

UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

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

**CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE
POLIFENOLES TOTALES DEL EXTRACTO
METANÓLICO DE LA SEMILLA DE *Jatropha curcas*
(Piñón Blanco)**

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

AUTOR

CARLOTA ELIZABETH ARROYO MESTANZA

ORCID: 0000- 0002-3795-2238

ASESOR

AZNARAN FEBRES GERMAN EDUARDO ISAAC

ORCID ID 0000-0002-3151-9564

CHIMBOTE – PERÚ

2019

1. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE
POLIFENOLES TOTALES DEL EXTRACTO METÁNOLICO DE
LA SEMILLA DE *Jatropha curcas* (Piñón Blanco).

2. EQUIPO DE TRABAJO

AUTOR

ARROYO MESTANZA CARLOTA ELIZABETH

ORCID: 0000- 0002-3795-2238

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

ASESOR

AZNARÁN FEBRES GERMAN EDUARDO ISAAC

ORCID ID 0000-0002-3151-9564

Universidad Católica los Ángeles de Chimbote, Facultad de Ciencias
de la Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica,

Chimbote – Perú

JURADO

DÍAS ORTEGA, JORGE LUIS.

ORCID: 0000-0002-6154-8913

RAMIREZ ROMERO, TEODORO WALTER

ORCID: 0000-0002- 2809-709X

VÁSQUEZ CORALES EDISON

ORCID: 0000-0001-9059-639

3. FIRMA DE JURADO Y ASESOR

Dr. Ramirez Romero Teodoro

Secretario

Dr. Edison Vásquez Corales

Miembro

Dr. Díaz Ortega Jorge Luis

Presidente

Mgtr. Aznarán Febres German Eduardo Isaac

Asesor

AGRADECIMIENTO

Mi mayor agradecimiento a Dios por darme la fuerza y el empuje para seguir y a mi familia quienes de manera desinteresada me apoyan y animan a continuar en esta carrera profesional hasta ver alcanzar mis metas.

También quiero expresar mi sincero agradecimiento a los docentes, Liz Zevallos, Marilú Soto, Edison Vásquez y Germán Aznarán por el apoyo a través de sus conocimientos y colaboración para concluir mi trabajo de investigación.

DEDICATORIA

A Dios y a mis padres Juan e Ysabel que son el motivo primordial para poder continuar y terminar formándome en esta carrera profesional, que con su cariño y comprensión lograré alcanzar mis metas.

Carlota

RESUMEN

Los compuestos fenólicos son entre los más abundantes e importantes grupos de metabolitos secundarios de las plantas, por lo tanto, se encuentran, en su mayoría, en los productos naturales que el hombre consume. Se ha demostrado, por medio de investigaciones, una significativa actividad antioxidante que muestra su poder en beneficio de la salud. El presente trabajo de investigación tiene como objetivo determinar la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales de la semilla de *Jatropha curcas* (Piñón blanco). Para ello, se aplicó el método de la extracción exhaustiva con metanol al 80%. Para la determinación de la capacidad antioxidante de la semilla de *Jatropha curcas*, se utilizó como método la prueba de 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazil (DPPH) y para el contenido de polifenoles se empleó el método de Folin-ciocalteu. Obteniendo como resultado que el extracto metanólico de las semillas de *Jatropha curcas*, presenta una capacidad antioxidante equivalente a una concentración 6.74 ± 1.10 mM de Trolox /1g de muestra seca, y para el contenido de polifenoles en el extracto metanólico fue equivalente a 3.83 ± 0.03 mg de catequina /1g de muestra seca. Se tiene como conclusión que las semillas de *Jatropha curcas* (Piñón Blanco) si muestran capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales.

Palabras claves: *Jatropha curcas*, capacidad antioxidante, Polifenoles totales, DPPH.

ABSTRACT

Phenolic compounds are among the most abundant and important groups of secondary metabolites of plants; therefore, they are mostly found in the natural products that man consumes. It has been demonstrated, through research, a significant antioxidant activity that shows its power for the benefit of health. The objective of this research work is to determine the antioxidant capacity and quantification of polyphenols of the *Jatropha curcas* (White pine nut) seed. For this, the method of exhaustive extraction with 80% methanol was applied. For the determination of the antioxidant effect of the *Jatropha curcas* seed, the 2,2-Diphenyl-1-Picrilhidrazil (DPPH) test was used as a method and for the quantification of polyphenols the Folin-ciocalteu method was used. Obtaining as a result that the methanolic extract of the seeds, has an antioxidant capacity equivalent to a concentration of 6.74 ± 1.10 mM Trolox / 1g of dry sample, and for the quantification of polyphenols in the methanolic extract was equivalent to 3.83 ± 0.03 mg of catechin / 1g of dry sample. It is concluded that the seeds of *Jatropha curcas* (White Pine) do show antioxidant effect and total polyphenol content.

Keywords: *Jatropha curcas*, antioxidant capacity, Total polyphenols, DPPH.

ÍNDICE

1. Título.....	ii
2. Equipo de Trabajo.....	iii
3. Hoja de firma del jurado y asesor.....	iv
4. Hoja de agradecimiento.....	v
5. Hoja de dedicatoria.....	vi
6. Resumen.....	vii
7. Abstrac.....	viii
8. Contenido.....	ix
9. Índice de gráficos y tablas.....	x
I. Introducción.....	01
II. Revisión de la literatura:.....	03
III.Hipótesis:.....	11
IV.Metodología.....	11
4.1. Diseño de la investigación.....	11
4.2. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	13
4.3. Población y muestra.....	14
4.4. Definición y operacionalización de variables e indicadores.....	15
4.5. Plan de análisis.....	15
4.6. Matriz de consistencia.....	16
4.7. Principios éticos.....	17
V. Resultados.....	18
5.2. Análisis de resultados.....	19
VI.Conclusiones.....	21
Referencias bibliográficas.....	22
Anexos.....	27

