



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES  
CHIMBOTE

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

**CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE  
POLIFENOLES EN LAS HOJAS DE LA PLANTA  
*Phaseolus lunatus* “pallar”.**

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

**AUTOR**

**CASTAÑEDA RIVERA ANDERSON PAUL**

**ORCID: 0000-0002-3030-3286**

**ASESOR**

**ZEVALLOS ESCOBAR, LIZ ELVA**

**ORCID: 0000-0003-2547-9831**

**CHIMBOTE – PERÚ**

**2019**

**CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO  
DE POLIFENOLES EN LAS HOJAS DE LA  
PLANTA *Phaseolus lunatus* “pallar”.**

## **EQUIPO DE TRABAJO**

### **AUTOR**

Castañeda Rivera Anderson Paul

ORCID: 000-0002-3030-3286

Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote, Estudiante de Pregrado, 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 VASQUEZ

CORALES, EDISON ORCID: 0000-0001-

9059-6394

JURADO EVALUADOR DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

---

Mg. Jorge Luis Díaz Ortega.

PRESIDENTE

---

Dr. Edison Vázquez Corales.

MIEMBRO

---

Q.F. Ms. Teodoro Walter Ramírez Romero.

MIEMBRO

---

Mg. Liz E. Zevallos Escobar.

ASESORA

## AGRADECIMIENTO

En primer lugar, agradezco a dios por estar a mi lado y siempre guiándome por el buen camino y no abandonarme a lo largo de mi carrera profesional por cumplir mi meta, salud y estar siempre con mi familia.

Agradezco a mis padres Castañeda Alva Elmer y a mi madre por siempre estar a mi lado Rivera Figueroa Marina por su sacrificio, esfuerzo y motivación para que cumpla esta meta.

Agradezco a mis profesores de nuestra Universidad en especial a la profesora Liz y Edison por apoyarme en realizar mi proyecto de investigación.

## **DEDICATORIA**

Le doy gracias a dios por este momento maravilloso por estar conmigo en los momentos difíciles por iluminar mi corazón y mente por estar en mi camino y a ver puesto a personas que son soporte y compañía para mi vida.

Les dedico a mis padres su apoyo, por ser el mejor sustento de vida en ellos esta mis sueños, por seguir adelante gracias por estar conmigo en los buenos y malos momentos. Gracias por su esfuerzo, gracias a ustedes soy perseverante en realizar mis metas siempre nos caracterizó nuestro carácter ganador gracias por su amor.

Quiero agradecer a mi familia Castañeda Rivera gracias por su apoyo y sus consejos siempre los tengo presente por su valentía y sobre todo por tanto cariño.

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación tiene como objetivo determinar el efecto antioxidante del extracto metanólico de las hojas de *Phaseolus lunatus* “pallar”. Se realizó un estudio tipo descriptivo.

La determinación de la actividad antioxidante se realizó según el método de DPPH (2,2, Difenil-1-Picril Hidracilo) como estándar de referencia se utilizó Trolox y para la determinación de polifenoles totales fue según el método de Folin –Ciocalteu.

En los resultados obtenidos se determinó la cantidad de polifenoles totales expresados en mg de catequina eq/ g de muestra seca, en el extracto metanólico de las hojas de *Phaseolus lunatus* se obtuvo  $26.25 \pm 0.56$  en la infusión se observó  $35.31 \pm 2.07$  y el extracto acuoso sometido a decocción se obtuvo  $35.18 \pm 3.86$ . En la determinación de la actividad antioxidante en DPPH mM Trolox Eq, en el extracto metanólico se obtuvo  $50.86 \pm 2.29$  en infusión se observó  $123.68 \pm 2.16$  y en decocción se obtuvo  $204.41 \pm 29.81$ , presentado mayor cantidad en la extracción por decocción, del mismo modo para la determinación de la capacidad antioxidante expresados en mM Trolox eq / g de muestra seca, la mayor determinación la tuvo con una cantidad de  $204.41 \pm 29.81$ .

En conclusión el trabajo de investigación en base al objetivo general establecido se logró determinar la capacidad antioxidante y contenido de los polifenoles totales en la muestra vegetal de las hojas de *Phaseolus lunatus* “pallar”.

**Palabras claves:** *Phaseolus lunatus*, Polifenoles totales, Folin – Ciocalteu, catequina, antioxidante, DPPH, Trolox, Metanólico.

## ABSTRACT

The objective of this research is to determine the antioxidant effect of the methanol extract of the leaves of *Phaseolus lunatus* "pallar". A descriptive study was carried out.

The determination of the antioxidant activity was carried out according to the DPPH method (2,2, Diphenyl-1-Picril Hydracil) as a reference standard, Trolox was used and for the determination of total polyphenols it was according to the Folin- Ciocalteu method.

In the obtained results the amount of total polyphenols expressed in mg of catechin eq / g of dry sample was determined, in the methanolic extract of the leaves of *Phaseolus lunatus* 26.25 ± 0.56 was obtained in the infusion was observed 35.31 ± 2.07 and the aqueous extract submitted to decoction, 35.18 ± 3.86 was obtained. In the determination of the antioxidant activity in DPPH mM Trolox Eq, in the methanol extract was obtained 50.86 ± 2.29 in infusion was observed 123.68 ± 2.16 and in decoction 204.41 ± 29.81 was obtained, presented greater quantity in the extraction by decoction, in the same way for the determination of the antioxidant capacity expressed in mM Trolox eq / g of dry sample, the highest determination was obtained with an amount of 204.41 ± 29.81.

In conclusion the research work based on the general objective established was able to determine the antioxidant capacity and content of the total polyphenols in the plant sample of the leaves of *Phaseolus lunatus* "pallar".

**Key words:** Phaseolus lunatus, Total polyphenols, Folin - Ciocalteu, catechin, antioxidant, DPPH, Trolox, Methanol.

## INDICE

EQUIPO DE TRABAJO .....	iii
JURADO EVALUADOR DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN.....	iv
AGRADECIMIENTO .....	v
DEDICATORIA .....	vi
RESUMEN .....	vii
ABSTRACT .....	viii
INDICE DE TABLAS .....	xi
I. INTRODUCCION.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA:.....	4
2.1 Antecedentes:.....	4
2.2. Bases teóricas:.....	6
III. HIPÓTESIS: .....	12
IV. METODOLOGÍA.....	13
4.1. Diseño de la investigación: .....	13
4.2. Población y muestra.....	13
4.3. Técnicas e instrumentos de recolección de datos: .....	17
4.4. Plan de análisis: .....	17
4.5. Matriz de consistencia .....	20
4.6. Principios éticos .....	19

V. RESULTADO.....	20
5.1. Resultados.....	20
5.2. Análisis de resultados .....	28
VI. CONCLUSIONES .....	29
REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA .....	35

## INDICE DE TABLAS

TABLA N° 01: Contenido de poli fenoles totales en muestra seca de extracto metanolico , infusión y decocción de las hojas de <i>Phaseolus lunatus</i> expresado en mg/g.....	20
TABLA N° 02: Determinación de la actividad antioxidante en DPPH Mn trolox eq. /1g de muestra seca equivalente por gramo de muestra seca, de extracto metanólico, infusión y decocción de hojas de <i>Phaseolus lunatus</i> expresado mg /g.....	22

## ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRAFICO 01: Curva de calibración de polifenoles totales utilizando catequina Como estándar .....	21
GRAFICO 01: Curva de calibración de actividad antioxidante en DPPH M trolox eq/1 g de muestra seca equivalente por gramo de muestra seca .....	2

## 1. INTRODUCCION.

En los últimos años el uso de plantas medicinales podemos encontrar en diferentes lugares del Perú como en el mundo, pero nos vamos a enfocar más en el PERU; las plantas medicinales son utilizadas en largo tiempo y siglos hasta en la actualidad se sigue utilizando para uso medicinal y preparación de medicamentos existen más de 600 plantas que están estudiadas y cada una de ellas pertenecen a diferentes familias y especies alcanzando su mayor éxito terapéutico. <sup>1</sup>

Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), más del 80% de la población mundial hace un uso común de la vida de las plantas medicinales para el tratamiento de enfermedades múltiples. Algunas personas recomiendan su uso mediante infusiones, decocciones, emplastos entre otros preparados para aliviar dolores estomacales, dolores reumáticos, infecciones gastrointestinales o cicatrización de heridas debido a su grandioso efecto terapéutico de los principios activos que contienen las plantas. Las plantas medicinales tienen usos diferentes pero los indígenas han propuesto y conformado una cultura a bases de identidad también las plantas medicinales tienen como pruebas científicas que brindan beneficios a diferentes enfermedades sea leves o crónicas. La medicina tiene como tratamientos a diferentes plantas medicinales ya sea popular o tradicional, tiene que quedar que la vida se relaciona principalmente con plantas medicinales y poder atender problemas de salud. <sup>2</sup>

Por lo tanto se propone a evaluar la capacidad antioxidante en las hojas del *Phaseolus lunatus* ; El presente trabajo de investigación tiene como objetivo general: Determinar la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales de las hojas secas de *Phaseolus lunatus* .

