



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

**ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUÍMICA**

**DETERMINACION DE POLIFENOLES TOTALES Y
EVALUACION DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE
IN VITRO, DEL EXTRACTO SECO DE LOS RIZOMAS Y
HOJAS DE *Valeriana isoetifolia killip***

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO

AUTOR:

ORBEGOZO CHAVEZ NELY

ASESOR:

Mgr. ZEVALLOS ESCOBAR LIZ

CHIMBOTE – PERÚ

2018

JURADO EVALUADOR DE TESIS

Dr. Jorge Luis Díaz Ortega

Presidente

Mgtr. Teodoro Walter Ramírez Romero

Miembro

Mgtr. Edison Vásquez Corales

Miembro

Mgtr. Zevallos Escobar Liz

Asesor

DEDICATORIA

Mi logro lo dedico en especial a Dios.

A mi madre Julia, por enseñarme con su ejemplo.

A mi hija, Pryha, mi primogénita, por darme aliento, fuerza, valor para seguir adelante a pesar de las adversidades, mi princesa ya salimos de lo más difícil.

A mis hermanos, Ramon, Yrma, Luis, Zenaida, Marita, Nelson y en especial a Elsa por cuidar de mi hija durante mi ausencia.

A mis sobrinos, que me decían tía sigue adelante un día lo lograras y serás muy feliz. Eres nuestra inspiración.

A mi tío José Luis por dejarme de herencia la profesión.

A mis amigos; Flor, Génesis, Cristhian y Ronald por estar ahí cuando los necesitaba.

A la sra Amelia, sra Isabel y la sra Pilar, que en su momento me ayudaron como si fuera su hija.

A Nando por dar inicio este sendero muy bonito

AGRADECIMIENTO

A Dios por darme todo lo que tengo, por cuidar de mí y de los míos para así estar más tranquila y seguir estudiando más horas.

A la Universidad los Ángeles de Chimbote y a la facultad de farmacia y bioquímica que a través de sus cursos conocí a muchos docentes que fueron mi inspiración.

A mi asesora de tesis Mg. Liz Zevallos Escobar docente de la facultad de farmacia y bioquímica de la ULADECH, por su generosidad, su paciencia, su buen humor para enseñar, por sus oportunidades, por brindarme ese ambiente cálido y lleno de confianza para la realización de mi proyecto.

Al Dr. Edison Vásquez Corales, docente de la facultad de farmacia y bioquímica de la ULADECH, por sus aportes y conocimientos científicos que hicieron un fructífero trabajo.

Al Dr. Moisés Abraham Sarmiento, docente de la facultad de farmacia y bioquímica de la ULADECH, por sus horas extras, por sus aportes y por su presta disponibilidad de tiempo.

RESUMEN

Este estudio se realizó con el objetivo de evaluar la actividad antioxidante y determinar la cantidad de polifenoles totales in vitro del extracto seco de los rizomas y hojas de la *Valeriana isoetifolia killip*, mediante el método de extracción exhaustiva por triplicado, utilizándose 0,529gr rizomas y 0,256 de hojas. Para la determinación de polifenoles se utiliza el método de Folin-Cicalteu, dando como resultado en rizomas 5.28 ± 0.05 mg equivalentes a la catequina/gr de muestra y 20.11 ± 0.73 mg equivalente a la catequina/gr en hojas y con una actividad antioxidante de 12.26 ± 1.36 mM equivalente al trolox/gr en rizomas y en hojas 45.70 ± 5.02 mM equivalente al trolox/gr. Hasta el día de hoy es el primer estudio que se realiza con esta especie.

Palabras clave: Polifenoles, Valeriana, rizoma.

SUMMARY

This study was carried out with the objective of evaluating the antioxidant activity and determine the total amount of polyphenols in vitro of the dry extract of the rhizomes and leaves of the *Valeriana isoetifolia* killip, by the method of exhaustive extraction in triplicate, using 0.529gr rhizomes and 0.256 of leaves. For the determination of polyphenols, the Folin-Cicalteu method is used, resulting in rhizomes 5.28 ± 0.05 mg equivalent to the catechin / gr sample and 20.11 ± 0.73 mg equivalent to the catechin / gr in leaves and with an antioxidant activity of 12.26 ± 1.36 mM equivalent to trolox / gr in rhizomes and leaves 45.70 ± 5.02 mM equivalent to trolox / gr. Until today is the first study that is done with this species.

Key words: Polyphenols, Valerian, rhizome.

Contenido

JURADO EVALUADOR DE TESIS	ii
AGRADECIMIENTO	iii
DEDICATORIA	iv
RESUMEN	v
ABSTRACT	vi
INDICE	vii
GRÁFICOS Y TABLAS.....	viii
I. INTRODUCCION.....	1
II. REVISION DE LITERATURA.....	6
2.1. Antecedentes	6
2.2. Bases teóricas de la investigación.....	8
2.2.1. Compuestos fenólicos	8
2.2.2. Biodisponibilidad de los compuestos fenólicos.....	9
2.2.3. Radicales libres.....	9
2.2.4. Estrés oxidativo.....	10
2.2.5. Los polifenoles en plantas	11
2.2.6. Mecanismo de defensa frente a los radicales libres.....	13
2.2.7. La familia Valerianaceae.....	14
2.2.8. Usos	12

2.2.9. Taxonomía de la valeriana isoetifolia killip.....	15
2.2.10. método de obtención para muestras con poder antioxidante.....	17
III. HIPOTESIS.....	19
IV. METODOLOGIA	20
4.1. Técnicas	20
4.1.1. Extracción exhaustiva del extracto seco.....	21
4.1.2. Determinación de polifenoles.....	22
4.1.3. Evaluación de la actividad antioxidante.....	23
4.2. Población y muestra.....	24
4.3. Definición y operación de variables.....	25
4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	26
4.5. Plan de análisis.....	26
4.6. Matriz de consistencia.....	27
4.7. Principios éticos.....	28
V. RESULTADOS.....	29
5.1. Resultados.....	29
5.2. A análisis de resultados.....	30
VI. CONCLUSIONES	34

GRÁFICOS Y TABLAS

Tabla1. Contenido de polifenoles totales expresados en mg de catequina equivalente por gramo en rizomas y hojas de *valeriana isoetifolia killip*.

Muestra	mg catequina	Promedio en mg	DS
Valeriana isoetifolia killip	eq./g de muestra seca	de de eq./g de muestra seca	catequina
MR1	5.34	5.28	±0.05
MR2	5.25		
MR3	5.25		
MH1	19.39	20.11	±0.73
MH2	20.84		
MH3	20.11		

Fuente: Datos obtenidos directamente de la investigación.

MR= muestra rizoma

MH= muestra hojas

Tabla 2 Evaluación de la actividad antioxidante en mM trolox equivalente por gramo en rizomas y hojas de *valeriana isoetifolia killip*.

