

UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

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

**CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES Y
CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO
METANÓLICO Y ACUOSO DE LAS HOJAS DE *Ambrosia
peruviana all* (Altamisa)**

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

Autor (a):

JOSE NOEL FERNANDEZ DELGADO

ORCID: 0000-0001-5898-8793

Asesor (a):

Dr. GERMÁN EDUARDO ISAAC AZNARÁN FEBRES

ORCID: 0000-0002-3151-9564

CHIMBOTE – PERÚ

2019

**CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES Y
CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO
METANÓLICO Y ACUOSO DE LAS HOJAS DE *Ambrosia
peruviana all* (Altamisa)**

EQUIPO DE TRABAJO

AUTOR

JOSÉ NOEL FERNÁNDEZ DELGADO

ORCID: 0000-0001-5898-8793

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

ASESOR

Dr. GERMAN EDUARDO ISAAC AZNARÁN FEBRES

ORCID : 0000-0002-3151-9564

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

JURADO

Dr. JORGE LUIS DÍAZ ORTEGA

ORCID: 0000-0002-6154-8913

Mgtr. TEODORO WALTER RAMIREZ ROMERO

ORCID: 0000-0002-2809-709X

Mgtr. EDISON VASQUEZ CORALES

ORCID: 0000-0001-9059-6394

JURADOS EVALUADOR

Dr. Jorge Luis Díaz Ortega

ORCID:0000-0002-6154-8913

Presidente

Mgtr. Teodoro Walter Ramírez Romero

ORCID: 0000-0002-2809-709X

Miembro

Mgtr. Édison Vasquez Corales

ORCID : 0000-0001-9059-6394

Miembro

Dr. German Eduardo Isaac Aznarán Febres

ORCID: 0000-0002-3151-9564

DTI

AGRADECIMIENTO

En primer lugar mi agradecimiento a dios por proveerme la vida y a la de mi familia, y hacer posible tenerla a mi lado cada minuto y por la salud que me obsequia y poder realizar mi proyecto.

Agradesco a mi padre que me cuida desde el cielo, a mi madre que con esfuerzo y sacrificio me formo en lo que soy, y a mis hermanos por su gran apoyo, para poder alcanzar mis metas.

Expreso mi agradecimiento a la ULADECH católica por formarme como profesional en el terreno de la salud y especial agradecimiento a la escuela de Farmacia y Bioquímica, quien me abrió las puertas de la enseñanza humanista y científico.

Agradecer por el apoyo incondicional al Mgtr Édison Vasquez Corales, Prof, Mili Ormeño, Mgtr Liz Elva Zevallos Escobar, y a mi asesor actual Dr German Eduardo Isaac Aznarán Febres, por su especial apoyo.

DEDICATORIA

A mis padres:

El presente trabajo de investigación esta dedicado en primer lugar a Dios, a mis padres Corina y José por regalarme la vida y por inculcarme el respeto y sacrificio para conseguir mis metas y ser alguien en la vida, siempre conte con su apoyo incondicional para poder alcanzar mis metas.

A mis hermanos(as)

A mi hermano Dinel, hermanas, Judiht, Mara, a mi sobrino Jahaziel, Evelin y Cynthia, por su apoyo incondicional y por ser un ejemplo de superación para mi en la vida, y en el día a día.

A mi asesor

Al Dr German Eduardo Isaac Aznarán Febres por su aporte, de sus conocimientos científicos en el mejoramiento de mi proyecto de investigación.

RESUMEN

Algunos vegetales poseen características muy específicas como es la acción antioxidante, y que resultan en un beneficio en las personas frente a los agentes oxidantes tanto exógenos como endógenos, que causan daño a nuestro organismo, relacionado con el proceso metabólico a corto o largo plazo. El objetivo de la presente investigación es determinar el contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante del extracto metanólico y acuoso de las hojas de *Ambrosia Peruviana All*(Altamisa), a través de espectrofotometría empleando el método de Folin Ciocalteu y empleando catequinas, se definió la cantidad de polifenoles totales en el extracto metanólico, infusión y decocción. La acción antioxidante se valoró con el reactivo de DPPH y como referencia Trolox. El contenido de polifenoles totales de la extracción metanólica exhaustiva, infusión y decocto fue de 13.20 ± 0.28 , 20.76 ± 0.26 y 25.04 ± 0.60 expresado en mg de catequina eq./g de muestra seca respectivamente. En relación a la actividad antioxidante de la extracción metanólica exhaustiva , infusión y decocto es equivalente a una concentración de 57.18 ± 0.55 , 89.03 ± 2.37 y 89.92 ± 4.99 , expresado en mM Trolox eq/1 g muestra seca respectivamente. se finaliza que la muestra de *Ambrosia peruviana all* (Altamisa), muestra polifenoles totales y capacidad antioxidante.

Palabras claves: *Ambrosia Peruviana all*, contenido polifenoles, capacidad antioxidante, DPPH.

ABSTRACT

Some vegetables have very specific characteristics such as antioxidant action, and that result in a benefit in people against both exogenous and endogenous oxidizing agents, which cause damage to our body, related to the metabolic process in the short or long term. The objective of the present investigation is to determine the total polyphenol content and antioxidant capacity of the methanolic and aqueous extract of the leaves of *Ambrosia Peruviana* All (Altamisa), through spectrophotometry using the Folin Ciocalteu method and using catechins, the amount of total polyphenols in the methanolic extract was defined, infusion and decoction. The antioxidant action was assessed with the DPPH reagent and as Trolox reference. The total polyphenol content of the exhaustive, infusion and decoction methanolic extraction was 13.20 ± 0.28 , 20.76 ± 0.26 and 25.04 ± 0.60 expressed in mg of catechin eq./g of dry sample respectively. Regarding the antioxidant activity of exhaustive, infusion and decoction methanolic extraction is equivalent to a concentration of 57.18 ± 0.55 , 89.03 ± 2.37 and 89.92 ± 4.99 , expressed in mM Trolox eq / 1 g dry sample respectively. It is concluded that the sample of *Ambrosia peruviana* All (Altamisa), shows total polyphenols and antioxidant capacity.

Keywords: *Ambrosia Peruviana* All, polyphenol content, Antioxidant capacity, DPPH.

INDICE

EQUIPO DE TRABAJO	iii
JURADO EVALUADOR	iv
AGRADECIMIENTO	v
DEDICATORIA	vi
RESUMEN	vii
ABSTRACT	viii
INDICE	ix
INDICE DE GRAFICOS, TABLAS Y CUADROS	xii
I. INTRODUCCIÓN	13
1.1. Objetivos	15
a. Objetivo general.....	15
b. Objetivos específicos	15
1.2. JUSTIFICACIÓN	16
II. REVISIÓN DE LITERATURA	16
2.1. Antecedentes	16
2.2. Bases teóricas.....	18
2.2.1. Ambrosia peruviana wild (Altamisa).....	18
2.2.2. Principios activos.....	19
2.2.3. Taxonomía	19
2.2.4. Hábitat.....	19
2.2.5. Uso tradicional.....	20
2.2.6. Propiedades	20
2.2.7. Farmacología	20