En lo largo de nuestra vida se realizaron estudios fitoquímicos que estuvo encontrado en la búsqueda de compuestos, es así que los profesionales de la salud, a nosotros como profesionales de la salud nos toca contribuir con nuestros conocimientos científicos y hacer extensivo las propiedades curativas de nuestras especies que puedan abarcar el mercado interno y externo. Para la determinación de actividad antioxidante se utilizó la capacidad antioxidante por el método DPPH y la concentración de polifenoles totales por el método de Folin- ciocalteu. El análisis descriptivo se presentó a través de tablas y gráficos.<sup>3</sup>

## FORMULACION DE LOS OBJETIVOS

### **Objetivo General:**

-Determinar el contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante de las hojas de *Phaseolus lunatus*. (Pallar)

### **Objetivo específico:**

- Obtener el contenido de polifenoles totales en muestra seca de extracto metanólico, infusión y decocción de hojas de *Phaseolus lunatus* expresado en mg/g.

-Demostrar la actividad antioxidante en DPPH Mn trolox eq. /1 g muestra seca equivalente por gramo de muestra seca, de extracto metanólico, infusión y decocción de hojas de *Phaseolus lunatus* expresado mg /g.

## 2. REVISIÓN DE LITERATURA:

### 2.1 Antecedentes:

**García Y. En el año 2016** realizo un estudio tuvo como objetivo evaluar las características físicas, contenido de compuestos fenólicos con actividad antioxidante, además de la identificación y cuantificación de compuestos fenólicos libres, enlazados y conjugados presentes en frijol nativo *Phaseolus vulgaris L.* utilizando cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). El contenido de polifenoles totales fue de 1.33-248.97 mg EAG g<sup>-1</sup> bs, flavonoides de 0.15-24.23 mg ECat g<sup>-1</sup> bs, en antocianinas monoméricas de 0.01-6.76 mg C3G g<sup>-1</sup> bs y la actividad antioxidante obtuvo un intervalo de 14.26-1,497.23  $\mu$ mol Eq. Trolox g<sup>-1</sup> bs. En el análisis por RP-HPLC en la fracción de fenoles libres se identificaron el ácido clorogénico, quercetina y ácido vanílico. Así mismo en las fracciones de fenoles enlazados y conjugados se identificaron el ácido ferúlico y p-cumárico. Con base en la región de origen no se encontró un agrupamiento de las muestras de acuerdo a su composición en compuestos fenólicos.<sup>4</sup>

**Puertas M, et al. En el año 2016** realizo un estudio de la capacidad antioxidante *in vitro* de *Phaseolus vulgaris L.* su objetivo fue evaluar el método de extracción asistido por microondas como método alternativo para estudiar la capacidad antioxidante *in vitro* en ocho variedades de *P. vulgaris L.* utilizado el métodos semillas sin piel de *P. vulgaris*, deshidratadas y maceradas se sometieron a extracción asistida por microondas y extracción sólido-líquido; el contenido de fenoles se evaluó por el método de Folin-Ciocalteu y el potencial antioxidante *in vitro* se evaluó con base en los

métodos del radical estable catión radical difenil-picrilhidrazilo y el radical catión 2,2'-azino-bis(ácido 3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico). Sus resultados el método de extracción los extractos obtenidos por extracción asistida por microondas en horno microondas convencional presentaron un contenido de fenoles entre 29,36 y 60,61 g EAG/L, mientras que el método extracción sólido-líquido, estuvo entre 32,75 y 113,27 g EAG/L, el efecto anti-radicalario fue similar entre los extractos evaluados, sus conclusiones todos los extractos presentaron buena capacidad protectora contra radicales libres, y la técnica de extracción asistida por microondas en horno.<sup>5</sup>

**Quintanilla J. En el año 2012** realizó una investigación sobre la evaluación de la actividad antioxidante y cuantificación de quercetina en dos especies de frijol: frijol palo (*Cajanus cajan* L.) y frijol chaucha (*Phaseolus vulgaris* L.). Su objetivo fue cuantificar el contenido de polifenoles y quercetina y evaluar la actividad antioxidante en dos especies nativas *Cajanus cajan* L. (frijol palo) y *Phaseolus vulgaris* L. La cuantificación de polifenoles fue realizado por el método de Folin-Ciocalteu, el contenido de quercetina se determinó por el método descrito por TOKUSOGLU. Los resultados del contenido de polifenoles (GAE mg/100g) fueron: cáscara de chaucha  $2747,8 \pm 52,84$ , cáscara de frijol palo  $54,725 \pm 0,18$ , el cotiledón de chaucha  $24,176 \pm 0,74$ , cotiledón de frijol palo  $38,492 \pm 0,50$ . La concentración de quercetina (mg/mL) fue: cáscara de frijol chaucha  $159,67 \pm 9,0$ , cáscara de frijol palo  $4,291 \pm 0,34$ , el cotiledón de frijol chaucha  $2,711 \pm 0,21$  y el cotiledón de frijol palo  $2,087 \pm 0,15$ . El IC<sub>50</sub> (mg/mL) para inhibición de DPPH fue: cáscara de frijol chaucha  $0,032$ , cáscara de frijol palo  $6,28 \pm 0,1$ ,

cotiledón de frijol chaucha  $20,64 \pm 0,14$  y cotiledón de frijol palo  $21,63 \pm 0,26$  respectivamente. El IC50 (mg/mL) para inhibición de peroxilo fue: cáscara de frijol chaucha 0,0078, cáscara de frijol palo  $0,891 \pm 0,1$ , el cotiledón de frijol chaucha  $1,890 \pm 0,02$  y cotiledón de frijol palo  $1,642 \pm 0,02$  respectivamente.<sup>6</sup>

## 2.2. Bases teóricas:

### 1. Descripción Botánica:

El pallar es una leguminosa (*Phaseolus lunatus L.*) que se recolecta en lugares verdes, siendo la semilla bien el elemento seguro para comer su semilla inmadura, mientras que el grano está en estado fresco o seco. Se diagnostica como hecho de poros finos y piel, cocina limpia y breve y es favorecido por su mejor sabor y dulce, suave y cremosa textura mientras se cocina.

El pallar es de gran importancia para la nutrición humana debido a su valor nutricional, alto contenido de proteínas y sabor realmente excepcional.<sup>7</sup>

### Características botánicas:

#### Hábito y forma de vida.

Herbáceas, trepadoras, perennes y anuales en se cultivan en el Perú.

**Raíz:** Es pivotante, profunda y desarrolla raíces laterales.

**Tallo:** Estriado, glabros a cuidadosamente pubescentes, es pubescente y con pequeñas hojas, son semirectos que se involucran siendo estos fuertes y angulares.

