

UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES DE CHIMBOTE
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA
Y BIOQUÍMICA

**CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE
POLIFENOLES TOTALES DEL EXTRACTO
METANOLICO DE LAS HOJAS DE *Annona muricata* (L.)
“GUANÁBANA”**

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

AUTOR

VALIENTE MEJIA RAUL MANUEL

ORCID: 0000-0001-6126-6070

ASESOR

AZNARAN FEBRES GERMAN EDUARDO ISAAC

ORCID: 0000-0002-3151-9564

CHIMBOTE – PERU

2019

TÍTULO

**CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES
DEL EXTRACTO METANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Annona muricata* (L.)
“GUANÁBANA”**

EQUIPO DE TRABAJO

AUTOR

Valiente Mejía Raúl Manuel

ORCID: 0000-0001-6126-6070

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

ASESOR

Aznarán Febres Germán Eduardo Isaac

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 EVALUADOR

Dr. DÍAZ ORTEGA, JORGE LUIS

PRESIDENTE

Mgtr. RAMÍREZ ROMERO, TEODORO WALTER

MIEMBRO

Mgtr. VÁSQUEZ CORALES, EDISON

MIEMBRO

Mgtr. AZNARÁN FEBRES GERMÁN EDUARDO ISAAC

ASESOR

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Nuestro Creador por bendecirme, darme la sabiduría de no rendirme ante las adversidades.

Dedico esta investigación a mi Familia que son el motivo y la razón que confiaron y me apoyaron constantemente, gracias a sus valores, ejemplos y al apoyo que fue mi fortaleza diaria, enseñándome que todos los problemas tienen solución.

DEDICATORIA

A Dios, Por brindarme la fuerza que
necesito para superar todos los
obstáculos a lo largo de mi vida.

A mis padres Leoncio Valiente Mejía y Rosa
Mejía Caballero, que son el motivo fundamental
en mi vida, porque hoy en día sus valores y
principios rigen en mí. Siempre fueron ejemplo
de superación, humildad y sacrificio.

RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo determinar la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales del extracto metanólico de las hojas de guanábana *Annona muricata* (L). Dicha investigación es de tipo descriptivo y con nivel de enfoque cuantitativo. Se desarrolló la técnica del Folin Ciocalteu para la cuantificación de polifenoles considerando como patrón catequina y a través del método DPPH para la capacidad antioxidante considerando como patrón Trolox. Los resultados encontrados fueron en lo que respecta a la presencia de compuestos fenólicos, las hojas de *Annona muricata* (L). contiene 58.74 ± 6.18 mg de catequina eq./g de muestra seca. En lo que corresponde a la evaluación de la actividad antioxidante mediante el método DPPH, los resultados demuestran que las hojas de *Annona muricata* (L). presentan una actividad de 156.80 ± 27.19 mmol con respecto al trolox eq./g de muestra seca, resultados expresados en mM de equivalentes de Trolox realizado mediante los siguientes pasos, primero se preparó la solución del compuesto estándar del antioxidante (Trolox) y luego se hicieron las lecturas en el espectro en un lapso de tiempo y se calculan las diferencias de absorbancia inicial y final estos resultados permiten concluir que los de polifenoles totales son componentes que aportan un porcentaje importante de la capacidad antioxidante de la *Annona muricata* (L) “guanábana” Es así que concluimos afirmando que el extracto metanólico de las hojas de *Annona muricata* (L). tiene contenido de polifenoles y capacidad antioxidante para inhibir los efectos de radicales libres.

Palabras clave: *Annona muricata* (L). Capacidad antioxidante, DPPH, Polifenoles totales.

ABSTRACT

The objective of this research work was to determine the antioxidant capacity and total polyphenol content of the methanolic extract of the guanabana leaves *Annona muricata* (L). This research is descriptive and with a quantitative approach level. The Folio Ciocalteu technique was developed for the quantification of polyphenols considering as a catechin standard and through the DPPH method for the antioxidant capacity considering Trolox as a standard. The results found were in regard to the presence of phenolic compounds, the leaves of *Annona muricata* (L). contain 58.74 ± 6.18 mg of catechin eq./g of dry sample. Regarding the evaluation of the antioxidant activity using the DPPH method, the results show that *Annona muricata* (L). leaves have an activity of 156.80 ± 27.19 mmol with respect to the trolox eq./g of dry sample, results expressed in mM of Trolox equivalents performed by the following steps, the solution of the standard antioxidant compound (Trolox) was first prepared and then the readings in the spectrum were made over a period of time and the initial and final absorbance differences were calculated these results allow us to conclude that those of total polyphenols are components that contribute a significant percentage of the antioxidant capacity of *Annona muricata* (L) “guanabana”. Thus, we conclude by stating that the methanolic extract of the *Annona muricata* (L). leaves has polyphenol content and antioxidant capacity to inhibit the effects of free radicals.

Keywords: *Annona muricata* (L). Antioxidant capacity, DPPH, Total polyphenols.

