayo Folin – Ciocalteu el cual actúa calculando la cantidad de sustancia analizada que se requiere para inhibir la oxidación del reactivo, los compuestos fenólicos evolucionan con el reactivo Folin- Ciocalteu surgiendo una coloración de un tono azul y se lee espectrofotométricamente a unos 700 nm.

En la tabla 1 se analizó el contenido de polifenoles totales de las hojas de *Echeveria peruviana* en extracto metanolico (extracción exhaustiva), dando como resultados una media y desviación estándar de 17.07 ± 1.32 mg de catequina eq. /g de muestra seca y

7.87 ± 1.42 mg de catequina eq. /g de muestra liofilizada ensayo realizado por el método Folin -Ciocalteu. Orbegoso N²⁶, en el 2018 mediante el mismo método para analizar el contenido de polifenoles totales en las hojas de *Valeriana isoetifolia killip* obtuvo como resultado 20.11 ± 0.73 mg equivalente a la catequina/ g de hojas secas. De esa manera se concluye de que el contenido de polifenoles totales tanto en el extracto liofilizado y el extracto seco de la planta son semejantes a los obtenidos en la *Valeriana isoetifolia killip*. Datos que son relevantes por tratarse de la misma clase que la del estudio.

En la tabla 2 se analizó la evaluación de la capacidad antioxidante de las hojas de *Echeveria peruviana* en extracto metanolico (extracción exhaustiva) siendo esta equivalente a una concentración 282.26 ± 8.80 mM de Trolox /g de muestra seca y 247.91± 7.46 mM de Trolox /g de muestra liofilizada determinados por el método DPPH. Orbegoso N²⁶, en el 2018 realizo la determinación de la capacidad antioxidante de las hojas de *Valeriana isoetifolia killip* donde obtuvo como resultado 45.70 ± 5.02 mM con respecto al trolox equivalente/gramo, esto resultados demuestra que las hojas de *echeveria peruviana* presenta mayor capacidad antioxidante que las hojas de *Valeriana isoetifolia killip*, concluyendo que los datos comparados son relevantes por tratarse de la misma clase y por ser parte del mismo estudio y usarse la misma metodología.

Estudios químicos y farmacológicos realizados en la especie *Echeveria peruviana* para identificar las propiedades y los compuestos activos se han identificado: flavonoides, principalmente como monoglicósidos, diglicósidos del kaempferol y quercetina, además de cumarinas, ácido cítrico y acido málico, así como taninos y otros polifenoles. Además se han identificado glicósidos de quercetina, isoramnetina, escutalereina y astragalina¹⁰.

La capacidad antioxidante que tienen los polifenoles hacia los radicales libre se puede deber a los grupos hidroxilos que se encuentran en su estructura, porque hay evidencia de polifenoles como los flavonoides son sustituyentes dihidroxilicos en posiciones 3' y 4' en el anillo B de la estructura el cual demuestra mayor capacidad antioxidantes y también se potencia por que presenta un doble enlace entre el carbono 2 y el carbono 3 por el grupo hidroxilo libre en posición 3 como la quercetina²⁷.

VI. CONCLUSIONES

- 1) El contenido de polifenoles totales de las hojas de Echeveria peruviana en el extracto metanolico fue equivalente a 17.07 ± 1.32 mg de catequina en muestra seca y 7.87 ± 1.42 mg de catequina en muestra liofilizada. De lo que se concluye que la muestra seca ofrece mayor cantidad de polifenoles totales.
- 2) La actividad antioxidante de las hojas de Echeveria peruviana en el extracto metanolico fue equivalente a 282.26 ± 8.80 mM de Trolox en muestra seca y 247.91 ± 7.46 mM de Trolox en muestra liofilizada. Se concluye que la muestra seca ofrece mayor actividad antioxidante.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Guibourt N. Historia natural de las drogas simples o curso de historia natural explicado en la escuela de farmacia en París.[libro electrónico] Madrid;1852 [citado el 17 de junio del 2017]disponible en: [https://books.google.com.pe/books?id=xhWiv9QQMOMC&pg=PA176&dq=siempreviva+mayor+\(sempervivum+tectorum\)&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwiNIJub5KDVAhUG2yYKHeRLByQQ6AEIKTAC#v=onepage&q=siempreviva%20mayor%20\(sempervivum%20tectorum\)&f=false](https://books.google.com.pe/books?id=xhWiv9QQMOMC&pg=PA176&dq=siempreviva+mayor+(sempervivum+tectorum)&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwiNIJub5KDVAhUG2yYKHeRLByQQ6AEIKTAC#v=onepage&q=siempreviva%20mayor%20(sempervivum%20tectorum)&f=false)