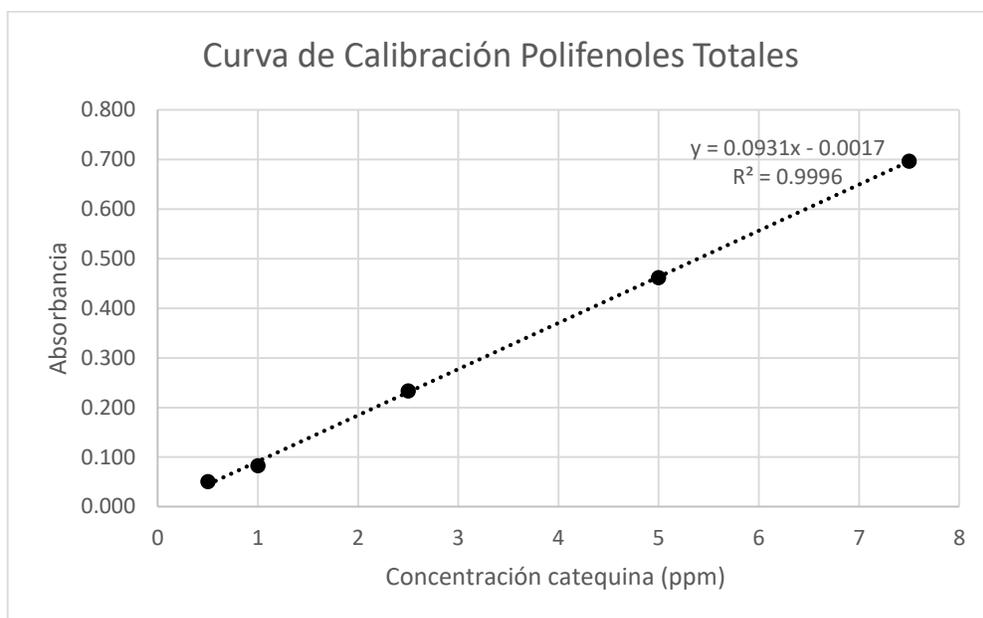
Muestra	Capacidad antioxidante (mM trolox eq./g)	Promedio de la capacidad antioxidante (mM trolox eq./g)	Desviación Standar
<i>valeriana isoetifolia killip</i>			
MR1	13.81	12.26	±1.36
MR2	11.23		
MR3	11.75		
MH1	41.41	45.70	±5.02
MH2	44.47		
MH3	51.22		

Fuente: Datos obtenidos directamente de la investigación.

MR= muestra rizoma

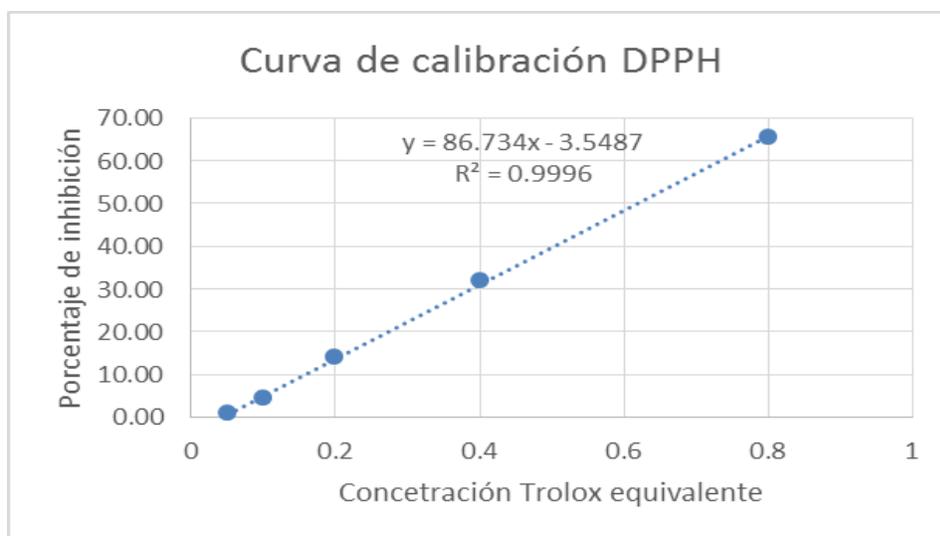
MH= muestra hojas

Gráfico 1: Curva de calibración de polifenoles totales utilizando catequina como estándar



Fuente: Datos obtenidos directamente de la investigación.

Gráfico 2: Curva de calibración del DPPH utilizando trolox como estándar



Fuente: Datos obtenidos directamente de la investigación.

I. INTRODUCCION

Los espécimen vegetales ocuparon un lugar especial durante los inicios de la medicina occidental como agentes terapéuticos para curar ciertas enfermedades y afecciones, transformándose así en el sistema de salud primario más valioso de la población en etapa de desarrollo, según la Organización Mundial de la Salud(OMS) estima con respecto al uso de los espécimen vegetales como remedios caseros que solo el 20% de la población mundial no utiliza las plantas como remedios caseros, posiblemente este porcentaje este constituido por población de los países subdesarrollados, mientras que el 80% además de utilizarlo lo consideran como un remedio principal. La población que opta por esta alternativa no está lejos de la realidad, pues el 25% de medicamentos existentes se obtuvieron de extractos vegetales.⁽¹⁾

Desde tiempos remotos hasta el día de hoy se siguen estudiando un sin fin de espécimen vegetales, cuyo objetivo es la obtención de compuesto activos, que van a favorecer a las poblaciones más alejadas de la modernidad; pues estos compuestos que son extraídos cuidadosamente mediante estudios basados a través de la observación, la experiencia y el conocimiento ancestral de las distintas culturas servirán como tratamiento alternativo frente a los altos costos de los medicamentos modernos y para esto se seguía ciertos criterios que finalmente aseguraban una terapia eficaz. Estos criterios consistían en conocer bien la especie, la parte que se va a utilizar, su forma de preparación, su dosificación y la vía de administración. Muchas veces para obtener mejores resultados se mezclan varias especies, pero hay que tener cuidado ya que los metabolitos presentes pueden hacer sinergismo.⁽²⁾

Las plantas son el constituyente mayoritario del reino vegetal de gran utilidad terapéutica y se estima que solo el 10% ha sido estudiado y el 90% está en obsoleto, estos resultados se cuestionan ya que si se pusiera más énfasis se tendría innumerables sustancias químicas capaces de dar origen a otras sustancias sintéticas.⁽³⁾

El Perú es el tercer país que cuenta con 50 mil espécimen vegetales, de las cuales solo 2,000 han sido utilizados como terapia alternativa. Este valor pone al Perú en la mira frente a otros países. Europa en el 2004 comercializo cerca de dos mil espécimen vegetales de las cuales muchas de ellas eran especies aromáticas y medicinales, estos resultados permiten una alineación hacia un desarrollo productivo.⁽⁴⁾

En tiempos antaños los pueblos indígenas del Perú asignaban nombre vulgares a las plantas, pero esto generaba una confusión ya que ellos le asignaban a más de una especie, es por eso que nace la problemática de poder asignar un nombre científico a cada especie de acuerdo a su ubicación para evitar confusiones y así poder utilizarla correctamente. ⁽⁵⁾

En el reino vegetal existe variedades de compuestos que en su estructura presentan anillos fenólicos, a estos compuestos se les llama polifenoles. Los polifenoles son producto del metabolismo de las plantas, dentro de estos tenemos a los ácidos fenólicos, flavonoides, estilbenos, lignanos y alcoholes fenólicos.⁽⁶⁾

Los antioxidantes son compuestos utilizados en beneficio de la salud porque actúan como fuentes de hidrógeno y se oxidan, protegiendo de esta manera las células contra el daño que causan los radicales libres.⁽⁷⁾

La valeriana isoetifolia killip es una especie, utilizada por los pobladores del caserío de Llucho Cauday como un champú natural, su uso era frecuente por la mayoría ya que en esos años cuya data es 1945 era imposible acceder a productos afines; si bien es cierto hoy en día ha disminuido su uso; pero hay cierta población que ha retomado su uso porque los productos afines son costosos y no poseen los mismos beneficios. El procedimiento que realizan los pobladores para obtener el extracto es mediante una maceración de siete días, después de este lapso se puede utilizar directamente. Redacta uno de los pobladores que después del lavado, el cabello tiene brillo, sedosidad, e inclusive si se usa con frecuencia ayuda al crecimiento, evita la formación de las canas y mantiene el color natural (algunos pobladores de la zona tienen más de 70 años y no presentan canas) y una suavidad natural en la piel. Siguiendo la línea de investigación se realizará estudios descriptivos y cuantitativos de la especie, porque se quiere conocer si presenta contenido polifenólico y actividad antioxidante, para poder fundamentar, ampliar su uso alternativo correcto y complementar futuros estudios clínicos asociados con los radicales libres.