ÍNDICE

TÍTULO	ii
EQUIPO DE TRABAJO	iii
JURADO EVALUADOR.....	iv
AGRADECIMIENTO	v
DEDICATORIA	vi
RESUMEN	vii
ABSTRACT.....	viii
ÍNDICE	ix
ÍNDICE DE TABLAS	1
I. INTRODUCCIÓN.....	2
II. REVISIÓN DE LA LITERATURA	4
2.1. Antecedentes	4
2.2. Bases teóricas de la investigación	6
2.2.1. Descripción botánica de la guanábana (<i>Annona muricata L</i>)	6
2.2.2. Composición química de la guanábana (<i>Annona muricata L</i>).....	7
2.2.3. Antioxidante.....	8
2.2.4. Actividad antioxidante	11
2.2.5. Radicales libres	13
2.2.6. Formación de los radicales libres.....	13
2.2.7. Mecanismos y sistemas de defensas antioxidantes.....	14
2.2.8. Técnica para determinar polifenoles totales	15
2.2.9. Método de decoloración DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo)	15
III. HIPÓTESIS	16
IV. METODOLOGÍA.....	16
4.1. Diseño de la investigación	16
4.2. Población y muestra	16
4.2.1. Obtención de la especie vegetal.....	16
4.2.2. Procedimiento del extracto exhaustivo	17
4.2.3. Determinación de polifenoles totales según el método de Folin-Ciocalteu	17
4.2.4. Preparación del DPPH:	17
4.2.5. Evaluación de la capacidad antioxidante según el método de DPPH:.....	18
4.3. Definición y operacionalización de variables e indicadores	19
4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	20

4.5. Plan de análisis	20
4.6. Matriz de consistencia.....	21
4.7. Principios éticos	13
V. RESULTADOS	14
5.1. Resultados	14
5.2. Análisis de resultados.....	15
VI. CONCLUSIONES.....	17
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	18
ANEXOS	23

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1 PROMEDIO Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DEL CONTENIDO DE POLIFENOLES DEL EXTRACTO METANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Annona muricata* (L.) GUANÁBANA EXPRESADO EN mg DE CATEQUINA eq/g. 14

Tabla 2 PROMEDIO Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO METANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Annona muricata* (L.) GUANÁBANA EXPRESADO EN UNA CONCENTRACIÓN eq mM DE TROLOX /g DE MUESTRA..... 14

I. INTRODUCCIÓN

El presente proyecto de investigación proviene del proyecto línea de la escuela de farmacia y bioquímica denominada estudio de las plantas medicinales de interés terapéutico.

Los usos de las plantas en diferentes áreas de nuestra cultura han determinado y conformado hoy en día conocimientos ancestrales. Actualmente, las poblacionales en que las plantas medicinales eran la única herramienta terapéutica, la sabiduría habitual puede o no convenir, pero apenas se presentaba posibles interacciones indeseables. A pesar de eso, en los estados industrializados, la fitoterapia es una opción más, frecuentemente utilizada en auto cuidado sin la inspección de profesionales de la salud, también para complementar a tratamientos farmacológicos de síntesis, provocando a que se produzcan problemas relacionados a la medicación, ya que las plantas que usamos como medicina no está libre de producir interacciones.¹

El cuerpo humano mediante el metabólico crea grupos reactivos de oxígeno, ROS, las cuales al excederse pueden originar daños a macromoléculas orgánicas como al ADN, lípidos, carbohidratos y proteínas. Estos daños se han asociado al avance de padecimientos como el cáncer, padecimientos cardiovasculares, visuales y desordenes inmune y neurodegenerativos.² Los antioxidantes presentes en frutas y verduras preservan la salud del cuerpo controlando los efectos de ROS, mediante el ataque de los radicales libres. Estos agregados antioxidantes alcanzan retrasar la oxidación de dos signos: absorbiendo radicales libres (fundamentales) o por componentes que no estén acoplados a la semejanza de radicales libres

(secundarios).³ Entre los incorporados que actúan como antioxidantes están los carotenoides, antocianinas; componentes V y C; flavonoides. Muchos de estos antioxidantes poseen lipofilia como característica principal, especialmente en la oxidación de lípidos. A través de efectos elevados y de sinergia entre los compuestos con capacidad antioxidante que se encuentran presentes en diversas frutas y verduras pueden facilitar mejor el cuidado frente a ROS que un solo mezclado.²

La guanábana *Annona muricata* (L.) es una planta favorable que forma de una elección normal de prevenir el carcinoma estomacal y gastrointestinal en varios estados del mundo. La investigación se halla sobre sus propiedades benéficas hacia diversos padecimientos.²

Los antioxidantes marcan perjuicio a las partículas orgánicas de los RL; un consumo apropiado de menestras, café, fruto, verduras y hierbas medicinales atestiguaría las exigencias necesarias para impedir el EO. Una dieta en base a las calorías diarias debería establecer de presentación particular como las insuficiencias convenientes de cada sujeto. En la alimentación; un fruto peruano con muchas propiedades en especial la capacidad antioxidante es de la guanábana que se obtiene en diversos países, incrementando en los últimos años su producción.³

Se plantea el siguiente problema: ¿tendrá capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales del extracto metanólico de las hojas de *Annona muricata* (L.) guanábana procedente de Chimbote? Teniendo como objetivo: caracterizar los parámetros farmacognósticos de las hojas de *Annona muricata* (L.) guanábana. Y relacionar la concentración de polifenoles totales con la actividad antioxidante de las hojas de *Annona muricata* (L.) guanábana El área geográfica en que se realizó el

estudio será en el laboratorio de fármacoquímica y bioquímica de la Facultad de Ciencias de la Salud de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote.