**Hojas:** Las hojas son de intercambio, compuestas; Los folletos son extensos, redondeados oval y de coloración oscura. Folletos ovados a rómbicos de 13 a 13 cm de largo, 5 a 6 cm de ancho, ápice agudo, base redondeada o ampliamente cuneados, membranosa a suboriáceos, estrigosos dispersos (cubiertos a través de pelos al instante, recostados dentro del piso y agudos).<sup>8</sup>

#### **Descripción Taxonómica:**

1. Clase: Magnoliopsida .
2. Subclas: Rosidae .
3. Orden : Fabales .
4. Familia: Fabaceae .
5. Subfamilia: Faboidea .
6. Género: Phaseolus.
7. Especie : *Phaseolus lunatus*<sup>8</sup>

#### **Importancia terapéutica.**

Los frijoles son para uso restaurativo en diversas utilizaciones y tradiciones de grupos de personas que suelen estar presentes en sus

propiedades. Hay muchos usos en su desarrollo domesticado, el producto orgánico es el más devorado y la planta tiene semilla silvestre: estos pueden ser utilizados como parte de diversos ejercicios farmacológicos, por ejemplo, diabetes, diurético, tumor, enfermedad antitumoral, afección reumática.<sup>9</sup>

### **2.2.2 Radicales libres:**

Los radicales libres han cambiado la ciencia, los radicales libres son los controladores de la ciencia. "Los radicales libres son átomos o agrupaciones de partículas que tienen un electrón desapareado, por lo que son sorprendentemente abiertos, ya que tienden a atrapar un electrón de varias iotes con un objetivo real determinado para lograr su bienestar electroquímico". La expresión "radical libre" acentúa una reactividad más prominente que apareció de manera diferente en relación con partículas cuyas partículas están asociadas a otras por covalencia (enlace por intercambio de electrones). Una vez que el radical libre ha encontrado la forma de restar. El electrón (disminución) que necesita, la molécula fuerte que lo pierde (oxidación) se convierte en un radical suelto, porque se queda con un electrón no apareado, por lo tanto, una respuesta en cadena comienza a evolucionar.<sup>10</sup>

### **2.2.3 Estrés oxidativo**

La ansiedad oxidativa es una situación del móvil en la que se modifica la homeostasis de la oxidación intracelular, es decir, la armonía entre los oxidantes principales y los agentes de prevención del cáncer. Esta irregularidad se produce debido a la tecnología superior de las especies de oxígeno sensibles (ROS) y / o la insuficiencia de la mayoría de los artilugios de agentes de prevención de cáncer, que causan el daño celular. El daño oxidativo o la presión se han descrito como la introducción de la dificultad de la vida a varios recursos que justifican una ruptura del cambio que debería existir entre las sustancias o los aditivos oxidantes de AS y los marcos de fortificación celular responsables de eliminar esas especies modificadas. . , ya sea utilizando un déficit de esas protecciones o un discurso ineficaz para aumentar la edad de las especies de oxígeno abierto.<sup>11</sup>

### **2.2.4 Antioxidante**

Como demuestra el trabajo escrito, los operadores de acción contraria al crecimiento pueden asesinar el exceso de radicales libres en medio de la actividad oxidativa del cuerpo. La formación de radicales libres, en eventos de marca registrada, está coordinada por unas pocas vías metabólicas, con el argumento de que discuten la línea fundamental del límite de los animales vivos. De todos modos, a pesar de que son esenciales para la prosperidad, la anomalía entre especialistas endógenos para evitar la malignidad y los radicales libres

(nerviosismo oxidativo) se identifica con diferentes enfermedades o con el desarrollo humano, como se dice en este artículo contenido. El artículo también consolida algunas fuentes de especialistas exógenos para la anticipación de malignidad, especialmente vegetales verdes y verdes, y además datos de un examen exploratorio de la zona sobre la utilización de la fortificación celular<sup>12</sup>

#### **2.2.5 Defensas antioxidantes.**

Existen compuestos sinérgicos que se muestran particularmente en ciertas especies receptoras. En esta línea, la superóxido dismutasa se dismuta (reacción mediante la cual dos moléculas vagas se transforman en dos partículas únicas) en  $O_2^-$ .  $O_2$  y  $H_2O_2$ , la catalasa cambia a  $H_2O_2$  en  $O_2$  y agua, la GSH-peroxidasa cataliza la disminución de los peróxidos ( $ROOH$ , incluyendo  $H_2O_2$ ) a los alcoholes ( $ROH$ ), que abusan del límite de GSH disminuyen. Existen diversas mezclas, por ejemplo, quinonas reductasas y hemooxigenasa, que pueden mantener la mejora de ERO a través del ciclo de electrones.<sup>13</sup>

#### **2.2.6 Actividad oxidativa:**

El límite oxidativo o movimiento oxidativo  $QO_2$  se llama con ese término en el músculo el límite más extremo se puede resolver

utilizando oxígeno, estas investigaciones se adquieren en instalaciones de investigación con incitación artificialmente decidida en pequeñas medidas de músculo con poco límite estas comienzan ATP decide el límite en el consumo de oxígeno. Esto tiene como impedimento el increíble límite oxidativo que se encuentra en el musculo.<sup>14</sup>

#### **Determinación de la Actividad antioxidante:**

Método fundamentado por Brand- Williams, donde es un radical orgánico, a la vista del antioxidante, donde se debe encontrar el grado de captura, lo que crea una disminución de la absorbancia a 515 nm. Es comúnmente utilizado por su sencillez, velocidad y facilidad de uso. En cualquier caso, presenta una increíble estabilidad bajo las condiciones de prueba, además de muestras en diferencia, de utilidad necesaria. Por otra parte, se conoce la estrategia DPPH, este radical DPPH se adquiere directo sin ninguna preparación. DPPH se disuelve en medio orgánico.<sup>15</sup>

#### **Determinación de Polifenoles totales:**

**Ensayo de Folin - Ciocalteu:** En la actualidad, el método de Folin-ciocalteu es la más utilizada para medir la sustancia agregada de las mezclas fenólicas en extracto de la planta. Dependen de las

propiedades de disminución de óxido de las mezclas fenólicas. Los polifenoles actúan como operadores decrecientes y benefactores de hidrógeno o electrones y en este método se utiliza un reactivo hecho de una mezcla de ácidos fosfowolfrámico y fosfomolibdico en medio fundamental ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), que se atenúa oxidando las mezclas fenólicas introducidas en el ejemplo disecado, comenzando mezclas azules de tungsteno y molibdeno que se identifican a 755 nm. El color obtenido en la prueba dependerá en gran medida de la capacidad redox de las uniones fenólicas.

### III. HIPÓTESIS:

Implícita.

#### IV. METODOLOGÍA

##### 4.1 Diseño de la investigación:

El presente trabajo de estudios corresponde a un estudio de tipo descriptiva, con una etapa de técnica cuantitativa.

##### 4.2 Población y muestra

Población vegetal: las hojas de *Phaseolus lunatus* “*pallar*” se obtuvieron en la zona de cambio puente, distrito de Chimbote, departamento de Ancash, El estudio se realizó con las hojas en óptimo estado de desarrollo vegetativo y fitosanitario. Estas fueron secadas en estufa a 45° C durante 5 horas, posteriormente pulverizadas y almacenadas a 4 °C hasta que se utilizó.

##### **Obtención del extracto metanólico 80%: Extracción exhaustiva:**

Para realizar la extracción se utilizó la muestra seca y pulverizada, cuyo peso de la muestra fue de 0.2574 g, se agregó 15 ml de metanol al 80% + ácido fórmico al 0,1%, se colocó sobre el agitador magnético por 30 minutos, luego

se procedió a retirar solo la fase líquida para ser centrifugada a 6000 rpm por 5 minutos. Todas las operaciones se realizaron por triplicado, para luego ser depositado en una fiola de 50 ml, envuelto con una capa de aluminio, este proceso de extracción se realizó por triplicado. Finalmente se aforo y se almaceno hasta el momento del análisis respectivo.

#### **Preparación de la muestra seca en infusión:**

En un vaso de precipitación se añadió 200 ml de agua tipo2 se llevó a calor hasta su ebullición luego se retira y se agregó 3.03 gramos de muestra posteriormente se cubrió con papel aluminio y se deja en reposo durante 5 minutos, luego se filtra y se deja enfriar para su posterior análisis.

#### **Preparación de la muestra seca en decocción:**

En un vaso de precipitación se coloca 200 ml de agua tipo2 más 0.52 gramos de muestra y se somete a ebullición durante 10 minutos se cubre con papel aluminio, luego se filtra y se deja enfriar para su posterior análisis.