El estudio corresponde a la Investigación de plantas medicinales de importancia terapéutica, considerándose así la pregunta: ¿Tendrá actividad antioxidante y que cantidad de polifenoles totales presentara el extracto metanólico de los rizomas y hojas de la *Valeriana isoetifolia killip*?

Este estudio tiene como:

Objetivo general:

Evaluar la actividad antioxidante y determinar la cantidad de polifenoles totales in vitro del extracto seco de rizomas y hojas de la *Valeriana isoetifolia killip*.

Objetivos específicos:

Determinar la concentración de polifenoles totales presentes en el extracto seco de rizomas y hojas de la *Valeriana isoetifolia killip*, mediante el método de Folin – Ciocalteu

_Evaluar la actividad antioxidante totales in vitro del extracto seco de rizomas y hojas de la *Valeriana isoetifolia killip* mediante el método de secuestro de radicales libres del 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH).

II. REVISION DE LITERATURA

2.1. Antecedentes

El género valeriana tiene los siguientes estudios:

En el 2003 se evaluó la actividad antioxidante de algunos extractos vegetales, incluido el género valeriana mediante el método de decoloración del radical libre estable DPPH Y la inhibición de la lipoperoxidacion de las membranas de cerebro de rata. Se utilizó 1uL del extracto inicial en 1mL del medio metanolico con 34 uM de DPPH, obteniendo a los 30 minutos un % de decoloración de 8.55%⁽⁸⁾

En el 2006 se evaluó la Actividad farmacológica sobre el sistema nervioso central del extracto etanólico y de la fracción alcaloidal de Valeriana pavonii, Demostrando que el extracto alcaloide tiene propiedades anticonvulsivante y antidepresivas; y el etanolico con propiedades sedantes.⁽⁹⁾

En el 2008 un estudio del genero valeriana pavonii afirma que el extracto etanólico no produjo toxicidad aguda en ratas, incluso hasta la dosis de 2 g/kg de peso corporal. Este resultado demuestra la seguridad en el consumo de la especie.

(10)

En el 2008, se realizó un estudio sobre el tratamiento del insomnio a largo plazo con valeriana , sus resultados mostraron una reestructura del sueño después de varias semanas de tratamiento, sin provocar efectos secundarios ni dependencia, consiguiendo así una mejora en su calidad de vida, sin embargo no hay suficientes estudios científicos que demuestren resultados definitivos.⁽¹¹⁾

En el 2010 se aísla la Isovaleramida, principio anticonvulsivo de *Valeriana pavonii*, dando como resultado un 90% de protección frente a una convulsión, y con un 42% de inhibición al sitio de unión de flunitracepan con tritio.⁽¹²⁾

En el 2011 se realiza un estudio sobre la inhibición de helicobacter pylori y demostró que el extracto crudo de *Valeriana officinalis* L. inhibe satisfactoriamente *Helicobacter pylori* cepa ATCC #22925, a condiciones de temperatura de 37,6°C por ocho (8) días.⁽¹³⁾

En el 2013 un estudio de Efecto antioxidante y estudio de componentes bioactivos de *Valeriana sisymbriifolia* y *Nardostachys jatamansii* en comparación con *Valeriana officinalis*, demostró que *Valeriana officinalis* tiene el mayor efecto de inhibición de DPPH con un valor IC (50) de 38 mg / ml y también posee la cantidad más alta de valepotriatos y ácido valeránico.⁽¹⁴⁾

En el 2014 se realiza por primera vez en *Valeriana carnososa* y *V. clarionifolia* cuantificaciones para conocer los valores de polifenoles. Las cuantificaciones de polifenoles arrojaron que son mayores en las partes aéreas. De las dos especies estudiadas, la que arrojó mayores valores de fenoles totales, ácidos hidroxicinámicos totales y flavonoides totales fue *V. carnososa*.⁽¹⁵⁾

2.2. Bases teóricas de la investigación

2.2.1. Compuestos fenólicos

Los polifenoles se originan principalmente en las plantas, como producto de su metabolismo. Algunos de ellos son indispensables para sus funciones fisiológicas. Estos se definen en función del número de anillos fenólicos que poseen y de su estructura que presentan, entre sus grupos tenemos : ácidos fenólicos, estilbenos, lignanos, alcoholes fenólicos y flavonoides . La biosíntesis se genera a partir de la ruta del ácido siquímico, dependiente de la luz; esta ruta proporciona los aminoácidos aromáticos, se inicia en los plastos por condensación de la eritrosa-4-fostato y el fosfoenolpiruvato y la ruta de los poliacetatos proporciona las quinonas y las xantonas. Los flavonoides son provenientes de una ruta mixta y se caracterizan por ser compuestos de bajo peso molecular que comparten un esqueleto común difenilpirano (C6 -C3 -C6'), están compuestos por dos anillos fenilo (A y B) ligados a través de un anillo C de pirano heterocíclico. Los átomos de carbono individuales de

los anillos A, B y C se enumeran según el sistema que utiliza números ordinarios para los anillos A y C, y números primos para el anillo B. De los tres anillos, el A se sintetiza a través de la ruta de los poliacetatos, y el anillo B junto con la unidad C3 proceden de la ruta del ácido siquímico.⁽¹⁶⁾

2.2.2. Biodisponibilidad de los compuestos fenólicos

Para poder ejercer su actividad biológica, los antioxidantes tienen primero que ser bioaccesibles. La biodisponibilidad de los antioxidantes depende de factores como: estructura química, tipo de enlace, su preparación, su procesamiento, la actividad de las enzimas digestivas y la genética ; las condiciones externas como el sol, la lluvia. La biodisponibilidad de acuerdo a la estructura química está influenciada por la formación de agliconas y su tipo de glucósido, generándose derivados más polares, hidrosolubles y fácilmente excretables. Otros aspectos que afectan son de tipo endógeno como la masa de la mucosa, el pH, tiempo de tránsito intestinal, la tasa de vaciado gástrico, el metabolismo y la extensión de la conjugación.⁽¹⁷⁾

2.2.3. Radicales libres

La producción de radicales son a partir del oxígeno molecular por reiterados procesos de reducción monoelectrónica. El radical hidroxil formado interviene

en procesos que alteran el equilibrio prooxidante/ antioxidante orientándose a estados más oxidados. Los radicales en presencia de oxígeno sustraen un átomo de hidrógeno de una molécula lipídica lo que conduce a la formación de hidroxiperóxidos lipídicos y productos en forma de dialdehído malónico. Estas descompensaciones de oxidación tienen relación directa con el envejecimiento celular.⁽¹⁸⁾