Se demostró la capacidad antioxidante según el método DPPH y se determinó el contenido de polifenoles totales mediante el método de Folin - Ciocalteu usando catequina a concentraciones de 0.5; 1; 2.5; 5 y 10ppm (mg / L) para obtener la curva de calibración como estándar de referencia. Los resultados serán presentados en tablas y gráficos y valorados mediante un análisis de varianza de una vía ANOVA (Analysis Of Variance) un factor comparaciones Múltiples.

1.1.Objetivos de la investigación.

1.1.1. Objetivo general

- Determinar la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales de las hojas de guanábana (*Annona muricata L*)

1.1.2. Objetivos específicos

- Determinar el contenido de polifenoles totales de las hojas de guanábana *Annona muricata (L)* expresados en mg de quercetina eq/g muestra seca
- Determinar la capacidad antioxidante de las hojas de guanábana *Annona muricata (L)* expresado en mM de trolox eq/g muestra seca

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1.Antecedentes

En el estudio realizado por Vit P. et al, en el año 2014, sobre la composición química y la actividad antioxidante de la pulpa, hojas y semillas de guanábana, *Annona muricata (L.)* tuvo como objetivo comparar la estructura aproximada y la

capacidad antioxidante de las hojas frescas y secas, semillas y guanábana pulpa. La capacidad antioxidante de las secciones experimentadas tenía menos concentración en extractos metanólicos que en etanol, similar al contenido de polifenoles y flavonoides. Los valores más altos de capacidad antioxidante en extractos etanólicos fueron 306.0; 280,2 y 131,2 μmol equivalentes de Trolox/ 100 g en la pulpa, hojas secas y semillas, correspondientemente. Las Hoja seca 375,3 \pm 2,3 mg ácido gálico Eq/100g muestra y 160,8 \pm 3,3 mmoles equivalentes de Trolox /100g de muestra de guanábana en el extracto metanólico

Vergara A. En 2018, realizo un estudio para obtener extractos de hojas de *Annona muricata* (L.) “guanábana” inducida por su capacidad de inhibidor de la corrosión. Su objetivo era obtener extractos acuosos y etanólicos de las hojas de *Annona muricata* (L). Como resultado, obtuvieron que el extracto etanólico mostró más capacidad en fenoles totales (582.99 y 523.34 μg EAG / mL EE), flavonoides (1.14 y 0.76 mg quercetina / ml de extracto) y alcaloides (3.76 y 1.52% de lupanina). Sin embargo, se obtuvo una baja capacidad antioxidante (91,45 y 94,93% de DPPH).⁵

De acuerdo con Hasmila et al. En su estudio de Análisis Fitoquímico y actividad antioxidante del extracto de hoja de guanábana (*Annona muricata* Linn.). 2019. Esta investigación tuvo como objetivo identificar compuestos fitoquímicos y la acción antioxidante de la hoja de guanábana. Esta investigación se llevó a cabo en unos pocos pasos, que son la extracción, la evaporación, las pruebas fitoquímicas y la medición de la actividad antioxidante. El resultado mostró que el extracto de etanol en la hoja de guanábana estaba contenido en esteroides, alcaloides, flavonoides, fenólicos y saponinas. El extracto de etanol de la hoja de

guanábana tiene actividad antioxidante al eliminar el radical DPPH con IC50 de 141,127 g / ml.⁶

Según Díaz, en su investigación publicada realizó una evaluación comparativa de la actividad de tres temperaturas de desecación diferentes en la “concentración de antioxidantes” y el “contenido de polifenoles totales” en las hojas de guanábana (*Annona muricata*), como tratamiento de estudio que tomaron: T1: secado a 45° C, T2: secado a 50° C, T3: secado a 55° C. Como resultado, obtuvo que T1secado a 45 ° fue el mejor resultado ya que tenía una mayor actividad antioxidante con respecto al radical DPPH con 0.022g mM TEAC/ 100”muestra seca, mayor contenido de polifenoles con valores de”2.207gg EAG/ 100g muestra seca.⁷

2.2.Bases teóricas de la investigación

2.2.1. Descripción botánica de la guanábana (*Annona muricata L*)

- **Clase:** *Equisetopsida*
- **Subclase:** *Magnoliidae*
- **Super Orden:** *Magnoliana*
- **Orden:** *Magnoliales*
- **Familia:** *Annonaceae*
- **Género:** *Annona*
- **Especies:** *Annona muricata L*
- **Nombre común:** Guanábana