2. Falcón , Duran F .Bitácora médica del doctor Falcón: la medicina y la farmacia en el siglo XIX.[libro electrónico].[citado el 17 de junio del 2017]disponible en: [https://books.google.com.pe/books?id=MuhHUAeBH8oC&pg=PA603&dq=siempreviva+mayor+\(sempervivum+tectorum\)&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwjY4t3n6KDVAhUJPiYKHZ_fAnsQ6AEIMzAD#v=onepage&q=siempre%20viva%20mayor&f=false](https://books.google.com.pe/books?id=MuhHUAeBH8oC&pg=PA603&dq=siempreviva+mayor+(sempervivum+tectorum)&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwjY4t3n6KDVAhUJPiYKHZ_fAnsQ6AEIMzAD#v=onepage&q=siempre%20viva%20mayor&f=false)

3. Calin A, Carbonell A. La Fruta Granada Cultivada en España Punicalagina Antioxidante del Zumo de granada y el extracto de granada, en la alimentación funcional del fruto.[Libro electrónico]España. [Citado el 17 de junio del 2017] disponible en: https://books.google.com.pe/books?id=HSn9rGcU-egC&pg=PA35&dq=antioxidante&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwinf_u76DVAhXE5iYKHVOICA0Q6AEIMTAD#v=onepage&q=antioxidante&f=false

4. Quiroz K. Capacidad antioxidante y cuantificación de polifenoles en corteza y hojas de Jacaranda Acutifolia (arabisca) [tesis] Perú: Universidad católica los ángeles de Chimbote ;2018 [citado el 18 de octubre del 2019] disponible en: <http://repositorio.uladech.edu.pe/handle/123456789/8008>

5. Ortiz J. Estudio in vitro del efecto inhibitorio del extracto de la uvilla (physalis peruviana) sobre cepas de Streptococcus mutans. [TESIS] Ecuador: universidad central del ecuador; 2018 [citado el 12 de septiembre del 2018] Disponible en: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/15330/1/T-UCE-0015-925-2018.pdf>

6. Salas S. efecto antibacteriano del aceite esencial de *physalis peruviana* vs clorhexidina sobre cepas de streptococcus mutans. [TESIS] Ecuador: Universidad central del ecuador; 2017 [citado el 12 de septiembre del 2018] Disponible en: http://docs.bvsalud.org/biblioref/2018/03/880481/efecto-antibacteriano-del-aceite-esencial-de-physalis-peruviana_RpYlqp2.pdf

7. Amalia D, Lissette A, Diana D, et al. Efecto cicatrizante de extracto fluido de hojas de Siempreviva (*bryophyllum pinnata*) [artículo electrónico].2001[citado el 27 de junio del 2017]disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962001000100004

8. Amelia D, Maritza B. Actividad antiinflamatoria de extracto fluido de hojas de siempreviva (*Bryophyllum pinnatum*)[revista electrónica]2002.[citado el 27 de jun 2017]disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/ibi/vol21_2_02/ibi04202.htm

9. Juan C, Rosario T. niveles de harina del fruto de siempre viva (*sempervivum tectorum*) para el crecimiento y engorde de cuyes (*cavia porcellus*) [revista electrónica] 2013 [citado el 27 de junio del 2017] disponible en: revistas.unjbg.edu.pe/index.php/CYD/article/download/295/250