ÍNDICE DE GRÁFICOS Y TABLAS

Tabla 1: Efecto Antioxidante Promedio y Desviación estándar de la capacidad antioxidante en el extracto metanolico de la semilla de <i>Jatropha curcas</i> (Piñón blanco), expresado a una concentración equivalente en mM de trolox /1g de muestra seca.....	18
Tabla 2: Promedio y desviación estándar del contenido de polifenoles totales en el extracto metanólico de la semilla de <i>Jatropha curcas</i> (Piñón blanco), expresados en mg de catequina eq./1g de muestra seca.	18
Anexo 1: Curva de calibración de DPPH.....	27
Anexo 2: Curva de calibración de Polifenoles Totales	27
Anexo 3: Fotografía de la Planta <i>Jatropha curcas</i> (Piñón blanco).....	28
Anexo 4: Recolección, semillas y molino de cuchillas	28
Anexo 5: Muestra en agitador y centrifuga	29
Anexo 6: Constancia taxonómica de <i>Jatropha curcas</i> (Piñón blanco).....	29

I. INTRODUCCIÓN

El presente estudio de investigación pertenece al Proyecto Línea de Investigación “Plantas medicinales de importancia terapéutica” de la escuela profesional de Farmacia y Bioquímica de ULADECH Católica.

El uso de plantas medicinales data de épocas muy remotas en la historia de la humanidad. El hombre siempre ha buscado la manera de aliviar sus dolencias y malestares comunes a través de los recursos que ofrece la naturaleza. Fueron los egipcios quienes cultivaron las plantas no solo para uso alimentario, sino también, averiguaban acerca de sus propiedades terapéuticas y se curaban con ellas, heredando sus experiencias a otras civilizaciones. En 1992, la Oficina Regional de la OMS, realizó una congregación de personas especializadas con el fin de proponer una normativa para la investigación de medicamentos herbarios. Se han incluido a este reglamento algunas normas particulares y los requerimientos básicos vinculados con su utilización en la experiencia tradicional, cuyo propósito principal es garantizar la inocuidad, eficacia y seguridad de estos medicamentos. En nuestros días las investigaciones científicas medicinales herbarias se consolida y fortalece.¹

Los Antioxidantes son complejos, los cuales pueden impedir o retrasar la oxidación de algunas moléculas impidiendo el inicio y/o proliferación de las reacciones en cadena de los radicales libres. En el ser humano se encuentran sistemas de defensa antioxidante cuyo objetivo es lograr que sus propiedades inhiban la actividad nociva de los radicales libres. Cuando la capacidad antioxidante se vuelve deficiente, para ayudar al individuo, del efecto nocivo de los radicales libres, puede llevarlo al estrés oxidativo, situación que está estrechamente asociada a diversas patologías como,

cáncer, diabetes mellitus, cataratas, aterosclerosis, artritis psoriasis e hipertensión arterial.²

Entre los más abundantes e importantes grupos de metabolitos secundarios de las plantas, encontramos, a los compuestos fenólicos, y su transcendencia reside en la implicancia de su fisiología, crecimiento, reproducción, metabolismo celular como morfología, defensa ante plagas y procesos germinativos etc. Los compuestos fenólicos, se encuentran en su mayoría en los productos naturales que el hombre consume, se ha demostrado, por medio de investigaciones, una significativa actividad antioxidante que muestra su poder en beneficio de la salud.³

Nuestra planta en estudio *Jatropha curcas*. En el Perú, se le reconocen los siguientes usos medicinales tradicionales de la semilla molida o cruda de *Jatropha curcas* (Piñón Blanco) purgante, antirreumático, analgésico, antiulceroso, usos tópicos en conjuntivitis, antiséptico y cicatrizante vaginal. Según reportes existentes, el consumo de *Jatropha curcas* ha ocasionado casos de intoxicación en humanos, presentando efectos como náuseas, vómitos, diarrea y dolor abdominal. En contraste, las investigaciones pre-clínicas han demostrado la actividad anti-fértil, antimicótica y acaricida de las semillas; así mismo, estudios de la raíz le infieren actividad antidiarreica, antiinflamatoria, cicatrizante, efecto abortivo, coagulante y anticoagulante del látex y letalidad. Los efectos biológicos identificados de la semilla de *Jatropha curcas* están avalados por sus metabolitos secundarios, como alcaloides, flavonoides, esteroides, lectinas entre otros⁴.

En base a lo antes descrito se plantea la siguiente pregunta de investigación:
¿Tendrá capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales el extracto metanólico de la semilla de *Jatropha curcas* (Piñón Blanco)?

Se propone como objetivo general determinar la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales de la semilla de *Jatropha curcas* (Piñón Blanco).

El trabajo de investigación se realizó según la metodología de tipo experimental, con un nivel de investigación cuantitativo y bajo el método del DPPH (2,2-Difenil-1-picrilhidrazilo) La reacción se desarrolla a temperatura ambiente, durante 30 minutos en la oscuridad, finalmente se procede a la lectura de la densidad óptica en un espectrofotómetro.²

OBJETIVO DE LA INVESTIGACIÓN:

- **OBJETIVO GENERAL:**

Determinar la capacidad antioxidante y el contenido de polifenoles totales del extracto metanólico de la semilla de *Jatropha curcas* (Piñón blanco).

- **OJETIVOS ESPECÍFICOS:**

- Determinar la capacidad antioxidante del extracto metanólico de la semilla de *Jatropha curcas* (Piñón Blanco)
- Determinar el contenido de polifenoles totales del extracto metanólico de la semilla de *Jatropha curca* (Piñón Blanco).

II. REVICIÓN DE LA LITERATURA

2.1. ANTECEDENTES:

Perea X, et al.⁵, 2017 en su estudio identificaron los compuestos fenólicos de las semillas y cáscara de *Jatropha curcas* y propiedad antioxidante

del extracto metanólico de las semillas. Utilizó la técnica de Folin-Ciocalteu para polifenoles totales y para la capacidad antioxidante el 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH). Se presenciaron 13 compuestos fenólicos, con una capacidad antioxidante de 426.44 ± 53.39 μmol equivalentes de Trolox / g muestra) con alta actividad antioxidante.