La familia ”*Annonaceae*“ consta de 128-129 géneros con aproximadamente 2,220 especies en zonas cálidas. En Perú hay 23 géneros y 193 especies, de estos 41 son endémicas.²

Perú registra 44 endemismos en 15 ídolos. Árboles de 3 - 4 (-5) “m” de altura; generosamente con muchas ramas:

- Hojas: Pecíolo levemente regordete con un canal alargado en el área adaxial, pubescente rodeado por la cubierta de pelos translucido eglandulares simples; ovadas, suculentas a hojas ligeramente coriáceas, verde oscuro, cremosas en las costillas principal y secundaria de la superficie adaxial, verde claro.²

2.2.2. Composición química de la guanábana (*Annona muricata* L)

Toxinas del tipo “isoquinolínico” : annomurina, annomonicina, annonina, annonaina, coreximina, reticulina, coclaurina. Diversas toxinas: muricinina, muricina, aterospermina, aterospermina, estefarina.³

Acetogeninas con acción anti-cancerígena: muricapentocina, muricatocina C, muricatocina A, annomuricina B, annomuricina A, murihexocina C, muricoreacina, bullatacinona y bullatacina.^{2,3} Uno de los aceites que tenemos: ácido linoleico, ácido esteárico, ácido gentísico y ácido lignocérico.^{3,8}

También adquieren lactonas sucesivas: muricatacina, solamina, anonacina, anomontacina.

Los siguientes compuestos también son visibles:

- Taninos cancerígenos
- Compuestos “fenólicos”: Ácido cafeicol, euncoantocianidinas-ácido p-cumarico, Ácido ascórbico
- Compuestos “cianogénicos”: Ácido Hidrocianico
- Fitosteroles: β sitosterol, arronol, estigmasterol, ipuranol.^{3,8}

2.2.3. Antioxidante

Los antioxidantes son agentes reductores energéticos llenos de proporciones de óxido que disminuyen las posiciones de hidroxilo y las recomendaciones orgánicas en partes desiguales de su distribución química, terminando la reacción de unión, asegurando así que la partícula, que ha estado tratando de encontrar un par para su elemento desigual. Ejercen su participación conservadora evitando la preparación de radicales libres o contrarrestando los que se originan en el organismo en las posiciones normales, como la digestión o la respiración.⁹

2.2.3.1. Clasificación de los antioxidantes

Los regeneradores se catalogan en principal, secundario y terciario, de acuerdo con su dispositivo o posición de trabajo, también se especifican de acuerdo con el lugar donde practican su efecto y como su principio.³

2.2.3.1.1. Según su función

↗ Primario

Observe la alineación de RL (radicales libres) desconocidos, que se transforman en átomos menos perniciosos antes de que logren reanudar o evitar la alineación de los cimientos libres de otros átomos.¹⁰

Por ejemplo:

- “Superóxido dismutasa” (SOD): transforma el O₂ en “peróxido de hidrógeno”.
- “Glutación peroxidasa” (GPX): se transforma en átomos inofensivos antes de que formen bases libres, peróxido lipídico y peróxidos de hidrógeno

- Proteínas de alianza a metales (ceruloplasmina, ferritina): forma el radical OH limitado por la disponibilidad de Fe

↗ Secundaria

- Captura los radicales libres, evitando la reacción en cadena.

↗ Terciario

- Reparación de biomoleculares dañados por radicales libres.¹⁰

2.2.3.1.2. Según su sitio de acción

El antioxidante evita que las moléculas se acoplen al O₂ al interactuar, reaccionando rápidamente con los RL de las especies reactivas y oxígeno. De O₂ que con parte de los átomos, administradas en un microambiente particular: fluido extracelular, citosol, membrana plasmática^{11,12}

Muchas enzimas intracelulares se comprometen a atrapar los RL, causados como resultado de la asimilación citológica. La sustancia antioxidante extracelular se distribuye ampliamente en el mundo botánico y puede provocar un papel en el tratamiento de la aterosclerosis, ya que resguardan las lipoproteínas de la oxidación acumulada en el “líquido extracelular”.¹²

2.2.3.1.3. Según su origen

El antioxidante se archiva como endógenos, causados por la célula, y exógenos, que integran al cuerpo a través de una dieta con capacidad antioxidante.^{3,12}

2.2.3.2. Importancia de los antioxidantes exógenos

2.2.3.2.1. Compuestos fenólicos

Estos compuestos fenólicos en las plantas forman un grupo químicamente heterogéneo de aproximadamente 10,000: algunos son solubles solo en ácidos carboxílicos, otros en solventes orgánicos y glucósidos solubles en agua, mientras que otros son polímeros grandes e insolubles.³