10. Ore de la paz J. Efecto diurético y dosaje de electrolitos del extracto hidroalcohólico de las hojas de Aeonium arboreum (L). Webb. & Berth. "rosa verde" en Cavia porcel/us "cobayo". [TESIS]Perú: Universidad Nacional De San Cristóbal De Huamanga; 2015[citado el 17 de julio del 2017] disponible en: http://repositorio.unsch.edu.pe/bitstream/handle/UNSCH/1168/Tesis%20Far432_Ore.pdf?sequence=1&isAllowed=y

11. Martínez S, González J, Culebras J, Tuñón J. Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. [INTERNET] España: Universidad de León. España; 2002 [citado el 17 de julio del 2017] disponible en: <http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/3338.pdf>

12. Estrada R, Ubaldo D, Araujo A. Los flavonoides y el Sistema Nervioso Central [INTERNET] México: Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz; 2012 [citado el 17 de julio del 2017] disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/sm/v35n5/v35n5a4.pdf>

13. Merck S. Quercetina. [INTERNET] Brasil: Gentileza Laboratorio Merck S. A. (Brasil). [Citado el 17 de julio del 2017] disponible en: <http://dietcan.net/docs/QUERCETINALabMerck.pdf>
14. Quiñones M, Miguel M, Aleixandre A. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular [INTERNET] España: Universidad Complutense Madrid; 2011 [Citado el 17 de julio del 2017] disponible en: http://scielo.isciii.es/pdf/nh/v27n1/09_revision_08.pdf
15. Muñoz A, Sáenz A, López L, Cantú L, Barajas L. Ácido Cítrico: Compuesto Interesante [INTERNET] México: Universidad Autónoma de Coahuila; 2012 [Citado el 17 de julio del 2017] disponible en: <http://www.posgradoeinvestigacion.uadec.mx/AQM/No.%2012/4.pdf>
16. Altman N. Terapias de oxígeno: Para una óptima salud y vitalidad [LIBRO ELECTRONICO] México; 1995 [citado el 17 de julio de 2017] Disponible en: https://books.google.com.pe/books?id=AyO_CpcssgC&pg=PA33&dq=antioxidante+betacarotenos+y+vitamina+e&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwj41peLs6HVAhWlQCYKHagQBXQQ6AEILDAB#v=onepage&q=antioxidante%20betacarotenos%20y%20vitamina%20e&f=false
17. Chover M. Medicina ortomédica [libro electrónico] [citado el 17 de junio del 2017] disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=x7znCgAAQBAJ&pg=PA416&dq=vitamina+c+antioxidante&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwidme7BsqHVVAhUKgiYKHSW5Dg0Q6AEIJTAB#v=onepage&q=vitamina%20c%20antioxidante&f=false>
18. Festy D. Antioxidantes: Guía Práctica [Libro electrónico] Barcelona; 2007 [citado el 17 de julio de 2017] disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=dMe726KbgMgC&pg=PA92&dq=antioxidante+licopeno&hl=es->