#### **Determinación de polifenoles totales mediante el método de Folin**

##### **Ciocalteu.**

En una fiola de 10 ml se agregó 2,5 ml de agua desionizada, 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 siguientes fiolas se adicionó

100 µL de extracto metanólico al 80%, 200µL de infusión y 200 µl de la decocción. Luego se adiciono 500 µL de Folin Ciocalteu y se llevó a oscuridad por 5 minutos. Pasado el tiempo requerido se agregó 2 ml de carbonato de sodio al 10%, seguidamente se aforó con agua tipo 2 para ser llevado a oscuridad por 90 minutos, finalmente se realizó la lectura en el espectrofotómetro ÚNICO 2800 UV/Vis a una longitud de onda de 700 nanómetros. Todas las mediciones se efectuaron por triplicado.

### **Determinación de la actividad antioxidante según el método de DPPH**

#### **Método DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo):**

En una cubeta se adicionó 1450µL de DPPH a 0.06 mM, se llevó a leer al espectrofotómetro a una longitud de onda de 515nm para obtener la absorbancia a tiempo cero (DPPH t0), luego de ello se le agregó 50µL del extracto de hojas y se colocó a oscuridad por un tiempo de 15 minutos para que reaccione, finalmente se obtuvo la absorbancia a tiempo 15 (DPPH t15). El análisis se realizó por triplicado para cada una de las muestras.

Como estándar se utilizó el Trolox a concentraciones de 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8 Mm, para obtener la curva de calibración.

Para determinar el % de inhibición se utilizó la siguiente formula:

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

4.3 Definición y operación de variables.

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Indicador
<p><b>Dependiente</b></p> <p>Contenido de Polifenoles de hojas de la planta <i>Phaseolus lunatus</i>.</p>	<p>Grupo heterogéneo de moléculas que comparten la característica de tener en su estructura varios grupos bencénicos sustituidos por funciones hidroxílicas.</p>	<p>Folin-ciocalteu</p>	<p>mg catequina eq./g muestra seca</p>

<b>Independiente</b>	Sustancia que al encontrarse a bajos niveles de concentraciones en	Capacidad de secuestro y/o inhibición de radicales libres. (DPPH)	
Capacidad antioxidante de los extractos de las hojas de <i>Phaseolus lunatus</i> .	existencia de un sustrato oxidable, esta retarda la oxidación de la misma.		mM trolox eq./g muestra

#### 4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos:

Se utilizó la observación directa, medición y registro de las reacciones de coloración y otras características que se observaron en la medición de las concentraciones totales de polifenoles. Los datos obtenidos se registraron 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.



TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN	FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPOTESIS	VARIABLE	TIPO DE INVESTIGACIÓN	METODOLOGIA
<p>Capacidad Antioxidante y Contenido de Polifenoles en hojas De <i>Phaseolus lunatus</i> "pallar"</p>	<p>Tendrá capacidad antioxidante y contenido de polifenoles de las hojas de <i>phaseolus lunatus</i> en extracto metanolico, infusión y decocción?</p>	<p><b>Objetivos generales.</b></p> <p>-Determinar el contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante de las hojas de <i>Phaseolus lunatus</i>.</p> <p><b>Objetivos específicos.</b></p> <p>-Obtener el contenido de polifenoles totales en muestra seca de extracto metanólico, infusión y decocción de hojas de <i>Phaseolus lunatus</i> expresado en mg/g.</p> <p>-Demostrar de la actividad</p>	<p>Implícita</p>	<p><b>Dependiente:</b></p> <p>-Actividad antioxidante de hojas de <i>Phaseolus lunatus</i></p> <p>-Concentración de Polifenoles de hojas de <i>Phaseolus lunatus</i></p> <p><b>Independiente</b></p> <p>-Extracto de Hojas de <i>Phaseolus lunatus</i></p>	<p>Descriptivo</p>	<p><b>Diseño de Investigación:</b></p> <p>-Determinación de polifenoles totales según el método de FolinCiocalteu.</p> <p>- Determinación de actividad antioxidante según el método de DPPH.</p>

		antioxidante en DPPH Mn trolox eq. /1 g muestra seca equivalente por gramo de muestra seca, de extracto metanólico, infusión y decocción de hojas de <i>Phaseolus lunatus</i> expresado mg /g.				
--	--	--	--	--	--	--

1. Matriz de consistencia

#### **4.7. Principios éticos**

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

## V. RESULTADOS:

### 5.1. Resultados

**Tabla 1. Contenido de polifenoles totales en muestra seca de extracto metanólico, infusión y decocción de hojas de *Phaseolus lunatus* expresado en mg/g.**

Muestra	Extracto	Polifenoles totales (mg de catequina eq./g de muestra seca )
<i>Phaseolus lunatus</i>	Metanolico	26,25 ± 0,56
<i>Phaseolus lunatus</i>	Infusión	35,31 ± 2,07
<i>Phaseolus lunatus</i>	Decocción	35,18 ± 3,86

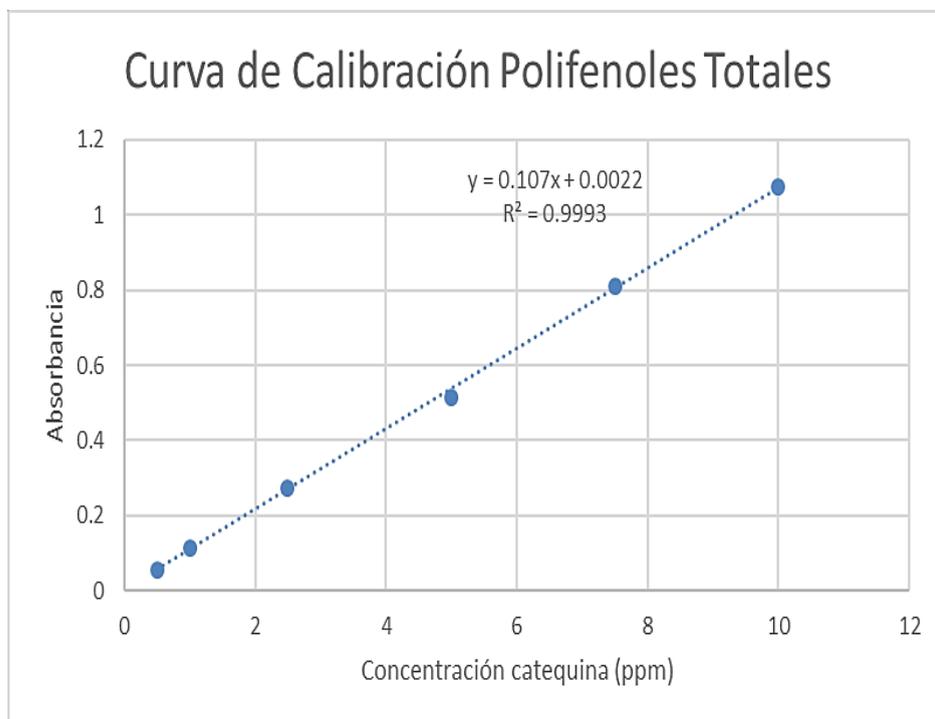
Fuente:

Datos

obtenid

os de la investigación

**Gráfico 1. Curva de calibración de polifenoles totales utilizando catequina como estándar.**

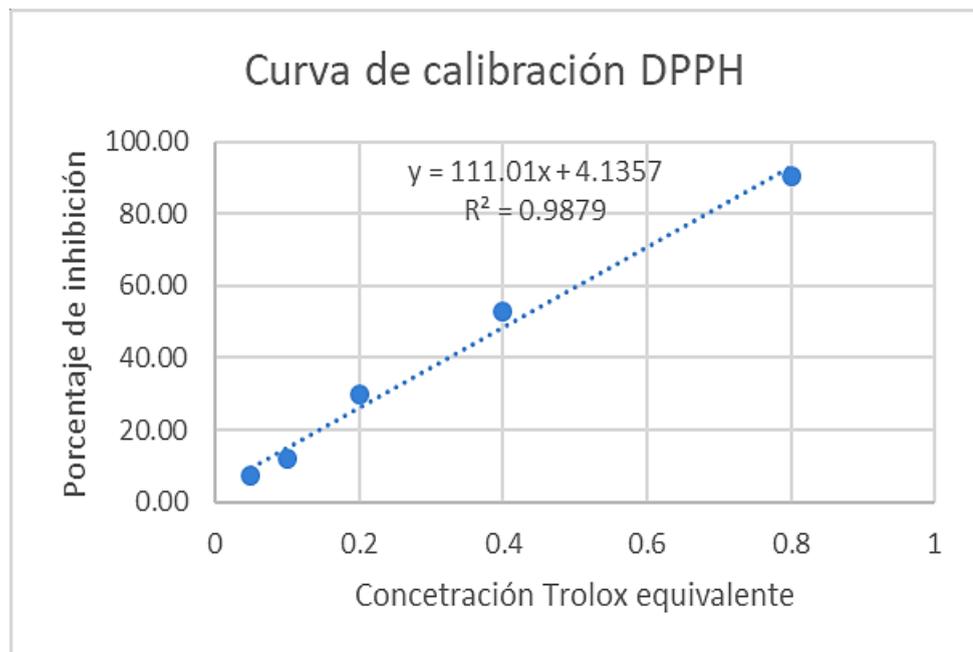


**Tabla 2. Actividad antioxidante en DPPH Mn trolox eq. /1 g muestra seca equivalente por gramo de muestra seca, de extracto metanólico, infusión y decocción de hojas de *Phaseolus lunatus* expresado mg /g.**