Las especies químicas que se presenta reactividad de oxígeno y nitrógenos son las que generan radicales libres, estos se caracterizan por poseer electrones desapareados en la última capa de valencia. Los radicales libres se generan como resultado normal de la función fisiológica, en linfocitos, neutrófilos, retículo endoplasmático y mitocondrias, mediante las reacciones de Haber-Weiss, dismutación de superóxido, reacción no enzimática de tioles, quinonas flavinas, reacción enzimática de xantina citocromop-450, NADPH-oxidasa, la 5-lipoxigenasa. El organelo que interviene por excelencia es la mitocondria, por ser la que genera la mayor parte de ATP producto de la reacción de hidrocarburos con oxígeno.⁽¹⁹⁾

2.2.4. Estrés oxidativo

El oxígeno es indispensable para el funcionamiento celular pero en su forma estable (O_2) y en su estado triplete, sin embargo en los últimos tiempo, los cambios climáticos, alimenticios han generado un cambio en esta estabilidad produciéndose una serie de radicales libre que darán lugar a la reacción con otros compuestos en el organismo humano produciendo un daño que puede ser reversible o irreversible , esta va a depender de la gravedad de la lesión y el tiempo que permanece sin neutralizar.⁽²⁰⁾

El estrés oxidativo es una condición causada por un desequilibrio entre la producción de oxígeno reactivo y la capacidad de un sistema biológico capaz de reparar el daño resultante. Las células en su interior tienen sustancias reductoras que es preservado por las enzimas manteniendo así el entorno en estado reducido mediante el aporte de energía, un desbalance de este sistema se produce daños a nivel celular.⁽²¹⁾

2.2.5. Los polifenoles en plantas

Para la determinación de polifenoles en plantas que puede ser cualitativa y cuantitativamente, va a depender de ciertas factores; ambientales, tipo de espécimen, tipo de tejido, grado de madurez, etc.⁽²²⁾

Metabolitos secundarios muy abundantes cuya composición tienen a la fenilalanina y la tirosina. Su capacidad antioxidante permite la quelación de metales.⁽²³⁾

Son los antioxidantes que más abundan en nuestra dieta y se consume alrededor de 1gr diario, variando la concentración de un alimento a otro.

También un estudio de la determinación de los ácidos hidroxicinámicos demostraron que para su extracción se debe de utilizar metanol, ácido clorogénico, el ácido cafeico, ácido p-coumárico y ácido ferúlico debido a su solubilidad.⁽²⁴⁾

Los flavonoides, se encuentran en las plantas vasculares y es el grupo de polifenoles más abundantes en la naturaleza. Estos son los especialistas en la captación de las sustancias productoras del envejecimiento celular. Existen dos tipos de flavonoides: Insolubles que se encuentran en el té y vino tinto, son los que atrapan al hierro protegiéndonos así de las enfermedades vasculares y el Solubles, moléculas minúsculas que son absorbidas por el cuerpo, sus propiedades son más marcadas que los antioxidantes clásicos ya que estos pueden ser oxidantes y reaccionar con el hierro y cobre. Los flavonoides no reaccionan en forma nociva inclusive en presencia del hierro.⁽²⁵⁾

2.2.6. Mecanismo de defensa frente a los radicales libres.

- ✓ Cadena respiratoria: Alteración y buen funcionamiento.

La cadena respiratoria se realiza en la mitocondria, una vez que la glucosa es metabolizada se genera el acetyl CoA, mediante el ciclo de Krebs generando dióxido de carbono, luego de haber extraído los electrones a los intermediarios y haber generado al NADH Y FADH, conocidas como coenzima de óxido-reducción cederán sus electrones en la cadena respiratoria para que finalmente se unan con el oxígeno. Que sucede cuando no hay suficiente oxígeno para la formación de agua, habrá una saturación de electrones en la cadena respiratoria y sus componentes quedarán reducidos propensos a reaccionar con cualquier molécula del medio para generar especies reactivas del oxígeno, los radicales libres. El NADH, se considera la molécula por excelencia donadora de electrones que se encuentra reducida, lo que va hacer es entregar sus electrones a los complejos que se encuentran en estado oxidado, quedando reducida, esto es secuencial hasta llegar al oxígeno para la formación de la molécula del agua.⁽²⁶⁾

2.2.7. La familia Valerianaceae

La familia Valerianaceae es reconocida en el Perú por presentar seis géneros y 92 especies, en el 2006 se estudió 41 especies (*Valeriana cephalantha* Schltr, *Valeriana comosa* Eriksen, *Valeriana connata* Ruiz & Pav, *Valeriana costata* Schmale, *Valeriana bambusicaulis* Killip, *Valeriana globularis* A. Gray, *Valeriana isoetifolia* Killip, etc) en las regiones Puna Humeda, Mesoandina y Altoandina entre los 2700 y 5200 msnm.⁽²⁷⁾

Los páramos tienen en común varios géneros de plantas, entre ellas la Valerianaceae de las cuales 400 especies se encuentran mundialmente distribuidas con excepción de Australia y las islas del pacifico, es una de las especies de las cuales depende de la época de lluvia para poder observar los tubos florales.⁽²⁸⁾ En Sudamérica crecen 81 especies, de las cuales 48 han sido registradas en el territorio argentino principalmente a lo largo de la cordillera de los Andes, desde la provincia de Jujuy hasta Tierra del Fuego y en Costa Rica se reporta un género y siete especies; una de ellas es *Valeriana prionophylla* Standl.⁽¹⁵⁾

Esta familia son reconocidas mundialmente por su valor como medicina natural y han sido incluidas en varias farmacopeas; de las cuales la que más se utiliza es *V. officinalis* L. La valeriana, originaria del norte de Europa y Asia, Es

una especie herbácea, perenne, con hojas agrupadas en roseta en la base y opuestas en el tallo que habita aproximadamente 2500-4500 msnm. ⁽²⁹⁾

2.2.8. Usos

La Farmacopea Herbal británica, describe a la valeriana como un sedante suave. Los primeros registros escritos sobre los usos populares de *V. officinalis* datan del siglo XVI y fueron dados a conocer por Fabio Colonna en su *Phytobasanos* en 1592; decía: Que la raíz de la Valeriana es específico y excelente contra la epilepsia y que además de ver a epilépticos sanarse con Valeriana él mismo lo ha hecho. *Phytobasanos* no fue el único que dió a conocer sobre sus efectos sedantes, en el siglo XVIII Hill también lo hizo. El nombre de la especie *Valeriana isoetifolia killip* esta descrito en the genus valeriana. ⁽³⁰⁾

2.2.9. Taxonomía de la *Valeriana isoetifolia* Killip

Clase: Equisetopsida C. Agardh

sub clase: Magnolisidae Novák ex Takht.

Super orden: Asteranae Takht.

Orden: Dipsacales Juss. ex Bercht. & J. Presl

Familia: Caprifoliaceae Juss.

Género: *Valeriana officinalis* L.

Nombre Científico: *Valeriana isoetifolia* Killip. ⁽³¹⁾

2.2.10. Método de obtención para muestras con poder antioxidante.

✓ Fundamento del método Folin-Ciocalteu.