Ortiz A,⁶ en su investigación sobre la semilla de *Jatropha curcas* determinó sus compuestos fenólicos, como capacidad antioxidante. Utilizó la técnica de Folin-Ciocalteu, basado en la reducción del ácido gálico y para la capacidad antioxidante utilizó el método ABTS, como resultado obtuvo una capacidad antioxidante de 10.5 mg equivalente a trolox/100g, en tanto su composición fenólica fue de fenoles totales y taninos.

Godos Y.⁷, 2018 se realizó este estudio con el fin de determinar la actividad antioxidante y el contenido de polifenoles en hojas de Hierba Santa (*Cestrum auriculatum* L'Her), utilizando el método de secuestro de radicales libres DPPH, para determinar la actividad antioxidante y para el contenido de polifenoles el método de Folin – Ciocalteu. Se obtuvieron los resultados para la actividad antioxidante de 190.57 ± 49.04 mM trolox eq./ de hojas secas y $23,95 \pm 1,7274$ mg de catequina/g de hojas secas. se concluye que las hojas de *Cestrum Auriculatum* L'Her (hierba santa) presenta contenido de polifenoles y actividad antioxidante.

Fu R, et al. ⁸, indagaron el año 2014 la planta *Jatropha curcas* con referencia a la cáscara de la semilla, así detallaron el contenido fenólico y la actividad antioxidante. Elaboro 3 extractos, acetato de etilo, etanol y acuoso. Utilizó la

técnica de Folin-Ciocalteu para polifenoles totales y para la capacidad antioxidante el 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH). Los resultados mostraron que los tres extractos contenían altos contenidos de compuestos fenólicos para EAE $269.91 \pm 8.35 \mu\text{g} / \text{ml}$, EE $311.91 \pm 6.07 \mu\text{g} / \text{ml}$ y WE $263.81 \pm 6.26 \mu\text{g} / \text{ml}$, y exhibían compuestos fenólicos y actividades antioxidantes relativamente fuertes.

Gálvez J.⁹, La presente investigación tuvo como objetivo principal, determinar la capacidad antioxidante y el contenido de polifenoles en hojas de la planta *Ficus carica* (higo). Aplicando la técnica de Folin Ciocalteu para la cuantificación de polifenoles y para la actividad antioxidante a través del método DPPH. Los resultados obtenidos fueron $58.74 \pm 6.18 \text{ mg}$ de catequina eq /g. para polifenoles y de $156.80 \pm 27.19 \text{ mM}$ de Trolox eq /g de muestra seca para la capacidad antioxidante. Se concluye que el higo tiene contenido de polifenoles y capacidad antioxidante.

Ghali W, et al.¹⁰ evaluaron su propiedad antioxidante y polifenólico del extracto metanólico de *Jatropha podagrica*. Utilizó la técnica de Folin-Ciocalteu para polifenoles totales y para la capacidad antioxidante el 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH). El contenido total de fenólicos y flavonoides fue bueno en las semillas y con acción antioxidante.

Haq M, et al.¹¹ este grupo de investigadores evaluaron el extracto metanólico de semillas desgrasadas de *Jatropha curcas*. Utilizó la técnica de Folin-Ciocalteu para polifenoles totales y para la capacidad antioxidante el 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH). Los análisis de las semillas mostraron un

contenido de flavonoides (0,39%) y fenólicos solubles en referencia a un mg de equivalentes de ácido gálico / g de extracto. Concluyendo que las semillas de *Jatropha curcas* contienen ingredientes activos que son efectivos.

Ibrahim M, et al.¹² el 2016 este grupo de investigadores estudiaron el extracto metanólico de semillas de *Jatropha curcas* y sus metabolitos fenólicos. Utilizó la técnica de Folin-Ciocalteu para polifenoles totales. Como resultados presento un contenido fenólico total de 13.33 mg de equivalentes de ácido gálico y un contenido total de flavonoides de 0.88 mg de equivalentes de ácido gálico respectivamente.

Alday P¹³, Evaluó las semillas de *Jatropha curcas* determino sus polifenoles totales, como capacidad antioxidante. Utilizó la técnica de Folin-Ciocalteu, y para la capacidad antioxidante el 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), Halló fenoles totales en una concentración de 2.18 y 1.25 g/100 g equivalente de ácido tánico con una buena actividad antioxidante.

Verma S.¹⁴ en su estudio de las semillas de *Jatropha curcas* en base a su propiedad antioxidante en extractos etanólicos, acuosos e hidroalcohólicos y antioxidantes determino esos estudios. Utilizó el HPLC para polifenoles totales y para la capacidad antioxidante el 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH). Como resultado el extracto etanólico, acuoso e hidroalcohólico respectivamente encontró $46 \pm 3,46 \mu\text{g} / \text{ml}$, $36,66 \pm 0,57 \mu\text{g} / \text{ml}$ y $32,66 \pm 1 \mu\text{g} / \text{ml}$, utilizando como estándar al ácido ascorbico, con polifenoles como el ácido protocatéquico y ácido gálico.

2.2 BASES TEÓRICAS:

2.2.1 ANTIOXIDANTES:

Los antioxidantes son un grupo de moléculas reconocidas por su capacidad para contrarrestar los efectos negativos de los radicales libres y el estrés oxidativo. Pueden ser productos muy diferentes entre sí, en cuanto a origen, estructura química y modo de acción, pero tienen en común su capacidad de inhibir o frenar los mecanismos implicados en la oxidación.¹⁵

2.2.2 RADICALES LIBRES Y ESTRÉS OXIDATIVO

El oxígeno es una molécula imprescindible para la vida, pero solo el 95% del que consumimos sigue la ruta fisiológica en condiciones normales, el resto sufre continuas reducciones es así que se origina moléculas sumamente tóxicas, conocidas como especies reactivas del oxígeno EROs. Cuando estas especies reactivas del oxígeno aumentan dentro de la célula, las defensas antioxidantes de estas, se ven afectadas y produce el estrés oxidativo, favoreciendo la muerte prematura de las células y contribuyendo al envejecimiento.^{16,18}

Los radicales libres son moléculas que se encuentran en nuestro organismo de forma independiente, conteniendo en su última capa orbital uno o más electrones desapareados, las cuales se vuelven muy inestables y altamente reactivas con capacidad para combinarse inespecíficamente, con las diferentes moléculas que integran la estructura celular, lípidos, carbohidratos, proteínas y ácidos nucleicos y

los derivados de estas, y con la capacidad de atacar cualquier tipo de biomolécula, a pesar de tener vida media corta.¹⁷