AR-OH, donde AR, es un anillo aromático, y -OH está estrechamente fusionado al anillo, se caracteriza el núcleo de benceno que lleva uno o más grupos hidroxilo. Actúa como un antioxidante natural, la acción logra transformarse significativamente acatando variables como el valor de oxidación, la estructura química del átomo, y concentración. Dentro de la “concentración”, determinaron pequeñas cantidades de antioxidantes, los “antioxidantes fenólicos” ingresan a la circulación sanguínea y causa un acrecentamiento significativo en la etapa antioxidante del plasma celular.¹³

2.2.3.2.2. Los compuestos no flavonoides

Esta designación incluye ácidos fenólicos, fraccionados en ácidos cinámicos y ácidos benzoicos (C6-C1), transportadores de una vínculo adyacente insaturada (C6-C3), asimismo, nuevos procedidos fenólicos como los “estilbenos”.^{13,14}

Los ácidos fenólicos y fenoles libres se consideran en el mismo conjunto, porque generalmente se asemejan juntamente durante el estudio de la planta. La distribución primordial de los ácidos fenólicos es un anillo

hidroxilo. Los ácidos del ácido benzoico, el ácido gálico, el ácido vanilínico, el ácido p-hidroxibenzoico, son cuantiosos en los espermatofitos. En el asunto de la sucesión cinemática, los ác. cinámicos (cafeico, p-cumarico, ferúlico, y sináptico) rara vez son librados y, en general, están en carácter de derivados.³

2.2.3.2.3. Flavonoides

Flavo procede del latín flavus que significa color entre amarillo - rojo, formando la colectividad de los colores amarillo, rojo y azul de las frutas y plantas. Estas moléculas polifenólicas que pueden ser vistos como dos anillos de benceno unidos por una pequeña cadena de tres C (carbonos). Estos átomos de carbono están siempre conectado a uno de los anillos de bencenicos; sea directamente o por puente de hidrógeno H, constituyendo así un tercer anillo en el eje, para tener cinco o seis segmentos.^{14,7}

Se caracterizaron más de 5000 flavonoides que existen en la naturaleza proveniente de varias vegetaciones; clasificándose en varios subgrupos de acuerdo a la posición del sustituyente sobre el anillo C, del estado de oxidación del anillo heterocíclico como la posición del anillo B, siendo importantes para la categorización.¹⁴

2.2.4. Actividad antioxidante

Esta tiene capacidad capaz de provocar la defensa oxidativa acortando el aspecto de las géneros reactivos de O₂ antes de la agresión a varios sustratos: DNA, proteínas, lípidos. Estos compuestos antioxidantes son fundamentalmente significativo para el ser biológico, teniendo la acción de resguardar a las células

contra el perjuicio oxidativo de los RL, efectuando un lista preventiva en el progreso del degeneración y de ciertas patologías.¹⁴

Siendo importante ya que las géneros reactivos de oxígeno causan múltiples capacidades sobre el metabolismo, que originan daño en la célula, debido a:

- En los “lípidos polinsaturados” de las cápsulas menbranal produciendo desgaste de fluidez y muerte celular como resultado de la peroxidación lípidica.
- En los “glúcidos”, proceden perturbando la función celular tal como la asociada a la acción de las interleucinas, la alineación de neurotransmisores y hormonas. prostaglandinas
- En los “ácido nucleicos” mediante la alteración de bases causando (carcinogénesis y mutagénesis).^{14,15}

Asimismo, tenemos un avance que el cuerpo usa a los RL para la pérdida de patógenos invasores y bacterias. Por ello, el problema serio se muestra cuando los EROS exceden las defensas exógenas como las endógenas causando los perjuicios antes aludidos.^{3, 15}

Mencionando que la capacidad antioxidante es evaluada como hipotéticamente y/o experimental. Los sistemas que se orienta en la valoración de esta posesión brinda diferente con desconfianza de efectos. Estas valores hechos mediante sistemas experimentales descubren el grado de interacción entre el radical libre y e antioxidante mediante un importe, estos sistemas teóricos es capaz de proporcionar los elementos ordenados que inducen ese nivel de alteración.¹⁶

2.2.5. Radicales libres

Radicales libres actualmente citados como especies reactivas de O_2 , estas son elementos que poseen un número impar de e-. Teniendo la peculiaridad química de ser reactivos y forma parte de su potencial toxico.¹⁷

2.2.6. Formación de los radicales libres

Radicales libres actualmente son considerados como especies reactivas de O_2 , tienen un número impar de e- en las moléculas, otro adjetivo es debido a que gran cantidad de los RL de importancia son provenientes del O_2 . Teniendo en cuenta a la particularidad química estos deben ser reactivos para formar la base del potencial toxico.¹⁶

Radicales Libres o RL están constituidos por fuentes endógenas y fuentes exógenas. Cuando nos referimos a las fuentes endógenas, siendo la mitocondria el fundamental productor de RL; debido a que la “respiración celular” se comprueba concretamente en esta etapa. Mencionando también que el 90 % del oxígeno inhalado total es consumido en las mitocondrias y aproximadamente el “2% del oxígeno reducido” se convierte en radical “super-óxido”.¹⁷