2.2.8. Antioxidante.....	21
2.2.9. Daño antioxidante.....	21
2.2.10. Radicales libres.....	21
2.2.11. Especie reactiva (EROs).....	22
2.2.12. Peroxidación lipídica.....	23
III. HIPOTESIS.....	23
IV. METODOLOGÍA.....	23
4.1. Diseño de la investigación.....	23
4.1.1. Obtención de los extractos.....	24
4.1.2. Preparación del extracto metanólico- 80%, extracción exhaustiva.....	24
4.1.3. Preparación del extracto por infusión.....	24
4.1.4. Preparación del extracto por decocción.....	25
4.1.5. Determinación de la capacidad antioxidante según el método de DPPH.....	25
4.1.6. Determinación de polifenoles totales mediante el método de Folin- Ciocalteu.....	26
4.1.7. Equipos de laboratorio y reactivo.....	27
4.2. Población y muestra.....	27
4.3. Definiciones y operacionalización de variables.....	28
4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	29
4.5 Plan de análisis.....	29
4.6 Matriz de consistencia.....	30
4.7.Principios éticos.....	31
V. RESULTADOS.....	32
5.1. Resultados.....	32
5.2. Analisis de resultados.....	34
VI. CONCLUSIONES.....	35

REFERENCIAS.....	36
Anexos	38

INDICE DE TABLAS, GRÁFICOS Y CUADROS

TABLA 1: Promedio y desviación estándar del contenido de polifenoles totales en el extracto metanólico infusión y decocto de las hojas de <i>Ambrosia peruviana all</i> (Altamisa). expresados a una concentración en mg de catequina eq. / 1g de muestra seca	32
TABLA 2: Promedio y desviación estándar de la capacidad antioxidante en el extracto metanólico, infusión y decocto de las hojas de <i>Ambrosia peruviana All</i>(Altamisa) expresado a una concentración equivalente mM de trolox / 1g como estándar de la actividad antioxidante de muestra seca.....	33
GRAFICO 1: Curva de calibración de polifenoles totales utilizando catequinas como estándar	39
GRAFICO 2: Curva de calibración (ó estándar) del trolox mM como estándar de la actividad antioxidante	40

I. INTRODUCCIÓN

El presente proyecto de investigación pertenece al proyecto línea de investigación de plantas medicinales de importancia terapéutica de la escuela profesional de Farmacia y Bioquímica de ULADECH CATÓLICA.

Al hombre le han heredado sus antepasados enseñanzas sobre el uso de las plantas medicinales y que lo aprendieron con la experiencia y su relación muy cercana con la naturaleza y de la interacción con otros pueblos. Estos conocimientos han servido para ayudar en momentos de emergencias de salud, en sitios donde no hay servicios de salud y donde solo reciben ayuda de personas conocedoras de plantas medicinales(yerbateros). Actualmente se están enfocando las investigaciones sobre plantas medicinales desde su recolección, almacenamiento, procesamiento como una alternativa de tratamiento médico-terapéutico, en las comunidades o lugares muy apartados los llamados curanderos.¹

Según estudios basados en reportes de la OMS, los fármacos herbarios comprenden los pastos, especies herbolarias, elaboraciones herbolarias y artículos herbolarios concluidos, poseedores de metabolitos secundarios extraídos de las plantas u otros elementos vegetales, su empleo esta instaurado considerablemente y comprobado como inocuo y eficaz.^{2.1}

En estos tiempos, Ecuador y en varias naciones del mundo como España, Alemania y Francia y como lo demuestran muchas investigaciones, 1 de cada 3 individuos (32,8%), utiliza especies vegetales con fines terapéuticos. ^{2.2}

Existen investigaciones que han centrado su interés en los beneficios de llevar una nutrición antioxidante rica en frutas, hortalizas, vino y aceite de oliva, relacionada con la

disminución de las carencias cerebrales relacionados a la edad y podría evitar el estrés oxidativo la cual provoca la muerte neuronal y daños neurovasculares. La oxidación ocurre cuando las partículas contenidas en los tejidos reaccionan con los productos que incluyen oxígeno provocando lesiones en las partículas, estas lesiones crecen con la edad, ingesta de ácidos grasos polisaturados, cigarrillos y toxinas, y esto relacionado con el menor número de compuestos antioxidantes defensores en tejido neuronal. Existen pruebas de que la elaboración de radicales libres en las neuronas influye en el progreso de la neuropatología que es la causante del declive cognitivo.³

Las partículas o conjunto de partículas que poseen su electrón desapareado se denominan radicales libres, son muy reactivos y atrapan un electrón de moléculas estables, causando una reacción en cadena que mata nuestras células. Su ciclo biológico del radical son microsegundos, reacciona con su entorno, ocasionando un deterioro de las membranas celulares, destrucción de moléculas y tejidos por envenenamiento.⁴

El oxígeno de naturaleza oxidante, lo usan nuestras células metabólicamente y fabrican especies reactivas del oxígeno (ERO). Estas pueden ser endógenos y exógenos, como la propagación solar, toxinas micóticas, plaguicidas o xenobióticos. Gran parte del oxígeno (O₂), es transformado por las células en agua sin tóxicos y el 5% se convierte en tóxicos como, el anión superóxido y el hidroxilo (radicales libres), que tienen que ver con procesos inflamatorios. Causado por gran cantidad de elementos oxidantes.^{4.1}

La especie *Ambrosia peruviana* o altamisa es utilizada comúnmente como hipotensor, antiespasmódico, depurativo, diaforético y desordenes menstruales. En otros lugares como en los llanos de Venezuela. La altamisa es empleada para contrarrestar el malestar corporal, fiebre, jaqueca, hipotensión, úlceras, maculas en la piel, varices, cicatrices,

desordenes menstruales. La clase Ambrosia tiene investigaciones como antioxidante por sus fitoconstituyentes hallados como flavonoides y glicósidos y estos se están usando para el manejo de infecciones por *Schistosoma mansoni*, antiepiléptico y como antiinflamatorio por el poder de su fitoconstituyente cumain, de suspender la elaboración de óxido nítrico, esencial intermediador en los estados inflamatorios.⁵

Los análisis fotoquímicos que se le practico a *Ambrosia arborescens*, hallo flavonoides, con respecto al genero flavonoles, se hallan en hojas y partes verdes del vegetal, se propone que dichos compuestos sean los encargados de una mecánica de defensa de las células a la agresión de rayos UV, debido a su capacidad de atraer en dicha región del espectro, permitiendo el paso de longitudes de onda dentro de lo visible fotosintéticamente activas. Los flavonoides han obtenido importancia a razón de su actividad biológica en el humano, que lo come con las hortalizas. Los flavonoides tienen poderes muy apreciadas en medicina, como antimicrobianos, anticancerígenos, disminución del riesgo de enfermedades cardíacas, entre otros efectos.⁶

Varios análisis ejecutados indican que *Ambrosia artemisiifolia* (Altamisa) goza de actividad antioxidante y se confirmó por el sistema espectrofotométrico que tiene un efecto protector sobre la aterosclerosis, Parkinson, encefalopatías mialgia, sensibilidad química múltiple y mal de Alzheimer y puede ser esencial en el envejecimiento, la manera más idónea de aplicación seria vía oral. El rendimiento de los análisis demostró mayor proporción de compuestos fenólicos, flavonoides y taninos, estos están fuertemente vinculadas con sus propiedades farmacológicas y medicinales de la Altamisa (*Ambrosia*

artemisiifolia), llegando a la conclusión que la especie estudiada posee regular potencial antioxidante.⁷

En base a lo antes descrito se plantea la siguiente pregunta de investigación ¿Tendrá actividad antioxidante y cuantificación de polifenoles del extracto de las hojas de *Ambrosia peruviana* All (Altamisa)?

El trabajo de investigación se desarrollará según la metodología de la cantidad de polifenoles totales por el método de Folin_Ciocalteu y capacidad antioxidante por DPPH de las hojas de *Ambrosía peruviana all*(Altamisa) para lograr dichos resultados se preparará un extracto hidroalcohólico.

