



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

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

**CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE
POLIFENOLES TOTALES *IN VITRO*, EN EL FRUTO DE
*Cocos Nucifera L (COCO)***

**TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO**

Autor:

Vera Barreno Erika Nancy

ORCID: 0000-0001-6885-1053

Asesor:

Zevallos Escobar Liz Elva

ORCID: 0000-0003-2547-9831

Chimbote - Perú

2020

CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES *IN VITRO*, EN EL FRUTO DE *Cocos Nucifera L* (COCO)

EQUIPO DE TRABAJO

AUTOR

Vera Barreno Erika Nancy

ORCID: 0000-0001-6885-1053

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Bachiller, Chimbote, Perú

ASESOR

Zevallos Escobar, Liz Elva

ORCID: 0000-0003-2547-9831

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Facultad de Ciencias de La Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica, Chimbote, Perú

JURADO

DIAZ ORTEGA, JORGE LUIS

ORCID: 0000-0002-6154-8913

RAMIREZ ROMERO, TEODORO WALTER

ORCID: 0000-0002-2809-709X

RODAS TRUJILLO, KAREM JHUSTIM

ORCID: 0000-0002-8873-8725

JURADO EVALUADOR DE TESIS

Dr. DIAZ ORTEGA, JORGE LUIS

ORCID: 0000-0002-6154-8913

PRESIDENTE

Mgtr: RAMIREZ ROMERO, TEODORO WALTER

ORCID: 0000-0002-2809-709X

MIEMBRO

Mgtr. Rodas Trujillo, Karem Jhustim

ORCID: 0000-0001-8873-8725

MIEMBRO

Mgtr. Liz Zevallos Escobar

ORCID: 0000-0003-2547-9831

ASESORA

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por concederme la vida, por darme las fuerzas necesarias ante los obstáculos y brindarme la oportunidad de culminar mi carrera profesional.

Agradecer a mi Padre Jacinto Vera Hurtado por el apoyo incondicional que me ha dado, a mi Madre Fidela Barreno Tumbajulca por su paciencia, fortaleza y consejos brindados que gracias a eso he podido superar las adversidades y seguir adelante.

A mis hermanos Saint Vera Barreno y Nelida Vera Barreno, por guiarme siempre en hacer lo correcto y estar a mi lado cuando más los necesitaba , siendo un gran ejemplo por su valentía y perseverancia.

A Elvis Gutiérrez por su comprensión, apoyo, admiración y su amor incondicional y no dejarme decaer.

A toda mi familia que de una u otra forma me han ayudado a seguir el camino que me trace, muchas gracias a todos.

A mis profesores por sus enseñanzas, paciencia y su tiempo dedicado hacia nosotros que cada día nos han guiado en los trabajos y en nuestra formación profesional.

DEDICATORIA

Dedico este trabajo de Investigación al dueño de todas las cosas, especialmente de mi vida que es Dios porque me ha hecho llegar a este momento tan importante y me permite seguir avanzando en el camino.

A mis Padres por sus consejos enseñanzas y valores que han brindado desde pequeña y ayudarme a superar toda dificultad y tropiezo que se presentó en la vida.

A mi hermano por su apoyo y confianza que me da, muchas veces aconsejándome y dándome fuerzas de superación.

Dedico mi trabajo a toda mi familia por compartir buenos y malos momentos y siempre mantenernos unidos, gracias a ellos me encuentro culminando mis estudios.

A mi compañero mi ayuda idónea Elvis Gutiérrez por su amor y afecto hacia mi persona y estar siempre a mi lado.

EPIGRAFE

Haz de tu vida un sueño, y de tu sueño una realidad”

Antoine De Saint Exupery

RESUMEN

Los frutos de las plantas son una gran fuente de propiedades antioxidantes que son de vital importancia para el ser humano, ya que constituyen un efecto protector ante los radicales libres. El objetivo del presente estudio es evaluar la actividad antioxidante y determinar la concentración de Polifenoles totales *in vitro* en el fruto del *Cocos nucifera L.* Se realizó un estudio de tipo experimental, analítico y cuantitativo. Preparando el extracto acuoso del fruto de *Cocos nucifera L* se determinó el contenido de polifenoles y flavonoides, evaluando las propiedades antioxidantes mediante el método de Folin-Ciocalteu y DPPH. El contenido de polifenoles se realizó con una concentración adecuada de catequina para cada muestra obteniendo un resultados de 401.29 ± 111.66 de polifenoles por μg de catequina /g de Fruto de *Cocos nucifera L.* la actividad antioxidante se procedió a realizar a través de la calibración de DPPH con una muestra de 1,0072g llevando al espectrofotómetro y realizando lecturas de absorbancia a T_0 y T_{15} , determinando la concentración de Trolox equivalente obteniendo como resultado 4.49 ± 0.40 mg indicando que la capacidad antioxidante es mínima. Se concluye que el fruto de *Cocos nucifera L.* posee una concentración de polifenoles y antioxidantes no elevados.

Palabras claves: *Cocos nucifera L.*, Radicales libres, capacidad antioxidante.

ABSTRACT

The fruits of the plants are a great source of antioxidant properties that are of vital importance for the human being, since they constitute a protective effect against free radicals. The objective of this study is to evaluate the antioxidant activity and determine the concentration of total polyphenols in vitro in the fruit of *Cocos nucifera* L. An experimental, analytical and quantitative study was carried out. Preparing the aqueous extract of the fruit of *Cocos nucifera* L, the content of polyphenols and flavonoids was determined, evaluating the antioxidant properties by means of the Folin-Ciocalteu and DPPH method. The content of polyphenols was carried out with an adequate concentration of catechism for each sample, obtaining a result of 401.29 ± 111.66 polyphenols per μg of catechin / g of Fruit of *Cocos nucifera* L. The antioxidant activity was carried out through the calibration of DPPH with a sample of 1.0072g carrying the spectrophotometer and performing absorbance readings at T0 and T15, determining the equivalent trolox concentration resulting in 4.49 ± 0.40 mg indicating that the antioxidant capacity is minimal. It is concluded that the fruit of *Cocos nucifera* L has a concentration of polyphenols and antioxidants that are not high.

Keywords: *Cocos nucifera* L, Free radicals, antioxidant capacity.