Otras fuentes existentes de estos radicales libres son los fagocitos activados; estos se encargan de producir superóxido como de defensa ante los agentes u organismos patógenos. Dentro de las exógenas se ubican el sistema ambiental, tales como la luz solar, la radicación electromagnética: por otro lado se encuentra también lo farmacológico como las drogas o xenobióticos, pero también lo nutricional tales como contaminantes, aditivos.¹⁸

Las reacciones mediadas por radicales libres traen como resultado una peroxidación lipídica. Esta es generalmente es producida por un radical Hidroxilo

que sustrae un hidrógeno a una cadena lateral de un ácido graso formando peróxidos cíclicos y radicales hidroperóxidos que propagan esta reacción en cadena. Se forman a su vez radicales alcoxílicos lipofílicos. La peroxidación lipídica se manifiesta en presencia de metales de transición que existen en el plasma.^{3,10}

2.2.7. Mecanismos y sistemas de defensas antioxidantes

Los elementos enzimáticos y no enzimáticos involucran a mecanismos de defensa antioxidante; a nivel celular bloquea la generación y radiación de RL.(2,3) Como medio de protección del daño oxidativo, los organismos desarrollaron una diversidad del sistema defensivo antioxidante; involucrando proteínas que secuestran a las materiales de transición vitaminas C, E. A su vez, también enzimas con capacidad antioxidante; en caso los sistemas antioxidantes, defensores de nuestro organismo, son mayores que la actividad antioxidante de los radicales libres ocurrirá una formación de estrés oxidativo (EO) lo cual empeorará las situaciones de patológicas crónicas degenerativas ECD.¹⁷

El sistema enzimático de antioxidantes es encontrado en lugares donde se producen oxidantes tales como orgánulos o estructuras supramoleculares; el cual tienen como finalidad la disminución o cancelación de la capacidad electrolítica de los agentes oxidantes.¹⁹

Además; es indispensable contar con un par e- reductores que se oxiden, Estos son co-sustratos antioxidantes, como por ejemplo el glutatión y el NADPH. Además existe a su vez un conjunto de enzimas que se encargan de reconstituir los co-sustratos de enzimas antioxidantes.¹⁹

Otro tipo de protección existente son los “antioxidantes endógenos y “antioxidantes exógenos”; estos ofrecen e- con afinidad por las moléculas oxidantes,

con un antioxidante en vez de oxidar macromoléculas. Por lo tanto; esto determinará o condicionará el daño oxidativo.^{3,19}

2.2.8. Técnica para determinar polifenoles totales

Se basa en el hecho de que los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu, un pH básico, que da lugar a una coloración azul que puede determinarse espectrofotométricamente a 765 nm. Este reactivo contiene una mezcla de tungstato de sodio y molibdato de sodio en ácido fosfórico y reacciona con los compuestos fenólicos presentes en la muestra. El ácido fosfomolidotúngstico, el color amarillo, que se reduce por los grupos fenólicos en un complejo de color azul intenso, cuya intensidad es la de los medios para evaluar el contenido de polifenoles.²⁰

2.2.9. Método de decoloración DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo)

Actualmente hay muchos métodos para calcular la actividad antioxidante de una especie o sustancia, un método ampliamente manejado se basa en la estabilidad del radical DPPH que se arroja a la deslocalización del electrón no apareado, esta reubicación también le confiere una coloración violeta caracterizada por una banda de absorción, en solución etanólica. Cuando una solución de DPPH entra en contacto con una sustancia que puede donar un átomo de hidrógeno o con otra especie radical (R), la forma reducida DPPH-H o DPPH-R causa con una resultante pérdida de color y, por lo tanto, la pérdida de absorbancia.²¹ Este se clasifica según el comportamiento de la cinética en términos de tiempo, como: rápida (<5min), intermedia (5-30min), lenta (>30min), lo cual constituye un parámetro de capacidad antioxidante conocido como eficiencia anti radicales.²²

III. HIPÓTESIS

El extracto metanólico de las hojas de *Annona muricata* (L.) guanábana tiene capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales.

IV. METODOLOGÍA

4.1. Diseño de la investigación

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

4.2. Población y muestra

- Población vegetal: hojas de *Annona muricata* (L.) “guanábana”
- Muestra vegetal: Se empleó aproximadamente 0,2g de hojas
- Criterios de inclusión: las hojas aparentemente en buen estado vegetativo

4.2.1. Obtención de la especie vegetal.

La especie vegetal fue recolectada en óptimo estado de desarrollo vegetativo durante en el mes de mayo, en el distrito de Chimbote, provincia del Santa, departamento de Ancash. 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 6 horas para ser pulverizadas en un molino de cuchillas eléctrica, marca Oster y luego se almaceno hasta la fecha de la prueba.