1.1. OBJETIVOS DE LA INVESTIGACIÓN

a) OBJETIVO GENERAL

Determinar el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante del extracto metanólico y acuoso de las hojas de *Ambrosía peruviana All* (Altamisa).

b) OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Determinar el contenido de polifenoles totales del extracto metanólico y acuoso de las hojas de *Ambrosia peruviana all* (altamisa), expresado en mg de catequina eq./ g en muestra seca.
- Determinar la capacidad antioxidante del extracto metanólico y acuoso de las hojas de *Ambrosia peruviana all* (altamisa), expresado en mM de trolox eq. / g en muestra seca.

1.2. JUSTIFICACIÓN

Decidí realizar este proyecto de investigación para dar a conocer, la cantidad de polifenoles y nuevos beneficios de la actividad antioxidante de sus metabolitos secundarios de la hoja de Ambrosía peruviana all(Altamisa), entre los beneficios de la planta en estudio está el de aportar a la medicina alternativa con nuevas investigaciones, para su posterior uso terapéutico antioxidante en mi sociedad.

II. REVISION DE LITERATURA

2.1 ANTECEDENTES

Galvez J, en el 2018 en Perú, determino el contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante de Ficus Carica(Higo) 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 μ L de extracto metanolico al 80%, luego 500 μ L 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 nanómetros⁸.

Determinación de la capacidad antioxidante según el método de DPPH En una cubeta se adiciono 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 se ello se agregó 50 μ L del extracto de hojas de Ficus Carica y se coloco a oscuridad por un tiempo de 15 min para obtener la reacción, finalmente se obtuvo la absorbancia a tiempo 15 (DPPH t15) realizándose el análisis por triplicado, para cada una de las muestras. Se utilizó estándares de Trolox a concentraciones de 0.05; 0.1; 0.2; 0.4; 0.8 mM, para obtener la curva de calibración ^{8.1}.

Para determinar el % de inhibición se utilizo la siguiente formula.

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

DPPHt0

Echevarría ,en el 2016 en Ecuador et al. Realizaron estudios acerca del poder antioxidante de los extractos y se calculó mediante la suficiencia retenedora del radical DPPH• (1,1-difenil-2-picrilhidrazil) usando una capacidad de 990 μ L de una disolución metanólica de DPPH se combinó con 10 μ L de las disoluciones hidroetanólicas (50:50) de cada extracto a diferentes densidades; las soluciones se apartaron para relajamiento y se llevó a oscuridad por 30 minutos, se interpretó la absorbancia a 517 nm en un espectrofotómetro. Los rendimientos fueron transformados a proporción de inhibición y declarados como suficiencia antioxidante en μ mol de equivalentes Trolox (ácido 6- hidroxil-2,5,7,8-tetrametilcromo-2-carboxílico); TE) /equivalente (AAE) a ácido Ascórbico. las especies con mejor porcentaje fueron: 97,9% moringa y diente de león 71.2% a 100 μ g/ml, demostraron mayor poder antioxidante por el método de DPPH⁹.

Criollo, en el 2015 en Ecuador, en su trabajo de investigación determinó cuantitativamente los Polifenoles en el extracto de las hojas de Altamisa (*Ambrosia artemisiifolia*), para la solución patrón, se pesó 50 mg de ácido tánico y se aforó en 100 ml de agua destilada. Se preparó soluciones guía de ácido tánico con densidades de 0, 2, 4, 6, 8 y 10 mg/L usando una disolución guía de ácido tánico de 50mg/L y aforando, se pesó 25mg de ácido tánico y se completó en matraz de 100ml con agua destilada y se cogió 20ml y se completó en un balón volumétrico de 100ml. Luego se agregó 1ml de disolución de Na₂CO₃ al 20%, se revolvió, enrasó con H₂O destilada y homogenizó. Se interpretó la absorbancia de las disoluciones en el espectrofotómetro a 700nm. El volumen de fenoles del extracto acuoso de *Ambrosia artemisiifolia* se evaluó a través de la fórmula que se consiguió en la curva de graduación, este coste fluctúa entre 10,163 ug/g, el volumen para taninos fluctúa entre 7,113 ug/g lo que la vuelve elegible a esta especie para la separación de principios activos, como: fenoles y taninos encargados de la acción antioxidante^{7,2}.

Evaluación de la acción del radical libre 1,1- difenil-2-picril hidracilo (DPPH), Se pesó 100mg de sustancia vegetal (Altamisa) y se añadió 25 ml de disolución hidro etanólica (50:50), se dejó descansar por 24 horas, luego se tamizó y con el tamizado se ensayó. El blanco se preparó agregando en una cánula de prueba metanol agua 2:1. Se cogió 0,5ml de patrón y se agregó 1,5 ml de metanol. Guía de referencia: Se dispuso 1,5ml de DPPH y 0.5ml de agua destilada. Para la ejecución de la curva de graduación se empleó al ácido ascórbico como guía, se ejecutó concentraciones de 100 µg/ml, 200 µg/ml, 1000 µg/ml y 4000 µg/ml. Se tomó de cada concentración 0,5 ml y se agregó 1,5ml de DPPH, se dejó en descanso durante 5 minutos y se interpreta en el espectrofotómetro a 517nm. Un volumen de 1,5 ml de una solución metanólica de DPPH se mezcló con 0,5ml de las soluciones hidroetanólica (50:50) en varias concentraciones; las mezclas se dejaron en

reposo y en ausencia de luz durante 30 minutos. pasado esta etapa se interpretó la absorbancia a 517nm en el espectrofotómetro. Los rendimientos fueron vinculados con relación del ácido ascórbico. El potencial antioxidante del extracto de *Ambrosia artemisiifolia* de cara al radical DPPH medida en IC50 es de 40.71 µg/mL, el cual señala una medida capacidad antioxidante.^{7.1}

2.2. BASES TEORICAS

2.2.1. *Ambrosia peruviana willd*(Altamisa)

Se conocen 204 géneros y 784 géneros oriundos del grupo Asterácea, división Magnoliophyta, la *Ambrosia peruviana_willd* es un arbusto de 1-2 mt, de largo, las hojuelas son ovales con el ápice afilado pedúnculo corto y con poco pelo en los dos lados, la flor es hermafrodita ,se halla entre México y américa del sur se desarrollan en lugares de baja temperatura, regiones andinas-cordillera y costera, llamada popularmente altamisa ,artemisa, altamiz, alcanfor(Cuba), Maki(Bolivia) y en el llano Venezolano, tiene efectos antiepilépticos, antiinflamatorios por acción de su fitoconstituyente cumain(inhíbe el óxido nítrico), antioxidante(flavonoides y glicosidos), infecciones.^{5.1}

2.2.2. Principios activos

En hojas se encontraron, el gamma-curcumeno , ar-curcumeno, acetato de bornilo , camfor y epóxido de oximeno, aceites esenciales, además se hallaron por marcha fotoquímica alcaloides, glucosados cardiotónicos, quinonas, flavonoides, carbohidratos, saponinas y taninos.^{5.2}

2.2.3. Taxonomía

Reino: Plantae.

División: Magnoliophyta.

Familia: Asteráceae.

Genero: Ambrosia.

Nombre científico: Ambrosia peruviana all.

Nombre común: Altamisa, altamisa, artemisa, alcanfor (Cuba), Maki (Bolivia).^{5.3}

2.2.4. Hábitat

Se encuentra en Arequipa, la parte norte y sierra del Perú, crece como maleza en los cauces de ríos y canales de regadío, la especie se halló en la zona de Vinzos, cuya altitud es de 157 m s n m, Latitud Sur :8° 48' 9" S (-8.80250628000), Latitud Oeste :78° 33' 11.1" W (-78.55308077000), perteneciente al distrito de Chimbote, provincia de Santa, región Ancash.