El exceso de radicales libres, en cuanto a las defensas antioxidantes, está inmerso en mayor y menor grado en la patogénesis de diferentes enfermedades, como el cáncer, enfermedades cardiovasculares, arteriosclerosis, enfermedades neurológicas. El daño celular producido por las especies reactivas del oxígeno ocurre sobre diferentes macromoléculas, ocasionando, peroxidación lipídica, alterando la permeabilidad de la membrana celular, daño oxidativo a proteínas, daño oxidativo a carbohidratos, provocando la reducción del contenido ATP y el daño oxidativo al ADN mitocondrial y la mutagénesis conllevan a padecer de cáncer.¹⁸

2.2.3 MECANISMO DE ACCIÓN ANTIOXIDANTE

El antioxidante al chocar con un radical libre le dona un electrón oxidándose a su vez y convirtiéndose en un radical libre débil no tóxico y en ciertos casos como la vitamina E, se regenera a su forma original por la acción de otros antioxidantes.¹⁹

La actividad antioxidante no puede ser medida directamente, pero puede determinarse por los efectos del compuesto antioxidante en un proceso de oxidación controlada. En la medición de una muestra oxidante, pueden usarse intermediarios o productos finales para valorar la actividad antioxidante.²⁰

2.3 MUESTRA EN ESTUDIO: *Jatropha curcas* (Piñón blanco)

2.3.1 TAXONOMÍA:

REYNO: Plantae

CLASE: Magnoliopsida

SUBCLASE: Rosidae

FAMILIA: Euphorbiaceae

GÉNERO: *Jatropha*

SUBGÉNERO: *Curcas*

ESPECIE: *Jatropha curcas* L.

2.3.2 HABITAD Y DISTRIBUCIÓN:

El género *Jatropha* perteneciente a la familia Euphorbiaceae, cuenta con más de 70 especies, que se destacan por su dureza, rápido crecimiento y fácil propagación; las semillas de *Jatropha curcas* considerada como cultivos potenciales para la producción de biodiesel. La especie *Jatropha curcas* es un arbusto o árbol pequeño originario de América, pero ampliamente cultivado en países de Asia y África; es reconocida por ser un excelente cultivo debido a que se adapta fácil a zonas áridas, semiáridas y de alta pluviosidad, además, tiene pocas plagas y enfermedades. Es próspera en suelos de baja fertilidad y en terrenos baldíos permite recuperar nutrientes, restaurar y rehabilitar suelos afectados por la erosión y mejorar la captura de carbono por el suelo. En

el Perú la registra en los departamentos de Piura, Huancabamba, Cajamarca, San Martín, Tarapoto, Lima, Loreto y Cuzco.²¹

2.3.3 DESCRIPCIÓN BOTÁNICA.

Es un árbol cuyo tamaño varía en 1- 10 metros, comúnmente con tronco y ramas gruesas, cuya parte externa es alisada, se caracteriza por un incremento anual del brote. Sus hojas tienen una filotaxia en espiral, la forma particular del limbo es redonda, levemente ovada, en ciertas ocasiones sinuado ondeado. La inflorescencia consta de dos ramas laterales cimosas, formando un dicasio terminal. Las flores son unisexuales y algunas veces hermafroditas. Los frutos son triloculares, elipsoide, sub-drupáceo, el exocarpo se mantiene pulposo hasta la maduración de la semilla y esta se fracciona en tres partes (dehiscentes); los frutos son de 2,5-3,5 cm largo y 2-2,5 cm de ancho y en ciertas ocasiones, puede llegar a medir hasta 4 cm. Cada envoltura posee de 2-3 semillas oscuras, oblongo elipsoide de cerca de 2 cm.²²

2.3.4 USOS TRADICIONALES:

La decocción de las hojas se utiliza para afecciones gastrointestinales, hemorroides, gonorrea, lepra, parálisis y reumatismo; el látex del tallo se usa para tratar gingivitis, herpes, llagas, verrugas, infecciones bucales y úlceras estomacales. Las semillas machacadas se usan para: hidropesía, estreñimiento, fracturas, gota y abortivo.²²

2.3.5 COMPOSICIÓN QUÍMICA:

Jatropha curcas es un ejemplo de esta gran diversidad tal como se reporta en el gran número de estudios dirigidos a conocer la composición química en cada una de las partes de esta planta. Se han identificado flavonoides, diterpenos, esteroides, triterpenos, saponinas, cumarinas, deoxipreussomerinas, ácidos orgánicos, iridioides, saponinas y taninos.²¹

III. HIPÓTESIS:

El extracto metanólico de la semilla de *Jatropha curcas* (Piñón Blanco) tiene capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales.

IV. METODOLOGÍA:

4.1 Diseño de la investigación

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

4.2 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

Se evaluó tomando como dato el valor de absorbancia medida en el espectrofotómetro y observación directa. Los datos obtenidos fueron registrados en fichas de recolección de datos.

4.2.1 Obtención de la droga vegetal

La muestra vegetal fue recolectada, ubicada en el distrito de Nuevo Chimbote, provincia de Santa, departamento de Ancash, en máximo estado de crecimiento vegetativo, durante el mes de febrero.

El estudio se realizó con las semillas de la planta, las cuales fueron secadas en estufa a 45° C, y luego pulverizadas en un Molino de cuchillas y almacenadas hasta la fecha del ensayo. (Anexo 4)

4.2.2 Preparación del extracto metanólico (CH₃OH 80%) por extracción exhaustiva.⁷

Para obtener el extracto se pesó 0.5270g de las semillas secas y pulverizadas, esto se añadió a un tubo (envuelto con una capa de aluminio) agregando 15 mL de metanol al 80% luego, agitamos, colocando por un lapso de 30 minutos en un agitador magnético, como paso siguiente se centrifuga a 6000 rpm (revoluciones) durante 5 minutos a 4°C retirando el sobrenadante y se coloca en una Fiola de 50 mL (cubriendo con una capa de papel de aluminio), el proceso se repitió por tres veces para la muestra de semillas respectivamente, finalmente se lleva a volumen con el solvente y se guarda en el congelador hasta la realización del análisis. (Anexo 5)

4.2.3 Preparación del DPPH:

Se realizó la preparación con 100 ml del reactivo con metanol, y se utilizó, para ello, 2.3mg de polvo de DPPH y se aforó con metanol en la fiola de 100ml, para tenerlo 0.06mM.