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. Este reactivo contiene una mezcla de wolframato sódico y molibdato sódico en ácido fosfórico y reacciona con los compuestos fenólicos presentes en la muestra. El ácido fosfomolibdotúngstico de color amarillo, al ser reducido por los grupos fenólicos da lugar a un complejo de color azul intenso, cuya intensidad es la que medimos para evaluar el contenido en polifenoles.⁽³²⁾

✓ Fundamento del método del DPPH

Consiste en la captura de material radicalario, en presencia de una sustancia antioxidante, midiendo el potencial de inactivación de dicho radical en medio acuoso. Este método se viene utilizando desde muchos años atrás que al día de hoy en lo que corresponde se trabajan a distintas concentraciones para así mejorar la matriz. Cuando el DPPH reacciona con el antioxidante dona su átomo

de hidrogeno, es por eso que su color violeta se desvanece, este cambio es medido mediante espectrofotometría. ⁽³³⁾

✓ Catequina

La catequina ($C_{15}H_{14}O_6$) es un flavonoide que se encuentra en la naturaleza, especialmente en el vino, esta posee cuatro diastereoismeros. Dos trans que vendría a ser la catequina y dos cis que se denomina epicatequina. La que posee mayor actividad antioxidante es la diastereoisomero catequina, esta actividad está relacionada con su estructura molecular la presencia del grupo catecol en el anillo B y la del grupo hidroxilo activando el doble enlace del anillo C. ⁽³⁴⁾

Su actividad oxidante está relacionado con los grupos catecol y resorcinol el cual son estables a PH acido e inestables al básico. La oxidación de los grupos de donación de electrones de catecol 3', 4'-dihidroxilo se produce primero, a muy bajos potenciales positivos, y es una reacción reversible. ⁽³⁵⁾

- ✓ Trolox: Evaluación de la capacidad antioxidante.

Es el ácido 6-hidroxi-2,5,7,8 tetrametil-cromán-2-carboxílico(trolox), antioxidante análogo sintético hidrosoluble de la vitamina E, con capacidad de inactivar los radicales libres y la inhibición de especies reactivas del oxígeno.

El ensayo de capacidad antioxidante equivalente a trolox (TEAC) se desarrolló por primera vez como un método simple para la determinación de la capacidad antioxidante. El ensayo permite medir la capacidad de los antioxidantes para eliminar el catión radical estable 2,2'-azinobis (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS⁺).⁽³⁶⁾

III. HIPOTESIS

Este trabajo presenta una hipótesis implícita.

IV. METODOLOGIA

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

Para este trabajo se consideró una metodología publicada en febrero del 2018 en la revista Nutraceutica. ⁽³⁷⁾

4.1. Técnica de extracción exhaustiva del extracto seco.

Materiales:

Balanza Analítica

Tubo Falcon (2unidades)

Micropipetas

Magnetos

Agitador Magnético

Papel de Aluminio

Fiola 50ml (2unidades)

Fiolas de 10mL (6uni)

Centrífuga

Reactivos:

Solvente: Metanol 80% + 0,1% de Ac. Fórmico

Agua tipo II

Folin cicocalteu

Carbonato de sodio 10%

4.1.1. Extracción Exhaustiva

Se secó a temperatura ambiente la muestra durante siete días, previamente esterilizada, con la ayuda de un molino de cuchillas se redujo el tamaño. Se pesó 0,529 gr para rizomas y 0,256 gr para hojas, seguidamente se trasvasó la muestra a un tubo Falcón, con la ayuda de una pipeta graduada se añade 10ml del solvente (metanol 80% + 0,1% de Ac. Fórmico) y se colocan los magnetos, para facilitar la homogenización.

Para evitar la reacción con la luz ultravioleta se cubre con papel aluminio y se lleva al agitador magnético por 30 minutos, después de este lapso se extrae el magneto con ayuda de un imán. Se extrae el sobrenadante y se trasvasa a una fiola de 50ml. Este procedimiento se realizó por tres veces para ambas muestras.

4.1.2. Determinación de polifenoles totales

De las fiolas de 50ml previamente aforadas con solvente se extrae 100uL de la muestra (se realiza tres fiolas para hojas y tres fiolas para rizomas), se trasvasa a fiolas de 10 mL. Las fiolas de 10ml que contiene la muestra se le agrega 2.5 ml de agua tipo II.

Al blanco 1 y los estándares 2,3,4,5,6 en una fiola de 10uL se le agregan catequina a concentraciones de 0.5ppm, 1.0ppm, 2.5ppm, 5ppm , 7.5 ppm y se afora con agua tipo II, seguidamente se agrega 500microlitros de Folin cicocalteu a todas las muestras incluido el blanco y se lleva por cinco minutos a la cámara de oscuridad. Después de lo cinco minutos se le agrega 2mL de carbonato de sodio al 10% a todas las muestras y se afora con agua tipo II.

Pasado este tiempo se lleva por segunda vez a la cámara de oscuridad por 90 minutos. Se lleva a lectura al espectrofotómetro ÚNICO 2800 UV/Vis a una longitud de onda de 700 nanómetros.

4.1.3. Evaluación de la actividad antioxidante

Se preparó una solución de DPPH a 0.06mM, diluyendo 2.3 mg en 100mL de metanol.

Se prepararon estándares de trolox 1,2,3,4 y 5, en metanol con concentraciones de 0.05 mM, 0.1 mM, 0.2 mM, 0.4 mM, 0.8mM mas 100ul, 100ul, 250ul, 250ul, 960ul respectivamente de metanol.

De las fiolas de 50mL con las muestras se extrajo en una cubeta de poliestireno 50ul de muestra tanto de rizomas y hojas se lleva a lectura y se anota la absorbancia a tiempo 0, después se agrega 1450ul de DPPH a 0.06mM y se espera un tiempo de 15 minutos para que reaccione en la cámara oscura. Se realiza nuevamente la lectura y se registra, este procedimiento se realiza por triplicado en ambas muestras.

En una cubeta de poliestireno se agrega 1450ul de DPPH a 0.06mM y se lleva a lectura en el espectrofotómetro y se anota las absorbancias a tiempo cero, seguidamente se agrega a la cubeta 50ul de la muestra de la fiola de 50mL, tanto de rizomas y hojas y se espera un lapso de quince minutos para que reaccione en la cámara oscura. Se realiza nuevamente la lectura y se registra, este procedimiento se realiza por triplicado en ambas muestras.

4.2. Población y muestra.

Población: planta en buen estado vegetativo extraídos del caserio Llucho Cauday- Centro Pablado Algamarca-Distrito Cachachi-Provincia Cajabamba-Departamento Cajamarca.

Muestra: Como muestra vegetal se utilizó de rizomas 0,529gr y de hojas 0,256 gr de *Valeriana isoetifolia killip*.

4.3. Definición y operación de variables

Variable independiente	Definición conceptual	Definición operacional	Indicador
<p>Independiente</p> <p>Concentración de Polifenoles totales en los rizomas y hojas de la valeriana <i>isoetifolia</i> killip</p>	<p>Cantidad de Polifenoles totales expresados en mg/gr. de muestra</p>	<p>La cantidad de polifenoles se determinó mediante el método de Folin Ciocalteau y a través del espectrofotométrico.</p>	<p>mg de catequina equi./ gr de muestra seca.</p>
<p>Dependiente</p> <p>Evaluación de la Actividad antioxidante de los rizomas y hojas de la valeriana <i>isoetifolia</i> killip</p>	<p>Los antioxidantes son sustancia que evitan el estrés oxidativo.</p>	<p>La capacidad antioxidante fue evaluada mediante el método del DPPH y a través del espectrofotómetro.</p>	<p>-mM de trolox equi./gr de muestra seca</p>

4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.

Se realizó un EFO al espécimen vegetal en primera estancia seguida la técnica de la Espectrofotometría, el cual es una de las técnicas experimentales más utilizadas para la detección específica de moléculas. Se caracteriza por su precisión, sensibilidad y su fácil aplicabilidad. Se utilizó en espectrofotómetro ÚNICO 2800 UV/Vis.

Los datos obtenidos fueron registrados en fichas de recolección de datos.

4.5. Plan de análisis

El análisis descriptivo y cuantitativo se presenta a través de tablas.