2.2.5. Uso tradicional

La altamisa es usada para el malestar corporal, estados febriles, jaqueca , hipotensión, úlceras, macula en la piel, varices, cicatrices, desordenes menstruales.^{5.4}

2.2.6. Propiedades

La altamisa es utilizada como hipotensor, anticonvulsivo, purificador de la sangre, diaforético y desordenes menstruales.^{5.5}

2.2.7. Farmacología

También tiene acción antioxidantes por los flavonoides y glicosidos y que se utilizan en el tratamiento de infecciones de *Schistosoma mansoni* y antiepiléptico, tiene efectos antiepilépticos, antiinflamatorios por acción de su fitoconstituyente cumain (inhibe el óxido nítrico), infecciones.^{5.6}

2.2.8. Antioxidante

Un antioxidante es un elemento que manifiesta concentraciones muy pequeñas equiparables con la de un sustrato oxidable que reduce o elude la oxidación , bioquímicamente puede definirse como aportador de electrones, capaz de eludir una reacción en serie de redox, han sido catalogados según su configuración química y participación biológica: antioxidantes enzimáticos: cuya especificidad es bloquear por distintos artilugios la retracción univalente del oxígeno mediadas por estructuras

enzimáticas, inactivar a las especies reactivas oxidantes (ERO), por medio de la super oxidado dismutasa (SOD), la Catalasa(CAT) y glutatión peroxidasa (GSH – Px). No enzimáticos: como el glutatión en estado disminuido(GSH), minerales como Se, Zn, rivoflanina, ácido ascórbico y el α - tocoferol (vitamina E), se comportan como cofactores de enzimas que retrasan o bloquea la oxidacion.¹⁰

2.2.9. Daño oxidante

El trastorno que puede provocar el estrés oxidante, se puede manifestar por dos medios, el primero es oxidando inmediatamente a las moléculas biológicas y en segundo lugar es dañando de forma indirecta en la inestabilidad homeostático, donde se producen sucesiones no oxidantes.^{10.1.}

2.2.10. Radicales libres

Son en conjunto aquellas variedades químicas saturados o no, que, en su configuración química, muestran un electrón solitario en un orbital exterior, que les otorga una estructuracósmica creadora de gran inestabilidad, poseen una corta vida por lo que intervienen próximo al lugar donde se forman y son complicados de determiar.se generan por distintos mecanismos como la cadena transportadora de electrones a altura microsomal, y en cloroplastos. El oxígeno y sus radicales libres poseen una ocupación funcional en el individuo, interviene en la fagocitosis, ayudan en la elaboración de colágeno, yproducción de prostaglandinas, estimulan enzimas de la membrana celular y ayuda en la quimiotaxis, los importantes tipos reactivos del oxígeno son: Radical

hidroxilo(OH)⁺, Peróxido de Hidrogeno(H₂O₂), Anión Su peróxido(O⁻).¹¹

3.2.11. Especie Reactiva Oxidante (ERO)

El oxígeno es un partícula elementalmente oxidante, las células que lo emplean en su asimilación y es el primer causante de generar tipos reactivos oxigenados(ERO), todos los

tipos oxidantes tienen raíz endógena, la presencia de agentes exógenos: la radiación solar, sustancias tóxicas producidas por mohos, pesticidas, fármacos y carcinógenos químicos, podrían aumentar su nivel, las células transforman una gran parte del oxígeno con producción de agua sin creación de mediadores tóxicos y una reducida proporción crean tres mediadores de elevada toxicidad, dos son textualmente sustancias libres(O₂⁻) y (OH)⁺ , en ocasiones donde se produzca gran acción metabólica(fase de aumento, crecimiento activo o curso inflamatorio) pasa por un gran requerimiento tisular de O₂ y una parte se transforma produciéndose un elevado número de componentes oxidantes.¹²

3.2.12. Peroxidación Lipídica

Las células poseen a su alrededor un tegumento o epitelio, que lo aísla del medio extracelular, este epitelio celular está constituido de proteínas que juegan funciones esenciales en la interacción de célula a célula, hormonas e intermediarios normalizadores de los fluidos extracelular. La configuración elemental de todo epitelio biológico es la bicapa lipídica, la que se desempeña como un muro de permeabilidad selectiva, de gran contenido en ácidos grasos poliinsaturados(PUFAs), lo que lo vuelve vulnerable a la

agresión de radicales libres que provocan la peroxidación lipídica, básicamente estimulada por un radical OH⁺, que quita un H a la serie lateral de un ácido graso generando una sustancia carbonada, produciendo una serie de reacciones oxidativas. Los antioxidantes suelen producir complejos inalterables evitando la actividad catabólica de los radicales libres en el epitelio celular.^{12.1}

III. HIPOTESIS

Hipótesis implícita

IV. METODOLOGIA

4.1. Diseño de la investigación

Este trabajo de investigación corresponderá a un estudio de tipo no experimental.

De nivel descriptivo y de investigación básica y transversal (tiempo).

4.1.1 Obtención de los extractos

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

Para obtener el extracto se pesó 0,23g de hojas pulverizadas y secas, esta se agregó a un tubo de ensayo (envuelto con papel aluminio) y se agrega 15ml de MeOH al 80%, + 0,1% de Ac. Fórmico, el cual es el solvente necesario para lograr un buen resultado, se procede a llenar a un tubo de ensayo con tapa rosca o también llamado tubo Falcón. luego se

deposita sobre un vaso de precipitación y se lleva a un agitador magnético durante 30 minutos, posterior a ello se centrifuga a 6000 rpm durante 5 minutos, este proceso se repite 3 veces por cada muestra por separado, en cada repetición se separa el sobrenadante y esta se coloca en una fiola 50ml(envuelto en papel aluminio) , luego se lleva a volumen con MeOH 80% y se almacena en el congelador hasta el momento del análisis respectivo.¹³

4.1.3. Preparación del extracto por infusión

Se pesa 1,3g de la muestra pulverizada, se usa luna de reloj en balanza analítica, luego se adiciona en un vaso de precipitación, 200 ml de agua destilada previamente medida en probeta, luego se lleva a calor(cocina) a 200°C, se espera que hierva(10 min), y se agrega 1,3g polvo seco pulverizado y tamizado, luego se retira de la cocina y se tapa con papel de aluminio y se espera hasta su total enfriamiento, luego se filtra sobre un embudo conteniendo papel filtro depositándose el filtrado en una fiola de 200ml, se refrigera hasta su posterior uso.¹⁴

4.1.4. Preparación del extracto por decocción

Se pesa 1,01g de la muestra seca pulverizada y tamizada sobre luna de reloj en balanza analítica, luego se vació en un vaso de precipitación y al mismo tiempo se agregó 200 ml de agua destilada previa medida en probeta, se lleva a cocina a 200 °C hasta ebullición, se controla 10 minutos en adelante(ebullición), y la par se baja la T° a 100°C y se tapa con papel aluminio, luego del tiempo transcurrido se retira de la cocina su total enfriamiento y se filtra usando un embudo conteniendo un papel de filtro, depositándose

el filtrado en una fiola 200ml y se refrigera hasta su posterior uso.^{14.1}

4.1.5. Determinación de la capacidad antioxidante por el método de 2,2-

Difenil-1- picrylhydrazyl (DPPH):

Se preparó 100 ml del reactivo con metanol, para ello se utilizó 2,3mg de polvo de DPPH y se aforó con metanol en la fiola de 100ml, para tenerlo a una concentración de 0.06 mM. En una cubeta se adicionó 1450 μ L de DPPH a una concentración de 0.06 mM, luego se llevó a leer al espectrofotómetro a una longitud de onda de 515nm para obtener la absorbancia a tiempo cero (DPPH t0), a continuación, a ello se le agregó 50 μ L del extracto de hojas respectivamente y se dejó por 15 minutos en oscuridad para que reaccione, finalmente se obtuvo la absorbancia a tiempo 15 (DPPH t15). El análisis se realizó por triplicado para cada una de las muestras.