Determinación de actividad antioxidante según el método de DPPH.

En una cubeta se añadió 1450µL de DPPH a 0.06 mM, luego se llevó a leer al espectrofotómetro a una longitud de onda de 515nm para obtener

la absorbancia a tiempo cero (DPPH t0), seguidamente, a ello se le agregó 50µL del extracto y se dejó por 15 minutos en oscuridad y se dejó la reacción, finalmente se obtuvo la absorbancia a tiempo 15 (DPPH t15). Realizando el análisis por triplicado para cada una de las muestras. Como estándar se utilizó el Trolox a concentraciones de 0.5, 1.0, 2.5, 5, 7.5 y 10 mM, para obtener la curva de calibración, ya que la concentración del Trolox como estándar fue equivalente a la capacidad que poseen los extracto utilizados para neutralizar al radical DPPH. 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.

4.2.4 Determinación de polifenoles totales por el método de Folin –

Ciocalteu:

En una fiola de 50 ml se agregó 2,5 ml de agua destilada, luego se añadió el estándar de catequina a concentraciones de 0,5; 1; 2,5; 5; 7.5 y 10ppm (mg/L) para obtener la curva de calibración, a las demás fiolas se adicionó 50 µL de extracto metanólico al 80%, Posteriormente se agregó 500 µL de Folin Ciocalteu y se dejó reposar por 5 minutos en oscuridad. Pasado este tiempo se agregó 2 ml de carbonato de sodio al 10%, seguidamente se aforó con agua destilada e inmediatamente se llevó a oscuridad por 90 minutos, El análisis se realizó por triplicado

para cada una de las muestras. Finalmente se realizó la lectura en el espectrofotómetro ÚNICO 2800 UV/Vis a una longitud de onda de 700 nanómetros⁷. (Anexo 6)

4.3 Población y muestra:

Población vegetal: Conjunto de semillas *Jatropha curcas* (Piñón Blanco) recolectadas en H.U.P. Nicolás Garatea, ubicada en el distrito de Nuevo Chimbote, provincia de santa, departamento de Ancash.

Muestra vegetal: 500g de semillas de *Jatropha curcas* (Piñón Blanco) en buen estado vegetativo.

4.4 Definición y operacionalización de variables e indicadores

VARIABLES	Definición conceptual	Definición operacional	Indicador
Capacidad antioxidante de la semilla de <i>Jatropha curcas</i> (Piñón Blanco)	Sustancias cuya propiedad es de contrarrestar los radicales libres, reducir el daño oxidativo y así evitar o retardar enfermedades.	Capacidad de secuestro y/o inhibición de radicales libres. (DPPH)	mM de Trolox /g muestra
Contenido de Polifenoles totales de la semilla de <i>Jatropha curcas</i> (Piñón Blanco)	Son un conjunto de sustancias heterogéneas que comparten uno o más grupos fenol por molécula, una característica común en su estructura molecular.	. Folin-ciocalteu	mg catequina eq./g muestra seca

4.5 Plan de análisis.

Los resultados se presentaron con datos de medida de tendencia central: promedio desviación estándar, en Microsoft Excel. Regresión lineal para la calibración del patrón.

4.6 MATRIZ DE CONSISTENCIA

TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN	FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	OJETIVOS	HIPÓTESIS	VARIABLES	TIPO DE INVESTIGACIÓN	METODOLOGÍA
Capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales del extracto metanólico de la semilla de <i>Jatropha curcas</i> (Piñón blanco)	¿Tendrá capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales el extracto metanólico de la semilla de <i>Jatropha curcas</i> (Piñón blanco)?	<p>Objetivo General: Determinar la capacidad antioxidante y el contenido de polifenoles totales del extracto metanólico de la semilla de <i>Jatropha curcas</i> (Piñón blanco)</p> <p>Objetivos Específicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> Determinar la capacidad antioxidante del extracto metanólico de la semilla de <i>Jatropha curcas</i> (Piñón Blanco) expresado en mM de Trolox /1g muestra seca mediante el método de secuestro de radicales libres radical, 1.1-Difenil-2-picril-hidrazilo DPPH. Determinar el contenido de polifenoles totales del extracto metanólico de la semilla de <i>Jatropha curcas</i> (Piñón blanco), expresados en mg de catequina eq./1g de muestra seca mediante el método de Folin- Ciocalteu. 	Implícita	<p>1.Capacidad antioxidante del extracto metanólico de la semilla de <i>Jatropha curcas</i> (Piñón blanco)</p> <p>2.Contenido de polifenoles totales del extracto metanólico de la semilla de <i>Jatropha curcas</i> (Piñón blanco)</p>	Descriptivo	<p>Diseño de investigación:</p> <ul style="list-style-type: none"> Determinación de la capacidad antioxidante por el método de DPPH. Determinación de polifenoles totales por el método de Folin Ciocalteu.

4.7 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

5.1 RESULTADOS:

Tabla 1: Promedio y Desviación estándar de la capacidad antioxidante en el extracto metanólico de la semilla de *Jatropha curcas* (Piñón blanco), expresado a una concentración equivalente en mM de trolox /1g de muestra seca.

Muestra	Partes de la planta	Tipo de extracto	DPPH (mM de Trolox /1 g muestra seca)
<i>Jatropha curcas</i>	semilla	Exhaustiva (Metanol 80%)	6.74 ± 1.10

Fuente: Datos propios de la investigación

Tabla 2: Promedio y desviación estándar del contenido de polifenoles totales en el extracto metanólico de la semilla de *Jatropha curcas* (Piñón blanco), expresados en mg de catequina eq./1g de muestra seca.