<b>Muestra</b>	<b>Extracto</b>	<b>DPPH (mM Trolox Eq./1 g muestra seca)</b>
<i>Phaseolus lunatus</i>	Metanólico	50,86 ± 2,29
<i>Phaseolus lunatus</i>	Infusión	123,68±2,16
<i>Phaseolus lunatus</i>	Decocción	204,41±29,81

Fuente: Datos obtenidos de la investigación.

**Gráfico 2. Curva de calibración de actividad antioxidante en DPPH Mn trolox eq. /1 g muestra seca equivalente por gramo de muestra seca.**



## 5.2. Análisis de Resultados:

En el análisis de los polifenoles totales en *Phaseolus Lanatus* muestran que en la curva de calibración en extracción exhaustiva dio como resultados una media y desviación estándar de  $26.25 \pm 0.56$  mg de catequina eq. /g de muestra seca; fueron determinados por el análisis de Folin-Ciocalteu. El método de Folin-Ciocalteu es para determinar compuestos fenoles encontrados en la muestra vegetal. Este método reacciona en ph básico, da como coloración azul, determinando en la espectrofotometricamente a 765 nm. Los reactivos para determinar Folin-Ciocalteu son wolframato sódico y molibdato sódico en ácido fosfórico estos reaccionan con compuestos fenólicos en la muestra.

En la tabla N°1 En la tabla se observa la cantidad de polifenoles totales expresados en mg de catequina equivalentes a gramos de muestra seca se observa que en la tabla 1 se obtuvo  $35.31 \pm 2.07$  en infusión de polifenoles y en decocción se obtuvo  $35.18 \pm 3.86$ .

En el año 2016 el autor Puerta M, llevó a cabo la investigación científica teniendo como resultados el conocimiento de contenido de fenoles totales se determinó con base en el método de Folin-Ciocalteu con algunas

modificaciones. Una alícuota de 50  $\mu\text{L}$  de los extractos, se mezcló con 125  $\mu\text{L}$  de reactivo de Filin -Cicateo, 425  $\mu\text{L}$  de  $\text{H}_2\text{O}$  des ionizada y 400  $\mu\text{L}$  de solución saturada de carbonato de sodio. Después de una hora de reacción, se midió la absorbancia a 760 nm y los resultados se expresaron como miligramos de equivalente de ácido gálico por litro de solución.<sup>16</sup>

En el año 2016 el autor Mosquera, los siguientes resultados para obtener polifenoles totales en efecto antioxidante de (Paséalas Vulgares) con este método el este autor empleo la extracción asistida por microondas ejecutada en un horno de microondas tradicional se vuelve más verde que la convencional porque reduce la cantidad de disolvente, la muestra utilizada y los tiempos de extracción. Los extractos adquiridos con la ayuda de la extracción asistida por microondas en un horno de micras convencional confirmaron un contenido de fenol entre 29.36 y 60.61 g EAG / L, mientras que el método de extracción de líquido estable se ubicó entre 32. Cinco y 113.27 g EAG / L. El antirradical El impacto se hizo comparable entre los extractos evaluados.<sup>17</sup>

En el análisis de DPPH se pudo determinar la actividad antioxidante en las hojas de phaseolus lunatus mediante este método. Los resultados que muestran en la tabla 2 nos dice que las hojas del extracto metanolico exhaustivo tiene como resultados una media y estándar de  $50.86 \pm 2.29\text{mg}$  con respecto al trolox equivalente de muestra.

En el análisis de DPPH se pudo determinar la actividad antioxidante mediante este método. Los resultados que nos demuestran en la tabla 2 de las hojas

presenta como infusión una actividad de  $123.68 \pm 2.16$  con respecto al trolox equivalente también se determinó mediante este método se obtuvo una actividad de  $204.41 \pm 29.81$  de trolox equivalente.

**Kim y col en el año 2003**, En su estudio, el DPPH se disuelve en etanol acuoso (etanol: agua, ochenta: 20 v / v) para obtener una atención final de 2 cientos de nM. Una colección de concentraciones de cada extracto (cero a 1 mg / ml de compuestos fenólicos) agregada a 2,9 ml de la solución de radical DPPH. Se utilizaron 100  $\mu$ l de metanol acuoso (metanol: agua, ochenta: 20 v / v). 2. Nueve ml de la solución de radical DPPH como solución. El agregado se homogeneizó ligeramente y luego se dejó reposar a 25 ° C en la oscuridad durante 30 minutos. La absorbancia de las combinaciones se determinó a 517 nm. Trolox 0,20 mM se utiliza como antioxidante para administrar.<sup>18</sup>

**Pereira y Tavano en el año 2016**. La capacidad antioxidante de cada fracción en concentraciones especiales se decidió de acuerdo con la técnica descrita con la ayuda de pequeñas modificaciones y se determinó el porcentaje de inhibición de DPPH. En resumen, se agrega una alícuota (cero.1 ml) de cada muestra (con la dilución necesaria) a uno.0 ml de una respuesta etanólica de DPPH (setenta y tres.Cinco  $\mu$ M). Inmediatamente después, la absorbancia se midió a 514 nm, después de lo cual cada 15 s. Los dos minutos primarios, entonces, cada 30 s hasta los 5 minutos, y en el resultado en períodos de 1 minuto hasta obtener el

reino constante en la respuesta o un valor inferior en la absorbancia de mucho menos del 10%.<sup>19</sup>

Las oportunidades de inhibición muestran una distinción de alta calidad entre los frijoles crudos y cada una de las técnicas de procesamiento térmico ( $p > 0.05$ ). Cada variedad de observación se muestra en cada uno de los gráficos. En todos ellos hay una pérdida del porcentaje de inhibición de los radicales ABTS<sup>·+</sup> y DPPH después de cualquier remedio térmico. Sin embargo, una disminución dentro de la falta de interés antioxidante se localiza mediante el método de cocción al estrés administrado con un programa de lenguaje de programa de 34. Cuatro por ciento a 67. Cinco por ciento para ABTS<sup>·+</sup> y de 0.7% a 37. Cuatro por ciento para DPPH.

Ensayo radical de difenil-picrilhidracilo fuerte (DPPH) La capacidad antioxidante de cada fracción en una de las concentraciones no casadas se determinó de acuerdo con la técnica definida a través de Pereira y Tavan en el año 2016 con pequeñas modificaciones y se decidió la relación de inhibición de DPPH. El interés inicial real de DPPH dentro del medio de respuesta se modificó a determinado a través de una curva de calibración de respuestas DPPH (2 Five a cien  $\mu\text{M}$ ) medida a 514 nm. Los resultados se expresaron en términos de un 50% de cuidado potente (EC 50) en g extracto /  $\mu\text{mmol}$  de DPPH. Todos los controles se han realizado por triplicado.<sup>20</sup>

Diversas investigaciones demuestran una relación inversa entre el consumo de alimentos o sustancias antioxidantes y el riesgo que producen los agentes oxidantes creando diferentes enfermedades crónicas, demostrando una incidencia favorable en el daño producido por los radicales libres, con una

disminución importante, sin embargo es necesario aun seguir añadiendo información acerca de nuevas especies que del mismo modo muestra que tiene una actividad antioxidante lo cual sería de gran utilidad debido a que permitirá una disminución de los efectos nocivos de estos.