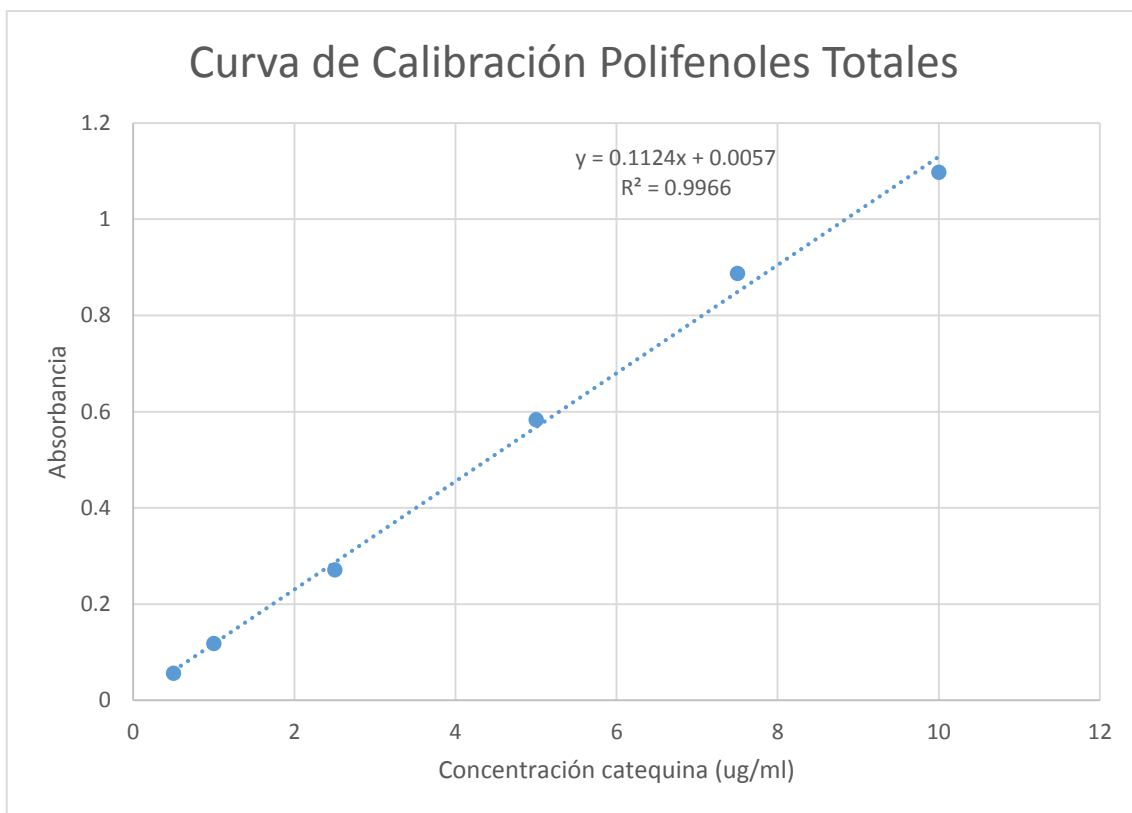
[419&sa=X&ved=0ahUKEwiE8I2NtqHVAhXL6iYKHSUxC7kQ6AEIJDA#v=onepage&q=antioxidante%20licopeno&f=false](https://books.google.com.pe/books?id=T6CWFYcYskC&pg=PT181&dq=mecanismo+de+defensa+de+los+antioxidantes&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwiE8I2NtqHVAhXL6iYKHSUxC7kQ6AEIJDA#v=onepage&q=antioxidante%20licopeno&f=false)

19. Salas J, Roa E, Sabaté Y, et al. Frutos secos, salud y culturas mediterráneas [libro electrónico] Barcelona; 2005 [citado el 17 de julio de 2017] disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=T6CWFYcYskC&pg=PT181&dq=mecanismo+de+defensa+de+los+antioxidantes&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwiLvIGWsaHVAhVK2SYKHcdECjUQ6AEIMDAC#v=onepage&q=mecanismo%20de%20defensa%20de%20los%20antioxidantes&f=false>
20. Benito J, Calvo S, Gomes C, Iglesias C, et al. Alimentación y nutrición en la vida activa: ejercicio físico y deporte [libro electrónico] Madrid; 2014 [Citado el 17 de julio del 2017] disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=MiiEAWAAQBAJ&pg=PT498&dq=que+funcion+complen+los+antioxidantes&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwirzeO1rqHVAhVMQCYKHZZICcgQ6AEIKjAB#v=onepage&q=que%20funcion%20complen%20los%20antioxidantes&f=false>
21. Robert R. Toxicología industrial e intoxicaciones profesionales [Libro electrónico] Barcelona; 1994 [citado el 17 de julio del 2017] disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=u5-qOuAAS9YC&pg=PA46&dq=que+son+radicales+libres&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwiLzNG4uKHVAhUJTSYKHVWNBrcQ6AEISDAH#v=onepage&q=que%20son%20radicales%20libres&f=false>
22. Vinay K, Ramzi S, Stanley L, et al. Patología humana [libro electrónico] España; 2006 [citado el 17 de julio del 2017] disponible en: https://books.google.com.pe/books?id=gtGTaRtupkUC&pg=PA9&dq=mecanismo+de+radicales+libres+en+la+oxidacion&hl=es-419&sa=X&ved=0ahUKEwjim7se4vKHVAhXDwiYKHeCkB_4Q6AEIUTAI#v=onepage&q=mecanismo%20de%20radicales%20libres%20en%20la%20oxidacion&f=false