CONTENIDO

EQUIPO DE TRABAJO.....	ii
JURADO EVALUADOR DE TESIS.....	iii
AGRADECIMIENTO.....	iv
DEDICATORIA.....	v
EPIGRAFE.....	vi
RESUMEN	vii
ABSTRACT.....	viii
I. INTRODUCCIÓN.....	11
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	13
2.1. Antecedentes.....	13
2.2. Bases Teóricas.....	15
2.2.1 antioxidantes.....	17
2.2.2 Actividad Antioxidante.....	18
2.2.3 Radicales libres.....	19
2.2.4 Estrés Oxidativo.....	19
2.2.5 Compuestos Polifenólicos.....	20
2.2.6 Técnicas para la cuantificación.....	21
III. Hipótesis.....	22
IV. Metodología.....	23
4.1. Diseño de la investigación.....	23
4.2. Población y muestra.....	23
4.3. Definición y operacionalización de variables e indicadores.....	24
4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	25
4.5. Plan de análisis.....	25
4.6. Matriz de consistencia.....	26

4.7. Principios éticos.....	27
V. Resultados.....	28
5.1. Resultados.....	28
5.2. Análisis de resultados.....	29
VI. Conclusiones.....	30
Referencias bibliográficas.....	31
Anexos.....	35

I. INTRODUCCIÓN

Teniendo en cuenta que la Organización Mundial de la Salud (OMS) ampara el manejo de las medicinas naturales y complementarias cuando éstas demostraron gran beneficio hacia el paciente y menos efectos adversos. Desde tiempos antiguos las plantas son un recurso para la humanidad en la alimentación y tratamiento de las enfermedades, a medida que todos los países han optado por usar estas medidas de desarrollo en las plantas medicinales para fines terapéuticos y cosméticos. De acuerdo con la OMS y la Organización para la Alimentación y la Agricultura (FAO), se considera que dos terceras partes de habitantes a nivel mundial emplea y opta por las plantas terapéuticas. ⁽¹⁾

Durante estos últimos años la atención se ha enfocado en la química de los alimentos con el objetivo de caracterizar y aislar los metabolitos secundarios que se encuentran en las plantas las cuales presentan propiedades farmacológicas. ⁽²⁾

El Coco cuyo nombre científico es *Cocos Nucifera L*, que pertenece a la Familia de las Palmae, puede alcanzar una altura de 20 m de altura y se encuentra distribuida en islas y zonas costeras tropicales de todo el mundo, y entre los 26 °C de latitud norte y sur; también se encuentra en Distrito de Laredo, Provincia de Trujillo, Departamento de la Libertad, pueden encontrarse a alturas de hasta 1,200 msnm. Es una planta tropical que prospera mejor en climas sin marcadas fluctuaciones estacionales, con una temperatura promedio superior a 20 °C, precipitación media anual de 1,000 a 1,800 mm, pudiendo soportar mayores precipitaciones en suelos con buen drenaje. Esta planta posee diversas propiedades medicinales, como: Antifúngico, antibacteriano, Antioxidante, antiparasitario, hepatoprotector, antiviral, hipoglucémico e inmunoestimulante. ⁽³⁾ La cascara de *Cocos Nucifera L* está formada por medula y fibra las cuales contienen fenoles. ⁽⁴⁾

Los Antioxidantes son sustancias químicas que se encuentra a bajas concentraciones en presencia de un sustrato oxidable, tienen la capacidad de retrasar o impedir la oxidación de ácidos grasos, sus reacciones se dan dentro y fuera del organismo humano, en el cual puede producir cambios fisiológicos de diversas enfermedades. Facilitan el uso fisiológico del oxígeno, la cual ayuda a disminuir los efectos del estrés oxidativo formando complejos de radicales libres. Se clasifican en sistema enzimático (endógenos) y no enzimático (exógenos) que actúan en el espacio extracelular e intracelular. Los antioxidantes son moléculas que tienen la capacidad de neutralizar los radicales

libres y reducir el estrés oxidativo, combatiendo enfermedades reumáticas, cardiovasculares y el envejecimiento. ⁽⁵⁾

El ser humano necesita radicales libres para realizar procesos biológicos como lo es el transporte de electrones, la regulación de la presión sanguínea, el control de las infecciones; sin embargo, la acumulación excesiva de estos agentes en el organismo puede provocar daños en las células, originando degeneración de los tejidos, lo que conlleva al desarrollo de diferentes enfermedades. La manera más efectiva de evitar el daño producido por dichos radicales es su destrucción o estabilización por parte de antioxidantes. Debido a esto en los últimos años, el estrés oxidativo y sus efectos adversos en la salud humana ha llegado a ser un tema de alto interés en los campos biológico, medicinal, nutricional y agroquímico, adicionalmente, la búsqueda y obtención de antioxidantes como alternativas de origen natural para sustituir a los antioxidantes sintéticos debido a sus efectos nocivos para el hombre y el medio ambiente. ⁽⁶⁾

OBJETIVO GENERAL

- Evaluar la actividad antioxidante y determinar la concentración de Polifenoles totales *in vitro*, en el fruto del *Cocos Nucifera L.*

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar la actividad antioxidante *in vitro* en el fruto del *Cocos Nucifera L* expresados en mM de trolox eq/g de muestra seca.
- Determinar la concentración de polifenoles totales presentes en el fruto de *Cocos Nucifera L* expresados en mg de catequina eq/g de muestra seca

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1 Antecedentes

Newport MT *et al* ⁽⁷⁾, menciona que los suplementos dietéticos se han estudiado como un enfoque para mejorar los déficits asociados con el envejecimiento y la Neurodegeneración. Se realizó un estudio piloto para investigar los efectos de los suplementos de aceite de coco directamente sobre las neuronas corticales tratados con β - amiloide péptido (A β) in vitro . ⁽⁷⁾

Nafar F *et al* ⁽⁸⁾, esta revista indica que la supervivencia de neuronas en cultivos de co-tratado con aceite de coco y A β es rescatado a comparación con los cultivos expuestos solamente a A β . El aceite de coco co-tratamiento también atenúa las alteraciones mitocondriales A β inducida. Los resultados de este estudio proporcionan una base para una mayor investigación de los efectos del aceite de *Cocos nucifera* o sus componentes. Sobre la supervivencia neuronal se centra en los mecanismos que pueden estar implicados. ⁽⁸⁾