## **VI.CONCLUSIONES:**

1. Las hojas de la especie *Paséalas lunetas* si tiene polifenoles totales y capacidad antioxidante.
2. El contenido de poli fenoles totales de las hojas de *Paséalas lunetas* en el extracto metanolico se fue  $26,25 \pm 0,56$  en infusión  $123,68 \pm 2,16$  y decocción  $204,41 \pm 29,81$  mg / g
3. Las hojas de *Phaseolus Lunatus* mostraron que tienen actividad antioxidante en DPPH Mn trolox eq. /1g se obtuvo en extracto metanolico  $50.86 \pm 2,29$  en infusión  $123,68 \pm 2,16$  y en decocción  $204,41 \pm 29,81$  de muestra respectivamente.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:

1. Días F. Manual para elaboración de tesis y trabajos de investigación. [Artículo en Internet]. 2009 [Citado el 2 de diciembre del 2018]. Disponible en: <http://www.uphm.edu.mx/manuales/Manual-para-elaboracion-de-tesis-ytrabajos-%20deinvestigacion.pdf>
2. Esparza Puso de las plantas medicinales en la comunidad del Cantón Yacuambi. [Artículo en Internet]. 2014. [Citado el 2 de diciembre del 2018]. Disponible en: [http://dspace.utpl.edu.ec/bitstream/123456789/6523/3/Pozo\\_Esparza\\_Gladys\\_Maria.pdf](http://dspace.utpl.edu.ec/bitstream/123456789/6523/3/Pozo_Esparza_Gladys_Maria.pdf)
3. Sucre M. Induction of two indirect defences benefits Lima bean (*Phaseolus lunatus*, Fabaceae) in nature. [Libro electrónico]. Madrid, España: Editorial Mad Eduforma. [Citado el 2 de diciembre del 2018]. Disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/BF02887079>

4. García Y. Compuestos fenólicos y actividad antioxidante en testa y grano de 54 poblaciones nativas de frijol común (*Phaseolus vulgaris* L.). [Tesis]. Universidad Veracruzana. México.2016. Disponible en: <https://www.uv.mx/mca/files/2018/01/L.-N.-Yatzil-Denih-Garcia-Diaz.pdf>
5. Puertas M, et al . Estudio de la capacidad antioxidante in vitro de *Phaseolus vulgaris* L. (frijol) mediante extracción asistida por microondas. Revista Cubana de Plantas Medicinales .[Revista en internet] 2016 .[Citado el 2 de diciembre del 2018]. ;21(1):42-50: Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v21n1/pla05116.pdf>
6. Quintanilla J. Evaluación de la actividad antioxidante y cuantificación de quercetina en dos especies de frijol: frijol palo (*Cajanus cajan* L.) y frijol Chaucha (*Phaseolus Vulgaris*. Tesis]. universidad nacional agraria de la selva. Peru. Disponible en [:http://repositorio.unas.edu.pe/handle/UNAS/277](http://repositorio.unas.edu.pe/handle/UNAS/277).
7. Esparza P. Uso de las plantas medicinales en la comunidad del Cantón Yacuambi durante el periodo Julio-Diciembre 2011. [Artículo en Internet]. Ecuador: Universidad técnica particular de loja.2014. [Citado el 2 de diciembre del 2018].Disponible en: [http://dspace.utpl.edu.ec/bitstream/123456789/6523/3/Pozo\\_Esparza\\_Gladys\\_Maria.pdf](http://dspace.utpl.edu.ec/bitstream/123456789/6523/3/Pozo_Esparza_Gladys_Maria.pdf)

8. Vargas G. Monografía de plantas utilizadas como anticancerígenas en la medicina tradicional hidalguense. Universidad autónoma del estado de Hidalgo [Artículo en Internet]. 2007 [Citado el 2 de diciembre del 2018]. Disponible en:

<https://repository.uaeh.edu.mx/bitstream/bitstream/handle/123456789/10692/Monografia%20s%20de%20plantas%20medicina%20tradicional.pdf?sequence=1>

9. Perez E. Plantas útiles del estado de Hidalgo. [Artículo en Internet]. México: Consorcio de universidades mexicanas. 2012. [Citado el 2 de diciembre del 2018]. Disponible en:

<https://books.google.com.pe/books?id=WZX5JxDtL0C&pg=PA18&dq=ops%20en%20plantas%20medicinales&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwi1soLL7JDXAhUI1CYKHaZCt0Q6AEIJDA%23v%3Donepage&q=ops%20en%20plantas%20medicinales&f=false>

10. López A, et al. Variabilidad morfológica de *Phaseolus lunatus* L. silvestre de la región occidente de México. Rev. Universidad de Guadalajara [Artículo en internet]. 2016 [citado 5 junio del 2018]; 39 (1): 49-58. Disponible en:

<http://www.scielo.org.mx/pdf/rfm/v39n1/v39n1a9.pdf>

11. González J, et al. Factores antinutricios y actividad antioxidante en variedades mejoradas de frijol común (phaseolus vulgaris). Rev. Redalyc [Artículo en internet]. 2015; 39 (6):2-2. [Citado el 2 de diciembre del 2018]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/html/302/30239603>.

12. Maldonado O. et al. Radicales libres y su papel en las enfermedades crónico-degenerativas. [Tesis]. México: artículo de revisión. 2010. [Citado el 2 de diciembre del 2018]. Disponible en: [https://www.uv.mx/rm/num\\_anteriores/revmedica\\_vol10\\_num2/articulos/radicales.pdf](https://www.uv.mx/rm/num_anteriores/revmedica_vol10_num2/articulos/radicales.pdf)

13. Ríos M. El estrés oxidativo y el destino celular. [Artículo en internet]. 2007; 2 (1):17- 28. [Citado el 2 de diciembre del 2018]. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/863/86320104.pdf>

14. Díaz L. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. [Artículo en internet]. 2002; 31 (2):126-133. [Citado el 2 de diciembre del 2018]. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S0138>

15. Coronado M. et al. Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. [Artículo en internet]. 2015; 42 (2):206-212. [Citado el 2 de diciembre del 2018]. Disponible en: [http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S071775182015000200014](http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S071775182015000200014)

16. Dotor J. Efecto del procesamiento en el contenido de compuestos fenólicos y las propiedades antioxidantes de diferentes variedades de

frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). [Tesis].México: Universidad autónoma del estado de México; 2013. [Citado el 2 de diciembre del 2018].Disponible en:  
<http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/14379/407988.pdf?sequence=1>

17. Olivo E. Caracterización fitoquímica de la fracción hipoglucemiante aislada del extracto acuoso de la vaina de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.).[Tesis].México: Instituto politécnico unidad profesional interdisciplinaria de biotecnología; 2015. [Citado el 2 de diciembre del 2018].Disponible en:

<https://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/18725/TESIS%202014%20ARIZA.pdf>

18. Puertas M. Estudio de la capacidad antioxidante in vitro de *Phaseolus vulgaris* L. (frijol) mediante extracción asistida por microondas. [Revista].Cuba: plantas medicinales; 2016. [Citado el 31 de mayo del 2019] 21 – (1) .Disponible en:  
<http://scielo.sld.cu/pdf/pla/v21n1/pla05116.pdf?fbclid=IwAR25pRY9UpzPxcWjZui3rvoCuI-IJtBjZRpCSSi15MA7McOosCXba42mALs>

19. Tanquina I. Efecto de la especie y el procesamiento sobre el contenido de compuestos y propiedades antioxidantes del maíz (*zea mays* L.) negro, frejol (*phaseolus vulgaris* L.) negro, sangorache (*amaranthus quitensis* L.) y variedades de papas nativas (*tuberosum* grupo andigenum). [Tesis]. Ecuador: Universidad técnica de Ambato facultad de ciencia e ingeniería en alimentos carrera ingeniería en alimentos; 2013. [Citado el 31 de mayo del 2019]. Disponible en:

[http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/6494/1/A1507.pdf?fbclid=IwAR39wUFxbYP15yhlG7byomp8tiMgo3VOwoNIdo53mYaIW6CTbzxvrNR\\_yCs](http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/6494/1/A1507.pdf?fbclid=IwAR39wUFxbYP15yhlG7byomp8tiMgo3VOwoNIdo53mYaIW6CTbzxvrNR_yCs)