Como estándar se utilizó el Trolox a concentraciones de 0.5, 1.0, 2.5, 5, 7.5 y 10 mM, para obtener la curva de calibración, con la finalidad de relacionar la concentración de trolox , que es directamente proporcional a su capacidad de neutralizar al radical DPPH.

Para determinar el % de inhibición se utilizó la siguiente formula:^{12.1}

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

Leyenda: Absorbancia a tiempo 0 – absorbancia tiempo 15/ absorbancia tiempo 0 x 100.

4.1.6. Determinación de polifenoles totales por el método de Folin – Ciocalteu

En una fiola de 10ml se adiciono 2,5ml de agua destilada, luego se agregó el estándar de catequina a concentraciones de 0,5; 1; 2,5; 5; 7,5y 10 ppm(mg/L), para obtener la curva de calibración, a las demás fiolas se le adiciono 50 ul de extracto metanólico al 80%, 50 µl de muestra de infusión, y 50 µl de muestra de decocción respectivamente a cada fiola. posteriormente se agregó 500 µl de Folin Ciocalteu y se dejó reposar por 5 minutos en la oscuridad, pasado ese lapso de tiempo se adiciona 2ml de Na₂CO₃ al 10%, luego se afora con agua destilada y se vuelve a dejar en oscuridad por 90 minutos, el estudio se desarrolló por triplicado para cada una de las muestras, finalmente se realizó la lectura en el espectrofotómetro de marca UNICO 2800UV/VIS a una longitud de onda de 700 nanómetros.¹⁵

4.1.7. Equipos y materiales de laboratorio

- Equipo de reflujo
- Rota vapor
- Cocina eléctrica
- Vasos de precipitación
- Embudo de decantación
- Embudos y probetas
- Pipetas graduadas y tubos de ensayo
- Varillas de agitación
- Balones y capsulas de porcelana.
- Matraces y gradillas
- Papel filtro, espátula
- Frascos de vidrio color ámbar
- Centrifuga
- Cubetas de cuarzo
- Agitador magnético
- Espectrofotómetro

Reactivos

Metanol 80%

Reactivo de DPPH

Reactivo de Folin Ciocalteu

Na_2CO_3

Agua destilada

4.2. Población y muestra

La especie vegetal fue recolectada en la zona llamada, hacienda de Vinzos, Vinzos(entre la carretera de Santa y Vinzos), Provincia de Santa, Región de Ancash, en buen estado de desarrollo vegetativo durante el mes de enero, El estudio se realizó de las hojas del vegetal que fueron seleccionadas, lavadas, aireadas a temperatura medio ambiente y en sombra y luego llevadas a la estufa para su secado a una temperatura de 40 °C , durante 27 horas, luego fueron pulverizadas en un molino de cuchillas , tamizada y luego almacenadas en frascos de vidrio color ámbar hasta su posterior uso.

Muestra vegetal obtenida: 450 g de hojas de ambrosia peruviana all(Altamisa) pulverizadas.

4.3. Definición y Operacionalización de variables e indicadores

VARIABLES	Definición conceptual	Definición operacional	Indicador
Actividad antioxidante del extracto metanólico y acuoso de las hojas de <i>ambrosia peruviana</i> All(Altamisa)	Sustancia que al encontrarse con un sustrato oxidable, esta retarda la oxidación de la misma.	Capacidad de secuestro y/o inhibición de radicales libres. (DPPH) mediante espectrofotometría	mM trolox eq./g muestra seca
Cuantificación de Polifenoles totales del extracto metanólico y acuoso de las hojas de <i>ambrosia peruviana</i> All(Altamisa)	Son un grupo de sustancias heterogéneas que comparten uno o más grupos fenol por molécula, una característica común en su estructura molecular	Identificación de polifenoles totales con el método Folin-ciocalteu mediante espectrofotometría	mg catequina eq./g muestra seca

4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

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

4.5. Plan de análisis

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

4.4. Matriz de consistencia

TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN	FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPOTESIS	VARIABLES	DISEÑO DE INVESTIGACIÓN	METODOLOGÍA
<p>Contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante del extracto metanólico y acuoso de las hojas de <i>Ambrosia peruviana</i> all (Altamisa)</p>	<p>¿Tendrá el extracto metanólico y acuoso de las hojas de <i>Ambrosia peruviana</i> all(Altamisa), el contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante?</p>	<p>Objetivo general: Determinar el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante de las hojas de <i>Ambrosia peruviana</i> All(Altamisa)</p> <p>Objetivos específicos:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Determinar el contenido de polifenoles totales del extracto metanólico y acuoso de las hojas de <i>Ambrosia peruviana</i> all (altamisa), expresado en mg de catequina eq./ g en muestra seca. -Determinar la capacidad antioxidante del extracto metanólico y acuoso de las hojas de <i>Ambrosia peruviana</i> all (altamisa), expresado en mM de trolox eq. / g en muestra seca. 	<p>Implícita</p>	<p>Contenido de polifenoles totales en las hojas de <i>Ambrosia peruviana</i> all(Altamisa)</p> <p>Capacidad antioxidante de las hojas de <i>Ambrosia peruviana</i> all(Altamisa)</p>	<p>No Experimental</p> <p>Nivel: Descriptivo</p> <p>Tipo: Básico Transversal</p>	<p>Diseño de Investigación:</p> <ul style="list-style-type: none"> -Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu. -Determinación de la capacidad antioxidante por el método de DPPH.

4.5. Principios éticos

Teniendo en cuenta la Declaración de Helsinki, se promoverá la recuperación del conocimiento tradicional sobre el uso de plantas medicinales, no solo para preservar su legado cultural, sino también para registrar información relevante y demostrar científicamente sus efectos terapéuticos que servirán como nuevas fuentes de medicamentos y otros beneficios para la humanidad. En el caso del manejo de animales de experimentación se realizará con respeto de su bienestar de acuerdo a los propósitos de la investigación, promoviendo su adecuada utilización y evitándoles sufrimiento innecesario.

V.-RESULTADOS

5.1. Resultados

Tabla 1: Promedio y desviación estándar del contenido de polifenoles totales en el extracto metanólico infusión y decocto de las hojas de *Ambrosia peruviana all* (Altamisa). expresados a una concentración en mg de catequina eq. / 1g de muestra seca.

Muestra	Partes de la planta	Tipo de extracto	Polifenoles totales (mg de catequina eq./g de muestra seca)
	Hojas	Exhaustiva (Metanólico al 80%)	13.20 ± 0.28
Ambrosia peruviana	Hojas	Infusión	20.76 ± 0.26
	Hojas	Decocción	25.04 ± 0.60

Fuente: Datos propios de la investigación.

Tabla 2: Promedio y desviación estándar de la capacidad antioxidante en el extracto metanólico, infusión y decocto de las hojas de *Ambrosia peruviana* All(Altamisa) expresado a una concentración equivalente mM de trolox / 1g como estándar de la actividad antioxidante de muestra seca.

Muestra	Partes de la planta	Tipo de extracto	DPPH (mM trolox Eq./ 1g muestra seca)
	Hojas	Exhaustiva (Metanólico al 80%)	57.18 ± 0.55
Ambrosia peruviana	Hojas	Infusión	89.03 ± 237
	Hojas	Decocción	89.92 ± 4.99

Fuente: Datos propios de la investigación.