Otuechere C *et al* ⁽⁹⁾ esta revista menciona que el aceite virgen de *Cocos nucifera L.* ha sido utilizado en toda la historia por su valor medicinal, se hizo un estudio en Veinte ratas se dividieron en cuatro grupos. Grupo 1 (control) recibió ningún fármaco, mientras que el Grupo 2 recibió TMP-SMX (8/40 mg / kg) dos veces al día durante 7 días. Grupo 3 se administró aceite de coco en una dosis de 600 mg / kg de peso corporal por día. El último grupo se trató con TMP-SMX (8/40 mg / kg) y aceite de coco (600 mg / kg) al mismo tiempo. Las muestras de sangre se recogieron de todos los grupos en el octavo día del experimento para la medición de parámetros bioquímicos séricos. Se evaluaron los pesos de los órganos y los coeficientes; los resultados obtenidos fueron: TMP-SMX causó un aumento significativo ($p < 0,05$) en los niveles de bilirrubina sérica total, lactato deshidrogenasa y fosfatasa alcalina en un 192%, 67% y 41%, respectivamente, en comparación con los controles. Esto fue seguido por una reducción significativa en el peso del riñón de triglicéridos y relativa por 40% y 7%, respectivamente. No hubo diferencias significativas ($p > 0,05$) en la actividad de las aminotransferasas, fosfatasa ácida total, γ -glutamyl transferasa, ácido úrico, colesterol, albúmina y niveles de urea. La suplementación de VCO mejorado efectos inducidos-TMP-SMX mediante la restauración de los niveles de bilirrubina total, phosphatase alcalina y

lactato deshidrogenasa. En conclusión este estudio demuestran que los componentes activos del aceite de coco tienen efectos protectores contra los tóxicos inducidos por la administración de TMP-SMX, especialmente en el hígado de las ratas. ⁽⁹⁾

Vysakh A, *et al* ⁽¹⁰⁾ se evaluó la eficacia protectora de la fracción polifenólica a partir de aceite de coco virgen contra adyuvante inducida a ratas artríticas. La artritis fue inducida por la inyección intradérmica de adyuvante completa de Freund. Se estimaron las actividades de las enzimas antioxidantes, inflamatorias y la peroxidación lipídica. PV mostró alto porcentaje de inhibición de edema a una dosis de 80 mg / kg en días 21a de la artritis adyuvante y no es tóxico. La expresión de genes inflamatorios tales como COX-2, iNOS, TNF- α y la IL-6 y la concentración de la sustancia reactiva del ácido tiobarbitúrico se redujeron mediante tratamiento con PV. Enzimas antioxidantes se incrementaron y el tratamiento con PV. El aumento del nivel de recuento de glóbulos blancos totales y la proteína C-reactiva en los animales de artritis se redujo en ratas tratadas fotovoltaicas. Citología sinovial mostró que las células inflamatorias y células mesoteliales reactivas fueron suprimidos por PV. Histopatológico de tejido pata presenta una menor formación de edema y la infiltración celular en la suplementación con PV. Así, los resultados demostraron el potencial efecto beneficioso de la energía fotovoltaica en la artritis inducida por adyuvante en ratas y el mecanismo detrás de esta acción se debe a sus propiedades antioxidantes y efectos anti-inflamatorios. ⁽¹⁰⁾

Hayatullina Z *et al* ⁽¹¹⁾ menciona que el estrés oxidativo y los radicales libres han sido implicados en la patogénesis de la osteoporosis. Por lo tanto, los compuestos antioxidantes tienen el potencial de ser utilizada en la prevención y tratamiento de la enfermedad. En este estudio, hemos investigado los efectos del Aceite de Coco Virgen (VCO) en la microarquitectura ósea en un modelo de rata de la osteoporosis posmenopáusica. VCO es una forma diferente de aceite de coco, ya que es rico en antioxidantes. Tres meses de edad ratas hembras fueron agrupados al azar en la línea de base, control ovariectomizadas con operación simulada (OVX) y ratas ovariectomizadas alimentados con 8 % VCO en su dieta durante seis semanas (OVX + VCO), histomorfometría ósea de los fémures derecho se llevó a cabo al final del estudio. Las ratas suplementadas con VCO tenían un número de volumen de hueso trabecular y significativamente mayor, mientras que la separación trabecular era menor que el grupo OVX, este fue eficaz en el mantenimiento de la estructura ósea y prevenir la pérdida ósea en el modelo de rata con deficiencia de estrógenos ⁽¹¹⁾

Gudmundur *et al* ⁽¹²⁾ un estudio publicado en el Journal of Antimicrobial Agents and Chemotherapy encontró que el ácido cáprico y el ácido Láurico en el Aceite de Coco Virgen son tratamientos muy efectivos contra la candida albicans y contra las infecciones por levaduras. ⁽¹²⁾

Intahphuak S *et al* ⁽¹³⁾ un estudio realizado investigó propiedades farmacológicas de aceite de coco virgen (VCO), el aceite puro natural a partir de la leche de coco (*Cocos nucifera* Linn, que se preparó sin utilizar un tratamiento químico o de alta temperatura. Se evaluaron las propiedades antiinflamatorias, analgésicas, antipiréticas y efectos del VCO. En los modelos inflamatorios agudos, VCO mostró efecto anti-inflamatorio moderado en acetato de phenylpropiolate inducida por edema de la oreja en las ratas, y edema de la pata inducido por ácido araquidónico y carrageenin. VCO mostró un efecto inhibitorio sobre la inflamación crónica mediante la reducción del peso transudativo, la formación de granulomas, y la actividad de la fosfatasa alcalina sérica. VCO también mostró un efecto analgésico moderado de la respuesta de retorcimiento inducido por ácido acético, así como un efecto antipirético en la hipertermia inducida por la levadura. Los resultados obtenidos sugieren anti-inflamatorias, analgésicas y antipiréticas de VCO. ⁽¹³⁾

2.2 BASES TEÓRICAS DE LA INVESTIGACIÓN

Clasificación y descripción botánica de *Cocos nucifera* L.

- **Clase:** Monocotyledoneae
- **Orden:** Palmales
- **Familia:** Palmae
- **Subfamilia:** Cocowsideae
- **Género:** Cocos
- **Especie:** Nucífera

Raíz: las función de las raíces primarias es la de absorber y fijar el agua, mientras que las raíces terciarias se encargan de extraer los nutrientes necesarios para el desarrollo de la planta, sus raíces se localizan a 0.2 a 0.8 metros de profundidad. ⁽¹⁴⁾

Tallo: la principal característica del tallo de este árbol es que presenta un espite que se encuentra ramificado, estas a su vez poseen un conjunto de hojas las cuales se encargan de proteger la yema terminal de la planta. El árbol del Coco puede llegar a crecer hasta 20 m de alto, ello depende de las condiciones ecológicas y de la edad de la planta. ⁽¹⁴⁾

Hojas: presenta hojas de forma pinnada, está constituida por peciolos, las hojas logran alcanzar hasta 6 metro de largo, y el largo disminuye conforme aumenta el tiempo del árbol. En climas apropiados el Coco llega a tener 14 hojas durante el año, y la copa tiene de 25 a 30 hojas. ⁽¹⁴⁾