4.2.2. Procedimiento del extracto exhaustivo

Para realizar la extracción se utiliza la muestra seca y triturada de *Annona muricata* (L.) “guanábana” 0.2067g de hojas, se añaden 15mL del solvente (metanol al 80% + ácido fórmico al 0,1%) en cada tubo de ensayo Falcón. Los tubos se envuelve con una capa de aluminio ya que los polifenoles son fotosensibles, luego se coloca magnetos para facilitar la homogenización y se coloca sobre el agitador magnético durante 30 minutos, después se centrifuga a 6000 rpm (revoluciones) durante 5 minutos, se separa el sobrenadante y se coloca en una fiola de 50 mL (envuelto con una capa de aluminio), este proceso de extracción se realiza 4 veces, finalmente se lleva a volumen con el solvente y se guarda en congelador hasta el momento del análisis respectivo.²³

4.2.3. Determinación de polifenoles totales según el método de Folin-Ciocalteu

De las fiolas de 50ml previamente aforadas con solvente se extrae 100 microlitros de la muestra (se realiza en hojas) y se trasvasa a fiolas de 10 mL. Luego se agrega 2.5 ml de agua tipo 2. Al blanco y los estándares en una fiola de se le agregan catequina 0.5, 1, 2.5, 5, 7.5 10 ug/ml respectivamente y se afora con agua tipo II. Posteriormente se le agrega 500 microlitros de Folin Ciocalteu a todas las muestras incluido el blanco y se lleva por 5 minutos a la cámara de oscuridad. Después de los minutos se le agrega 2mL de carbonato de sodio al 10% y se afora con agua tipo 2. Se lleva por segunda vez a la cámara de oscuridad por 90 minutos y se lleva a lectura al espectrofotómetro a 700 nanómetros.²³

4.2.4. Preparación del DPPH:

Se preparó metanol en 100 ml, en el que se necesitó 0.2067 g de polvo de DPPH, aforamos con metanol en la fiola de 100ml, para tenerlo 0.06mM.²³

4.2.5. Evaluación de la capacidad antioxidante según el método de DPPH:

Tenemos estándares de trolox 1, 2, 3 y 4, con diluciones de 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8 μ L y 10 mM, para obtener la curva de calibración. Respectivamente de metanol. En una cubeta de poliestireno se adicionó 1450 μ L 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. Luego agregamos 50 μ L de muestra de hojas y se lleva a lectura y se anota la absorbancia a tiempo 0, se espera un tiempo de 15 minutos para que reaccione en la cámara oscura. Se realiza nuevamente la lectura y se registra, este procedimiento por triplicado en ambas muestras. Para determinar el % de inhibición se utilizó la siguiente formula:²³

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

Leyenda:

- DPPH t0: absorbancia de la solución de DPPH control a tiempo 0
- DPPH t15: absorbancia de la muestra a tiempo 15 minutos

4.3. Definición y operacionalización de variables e indicadores

VARIABLE	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADOR
<p>Capacidad antioxidante de los extractos de hojas de las hojas de <i>Annona muricata</i> (L.) “guanábana”</p>	<p>Sustancia que al encontrarse a bajos niveles de concentraciones en existencia de un sustrato oxidable, esta retarda la oxidación de la misma</p>	<p>Se realizara a través de método de DPPH según capacidad de secuestro y/o inhibición de radicales libres de acuerdo a valores de absorción medida en el espectrofotómetro UV/VIS</p>	<p>mM DE Trolox eq/g de muestra seca</p>
<p>Contenido de polifenoles de hojas de las hojas de <i>Annona muricata</i> (L.) “guanábana”</p>	<p>Grupo heterogéneo de moléculas que comparten la característica de tener en su estructura varios grupos bencénicos sustituidos por funciones hidroxilicas</p>	<p>Se trabajara con el reactivo Folin ciucalteo, según valores de absorción medida en el espectrofotómetro UV/VIS</p>	<p>Mg de quercetina eq/g muestra seca</p>

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 observó en la medición de las concentraciones totales de polifenoles. Los datos obtenidos fueron registrados en fichas de recolección de datos.

4.5. Plan de análisis

Los resultados fueron presentados en tablas considerando medidas de tendencia central promedio y desviación estándar.

4.6. Matriz de consistencia

TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN	FORMULAC. DEL PROBLEMA	OBJETIVO	HIPOTESIS	VARIABLES	TIPO DE INVESTIG.	DISEÑO DE INVESTIG.
Capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales del extracto metanolico de las hojas de <i>Annona muricata</i> (L,) “guanábana”	¿tendra capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales de las hojas de <i>Annona muricata</i> (L,) “guanábana”?	<p>General:</p> <p>Determinar la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales de las hojas de <i>Annona muricata</i> (L,) “guanábana”</p> <p>Específicos:</p> <p>Determinar la capacidad antioxidante de las hojas de <i>Annona muricata</i> (L,) guanábana expresado en mM de trolox eq/g muestra seca</p> <p>Determinar el contenido de polifenoles totales de las hojas de <i>Annona muricata</i> (L,) guanábana expresados en mg de quercetina eq/g muestra seca</p>	Hipótesis implícita.	<p>Variable dependiente</p> <p>Capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales</p> <p>Variable independiente</p> <p>extracto metanolico de las hojas de <i>Annona muricata</i> (L,) “guanábana”</p>	Descriptiva	<p>Determinación de polifenoles totales según el método de Folin-Ciocalteu</p> <p>Determinación de la capacidad antioxidante según el método de DPPH</p>

4.7.Principios éticos

Teniendo en cuenta la Declaración de Helsinki, se promovió 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 realizó 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 DEL EXTRACTO METANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Annona muricata* (L.) GUANÁBANA EXPRESADO EN mg DE CATEQUINA eq/g.