23. Colchado M, Velázquez A. Efecto del método de liofilización, densidad de carga y temperatura de placa en la de -fresa (*fragaria vesca* l.) deshidratada [Tesis] Perú : Universidad nacional del santa; 2015 [Citado 17 de septiembre del 2019] Disponible en <http://repositorio.uns.edu.pe/bitstream/handle/UNS/1984/30730.pdf?sequence=1&isAllo wed=y>
24. Poggio, M. Consumo de antioxidantes naturales en personas con Dislipidemia [Tesis]. Argentina: Universidad abierta latinoamericana; 2011. [Citado 17 de septiembre del 2019] Disponible en: <http://imgbiblio.vaneduc.edu.ar/fulltext/files/TC112329.pdf>
25. Khushboo B, Sanjiv K, Sudarshan . Actividad Antioxidante Y Análisis Ft-IR De *Datura innoxia* y *Datura metel* Hoja Y Extractos Metanolicos De Semillas. Rev. Afr J Tradit Complement Altern Med [Internet] ; 2016 ; 13(5): 7-16 [Citado 17 de septiembre del 2019] Disponible en : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5416648/>
26. Orbegoso N. Determinación de polifenoles totales y evaluación de la actividad antioxidante in vitro, del extracto seco de los rizomas y hojas de *valeriana isoetifolia killip* [TESIS] Perú: Universidad católica los Ángeles de Chimbote ;2018 [Citado 17 de septiembre del 2019] Disponible en : <http://repositorio.uladech.edu.pe/handle/123456789/8010>
27. Avellano M, Suwalsky M. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismo de protección [INTERNET] Rev. Scielo; 2006 [Citado 17 de septiembre del 2019] Disponible en : <http://scielo.conicyt.cl/scielo.php?script=sci-arttext&pid=S0718-04622006000200010>