Muestra	Partes de la planta	Tipo de extracto	Polifenoles totales (mg de catequina eq./1g de muestra seca)
<i>Jatropha curcas</i>	semilla	Exhaustiva (Metanol 80%)	3.83 ± 0.03

Fuente: Datos propios de la investigación

5.2 ANÁLISIS DE RESULTADOS:

En la **tabla 1** se muestra los resultados de la capacidad antioxidante del extracto metanólico de la semilla de *Jatropha curcas* que fue equivalente a una concentración 6.74 ± 1.10 mM de Trolox /1g muestra seca.

Perea X, et al.⁵, encontró valores de 426.44 ± 53.39 μ M equivalentes de Trolox /g muestra, lo que indica que tiene capacidad antioxidante la semilla de *Jatropha curcas*. Aunque las unidades de expresión no son las mismas obtenidas en la adaptación del método DPPH, empleado en nuestra investigación, es importante mostrar los estudios realizados de la especie en mención.

Ortiz A⁶, realizó un estudio de las semillas de *Jatropha curcas*, donde halló valores de 10.5 mg equivalente a trolox /100g de muestra, demostrando que contiene una actividad antioxidante. Si bien es cierto, los estudios indican que la semilla es de la misma especie, el método y las concentraciones utilizadas son distintas a las nuestras, pero es relevante mencionar por la similitud de la especie vegetal.

El autor Godos Y⁷, encontró valores de 190.57 ± 49.04 mM trolox eq./g de muestra seca de las hojas de Hierba Santa, planta que crece en la serranía de Ancash y que es usada como antiinflamatorio. Esto, me permite concluir que los valores encontrados para la capacidad antioxidante del extracto metanólico de la semilla de *Jatropha curcas* a una concentración equivalente 6.74 ± 1.10 mM de Trolox /1g muestra, están por debajo del promedio de esta especie conocida.

El autor Gálvez J⁹, en su investigación con las hojas de *Ficus carica* (Higo) halló cifras de 156.80 ± 27.19 mM de Trolox eq /g de muestra seca. Para la actividad antioxidante, lo que demuestra que *Jatropha curcas* (Piñón blanco) tiene una baja capacidad antioxidante.

En la **tabla 02** con respecto a la presencia de polifenoles totales en el extracto metanólico de la semilla de *Jatropha curcas* fue equivalente a 3.83 ± 0.03 mg de catequina /1 g muestra seca a través del método de -Folin-Ciocalteu.

El estudio realizado por Godos, demostró que la Hierba Santa (*Cestrum Auriculatum* L'Her) contiene polifenoles totales con valores de $23,95 \pm 1,7274$ mg de catequina eq. /g de muestra, lo que indica que la semilla de *Jatropha curcas* con valores de 3.83 ± 0.03 mg de catequina eq. /1g muestra seca, tiene bajo nivel de polifenoles, por lo tanto, su capacidad antioxidante queda reducida.

Del mismo modo, Gálvez en su investigación indicó cifras encontradas para el contenido de polifenoles en su extracto metanólico de *Ficus Carica* (higo) de 77.97 ± 0.90 (mg de cat.eq. /g de muestra seca), es así, que las semillas de *Jatropha curcas* muestra bajos niveles de polifenoles en su extracto metanólico 3.83 ± 0.03 mg de catequina eq. /1g de muestra.

Verma, et.al. en el año 2012 en su investigación, evaluación fitoquímica y estudio Antioxidante de la semilla de *Jatropha curcas* por HPLC, determinaron antioxidantes significativos. La presencia de contenido polifenólico indica que la capacidad antioxidante de *Jatropha curcas* debe a la presencia del ácido protocatéuico y el ácido gálico cuantificado en esta especie.¹⁴

La capacidad antioxidante que presentan los polifenoles, para contrarestar la oxidación por radicales libres, se debe a que en su estructura poseen al menos un anillo aromático que está unido a uno o más grupos hidroxilos.²³

CONCLUSIONES

- La capacidad antioxidante de la semilla de *Jatropha curcas* mediante el método de secuestro de radicales libres DPPH, mostró un resultado equivalente a una concentración 6.74 ± 1.10 mM de Trolox /1g muestra seca. Con los datos obtenidos, se detalla una baja capacidad del poder antioxidante.
- La cantidad de polifenoles totales del extracto de semillas de *Jatropha curcas* mediante el método de Folin Ciocalteu, fueron equivalentes a 3.83 ± 0.03 mg de catequina /1g muestra seca, por los valores encontrados se demuestra baja presencia de polifenoles, reduciendo la capacidad antioxidante.

REFERENCIAS:

1. Melgarejo N, Álvarez G, Abad A. Plantas medicinales: guía para su uso en la atención primaria de la salud [Internet]. Buenos Aires: Corpus Editorial; 2008. [Citado 2018 Mayo 24]. Disponible en:
<https://ebookcentral.proquest.com/lib/bibliocauladechsp/reader.action?docID=3216527&query=plantas+medicinales+>
2. Guija E, Inocente M, Ponce J, Zarzosa E. Evaluación de la técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para determinar capacidad antioxidante. Horiz Med [Internet]; 2015 [Citado 2019 mayo 31]; 15 (1): 57-60. Disponible en:
<http://www.scielo.org.pe/pdf/hm/v15n1/a08v15n1.pdf>
3. Jurado B, Aparcana I, Villarreal L, Ramos E, Calixto M, Hurtado P, et.al. Evaluación del contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante de los extractos etanólicos de los frutos de Aguaymanto (*Physalis Peruviana L.*) de diferentes Lugares del Perú. Rev Soc Quím Perú. [Internet]. 2016 [Citado 2019 junio 06]; 82(3). Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v82n3/a03v82n3.pdf>
4. Zavala E, Goicochea S, Agurto T, Adrianzen S, Coronel G, Salazar A. Dosis-respuesta sobre la motilidad intestinal y el sistema nervioso de la interacción entre *Jatropha curcas L.* y metoclopramida. Rev. Acta med. Perú [Revista en línea]. 2013 [Citado 2018 noviembre 24]; 30(3): [120-127 p.]. Disponible en:
http://sisbib.unmsm.edu.pe/BVRevistas/acta_medica/2013_n3/pdf/a04v30n3.pdf