5.2. Análisis de resultados.

En la tabla 1. Muestra el contenido de polifenoles totales de la extracción metanólica exhaustiva, infusión y decocto fue de 13.20 ± 0.28 , 20.76 ± 0.26 y 25.04 ± 0.60 expresado en mg de catequina eq./g de muestra seca respectivamente

El género *Ambrosía peruviana all* (altamisa) no cuenta con muchos estudios reportados de contenidos de polifenoles totales, pero una investigación ejecutada por Gálvez J en 2018, sobre la especie *Ficus Carica* (higo), crece en toda la zona de Ancash , cuantifico polifenoles en extracto metanólico 80% de hojas seca, el contenido de polifenoles fue de $58,54 \pm 6.18$ mg de catequina equivalente/g de hoja seca, siendo este valor superior a los obtenidos en los extractos de nuestra planta.^{15.1}

En la tabla 2 presenta los siguientes valores en relación a la capacidad antioxidante de la extracción metanólica exhaustiva , infusión y decocto, es equivalente a una concentración de 57.18 ± 0.55 , 89.03 ± 2.37 y 89.92 ± 4.99 , expresado en mM Trolox eq/1 g muestra seca respectivamente.

La especie *Ambrosia peruviana all*(Altamisa),es muy conocida popularmente pero muy pobre en investigaciones reportadas. Un estudio realizado por Gálvez J en 2018, sobre la especie *Ficus carica*(higo), crece en toda la zona de Ancash y muestra que el extracto metanólico 80% obtuvo el mayor valor, 156.80 ± 27.19 expresado en mM Trolox Eq./1g muestra seca, siendo este un valor superior a $57,18 \pm 0,555$ de nuestra planta evaluada.^{15.2}

Vera en el año 2008, realizó un screening fitoquímico de una planta de la flora del Ecuador: *Ambrosia arborescens* y, sometida a RP-HPLC, empleando como solvente una mezcla de MeOH: H₂O (1:1), dio lugar al aislamiento del siguiente constituyente:

3',4',5,7-tetrahydroxy-3,6,8-trimethoxy flavone ^{6.1}.

Maksimović en el año 2008, evaluó la actividad antioxidante en extractos acuosos de acetona al 70% de la especie de *Ambrosia* (*artemisiifolia* L., Asteraceae) con relación al contenido total de polifenoles y flavonoides. El estudio cualitativo por TLC evidenció que los flavonoides y los ácidos fenólicos podrían atribuirse como los constituyentes principales del extracto. Después de la separación cromatográfica y derivación química de cromatogramas obtenidos con NP / PEG reactivo, los flavonoides se localizaron en la mitad superior como regiones de tono amarillo anaranjado con fluorescencia anaranjada distinta en UV 366, mientras que los ácidos fenólicos presentaron fluorescencia azul brillante bajo las idénticas condiciones, los aglicones flavonoides (en la parte delantera) y los glucósidos parecidos fueron observados e identificados tentativamente como quercetina y luteolina derivados¹⁶.

VI. CONCLUSIONES

1.-Se concluye que la cantidad de polifenoles totales de los tres extractos de las hojas *de Ambrosía peruviana All* (Altamisa) arrojó buen porcentaje , siendo el extracto acuoso por decocción con 25.04 ± 0.60 , mg de Catequina Eq /g muestra seca con mayor cantidad de polifenoles.

2.- Con respecto a la capacidad antioxidante utilizando el método de secuestro de radicales libres DPPH de los tres extractos de hojas de *Ambrosía peruviana all*(Altamisa) presentaron buen porcentaje, siendo el extracto acuoso por decocción expresado en una concentración equivalente a 89.92 ± 4.99 mM de Trolox Eq /g de muestra seca con una ligera mayor concentración.

REFERENCIAS

1.-Gómez R.. Plantas medicinales en una aldea del estado de Tabasco, México. Rev. fitotec. Mex. [Internet] 2012 [citado 27 abril 2019] ; 35(1):pp 43-49. Disponible en:

http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802012000100007&lng=es

2.- Gallegos M. Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. An. Fac. med. [Internet]. 2016 [citado 27 abril 2019] ; 77(4): pp 327-332. Disponible en:

http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1025-55832016000400002&script=sci_arttext

3.- Ballesteros S. Envejecimiento saludable: aspectos biológicos, psicológicos y sociales.[Internet] 2007 [citado 27 abril 2019] pp: 225. disponible en:

http://e-spacio.uned.es/fez/eserv/bibliuned:editorial-Coedicion-0180115CO01A01/Documento_0180115CO01A01.pdf

4.-Avello M , Suwalsky M. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. Atenea (Concepc.) [Internet]. 2006 [citado 27 abril 2019], pp.161-172. Disponible en:

https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?pid=S0718-04622006000200010&script=sci_arttext&tlng=en

5.-Yáñez C, Rios N, Mora F, Rojas L, Diaz T, Velasco J, et al .Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of Ambrosia peruviana Willd. from Venezuelan plains. Rev. peru biol. [Internet]. 2011 [citado 27 abril 2019] ; 18(2) pp.149-151. Disponible en:

http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-99332011000200003

6- Vera M. Estudio fitoquímico de una planta de la flora del Ecuador: Ambrosia arborescens Tesis de Licenciatura. ESPE/SANGOLQÍ/. Escuela Politecnica Del Ejercito..Ingeniería en Biotecnología .[Internet] 2008.[citado 27 abril 2019] . pp 111 - 112. Disponible en : <http://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/820/1/T-ESPE-019541.pdf>

7.- Criollo A. Determinación cuantitativa de polifenoles y metabolitos con propiedades antioxidantes en el extracto de altamisa (Ambrosia artemisiifolia). Tesis de Licenciatura Machala: Universidad Técnica de Machala. Carrera de farmacia y Bioquímica [Internet]2015[citado 30 abril 2019]. pp 3,63. Disponible en: <http://repositorio.utmachala.edu.ec/handle/48000/3177>

8.- Galvez J. Capacidad antioxidante y contenido de polifenoles en las hojas de ficus carica (higo)[Tesis].Chimbote, Universidad Católica los Ángeles de Chimbote . Facultad de Farmacia y Bioquímica[Internet] 2018 [citado 7 de noviembre 2019] pp:30 – 32. Disponible en: <http://repositorio.uladech.edu.pe/handle/123456789/7937>

9.- Echavarría A, et al. Evaluación de la capacidad antioxidante y metabolitos secundarios de extractos de dieciséis plantas medicinales/Evaluation of antioxidant capacity and secondary metabolites of sixteen medicinal plants extracts. Ciencia Unemi, [internet]2016 [citado 02 mayo 2019] 9 (20) pp. 29-35.Disponible en: <http://ojs.unemi.edu.ec/ojs/index.php/cienciaunemi/article/view/344/297>

10.- Hicks J, Torres Y, Sierra M. "Estrés oxidante. Concepto y clasificación." Revista de endocrinología y nutrición [internet] 2006 [citado 02 mayo 2019]14(4) : pp 223-226. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=11555>

11.-Venereo J. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. rev cub med mil [Internet]. 2002 [citado 2019 Mayo 02] ; 31(2): 126-133. Disponible en:

http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0138-65572002000200009&script=sci_arttext&tlng=pt

12.- Avello M, Suwalsky M. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. Atenea (Concepc.), Concepción , [internet]2006 [citado 02 mayo 2019] 494, pp. 161-172, 2006 . Disponible en:

https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?pid=S071804622006000200010&script=sci_arttext&tlng=en

13.-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 Amazonía Peruana. Facultad de Farmacia y Bioquímica [internet] 2012.[citado 6 octubre 2019] Disponible en:

<http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/handle/UNAP/3645>

14.- Ganoza M , Cotilla N. Compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante de extractos de especies vegetales de Cachicadán, La Libertad-Perú. REVISTA PERSPECTIVA. [Internet] 2015 [citado 3 septiembre 2019] 16 (1-2) . Disponible en:

<http://revistas.upagu.edu.pe/index.php/PE/article/view/386/329>

15.-Gutiérrez D, Ortiz Ch, Mendoza A. Medición de fenoles y actividad antioxidante en segumalezas usadas para alimentación animal. En Memorias del Simposio de Metrología. Universidad Autónoma de Querétaro. Centro Nacional de Querétaro. 2008.

http://cenam.mx/simposio2008/sm_2008/memorias/M2/SM2008-M220-1108.pdf

16.- Maksimović Z. In vitro antioxidant activity of ragweed (*Ambrosia artemisiifolia* L, Asteraceae) herb. *Industrial Crops and Products*, [internet] 2008 [citado 5 diciembre 2019] 28(3), 356–360. Disponible en:

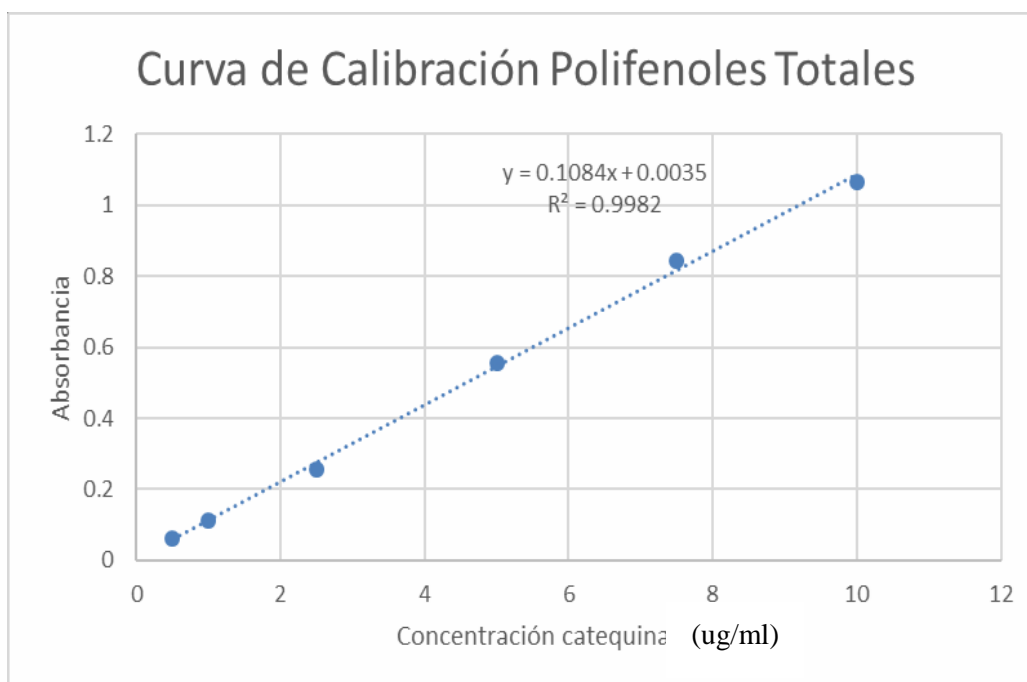
<https://sci-hub.tw/https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2008.04.001>

ANEXOS

ANEXOS

ANEXO 01

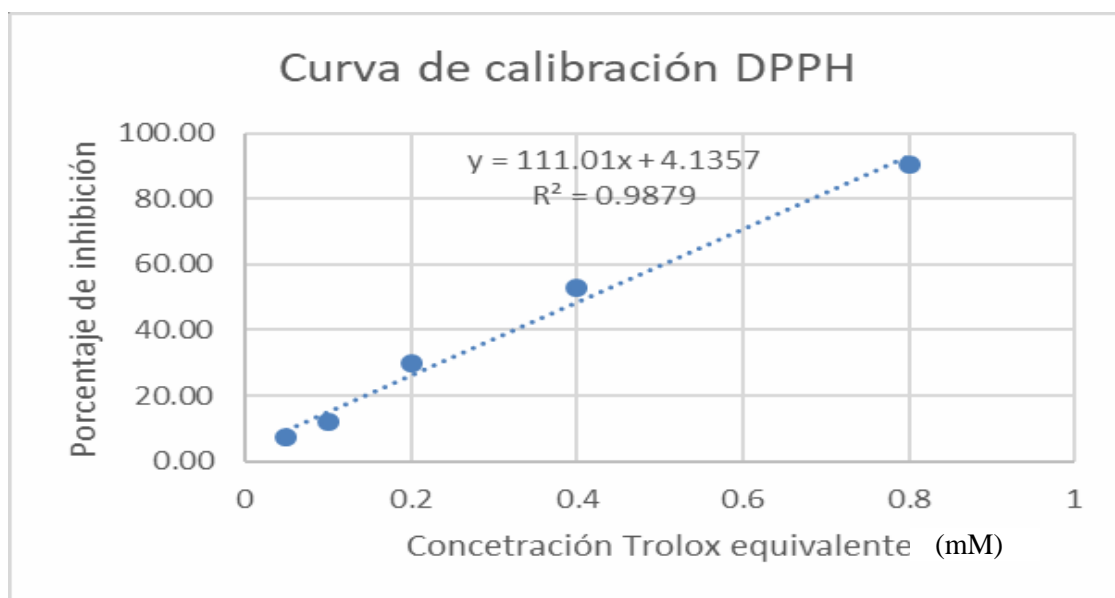
Grafico 1: Curva de calibración de polifenoles totales utilizando catequinas como estándar.



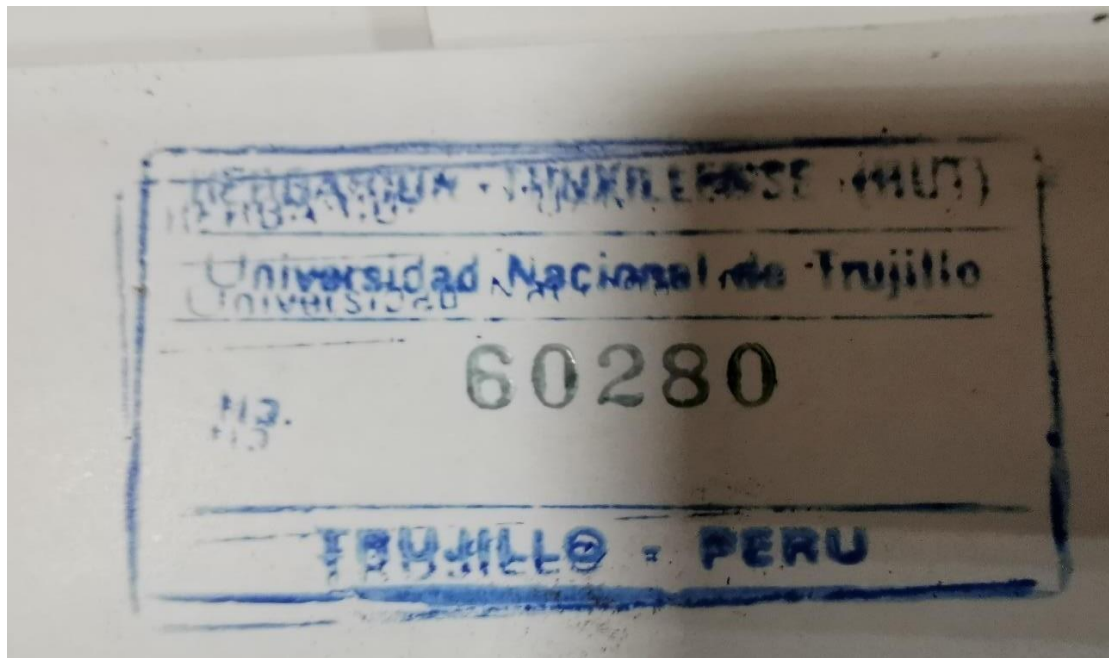
Fuente: datos convenientes de la investigación.