Inflorescencia: tiene inflorescencias axilares, en forma de panícula, que está protegida por una espada o bráctea. El cual se desarrolla durante 3 o 4 meses, luego se abre y se libera las espigas, el cual posee flores tanto masculinas como femeninas. ⁽¹⁴⁾

Fruto: El fruto es una drupa, que está conformado por una epidermis lisa, presenta un mesocarpo en su interior está el endocarpo que posee una capa fina y dura que tiene coloración marrón a la que se le denomina hueso, en cual envuelve el albumen sólido y líquido. ⁽¹⁴⁾

ECOLOGÍA

El árbol de *Cocos Nucifera L*, se encuentra distribuida en islas y en las zonas tropicales en todo el mundo, entre los 26 °C de latitud norte y sur; también se encuentra en Distrito de Laredo, Provincia de Trujillo, Departamento de la Libertad, pueden encontrarse a alturas de hasta 1,200 msnm. Es una planta tropical que crece mejor en donde las temperaturas climáticas se mantienen constantes sin mucha variabilidad, con una temperatura promedio superior a 20 °C, precipitación media anual de 1,000 a 1,800 mm, pudiendo soportar mayores precipitaciones en suelos con buen drenaje. Para el crecimiento radicular adecuado de esta planta es necesario que la profundidad del suelo deba de ser de 80 a 100 cm, ya que esta planta se adapta también a suelos arenosos. ⁽¹⁵⁾

Usos del *Cocos nucifera L*

Madera de coco: Se usa para la construcción de casas, puentes, debido a que su corteza es dura y también es empleada para la fabricación de muebles. ⁽¹⁵⁾

El palmito: Es la yema terminal del cocotero y se consume crudo o cocido. Contiene 3% de almidón y 5% de azúcar. ⁽¹⁵⁾

Las raíces: Tienen propiedades antidiarreicas. ⁽¹⁵⁾

Las palmas: Son usadas para canastas, techos, alfombras, sombreros etc. ⁽¹⁵⁾

El agua de coco: Se consume como bebida rehidratante. Ha sido usado como sustituto de sueros, ya que presenta un alto valor nutritivo. ⁽¹⁵⁾

La nuez: es producto más importante de esta planta, y la emplean para diversos usos, dentro de ellos se encuentran: el aceite, usado en alimentos, cosmetología, combustibles y lubricantes; harina de coco, es un subproducto de la extracción de aceite y se usa como alimento para ganado. ⁽¹⁵⁾

El hueso: Es el endocarpo que cubre la copra, se emplea para la producción de carbón activado, el cual se emplea para filtros de aire, también se utiliza para la fabricación de botones, y cucharas. ⁽¹⁵⁾

Copra: Esta viene a ser la pulpa blanca del Coco, el cual se utiliza como materia prima para extraer aceite, y conservas. ⁽¹⁵⁾

La estopa o mesocarpo: esta parte del Coco es empleada para la elaboración de alfombras, pitas, el polvo de la estopa se utiliza para mejorar los suelos arenosos, ya que ello ayuda a la retención de agua. ⁽¹⁵⁾

Principales usos medicinales

El coco, *Cocos nucifera* L, es un árbol que se cultiva por sus múltiples servicios, principalmente por sus valores nutricionales y medicinales. Las partes de su fruta como el coco y el agua de coco tierna tienen numerosas propiedades medicinales tales como antifúngicos, antibacterianos, antiparasitarios, antivirales, hipoglucémicos, antioxidantes, hepatoprotectores, inmunoestimulantes. También se utilizan para el asma, la artritis, gripe, cálculo renal, infección urinaria, nacidos y quemaduras. ⁽¹⁶⁾

2.2.1 Antioxidante

Son sustancias químicas que se encuentran a concentraciones bajas, en comparación con el sustrato a oxidar, estas sustancias tienen el potencial de impedir que los ácidos grasos se oxiden, estas reacciones que se producen tienen lugar dentro y fuera de nuestro organismo, estos producen cambios fisiológicos hasta llegar a producir enfermedades. Estas sustancias ayudan al uso de oxígeno, dando como lugar la disminución de la formación de los radicales libres. Podemos

clasificarlos en dos tipos de sistemas: Sistema enzimático (endógenos) y no enzimático (exógenos) que actúan en el espacio extracelular e intracelular. ⁽¹⁷⁾

El sistema enzimático: a este grupo pertenece las enzimas que están presentes en nuestro organismo como, superóxido dismutasa, glutatión, peroxidasa, catalasa. De acuerdo al tiempo estas enzimas se van envejeciendo, las cuales van disminuyendo su capacidad antioxidante, y se produce un desbalance prooxidante-antioxidante, causando el estrés oxidativo.

El sistema no enzimático: dentro de ellas se encuentran las sustancias como la vitamina C, E, minerales, carotenoides, selenio, zinc, manganeso, cobre. Las cuales son ingeridas en la alimentación, y son las más importantes, ya que son los únicos que pueden ser introducidas de forma voluntaria. ⁽¹⁷⁾

2.2.2 Actividad antioxidante:

Es la capacidad que posee una sustancia de inhibir la degradación oxidativa, reduciendo la presencia de especies reactivas oxidantes (EROS), antes de su ataque a proteínas, DNA, lípidos. Son indispensables para los seres vivos por su capacidad de proteger contra el daño oxidativo de los radicales libres. Al aumentar la actividad antioxidante retarda la oxidación de otras moléculas, generalmente como sustratos biológicos, lípidos, proteínas o ácidos nucleicos y el estrés oxidativo, que es el responsable de distintos daños celulares. ⁽¹⁸⁾

Las primordiales causas de fallecimiento a nivel mundial son los padecimientos cardiovasculares. Evidencias científicas e investigaciones epidemiológicas indican que al consumir hortalizas legumbres y frutas previene y reduce el desarrollo de las enfermedades cardiovasculares, tumorales y neurodegenerativas. El efecto beneficioso de los alimentos vegetales las cuales son sustancias que presentan polifenoles, carotenoides, ácido ascórbico, vitamina E y la actividad Antioxidante. ⁽¹⁷⁾

Los antioxidantes logran ejercer un efecto para proteger tejidos, el cual atrapa productos del proceso de oxidación, estos antioxidantes se hallan en los vegetales, pero principalmente en las frutas en las que se evidencian una mayor concentración. ⁽¹⁹⁾

2.2.3 Radicales libres

Son átomos que contienen un electrón desapareado que tienen la capacidad de aparearse por lo que son muy reactivos, estos radicales se encuentran en nuestro organismo intentando quitar un electrón, con el objetivo de lograr su estabilidad. Una vez que el radical libre ha logrado aparearse su molécula lo cede y se convierte en un radical libre.