-La tabla indica el contenido promedio de polifenoles expresados mg de catequina/ g muestra y su desviación estándar.

-tabla indica el promedio de evaluación de la actividad antioxidante en relación al promedio del trolox equivalente y su desviación estándar.

4.6. Matriz de consistencia.

TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN	FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	OBJETIVOS:	HIPOTESIS	VARIABLE	TIPO DE INVESTIGACIÓN	METODOLOGÍA
DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES y EVALUACION DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE IN VITRO, DEL EXTRACTO SECO DE RIZOMAS Y HOJAS DE LA <i>Valeriana isoetifolia killip</i>.	¿Tendrá actividad antioxidante y que cantidad de polifenoles totales presentará el extracto seco de rizomas y hojas de la <i>Valeriana isoetifolia killip</i> ?	Generales -Evaluar la actividad antioxidante y determinar la cantidad de polifenoles totales in vitro del extracto seco de rizomas y hojas de la <i>Valeriana isoetifolia killip</i> . Específicos -Evaluar la actividad antioxidante in vitro del extracto extracto seco de rizomas y hojas de la <i>Valeriana isoetifolia killip</i> , mediante el método de secuestro de radicales libres DPPH. -Determinar la concentración de polifenoles totales presentes en extractos seco de rizomas y hojas de la <i>Valeriana isoetifolia killip</i> mediante el método de Folin –Ciocalteu	Presenta una hipótesis implícita	Concentración de Polifenoles totales en los rizomas y hojas de la valeriana isoetifolia killip. Evaluacion de la Actividad antioxidante de los rizomas y hojas de la valeriana isoetifolia killip.	Descriptiva y cuantitativa	Determinación de polifenoles totales según el método de Folin-Ciocalteu -Evaluacion de la actividad antioxidante según el método de DPPH.

4.7. Principios éticos

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

V. RESULTADOS

5.1. Resultados

Tabla1. Contenido de polifenoles totales expresados en mg de catequina equivalente por gramo en rizomas y hojas de *valeriana isoetifolia killip*.

Muestra	mg catequina	Promedio en mg	DS
Valeriana isoetifolia killip	eq./g de muestra seca	de de eq./g de seca	catequina de muestra
MR1	5.34	5.28	±0.05
MR2	5.25		
MR3	5.25		
MH1	19.39	20.11	±0.73
MH2	20.84		
MH3	20.11		

Fuente: Datos obtenidos directamente de la investigación.

MR= muestra rizoma

MH= muestra hojas

Tabla 2 Evaluación de la actividad antioxidante en mM trolox equivalente por gramo en rizomas y hojas de *valeriana isoetifolia killip*.

Muestra	Capacidad antioxidante (mM trolox eq./g)	Promedio de la capacidad antioxidante (mM trolox eq./g)	Desviación Standar
<i>valeriana isoetifolia killip</i>			
MR1	13.81	12.26	±1.36
MR2	11.23		
MR3	11.75		
MH1	41.41	45.70	±5.02
MH2	44.47		
MH3	51.22		

Fuente: Datos obtenidos directamente de la investigación.

MR= muestra rizoma

MH= muestra hojas

5.2. Análisis de resultados

En lo que respecta a la presencia de compuesto fenólicos, los resultados en la tabla 1 muestran que los rizomas contiene 5.28 ± 0.05 mg equivalente a la catequina/ g rizomas secos y también se muestra que los hojas contienen 20.11 ± 0.73 mg equivalente a la catequina/ g de hojas secas, considerando mayor cantidad de polifenoles en las hojas. Bach H, en el 2014 mediante el método de maceración demostró que la *valeriana clarionifolia* contenía 17 mg ácido tánico / gr material seco en hojas y 8,9 mg ácido tánico / gr material seco en rizomas y en tintura obtuvo los valores más altos *V. carnososa* de 20,0 mg de ácido tánico / g material seco; para *V. officinalis* de 12,2 mg de ácido tánico / gr material seco y para *V. clarionifolia* de 13,0 mg de ácido tánico / gr material seco. Estos resultados son bastante resaltantes ya que no existe mucha diferencia en lo que quiero demostrar, teniendo en cuenta que Bach utilizó métodos y patrones diferentes.

En la evaluación de la actividad antioxidante mediante el método DPPH, los resultados demuestran en la tabla 2 que los rizomas presentan una actividad de $12. \pm 1.36$ mM con respecto al trolox equivalente/gramo y para las hojas se muestra una actividad antioxidante de 45.70 ± 5.02 mM con respecto al trolox equivalente/gramo, esto nos indica que las hojas tienen mayor capacidad

antioxidante que los rizomas. En el 2003 Beatriz demuestra que la valeriana officinalis L. tiene un porcentaje de decoloración del DPPH a los 30 minutos 8.55% ⁷ y en el 2013 Dugaheh MA demostró que *Valeriana Officinalis* tenía el mayor efecto de inhibición de DPPH con un valor IC₅₀ de 38 mg / ml frente a *Valeriana sisymbriifolia* y *Nardostachys jatamansii* en ambos estudios se utilizó los rizomas; con estos resultados comparativos quiero demostrar que existen estudios escuetos sobre la actividad antioxidante que exponen los resultados en formulas diferentes y no se puede hacer una relación directa. Los resultados obtenidos no pueden ser comparados con casos afines a lo que quiero demostrar porque la especie estudiada es nueva en este estudio, ya que en la antigüedad solo se lo describía⁽³⁰⁾. Especie clasificada por el herbarium de la Universidad Nacional de Trujillo (figura 1) y no hay estudios que presenten lo contrario a lo demostrado; sin embargo estos resultados permiten explicar correctamente a la población sobre todo las que viven aledañosamente de las áreas donde esta especie crece, que la planta es segura en su género, no presenta toxicidad inclusive a dosis de 2 g/kg⁽¹⁰⁾. En el Perú en la región Cajamarca se realizó un estudio con *Valeriana pilosa*. especie en peligro de extinción debido a su habitat, sí se podría cultivar, pero los resultados arrojaron que solo si vive estrechamente asociada a especies de gramíneas el cual propician su germinación y le protegen durante su primera etapa de crecimiento. Sin esta protección la planta no se regenera naturalmente³⁸.

VI. CONCLUSIONES

Se determinó la concentración de polifenoles totales presentes en el extracto seco de los rizomas y hojas de la *Valleriana isoetifolia killip*, mediante el método de Folin – Ciocalteu, encontrando un contenido de polifenoles 5,28mg equivalente a la catequina/gr en raíz y 20.11mg equivalente a la catequina en hojas.

Se evaluó la actividad antioxidante en el extracto seco de los rizomas y hojas de la *Valleriana isoetifolia killip*, econtrando 12.26mM equi,trolox/ gr en rizoma y 45.70mM equi.trolox/ gr en hojas.

Se realizó por primera vez mediante el método de extracción exhaustiva la determinación de polifenoles totales y evaluación de la actividad antioxidante en *Valeriana isoetifolia killip* para esto se utilizó de muestra 0,529gr de rizomas y 0,256gr de hojas, esto demuestra que si una persona consume la misma cantidad o inclusive más está aportando a su organismo 5,28 mg/gr de polifenoles, con una actividad antioxidante de 12.6mM/ gr en rizomas, a esto se le suma el de las hojas el cual posee más actividad antioxidante y mayor protección frente a sustancias reactivas.

REFERENCIAS

[1] Bermúdez A. et al. La investigación etnobotánica sobre plantas medicinales: una revisión de sus objetivos y enfoques actuales. *Interciencia*. agosto. 2005; 30 (8). 453-459. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=33910703>.