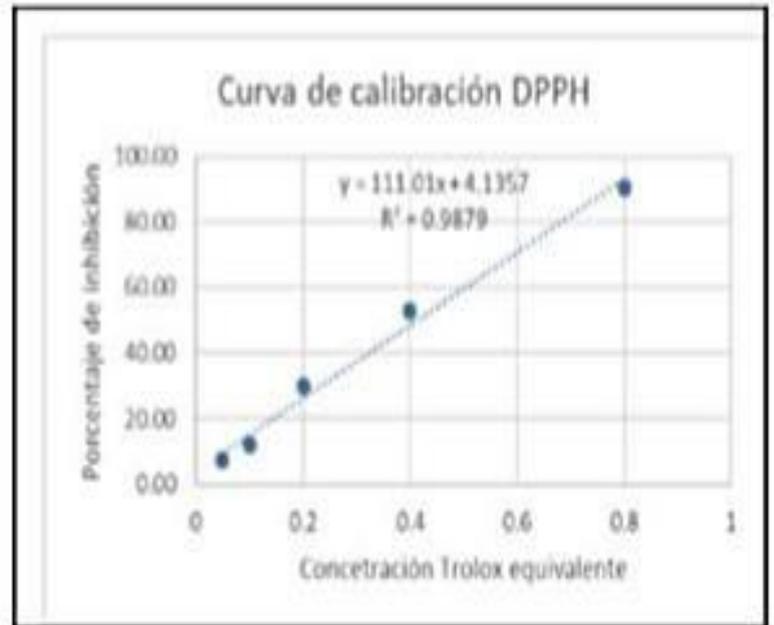
20. Martinez Y. Efecto del procesamiento en el contenido de compuestos fenólicos y las propiedades antioxidantes de diferentes variedades de frijol (*phaseolus vulgaris* L.) mexicano. [Tesis]. México: Universidad autónoma del estado de México facultad de química; 2013. [Citado el 31 de mayo del 2019]. Disponible en: <http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/14379/407988.pdf?sequence=1&isAllowed=y&fbclid=IwAR1bHmLObEAiwvlNglOOQAiuNKPbs5vS68IUwo7ak1AWLsr7v2lk-a20Uk4>

# **ANEXOS**

## RESULTADOS



Muestra	Polifenoles totales (mg de catequina eq./g de muestra seca )	DPPH (mM Trolox Eq./1 g muestra seca
IFPH	33.25 ± 1.34	141.79 ± 1.03
DSCH	16.58 ± 1.88	48.93 ± 0.70
EJNH	42.34 ± 2.40	130.50 ± 3.11
PLPH	26.25 ± 0.56	50.86 ± 2.29
LCMH	11.84 ± 0.49	33.04 ± 0.25



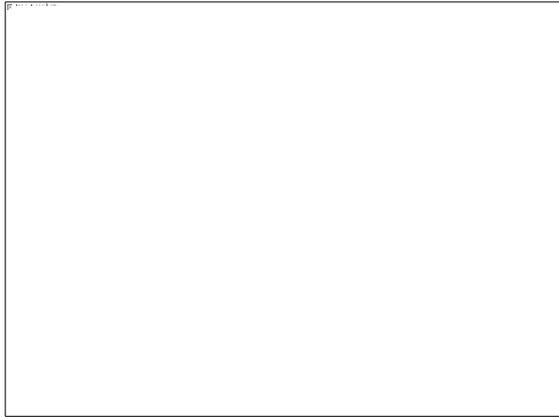
**Anexo 1:** Recolección de las hojas de *Phaseolus lunatus* (pallar) en el centro poblado de cambio puente distrito de Chimbote, provincia de santa, región Ancash.



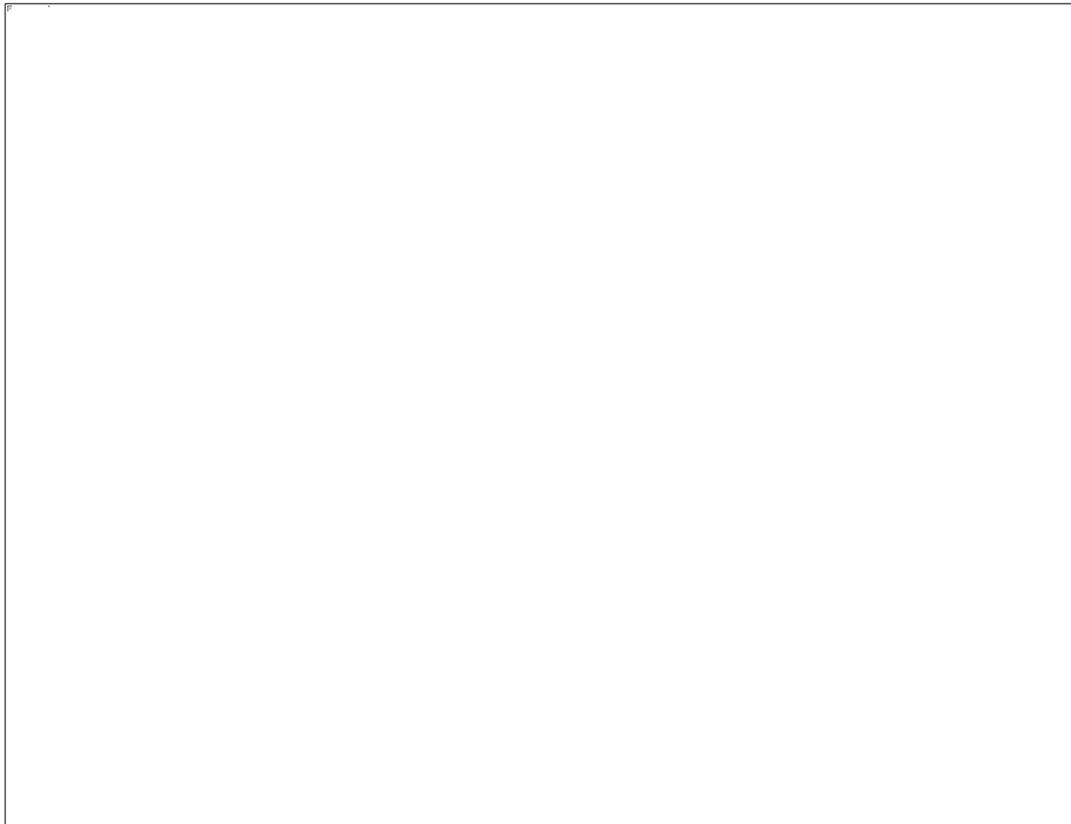
**Anexo 2:** Se seleccionó las hojas que estaban en buen estado para fueron secados.



**Anexo 3:** Las hojas de *Phaseolus Lunatus* fueron colocadas en papel craft y cortadas en tamaños pequeños para luego dejarlas en la estufa durante dos días.