Los radicales libres oxidan el DNA, los lípidos y las proteínas, afectando su función y causando mutaciones. Las células tienen la capacidad de fabricar sus propios componentes y obtienen la energía que necesitan a partir de los nutrientes, que son degradados y participan en reacciones de oxidación-reducción. ⁽⁵⁾

Los radicales libres pueden llegar a producir una alteración a nivel genético como es el ADN, esto es un factor predominante para dar origen a la formación de cáncer. Existen múltiples factores que dan origen a ello como es el excesivo ejercicio físico, el tabaco, alimentos que presentan alto contenido lipídico, la contaminación ambiental y las radiaciones solares a las que estamos expuestas a diario, todo ello dar como resultado la formación de los radicales libres. ⁽²⁰⁾

Un componente esencial para la vida como es el oxígeno, puede llegar a causar daños debido a condiciones elevadas, y se vuelve en un potente oxidante el cual libera especies reactivas de oxígeno. ⁽²⁰⁾

2.2.4 Estrés oxidativo y defensa antioxidante

Hay evidencias que muestran que la oxidación de las moléculas biológicas, tejidos, membranas, las cuales son inducidas por el oxígeno activo, el cual en forma de radicales libres, son las responsables de las enfermedades degenerativas de los seres humanos. ⁽²⁰⁾.

De igual manera se han realizado investigaciones de los componentes de los alimentos que presentan capacidad para reducir la oxidación a nivel celular.

El proceso de metabolismo oxidativo, da la formación de radicales libres oxigenadas, dentro de estas especies con oxígeno se encuentran el radical, peróxido de hidrógeno (H_2O_2), superóxido (O_2), óxido nítrico (NO), y no solo estas especies son las responsables ya que nosotros a diario

estamos expuestos a radiaciones electromagnéticas que son capaces de romper el agua, dando como resultado la formación de radicales OH. ⁽²⁰⁾.

Los radicales libres se generan in vivo, nuestro organismo produce varios mecanismos de defensa y protección antioxidante frente a estos radicales, existen enzimas como la superóxido dismutasa que remueve el (O₂), convirtiéndolo en H₂O₂, el cual es transformado por las enzimas catalasa y glutatión peroxidasa en agua (H₂O). Nuestro organismo también posee moléculas que remueven los radicales libres por reacción directa (no catalítica), tales como el glutatión reducido, los tocoferoles (vitamina E) y el ácido ascórbico (vitamina C) ⁽²⁰⁾.

Cuando nuestra defensa antioxidante no es eficaz, es donde se da el aumento de los radicales libres ya que no hay un mecanismo que los regule y evite el daño producido, a ello se le conoce como estrés oxidativo. El daño oxidativo es cuando se da un incremento de estos radicales e inician a dañar las células, hay múltiples sustancias tóxicas que originan radicales y llegando a disminuir nuestra defensa antioxidante. ⁽²¹⁾

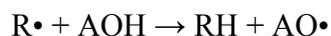
Ante la presencia de radicales libres que dieron como lugar al estrés oxidativo, es necesario una mayor cantidad de antioxidante para así poder contrarrestarlo, y evitar la muerte celular, fuentes de antioxidantes son las sustancias como los compuestos fenólicos presentes en Frutos y Hojas, en las semillas se encuentran los tocoferoles (Vit. E), los carotenoides y en los frutos el ácido ascórbico (Vit. C). ⁽²¹⁾

2.2.5 Compuestos polifenólicos.

Los compuestos polifenólicos se encuentran en los alimentos vegetales, lo cual son metabolitos biosintetizados por el reino vegetal. Los polifenoles en su estructura poseen grupos aromáticos, grupos hidroxilos.

Dentro de estos compuestos podemos nombrar los flavonoides, antraquinonas, isoflavonoides, xantonas, antocianidinas y los ácidos fenólicos, fenoles simples, fenilpropanos, ácidos hidroxicinámicos, ligninas, entre otros, estas tienen como función capturar y estabilizar los radicales libres, también se han realizado estudios en las que tienen propiedad antioxidante a la inhibición de enzimas prooxidantes como la lipooxigenasa. ⁽²²⁾

El mecanismo de defensa de los polifenoles (representado por AOH) se efectúa en la fase inicial en realidad en el proceso de propagación de la oxidación, por captura de los radicales libres (R•), impidiendo de esta forma la reacción en cadena.



Al transferir los electrones del radical libre (R•) indica que se transforme el antioxidante en una molécula radical activa estableciéndose estable, suficiente para que la actividad antioxidante sea eficaz. Al mismo tiempo este radical establecido y formado puede ser contraído por otras sustancias antioxidantes (reductoras), como el ascorbato.⁽²²⁾

2.2.6 Técnicas para la cuantificación de polifenoles totales y actividad antioxidante

Método Folin Ciocalteu

El reactivo de F-C (Folin Ciocalteu) emplea un mecanismo de reacción de oxidación/reducción, el ensayo de F-C mide la capacidad para reducir el reactivo de ácido fosfomolibdico/fosfotungstico a un complejo azul que se observa a través del espectrofotómetro, donde el molibdeno es reducido en el complejo y se produce la reacción de transferencia de electrones entre el Mo(IV) y el reductor. Este método se utiliza para la oxidación de fenoles en una solución alcalina por el heteropolianión molibdotungstosfosfórico amarillo y la medición colorimétrica del molibdotungstosfosfato azul resultante.⁽²³⁾

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

Este método fue desarrollado por Brand-Williams *et al*, donde evalúa y determina la capacidad que tiene una molécula antioxidante para neutralizar un radical. El compuesto 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH) es un radical, donde presenta una profunda coloración violeta y que absorbe radiación a 517 nm, de manera que su concentración determina a través de métodos espectrofotométricos. La concentración inicial de DPPH se encuentra o determina en el ensayo, una vez que se añadió el antioxidante se encuentra la concentración resultante, de forma que una disminución de la absorción de radiación se traduce en una disminución de la concentración de DPPH debida a la cesión de electrones de la especie antioxidante.⁽²⁴⁾

Método de DPPH

Se basa en la reducción de la absorbancia medida a 515 nm del radical DPPH[•], por antioxidantes. Se basa en la medida de la absorbancia del radical DPPH[•] 100 μM (3,9 mL) disuelto en metanol al 80%, a la longitud de onda de 517 nm. Se añade 0,1 mL de la muestra o patrón, la mezcla se homogeniza cuidadosamente, y se mantiene en la oscuridad durante 30 minutos. Las medidas de absorbancia a 517 nm se realizan antes de añadir la muestra (A_0) y pasados los 30 y 60 minutos (A_f). La concentración de DPPH[•] en el medio de reacción se calcula a partir de una curva de calibrado obtenida por regresión lineal. Los resultados se expresan en TEAC, o sea, actividad equivalente a Trolox (μM/g de muestra peso fresco).