ANEXO 2

Grafico 2: curva de calibración (ó estándar) del trolox mM, como estándar de la actividad antioxidante.



Absorbancia vs concentración del trolox equivalente (mM)

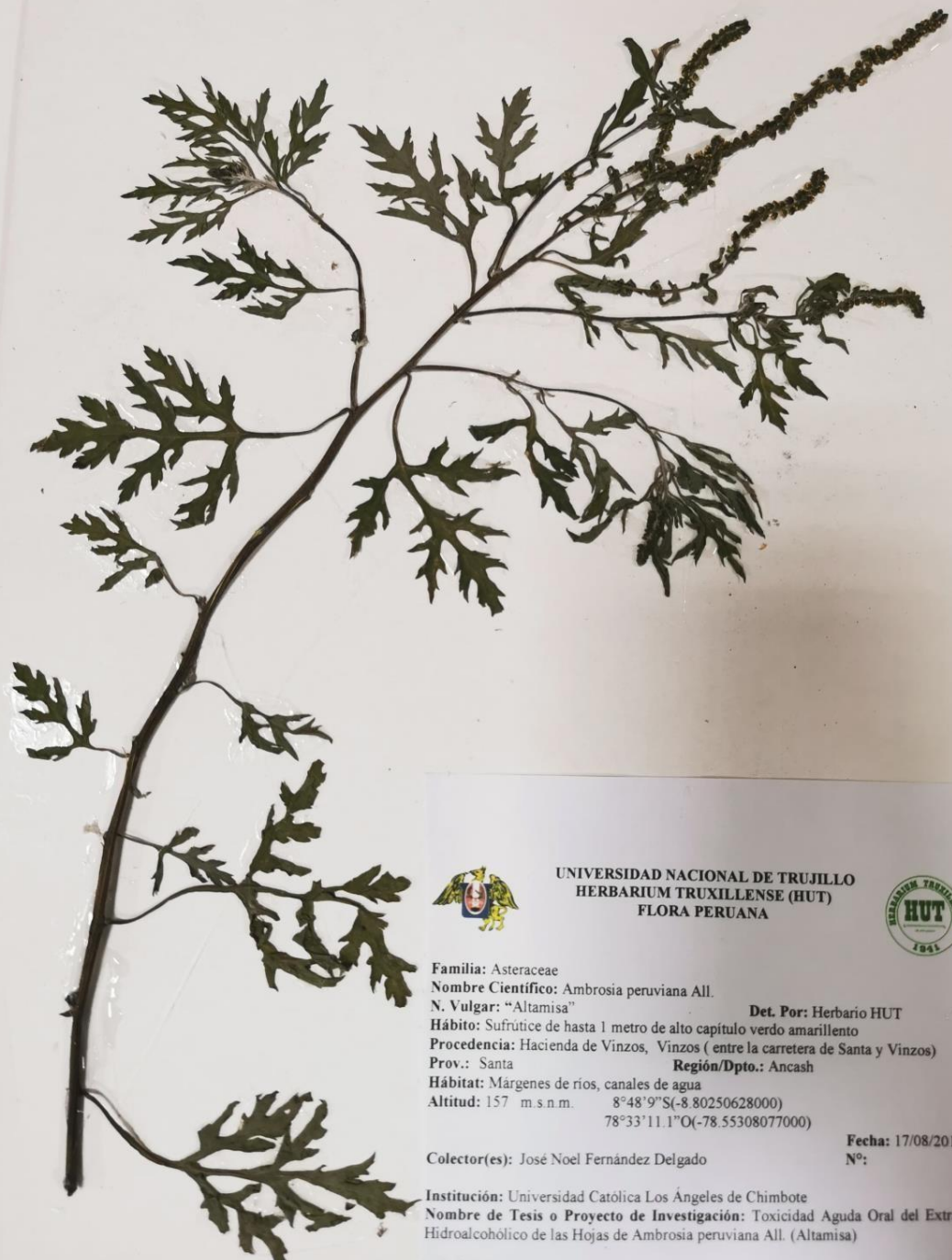


 UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO
HERBARIUM TRUXILLENSE (HUT)
FLORA PERUANA 

Familia: Asteraceae
Nombre Científico: *Ambrosia peruviana* All.
N. Vulgar: "Altamisa" **Det. Por:** Herbario HUT
Hábito: Sufrutice de hasta 1 metro de alto capítulo verde amarillento
Procedencia: Hacienda de Vinzos, Vinzos (entre la carretera de Santa y Vinzos)
Prov.: Santa **Región/Dpto.:** Ancash
Hábitat: Márgenes de ríos, canales de agua
Altitud: 157 m.s.n.m. 8°48'9"S(-8.80250628000)
78°33'11.1"O(-78.55308077000)
Fecha: 17/08/2019
Colector(es): José Noel Fernández Delgado **Nº:**

Institución: Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote
Nombre de Tesis o Proyecto de Investigación: Toxicidad Aguda Oral del Extracto Hidroalcohólico de las Hojas de *Ambrosia peruviana* All. (Altamisa)

UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO
UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO
Nº 60280
TRUJILLO - PERU



UNIVERSIDAD NACIONAL DE TRUJILLO
HERBARIUM TRUXILLENSE (HUT)
FLORA PERUANA



Familia: Asteraceae
Nombre Científico: *Ambrosia peruviana* All. Det. Por: Herbario HUT
N. Vulgar: "Altamisa"
Hábito: Sufrutice de hasta 1 metro de alto capítulo verde amarillento
Procedencia: Hacienda de Vinzos, Vinzos (entre la carretera de Santa y Vinzos)
Prov.: Santa Región/Dpto.: Ancash
Hábitat: Márgenes de ríos, canales de agua
Altitud: 157 m s.n.m. 8°48'9"S(-8.80250628000)
78°33'11.1"O(-78.55308077000)
Colector(es): José Noel Fernández Delgado Fecha: 17/08/2019
Nº:
Institución: Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote
Nombre de Tesis o Proyecto de Investigación: Toxicidad Aguda Oral del Extracto
Hidroalcohólico de las Hojas de *Ambrosia peruviana* All. (Altamisa)



Ambrosia peruviana all(Altamisa)



Recolección de la muestra



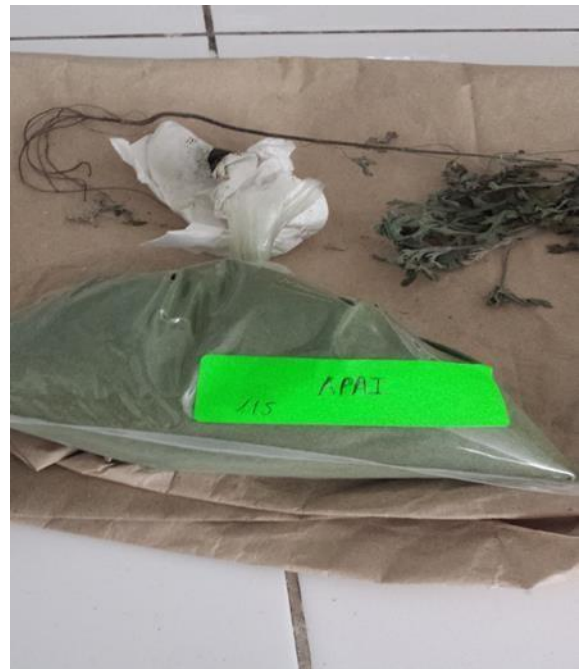
Muestra recolectada



Secado de muestra en estufa a 40°C



Muestra en molino de cuchillas



Muestra pulverizada en bolsa sellada