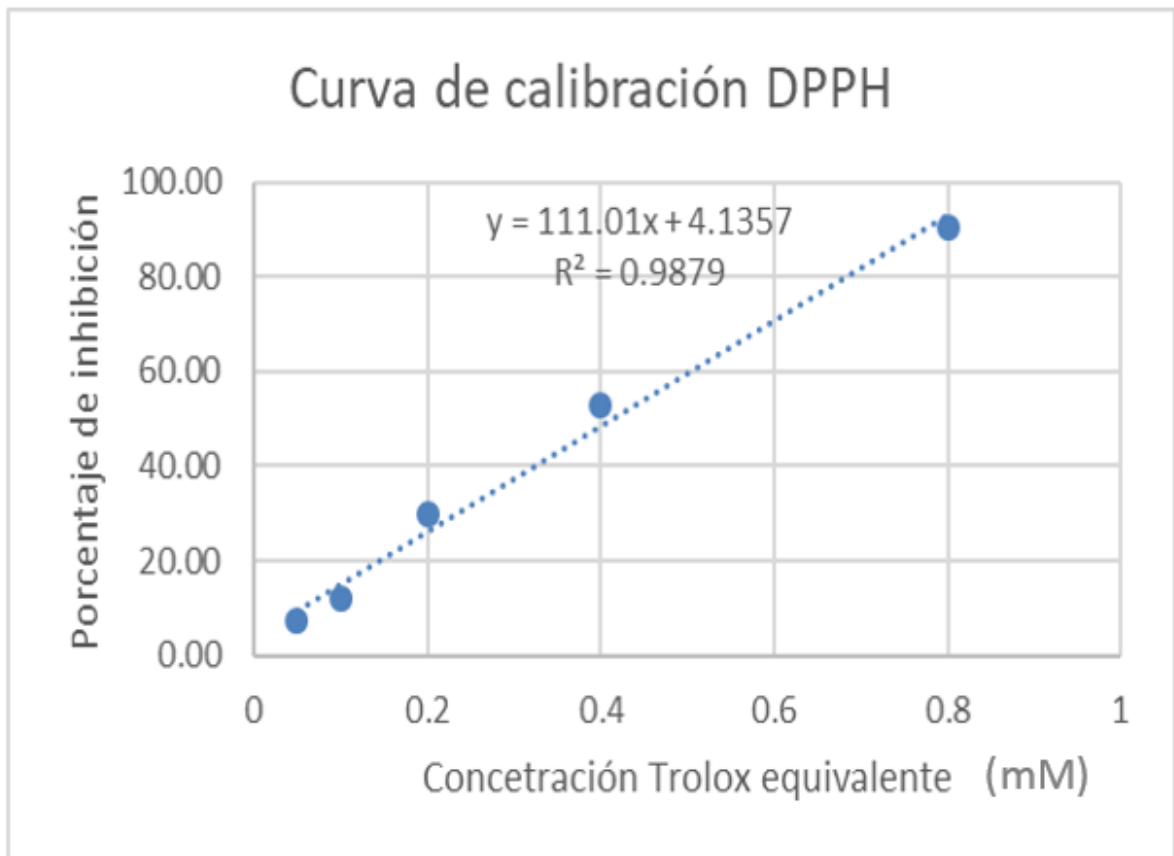
Anexos

ANEXO N° 01: Curva De Calibración De Polifenoles Totales utilizando catequina como estándar.



Fuente: Datos obtenidos directamente de la investigación

ANEXO N°2: Curva De Calibración De DPPH utilizando trolox como estándar



Fuente: Datos obtenidos directamente de la investigación



Herbarium Truxillense (HUT)

Universidad Nacional de Trujillo
Facultad de Ciencias Biológicas
Jr. San Martín 392, Trujillo - Perú



Constancia N° 038 – 2018- HUT

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


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

- **Clase:** Equisetopsida
- **Subclase:** Magnoliidae.
- **Superorden:** Myrothamnanae
- **Orden:** Saxifragales
- **Familia:** Crassulaceae
- **Género:** Echeveria
- **Especie:** *E. peruviana* Meyen
- **Nombre vulgar:** "siempre viva mayor".

Muestra alcanzada a este despacho por MALQUI AGUIRRE LILIBETH MILITZA, identificado con DNI N°70156627, con domicilio legal en Jirón Víctor Raúl Haya de la Torre Mz. O Lote "10" Tambo real antiguo- Santa; estudiante de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Facultad de Ciencias de la Salud, de la Universidad Privada Los Ángeles de Chimbote: ULADECH, cuya determinación taxonómica servirá para la realización del Proyecto de Tesis: "Efecto antioxidante del Extracto de las hojas de *Echeveria peruviana* " siempre viva mayor".

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

Trujillo, 21 de mayo del 2018


Dr. JOSÉ MOSTACERO LEÓN
Director del Herbario HUT

cc. Herbario HUT

E- mail: herbariumtruxillensehut@yahoo.com

ANEXO N°4: Recolección de planta (Secado)



ANEXO N°5: Molienda -contenido de polifenoles



ANEXO N°6: Actividad antioxidante