[2] Mejía K, Rengifo E, et al. *Plantas Medicinales de Uso Popular en la Amazonía Peruana*. Lima, Agencia Española de Cooperación Internacional. 2000. Disponible en: <http://www.iiap.org.pe/Upload/Publicacion/L017.pdf>

[3] Villanueva J. Cuantificación de polifenoles totales en flor de *Senna reticulata* [tesis]. Chimbote: Universidad Católica los Angeles de Chimbote. 2016. Disponible en: http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/386/polifenoles_folin_cio_calteu_villanueva_alayo_jarek_bryan.pdf?sequence=1.

[4] Li E. El futuro de los productos andinos en la región alta y los valles centrales de los andes/plantas medicinales [Proyecto]. Andean Products. Disponible en: http://www.academia.edu/6402222/ONUDI_Productos_Andinos_plantas_medicinales_estado_del_arte_del_sector_de_plantas_medicinales_en_per%c3%ba_informe_final_2006.

[5] Santiváñez R, et al. Catálogo florístico de plantas medicinales peruanas. Lima. Ministerio de Salud. Instituto Nacional de Salud. 2013. Disponible en: https://repositorio.ins.gob.pe/bitstream/handle/INS/953/catalogo_floristico_plantas_medicinales.pdf?sequence=1.

[6] Guimet R. Evaluación de la actividad Antioxidante y Determinación de polifenoles totales in vitro, de las hojas de ocho morfotipos de Bixa

Orellana L. [Tesis]. Iquitos. Universidad Nacional de la Amazonia Peruana. 2012. Disponible en: <https://docplayer.es/20107160-Tesis-quimico-farmaceutico.html>.

[7] Echavarría B. et al. Evaluación de la actividad antioxidante y determinación del contenido de compuestos fenólicos en extractos de macroalgas del caribe colombiano. medellin. vitae, revista de la facultad de química farmacéutica. 2009;16(1) : 126-131. disponible en: <http://www.scielo.org.co/pdf/vitae/v16n1/v16n1a15.pdf>.

[8] Montoya B, et al. Actividad antioxidativa de algunos extractos vegetales. Colombia. Revista de la facultad de química farmacéutica. 2003; 10 (2) : 72-79. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/1698/169817981008.pdf>

[9] Rincón J, et al. Actividad farmacológica sobre el sistema nervioso central del extracto etanólico y de la fracción alcaloidal de Valeriana pavonii. Bogota. Universidad Nacional de

Colombia,2007.Disponible en:

<https://revistas.unal.edu.co/index.php/rccquifa/article/view/1372>.

[10] Olaya M. Evaluación de la toxicidad oral aguda del extracto etanólico de *Valeriana pavonii* en ratas. Colombia. XI congreso de Farmacología y Terapéutica.2008;40:131-133.Disponible en :

<http://revistas.uis.edu.co/index.php/revistasaluduis/article/view/20/1459>

[11] Sánchez N.et al. Valeriana en el tratamiento a largo plazo del insomnio en Colombia. Revista de Psiquiatría.2008; 37 (4) :614-626.Disponible en :
http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0034-74502008000400011&lng=e&nrm=iso.

[12] Giraldo S, et al. Isovaleramida, principio anticonvulsivo aislado de *Valeriana pavonii*.Bogota. Universidad Nacional de Colombia.2010.Disponible en:<http://www.scielo.org.co/pdf/bio/v30n2/v30n2a11.pdf> Isovaleramida, principio anticonvulsivo aislado de *Valeriana pavonii*.

[13] 10 Ocampo M. y Ordoñez J. Obtención de extracto crudos a partir del bejuco de *valeriana officinalis*, para la inhibicion de *helicobacter pylori*. [Tesis]. Cali: Universidad

San Buenaventura. 2011.Disponible en :
https://www.google.com.pe/search?q=Obtenci%C3%B3n+de+extractos+crudos+a+partir+del+bejuco+de+valeriana+officinalis,+para+la+inhibicion+de+helicobacter+pylori&spell=1&sa=x&ved=0ahukewjmspb_ykneahxvzvkkhacudwcqbqgokaa.

[14] Dugaheh M. et al.Efecto antioxidante y estudio de componentes bioactivos de *Valeriana sisymbriifolia* y *Nardostachys jatamansii* en comparación con *Valeriana officinalis*.PAK J. PHARM SCI. 2013; 26(1):53-8.

[15].Bach H Estudio anatómico, fitoquímico y actividad antioxidante de dos especies del género valeriana conocidas con el nombre de “ñancolahuen”. (tesis)Argentina.

Universidad de buenos aires.2014. Disponible
:http://repositorioubi.sisbi.uba.ar/gsd/collect/posgrauba/index/assoc/HWA_1418.dir/1418.PDF

[16] Quiñones M, et al. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. Madrid. Instituto de Investigacion en Ciencias de Alimentacion (CIAL, CSIC-UAM). [On linea]. 2012 [citado 2016 julio 5]; 27 (1) :76-89).Disponible en:http://scielo.isciii.es/pdf/nh/v27n1/09_revision_08.pdf

[17] Zapata C y Giraldo A. Estudio de la biodisponibilidad de los antioxidantes hidrosolubles tipo flavonoides para su utilización en la industria de las bebidas. Trabajo de grado para optar al título de Especialista en Alimentación y Nutrición. Antioquia. Corporación Universitaria Lasallista Facultad de Ingenierías .Especialización en Alimentación y Nutrición.Disponible: http://repository.lasallista.edu.co/dspace/bitstream/10567/1147/1/Biodisponibilidad_antioxidantes_hidrosolubles_flavonoides_industria_bebidas.pdf.

[18] Latorre M. polifenoles de la uva. [tesis]. España. Facultad de farmacia.Uuniversidad Complutense.2016.disponible en: <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/MARIA%20LATORRE%20LEAL.pdf>

[19] Vargas F.et al. Reacciones de radicales libres con relevancia biológica en la teoría del envejecimiento. Avances en Química. .Venezuela.2007. 2(2), 3-15.Disponible: <http://www.redalyc.org/pdf/933/93320202.pdf>.

[20].Ramos A.Estudio del estrés oxidativo en pacientes que siguen o no un programa de rehabilitación cardiaca [tesis].Granada. Universidad de Granada. 2014.Disponible en: <https://hera.ugr.es/tesisugr/24001582.pdf>

[21] Mach N y Durand M. El ácido alfa lipoico y su poder antioxidante frente al cáncer y las patologías de sensibilización central. España. Universitat Oberta de Catalunya. 2013. Disponible en: <http://scielo.isciii.es/pdf/nh/v28n4/08revision06.pdf>

[22]. Gil J. Estabilidad y Actividad antioxidante de catequinas presentes en cacao colombianos durante los procesos de pre e industrialización. [Tesis]. Medellín: Facultad de Química Farmacéutica, Universidad de Antioquia. 2012. [Citado 9 de septiembre del 2018], pág. 1-119. Disponible en: <http://tesis.udea.edu.co/bitstream/10495/1621/1/TESIS%20Jorge%20Andres%20Gil%20FINAL.pdf>

[23] Repilado A. Antioxidantes. [Trabajo fin de grado]. Iquitos: facultad de farmacia universidad complutense. Madrid. 2015. [Citado 27 de mayo del 2016], pág. 1-92. Disponible en: <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/ADRIAN%20REPILADO%20ALVAREZ.pdf>

[24] 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]. Chile Universidad de Chile Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas Departamento de Bioquímica y Biología Molecular. 2015. Disponible en:

<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>.