El antioxidante sintético de referencia Trolox, a una concentración de 0,08-1,28 mM en disolución de metanol al 80%, se ensaya en las mismas condiciones, expresándose los resultados en TEAC y VCEAC. ⁽¹⁵⁾

III. HIPÓTESIS

Hipótesis implícita.

IV. METODOLOGÍA

4.1 Diseño de investigación

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

4.2 Población y muestra.

Obtención de la droga vegetal

Se obtuvo la droga vegetal del Distrito de Laredo, Provincia de Trujillo departamento de la Libertad.

Realizando un estudio del fruto de la Planta *Cocos.nucifera L.*, procesando y disecando en una estufa a 45°C durante 12 horas por dos días.

Preparación del extracto metabólico – MeOH 80% (Extracción exhaustiva).

Para realizar la extracción exhaustiva, pesamos 1.0072g. del extracto de fruto de cocos nucifera L. llevamos a un tubo falcón agregando 10 mL de (metanol 80% + 0,1% de Ac. Fórmico) colocando en el agitador magnético por 30 min luego cubrimos con papel metálico para evitar que los rayos de la luz puedan degradar a los polifenoles debido que estos son muy sensibles. Luego llevamos ala centrifuga por 5 “min” en una velocidad de 6000 “rpm”. Repetimos 4 veces el mismo procedimiento hasta completar una cantidad necesaria de muestra a trabajar. Después de los 5 min extraemos el sobre nadante a una fiola de 50 mL.

Determinación de polifenoles totales mediante el método de Folin Ciocalteu.

En una Fiola de 10 mL se agregó 2.5 mL de agua tipo II, después se añadió el estándar de catequina a concentraciones de 0,5,1,2,5,5 y 10 ppm (mg/L) para obtener la curva de calibración a las demás fiolas se adiciono 100 µL de extracto metanolico al 80%, luego agregamos 500 µL de reactivo Folin Ciocalteu y se lleva a oscuridad por 5 min. Luego agregamos 2 mL de Carbonato de Sodio al 10%, aforamos con agua tipo II y nuevamente llevar a oscuridad por 90 min, finalmente llevamos al espectrofotómetro a una longitud de onda de 700 nanómetros.

Preparación del DPPH.

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

Determinación de la capacidad antioxidante según el método de DPPH

En una cubeta se adicono 1450 μ L de DPPH a 0.06 mM se llevó a leer al espectrofotómetro a una longitud de onda 515 nm para obtener la absorbancia a tiempo cero (DPPH t0), luego de ello se agregó 50 μ L del extracto del fruto de cocos nucifera L. se llevó a oscuridad por un tiempo de 15 min para obtener la reacción, finalmente se obtuvo la absorbancia a tiempo 15 (DPPH t15) el análisis se realizó por triplicado para cada una de las muestras. Como estándar se utilizó el Trolox a concentraciones 0.05,0.1,0.2,0.4,0.8, mM, para obtener la curva de calibración.

Para determinar el % de inhibición se utilizó la siguiente formula

$$\% \text{ Inhibición} = \frac{\text{DPPH t0} - \text{DPPH t15}}{\text{DPPHt0}} \times 1000$$

4.3 Definición y Operacionalización de variables

Variable	Definición Conceptual	Definición Operacional	Indicador
Contenido de Polifenoles en extracto de fruto de <i>Cocos Nucifera L</i> (Coco).	Los polifenoles se originan principalmente en las plantas, que los sintetizan en gran cantidad, como producto de su metabolismo secundario.	Para determinar el contenido de polifenoles se trabajó con el método espectrofotométrico de Folin-Ciocalteu.	Mg de catequina eq/g muestra seca
Actividad Antioxidante <i>In Vitro</i> en el fruto del <i>Cocos nucifera L</i> (Coco)	Un antioxidante es una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de un sustrato oxidable, actuando como donador de electrones.	Para determinar la actividad antioxidante se realizó a través del método colorimétrico con DPPH.	nM de trolox eq/g muestra seca.

4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

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

4.5 Plan de análisis.

Los datos y resultados obtenidos serán presentados en tablas, utilizando Excel para obtener la desviación estándar y mediana.

4.6. Matriz de consistencia

TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN	FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	OBJETIVOS:	HIPOTESIS	VARIABLE	TIPO DE INVESTIGACIÓN	METODOLOGÍA
Capacidad Antioxidante Y Contenido De Polifenoles Totales <i>In Vitro</i> , en el Fruto De <i>Cocos Nucifera L</i> (Coco)	¿Tendrá actividad antioxidante y contenido de polifenoles totales <i>in vitro</i> , el fruto de <i>Cocos Nucifera L</i> (Coco)?	<p>Objetivo general:</p> <p>-Evaluar la actividad antioxidante y determinar la concentración de Polifenoles totales <i>in vitro</i> en el fruto del <i>Cocos nucifera L</i>.</p> <p>Objetivos específicos:</p> <p>-Determinar la actividad antioxidante <i>in vitro</i> en el fruto del <i>Cocos nucifera L</i>. expresados en mM de trolox eq/g de muestra seca.</p> <p>-Determinar la concentración de polifenoles totales presentes en el fruto de <i>Cocos nucifera L</i>. expresados en mg de catequina eq/g de muestra seca</p>	Hipótesis Implícita	<p>Contenido de Polifenoles en extracto de fruto de <i>Cocos Nucifera L</i> (Coco)</p> <p>Capacidad Antioxidante en el fruto del <i>Cocos nucifera L</i></p>	Descriptiva	<p>Diseño de Investigación:</p> <p>Determinación de la actividad antioxidante <i>In Vitro</i> en el fruto del <i>Cocos nucifera L</i>. según el método de DPPH.</p> <p>-Determinación de contenido de polifenoles totales en el fruto de <i>Cocos nucifera L</i>, según el método de Folin-Ciocalteu.</p>

4.7. Principios éticos

Se promovió la recuperación del conocimiento tradicional sobre el uso de *Cocos Nucifera L*, 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

TABLA 1: Evaluación de la capacidad Antioxidante en muestra de fruto de *Cocos Nucifera L.* expresado en mM trolox eq/g.