5. Perea X. Espinoza L. Hosseinian F. HadiNezhad M. Valdez M. Medina S. Perfil fenólico y actividad antioxidante de extractos metanólicos de cáscara de *L. Jatropha curcas* L. no tóxicos. Rev. Investigación de productos naturales, [Internet]; 2017, [Citado 2019 Julio 17] vol. 31, no 5, p. 610-614. Disponible en: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/14786419.2016.1209665>
6. Ortiz A. Composición química de *Jatropha curcas* tóxica, no tóxica y detoxificada, y efecto de su consumo sobre parámetros nutricionales y tóxicos en pollos. [Tesis Doctoral]. México: Universidad Autónoma de Querétaro; 2012. [Citado 2019 Julio 17]. Disponible en: <http://ri.uaq.mx/bitstream/123456789/1031/1/RI000264.pdf>
7. Godos Y. Actividad antioxidante y contenido de polifenoles en hojas de *Cestrum auriculatum* L'Her (hierba santa). [Tesis]. Chimbote – Perú: Universidad Católica los Ángeles de Chimbote; 2018. [citado 2019 noviembre19]. Disponible en: http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/7799/ANTIOXIDANTE_POLIFENOLES_GODOS_CHINCHAYHUARA_YANPIER_YURI.pdf?sequence=1&isAllowed=y
8. Fu R, Zhang Y, Guo Y, Liu F, Chen F. Determination of phenolic contents and antioxidant activities of extracts of *Jatropha curcas* L. seed shell, a by-product, a new source of natural antioxidant. *Industrial Crops and Product* [Internet]; 2014 [Citado 2019 junio 07] Vol 58: 265-270. Disponible en: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669014002349?fbclid=IwAR3WJskOme12fk81kSnWot61Vb0sBUv-T6pCepCLDXfWibDhru2MUCgs4aU>
9. Gálvez J. Capacidad antioxidante y contenido de polifenoles en las hojas de *figus carica* (higo). [Tesis]. Chimbote – Perú: Universidad Católica los Ángeles de Chimbote; 2018. [citado 2019 noviembre19]. Disponible en: http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/7937/FICUS_CARICA_CAPACIDAD_ANTIOXIDANTE_GALVEZ_FUSTAMANTE_JOSE_VLA_DIMIR.pdf?sequence=1&isAllowed=y

10. Ghali W. Vaudry D. Jouenne T. Néjib M. Evaluación del potencial cito protector, antiproliferativo y antioxidante de una planta medicinal *Jatropha podagrica*. Cultivos y productos industriales. Rev. Cultivos Industriales y Productos. [Internet]; 2013, [Citado 2019 Julio 17]vol. 44, p. 111-118. Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669012005729>
11. Haq M. Mehmood S. Ullah F. Khan R. Sadiq M. Khatak A. Phytochemical and biological evaluation of defatted seeds of *Jatropha curcas*. Sains Malays [Internet]; 2016. [Citado 2019 Julio 17] vol. 45, no 10, p. 1435-1442. Disponible en:
<https://core.ac.uk/download/pdf/84306793.pdf>
12. Ibrahim M. Husaini A. Muhamad N. Roslan H. Propiedades antimicrobianas, fenólicas totales y flavonoides totales de hojas y semillas de *Jatropha curcas*, *Piper nigrum* L. y *Piper betle* extractos metanólicos crudos. Rev. Malaya de Microbiología. [Internet]; 2016. [Citado 2019 Julio 17] vol. 12, no 6, p. 438-444. Disponible en:
<http://wprim.whocc.org.cn/admin/article/articleDetail?WPRIMID=626981&articleId=626981>
13. Alday P. Evaluación de las semillas de *Jatropha cordata* y *Jatropha cardiophylla*, como fuentes de proteínas, compuestos fenólicos y aceite para la obtención de biodiesel. [Tesis de Maestría]. México: Universidad de sonora; 2011. [Citado 2019 Julio 17]. Disponible en:
<http://www.repositorioinstitucional.uson.mx/handle/unison/745>
14. Verma S, Gupta A, Kushwaha P, Khare V, Srivastava S, Rawat A. Phytochemical Evaluation and Antioxidant Study of *Jatropha curcas* Seeds. Pharmacognosy Journal. [Internet]; 2012 [citado 2019 junio 7] Vol.4(29): 50-54. Disponible en:
<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S097535751280054X>

15. Peiró S. Actividad antioxidante del té blanco y de los residuos de limón: optimización de la extracción y aplicaciones en carne y en envases activos. [Tesis]. Barcelona _ España: Universitat de Barcelona; 2015. [Citado 2019 junio 30]. Disponible en:
https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/316029/SPS_TESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y
16. Benítez J. Valoración del estrés oxidativo producido por el ejercicio físico inducido en dos grupos de varones prepuberales y puberales. [Tesis Doctoral]. Córdoba – Argentina: Universidad de Córdoba; 2008. [Citado 2019 Julio 01]. Disponible en:
https://helvia.uco.es/xmlui/bitstream/handle/10396/2352/abre_fichero.pdf?sequence=1&isAllowed=y
17. Corrales L, Muñoz M. Estrés oxidativo: origen, evolución y consecuencias de la toxicidad del oxígeno. Nova-Publicación Científica en Ciencias Biomédicas. [Internet]. 2012. [Citado 2019 julio 01]; 10(18): 135 - 250. Disponible en:
<http://www.scielo.org.co/pdf/nova/v10n18/v10n18a08.pdf>
18. Vílchez A. Estrés oxidativo, actividad antioxidante, y senescencia celular en fibroblastos en trisomía del cromosoma 21. [Tesis]. Barcelona – España: Universitat de Barcelona; 2013. [Citado 2019 julio 01]. Disponible en:
https://www.tdx.cat/bitstream/handle/10803/116810/AVG_TESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y
19. Rodríguez J, Menéndez J, Trujillo Y. Radicales libres en la biomedicina y estrés oxidativo. Rev Cub Med Mil [Internet]. 2002 [citado 2019 Julio 01]; 30(1): 15-20. Disponible en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S013865572001000100007&lng=es.
20. Figueroa S, Mollinedo O. Actividad antioxidante del extracto etanólico del mesocarpio del fruto de *Hylocereus undatus* “pitahaya” e identificación de los fitoconstituyentes. [Tesis]. Lima- Perú: Universidad Wiener; 2017. [Citado 2019 julio 01]. Disponible en:

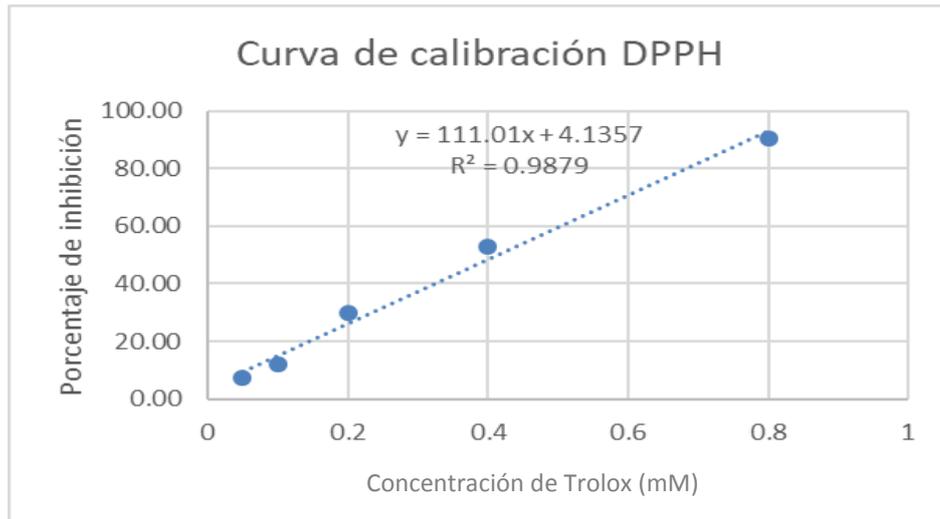
<http://repositorio.uwiener.edu.pe/bitstream/handle/123456789/924/TITULO%20%20Mollinedo%20Moncada%2C%20Ofelia.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

21. Pabón L, Hernández P. Importancia química de *Jatropha curcas* y sus aplicaciones biológicas, farmacológicas e industriales. *Rev. Cubana de Plantas Medicinales*. [Internet]. 2012. [Citado 2018 Noviembre 25]; 17(2): 194-209. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v17n2/pla08212.pdf>
22. Machahua M. Variabilidad morfológica en poblaciones de *Jatropha curcas* L. "piñón blanco" (Euphorbiaceae). [Tesis]. Lima – Perú: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2010. [Citado 2018 noviembre 25].
http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/917/machahua_gm.pdf;jsessionid=C3D0C13ED03B60EECDDB48321CF61813?sequence=1
23. Mercado A. Carrillo L Wall A. López J. Álvarez E. Compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante de especias típicas consumidas en México. *Rev. Nutrición hospitalaria*. [Internet]; 2013. [Citado 2019 07 diciembre 7]; 28:36-46. Disponible en: <http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/6298.pdf>

ANEXOS

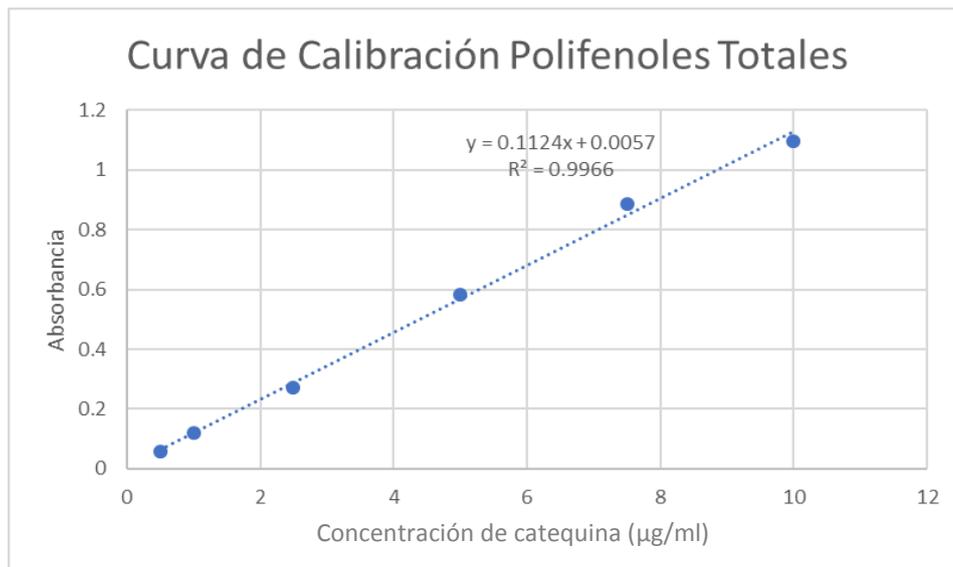
Anexo 1

Gráfico 1: Curva de calibración de DPPH (2,2- difenil-1-picrilhidrazilo)



Fuente: Datos propios de la investigación

Gráfico 2: Curva de calibración de polifenoles totales Folin - Ciocalteu



Fuente: Datos de la investigación

Anexo 3:

Figura 3: Fotografía de la planta *Jatropha curcas* (Piñón blanco)



Anexo 4:

Recolección, semillas y molino de cuchillas.



Anexo 5:

Muestra en Agitador y centrifuga



Anexo 6: Constancia taxonómica



CAPACIDAD_ANTIOXIDANTE_ARROYO_MESTANZA_CARLOTA...

INFORME DE ORIGINALIDAD

11%

INDICE DE SIMILITUD

11%

FUENTES DE INTERNET

0%

PUBLICACIONES

%

TRABAJOS DEL
ESTUDIANTE

ENCONTRAR COINCIDENCIAS CON TODAS LAS FUENTES (SOLO SE IMPRIMIRÁ LA FUENTE SELECCIONADA)

34%

★ repositorio.uladech.edu.pe

Fuente de Internet

Excluir citas

Activo

Excluir coincidencias < 4%

Excluir bibliografía

Activo