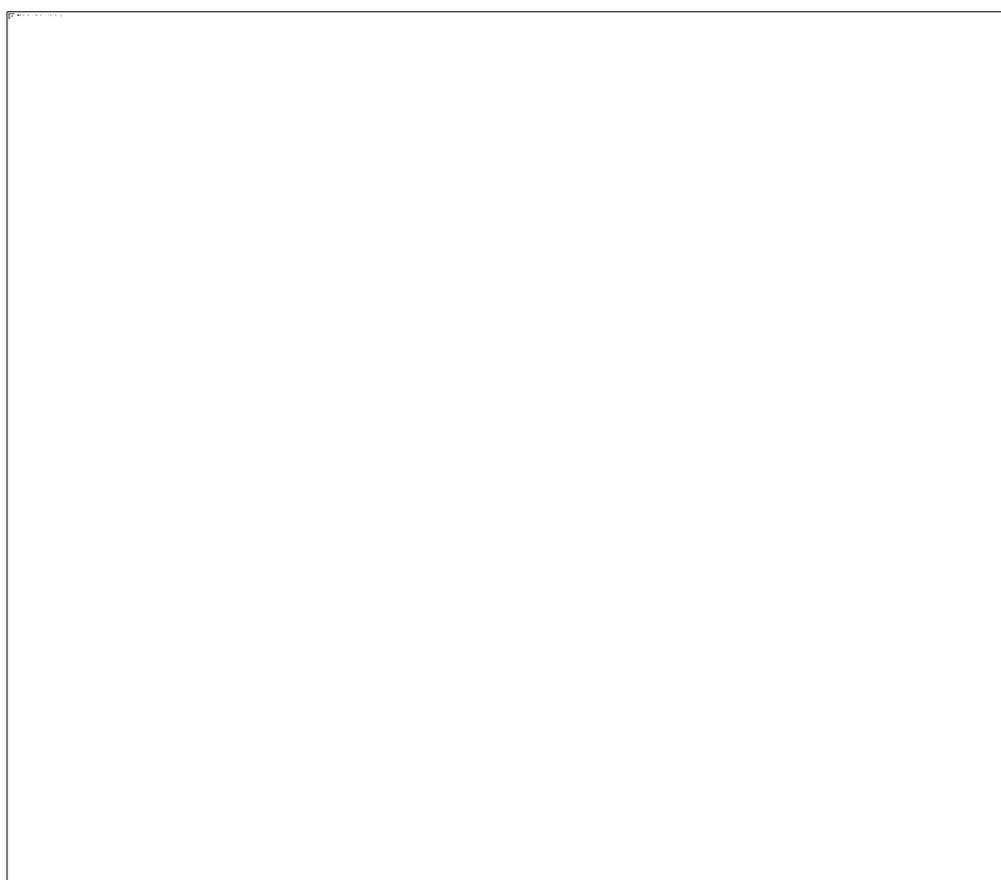


**Anexo 4:** Se pasaron a pulverizar las hojas de *Phaseolus Lunatus* por medio de la licuadora y luego lo vaciamos en una bolsita y procedimos a amarrarlo.



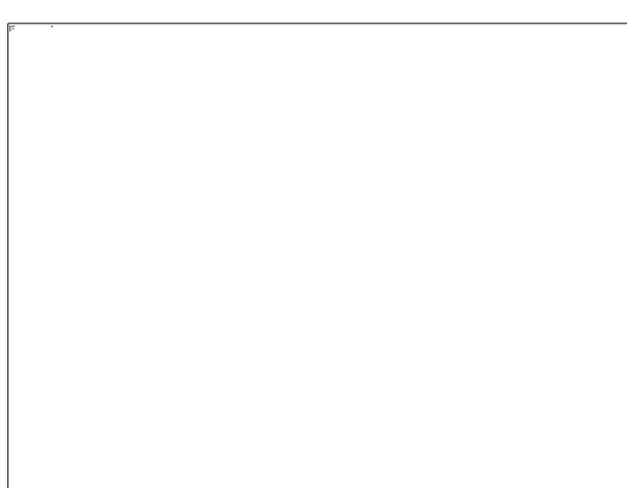
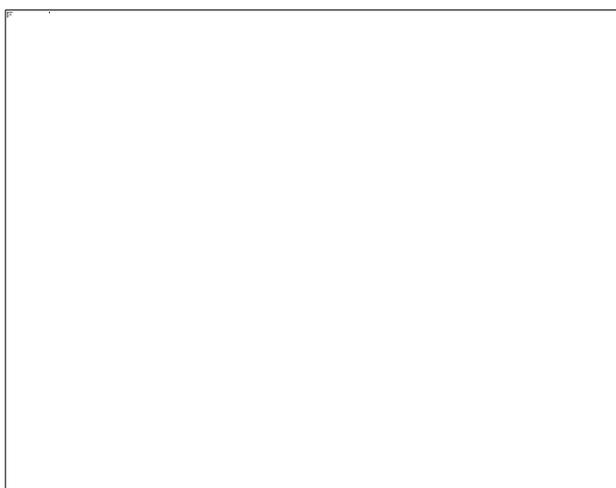
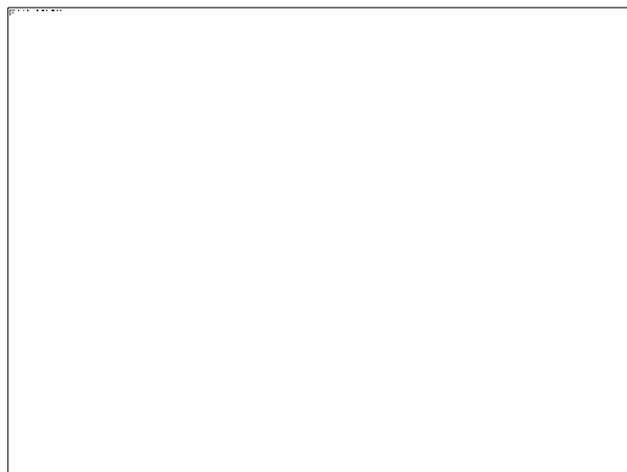
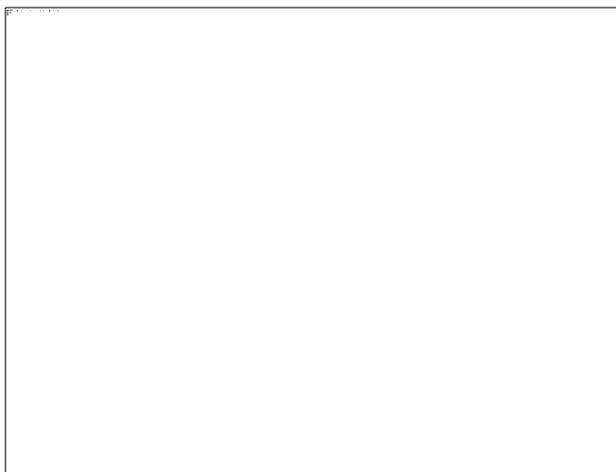
#### **Anexo 5: CAPACIDAD ANTIXIDANTE:**

Primero pesamos en la balanza analítica un aproximado de 0.2547 g y se agregó 15 ml de metanol al 80% luego se colocó en un frasco de cono y se procedió a llevar al agitador magnético durante 30 min. Cumplido el tiempo indicado, se llevó a la centrifugadora a 6000 rpm (revoluciones) durante 5 minutos, pero antes se preparó una muestra en blanco para llevarlo a la centrifuga con la muestra a analizar.



Después del tiempo transcurrido en la centrifuga, se extrajo el sobrenadante y se colocó en una fiola de 50 mL (envuelto con una capa de aluminio), este proceso de extracción se realizó 3 veces, finalmente se agregó el solvente (metanólico) y se guardó en congelador hasta el momento del análisis respectivo.

**Anexo 6:** Contenido de polifenoles totales expresados por mg de catequina de hojas de Phaseolus Lunatus en extracto metanolico, infusión y decocción y determinación de la actividad antioxidante en DPPH mM Trolox Eq. /1 g muestra seca equivalente por gramo de muestra seca, según parte de la planta y tipo de extracto en Phaseolus Lunatus.



**Anexo 7:** Certificado botánico de la planta de *Phaseolus lunatus*.

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

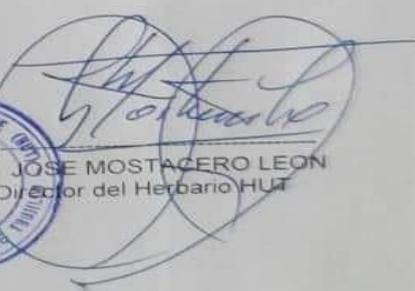
Da Constancia de la determinación taxonómica de un (01) espécimen vegetal:

- Clase: Equisetopsida
- Subclase: Magnoliidae.
- Super Orden: Rosanae
- Orden: Fabales
- Familia: Fabaceae
- Género: *Phaseolus*
- Especie: *P. lunatus* L.
- Nombre común: "pallar"

Muestra alcanzada a este despacho por ANDERSON PAUL CASTAÑEDA RIVERA identificado con DNI: 73760708, con domicilio Asentamiento Humano 3 de Octubre Mz. Q-1 Lt. 23. Estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote (ULADECH), cuya determinación taxonómica servirá para la realización del Proyecto-Taller Investigación: Efecto antioxidante del extracto de las hojas de *Phaseolus lunatus* "pallar".

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

Trujillo, 30 de mayo del 2019

  
Dr. JOSÉ MOSTACERO LEÓN  
Director del Herbario HUT