COCO	mM trolox eq./g	Promedio mM trolox eq./g	DS
Muestra 1	4.39		
Muestra 2	4.94	4.49	0.40
Muestra 3	4.15		

TABLA 2 : Evaluación del contenido de Polifenoles totales en el fruto *cocos nucifera L.* Expresado en catequina mg/g

coco	Mg catequina eq./g	Promedio	DS
Muestra 1	0.281		
Muestra 2	0.421	0.40	0.1117
Muestra 3	0.502		

5.2 ANALISIS DE RESULTADOS

Para determinar los polifenoles se realiza un estudio de tipo experimental y se observa los flavonoides, lignina y taninos a través del método de Folin Ciocalteu, a través de este método veremos una coloración azul intenso de acuerdo a la capacidad de polifenoles que se observen ya que tiene un reactivo molibdato tungstato Sodio y al reaccionar con el polifenol formara fosfomolibdico-fosfotungstico⁽²³⁾

En la tabla 1, respecto a la determinación del contenido de polifenoles se ha trabajado con una concentración adecuada de catequina para cada muestra, se midió la absorbancia, obteniendo puntos de intersección los cuales los unimos para lograr una linealidad y aplicando la fórmula de la recta se obtuvo un $R^2 = 0.9996$ (anexo1), aproximándose al valor 1 que es lo ideal para una recta. En el cual obtuvimos una concentración de 0.40 ± 0.1117 mg de polifenoles por μ g de catequina /g de Fruto de *Cocos nucifera L.*

Para la determinación antioxidante se realizó a través del método de DPPH en donde se evalúa la capacidad de neutralizar un radical.⁽²⁴⁾

Para realizar la curva de calibración de DPPH se hizo disoluciones a diferentes concentraciones, llevando al espectrofotómetro para realizar la lectura de las absorbancias a T_0 y T_{15} , los resultados obtenidos se empleó para obtener el % de Inhibición y así poder determinar la relación con la concentración de trolox equivalente.

La actividad antioxidante del *Coco nucifera L*, dio como resultado 4.49 ± 0.40 mg al trolox equivalente esto indica que tienen una mínima capacidad antioxidante.

VI. CONCLUSIONES

1. El extracto del fruto del fruto de *Cocos nucífera L.* tiene baja concentración de polifenoles y capacidad antioxidante.
2. Se determinó la capacidad antioxidante del extracto de fruto de *Cocos nucífera L.* expresados en nM trolox eq/g. de muestra seca fue de 4.49 ± 0.40 mM de trolox.
3. Se evaluó el contenido de polifenoles en el extracto de fruto de *Cocos nucífera L.* expresados en mg de Catequina Eq/g muestra seca 0.40 ± 0.1117 mg de catequina.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) Organización Mundial De La Salud. Medicina Tradicional [Internet]. 2002 [Cited 2017 May 15]. Available from: http://apps.who.int/gb/archive/pdf_files/EB111/seb1119.pdf
- (2). Nancy Alonso Carrillo. Actividad antioxidante de Satureja macrostema. [Tesis] Instituto Politécnico Nacional. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas. México 2009. [Citado: 05/06/2016] Págs. 1-83 Disponible en: <http://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/5823/ACTIVIDAD.pdf?sequence=1>
- (3) DebMandal M, Mandal S. Coco (Cocos nucifera L : Arecaceae): en promoción de la salud y prevención de enfermedades. 2011. Mar; 4(3):241-7. Publicado: 12/04/2011. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21771462>
- (4) Valadez Carmona Lourdes. Et al. Efecto del secado por microondas y secado en el horno sobre la actividad del agua, el color, el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante de la cáscara de coco (Cocos nucifera L.). Revista de Ciencia y Tecnología de Alimentos. Publicado: septiembre del 2016. Volumen 53. [Internet]. [Citado: 10/09/2017]. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs13197-016-2324-7>
- (5) Mañan Silvia Cristina. Consumo de alimentos naturales con capacidad antioxidantes en adultos mayores. Universidad abierta Interamericana. Facultad de medicina y ciencias de la salud. Sede Rosario 2013. [Citado: 05/06/2016] Págs. 1-86 Disponible en: <http://imgbiblio.vaneduc.edu.ar/fulltext/files/TC112119.pdf>
- (6) Venéreo Gutiérrez Justo R. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. Instituto Superior de Medicina Militar “Dr. Luis Díaz Soto”. Revista cubana [en línea] 2002. Vol. 31(2) Págs. 126-33. [Citado: 08/05/2016]. Disponible en: http://bvs.sld.cu/revistas/mil/vol31_2_02/MIL09202.pdf
- (7) Newport MT, VanItallie TB, Kashiwaya Y, King MT, Veech RL , A new way to produce hyperketonemia: use of ketone ester in a case of Alzheimer's disease, Alzheimers Dement. Rev. NCBI. 11Jan 2015;(1):99-103. Pub 7 Oct 2014. [Citado: 05/06/2016]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25301680>
- (8) Nafar F, Mearow KM, Coconut oil attenuates the effects of amyloid- β on cortical neurons in vitro, J Alzheimers. Rev. NCBI. Dis. 2014; (2):233-7. . [Citado: 05/06/2016]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24150106>
- (9) Otuechere CA, Madarikan G, Simisola T, Bankole O, Osho A. Virgin coconut oil protects against liver damage in albino rats challenged with the anti-folate combination, trimethoprim-sulfamethoxazole. Rev. NCBI. 01 May 2014;(2):249-53. [Citado: 05/06/2016]. Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Madarikan%20G%5BAuthor%5D&cauthor=true&author_uid=24285126