[25] Rigalli A. Estrés oxidativo. Origen de especies reactivas del oxígeno. Especies antioxidantes. Un ejemplo de estrés oxidativo: La fluorosis [video]. Argentina. Publicado el 23 may. 2015.

[26]. Busso Ca. Estabilidad de polifenoles y caracterización físico-química y sensorial en pulpas de frutos rojos en relación a los procesos tecnológicos para la obtención de alimentos e ingredientes alimenticios.[tesis]. Argentina. Facultad de ciencias agrarias pontificia universidad catolica. 2016. Disponible en: http://repositorioubi.sisbi.uba.ar/gsd/collect/posgrauba/index/assoc/hwa_1425.dir/1425.pdf.

[27] León B. Valerianaceae endémicas del Perú. peru. biol. Diciembre. 2006; 13(2): 663s-668s. Disponible en: <http://revistasinvestigacion.unmsm.edu.pe/index.php/rpb/article/view/1929/1698>.

[28] Contreras A y Méndez. Fenología de la planta medicinal *Valeriana prionophylla* (Valerianaceae) en páramos de Costa Rica. PROIFED, Laboratorio de Ecología Urbana, Universidad Estatal a Distancia.2014.Disponible en:

[29] Villar A y Carretero E. *Valeriana officinalis*. Fitoquímica, farmacología y terapéutica. Departamento de Farmacología. Facultad de Farmacia. UCM. 2001.

[30] Houghton P.The Genus *Valeriana*. Medicinal and Aromatic Plants- Industrial Profiles. Volume 1.

[31] Rodriguez E.Herbarium Truxillense (HUT).Universidad Nacional de Trujillo.2016

[32] García E.et.al. Determinación de polifenoles totales por el método de folin-ciocalteu. Departamento de tecnología de alimentos.ETSIAMN.Universitat Politecnica de Valencia.

[33] Jimenez A. optimización del método captación del radical 2,2- difenil-1-picrilhidrazilo (dpph) para evaluar actividad antioxidante en bebida de café.España. An. vet. 2012; 28: 67-78. Disponible en: <http://revistas.um.es/analesvet/article/viewFile/188731/155461>.

[34].Janeiro M, at el .catechin electrochemical oxidation mechanisms. Analytica Chimica Acta . [On linea]. 2004 [citada 2016 Julio 15];518 (2):109-115.Disponible: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003267004006506>

[35]. Valverde P.La Epicatequina .Un flavonoide para recorder.Peru.Renut. 2007;1 (1):7-10.Disponible en:http://www.iidenut.org/pdf_revista_tec_libre/Renut%201/RENUT%202007%20TEC_1_7-10.pdf.

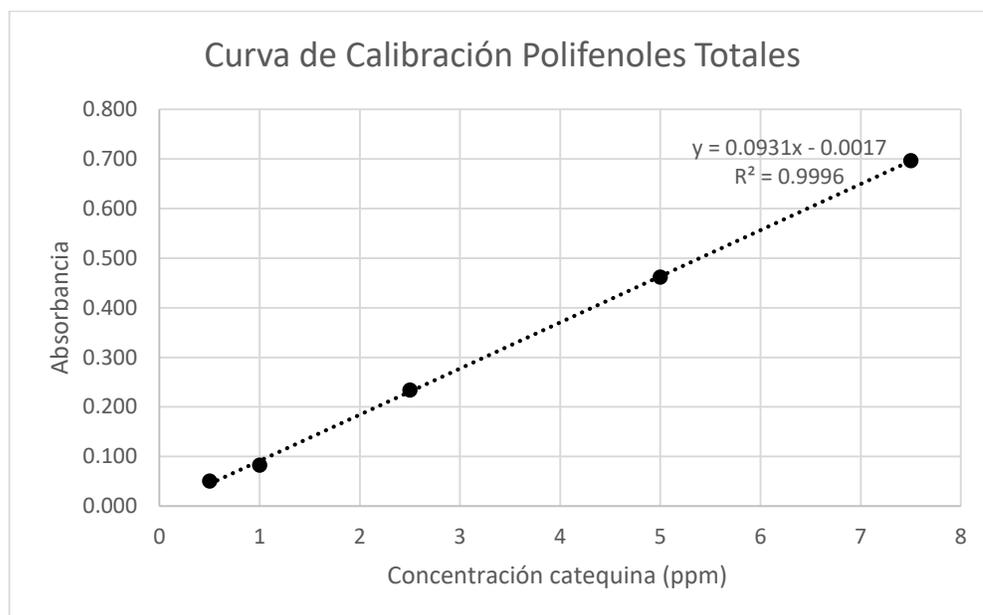
[36]Zhong Y. Shahidi F.Metodos para la evaluación de la actividad antioxidante en alimentos.Manual de antioxidante para la conservación de alimentos.2015.Disponible: <https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/trolox-equivalent-antioxidant-capacity>

[37] Tedeschi P., Maietti A., Vásquez E. et al. Un antico alimento funzionale: l'ortica. Italia. Nutraceutica. 2018. Disponible <https://www.natural1.it/nutraceutica/item/2082-un-antico-alimento-funzionale-lortica>

[38]. Seminario J. et al. Biología de Valeriana pilosa R. & P. (Valerianaceae): una especie en peligro de extinción de las altas montañas de Perú. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas. 2016. 15 (5): 337 – 351.

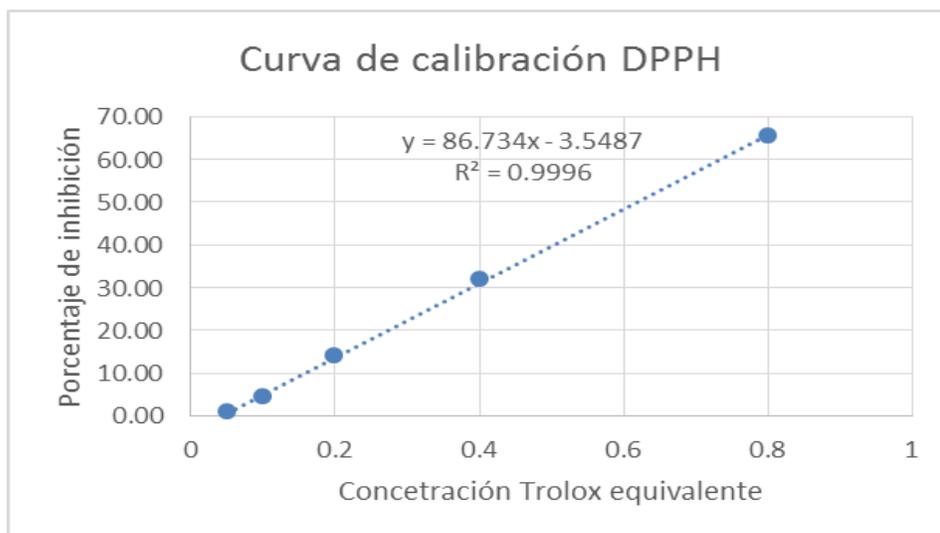
ANEXOS

Gráfico 1: Curva de calibración de polifenoles totales utilizando catequina como estándar



Fuente: Datos obtenidos directamente de la investigación.

Gráfico 2: Curva de calibración del DPPH utilizando trolox como estándar



Fuente: Datos obtenidos directamente de la investigación.



Imagen 1. Muestra el registro de *Valeriana isoetifolia* Killip Herbarium Truxillense (HUT). Universidad Nacional de Trujillo. 2016.