- (10). Vysakh A, Ratheesh M, Rajmohan TP, Pramod C, Premlal S, Girish kumar B, Sibi PI. Et al. Polyphenolics isolated from virgin coconut oil inhibits adjuvant induced arthritis in rats through antioxidant and anti-inflammatory action. Rev. NCBI .06 Mar 2014:(1):124-30. [Citado: 05/06/2016]. Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Premlal%20S%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=24613207
- (11). Hayatullina ZI, Muhammad N, Mohamed N, Soelaiman IN. Virgin coconut oil supplementation prevents bone loss in osteoporosis rat model. Rev. NCBI. 16 Sep 2012. [Citado: 05/06/2016]. Disponible en: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Hayatullina%20Z%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=23024690
- (12). Gudmundur Bergsson, Jóhann Arnfinnsson, Ólafur Steingrímsson, and Halldor Thormar. In Vitro Killing of *Candida albicans* by Fatty Acids and Monoglycerides. Rev. NCBI. Nov 2001; 45(11): 3209–3212. [Citado: 05/06/2016]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC90807/>
- (13). Bará Osegueda Karla Denisse, Hernández Mancía Jessica Marisol. Elaboración de azúcar de partir del néctar de las flores de coco (*Cocos Nucífera L.*). [Tesis]. Universidad Dr. José Matías Delgado. Facultad de agricultura e investigación agrícola “Julia Hill de o’ Sullivan”. Antiguo Cuscatlan 2014 [Citado: 05/06/2016] Págs. 1-64 Disponible en: <http://webquery.ujmd.edu.sv/siab/bvirtual/BIBLIOTECA%20VIRTUAL/TESIS/04/ALI/0002143-ADTESBE.pdf>
- (14) Medardo Lizano. Guía Técnica Del Cultivo De Coco. Instituto Interamericano De Cooperación Para La Agricultura. Estados Unidos. [Citado: 16/05/2016] Págs. 1-54 Disponible en: <http://simag.mag.gov.sv/uploads/pdf/2013819141156.pdf>
- (15) José Alfonso, Teofilo Ramírez; Manual Técnico Del Cultivo Del Cocotero (*Cocos nucifera L.*); Documento elaborado por el Centro de Comunicación Agrícola de la Fundación Hondureña de Investigación Agrícola (FHIA). Septiembre 2008; [Citado: 10/05/2016]. Disponible en: <http://www.mcahonduras.hn/documentos/publicacioneseda/Manuales%20de%20produccion/EDA Manual Produccion Coco FHIA 09 08.pdf>
- (16) Torres, Nilka L, et al. Plantas medicinales de Panamá 2: Etnobotánica de la Reserva Forestal La Tronosa. Provincia de Los Santos. Universidad de Santiago de Chile. Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, vol. 16, núm. 4, julio, 2017, pp. 361-384. [Citado: 16/05/2016]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/856/85651256003.pdf>
- (17) Cuenca Quezada, Karina del Cisne. Determinacion de Tocoferoles, tocotrienoles mediante Cromatografía de gases acoplado a Espectrometría de Masas y medición de la capacidad antioxidante usando el método de decoloración de catión radicales ABTs, empleando un

espectrofotómetro UV visible en cuatro especies de Areaceae de la provincia de Loja y el Oro. Universidad técnica Particular de Loja. Ecuador 2014. [Citado: 05/06/2016]. Págs. 1-79. Disponible en: http://dspace.utpl.edu.ec/bitstream/123456789/10727/1/Cuenca_Quezada_Karina_del_Cisne.pdf

(18) Barahona Calle, Viviana Catherine. Evaluación de la actividad antioxidante y valor nutracéutico de las hojas y frutos de la guanábana (*Annona Muricata*). [Tesis] Escuela superior politécnica de Chimborazo. Facultad de ciencias: Escuela de Bioquímica y Farmacia. Ecuador 2013. [Citado: 05/06/2016] Págs. 1-166 Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/2453/1/56T00321.pdf>

(19) Silvia Cristina Paladino. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos contenidos en la semilla del Vid (*Vitis Vinifera L.*). [Tesis]. Universidad Nacional de Cuyo, La Rioja, Añ Juan y San Luis. Facultad de ciencias agrarias. Cuyo. [Citado:05/06/2016]. Págs. 1-100. Disponible en: <http://bdigital.uncu.edu.ar/objetosdigitales/2627/tesispaladino.pdf>

(20) García F. Evaluación in vitro e in vivo de la funcionalidad de un producto rico en antioxidantes. [Tesis doctoral]. Universidad de Murcia. Europa 2005. [Citado: 09/05/2016] Págs. 1-202 Disponible en: <https://digitum.um.es/jspui/bitstream/10201/175/2/GarciaAlonso2de2.pdf>

(21) Enciso Gutiérrez Javier; Amiel Pérez Jos ; Guija Poma Emili ; Fukusaki 2 Yoshizawa Alejandro; Reátegui Arévalo Oscar; Amiel Peña David; Enciso Benavides Nathaly; Valdivia Elfer; Rodríguez Bayona Rafael; Neyra Landa Katia. Actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico de cuatro plantas medicinales y estimulación de la proliferación de fibroblastos. Universidad Científica del Sur. Perú 2010. Rev Soc Quím Perú. 76 (1) [Citado: 09/05/2016] Págs. 1-7 Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v76n1/a08v76n1.pdf>

(22) Guimed Rojas, Raúl. Evaluación de la actividad Antioxidante y Determinación de polifenoles totales in vitro, de las hojas de ocho morfotipos de *Bixa Orellana L.* [Tesis]. Universidad nacional de la Amazonia peruana. Perú 2012. [Citado: 09/05/2016]. Págs. 1-92. Disponible en: <http://dspace.unapiquitos.edu.pe/bitstream/unapiquitos/122/1/EVALUACION%20DE%20LA%20ACTIVIDAD%20ANTIOXIDANTE%20Y%20DETERMINACION%20DE%20POLIFENOL%20TOTALES%20IN%20VITRO%20DE%20LAS%20HO.pdf>

(23) Tovar del Rio Jennifer. Determinación de la actividad antioxidante por DPPH Y ABTS de 30 plantas recolectadas en la Ecoregión cafetera. Universidad tecnológica de Pereira. Pereira 2013. [Citado: 23/05/2016] Págs. 1-150 Disponible en: <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/11059/3636/1/54763T736.pdf>

(24) García F. Evaluación in vitro e in vivo de la funcionalidad de un producto rico en antioxidantes. [Tesis doctoral]. Universidad de Murcia. Europa 2005. [Citado: 09/05/2016] Págs. 1-202 Disponible en: <https://digitum.um.es/jspui/bitstream/10201/175/2/GarciaAlonso2de2.pdf>

(25) Kuskoski, E. Marta, Asuero Agustín, Troncoso Ana M, Mancini-Filho Jorge, Fett Roseane. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Cienc. Tecnol. Aliment.* [Online]. 2005, vol.25, n.4, pp.726-732. ISSN 1678-457X. [Citado: 09/05/2016] Disponible en: <http://www.scielo.br/pdf/cta/v25n4/27642.pdf>

(26) Coronado H M, Vega y León S, Gutiérrez T R, Vázquez F M, Radilla V C. Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Rev Chil Nutr* [Internet]. 2015 Jun [cited 2017 May 16];42(2):206–12. Available from: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182015000200014&lng=en&nrm=iso&tlng=en

(27) Barajas Meneses Fabiola, Fernández Alonso José Luis, Galindo Tarazona Robinson. Diversidad y composición de la familia boraginaceae en el departamento de Santander (COLOMBIA). Publicado: 2005. *Caldasia* 27(2) págs. 1-22. [Citado: 26/04/2016]. Disponible en: [http://digital.csic.es/bitstream/10261/33317/1/2005_Fernandez-Alonso_Caldasia27\(2\).pdf](http://digital.csic.es/bitstream/10261/33317/1/2005_Fernandez-Alonso_Caldasia27(2).pdf)

ANEXOS