MUESTRA	PARTE DE LA PLANTA	TIPO DE EXTRACTO	Polifenoles totales (mg de
			catequina eq/g de muestra seca)
AML	HOJAS	Metanol 80%	58.74 ± 6.18

Fuente: Datos propios de la investigación

Leyenda:

AML: *Annona muricata* Linn

Tabla 2 PROMEDIO Y DESVIACIÓN ESTÁNDAR DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO METANÓLICO DE LAS HOJAS *Annona muricata* (L.) DE GUANÁBANA EXPRESADO EN UNA CONCENTRACIÓN eq mM DE TROLOX /g DE MUESTRA.

MUESTRA	PARTE DE LA PLANTA	TIPO DE EXTRACTO	(mM Trolox Eq./1 g de
			muestra seca)
AML	HOJAS	Metanol 80%	156.80 ± 27.19

Fuente: Datos propios de la investigación

Leyenda:

mM: Milimolar

AML: *Annona muricata* Linn

5.2. Análisis de resultados

Como observamos en la **Tabla N° 1** se muestran los resultados de la evaluación del contenido de polifenoles del extracto metanólico de las hojas de *Annona muricata* (L.), guanábana según el método de folin-ciocalteu, siendo 58.74 ± 6.18 mg de catequina eq/g muestra seca.

Vit P. *et al.*,⁴ en su estudio usaron una metodología similar y obtuvieron valores $375,3 \pm 2,3$ mg ácido gálico Eq/100g muestra para determinar la cantidad de polifenoles totales. Siendo esta una unidad de expresión distinta, es relevante tratándose de una planta de la misma especie.

Asimismo, Vergara A.⁵ realizó un similar estudio en Lima – Perú de la Universidad Nacional de Ingeniería, usando extracto etanólico de las hojas de *Annona muricata* (L.) “guanábana”. Obteniendo valores de $375,3 \pm 2,3$ mg ácido gálico Eq/100g muestra presentando capacidad en fenoles totales, flavonoides (quercetina) y alcaloides (lupanina). Siendo relevante mencionarlo como el estudio anterior, ya que se trata de una planta de la misma especie.

Por otro lado, en cuanto a la evaluación de la capacidad antioxidante del extracto metanólico de las hojas de *Annona muricata* L, guanábana según el método DPPH se mostrado en la **Tabla N° 2** lo cual indica que presentan una actividad de 156.80 ± 27.19 mmol de trolox eq/g de muestra seca.

Vit P. *et al.*⁴ en su investigación, obtuvo un valor de $160,8 \pm 3,3$ mmoles equivalentes de Trolox /100g de guanábana habiendo una similitud en la comparación de la capacidad antioxidante entre ambos estudios, tanto de Perú como en Venezuela. Estos datos son relevantes por tratarse de la misma especie de la planta aunque no comparables a los datos obtenidos en el presente estudio.

Basándose en estudios de la hoja de *Annona muricata* (L.), guanábana por Cijo G, Naveen K, Suresh R, Rajkumar, V y Ashok K²⁴. Pertenecientes de la Asociación de científicos y tecnólogos de alimentos de la India, en el año 2012, mostraron que el extracto de *Annona muricata* reveló la presencia de flavonoides, terpenoides, taninos, glucósidos cardíacos y azúcares reductores. Así mismo, en otro estudio realizado, en el año 2015, demostraron en su estudio que las hojas de esta planta presenta polifenoles como luteolina, homorioentina, quercetina, daidzeína, galato de epicatequina, emodina, ácido cumárico y tangeretina.²⁵ La flavona tangeretina representa un caso particular entre los flavonoides estudiados, ya que no posee un grupo OH, sino más bien han demostrado que contiene 5 sustituyentes metoxilo (O-CH₃) en su estructura, brindándole propiedades únicas que lograron demostrar su actividad antioxidante.²⁶

Los flavonoides se pueden exhibir con una alta capacidad antioxidante según Manrique M.²⁶ de la Universidad Católica de Santa María. Perú, en el año 2018, demostró mediante su estudio que la *Annona muricata* (L) contiene kaempferol, epicatequina, robinetina, galocatequina, quercetina y catequina, y que la presencia del grupo 3-OH que tienen en común estos flavonoles influye mucho de una forma positiva sobre su actividad en general, ya que los derivados glicosilados de quercetina y kaempferol, carecen de este grupo OH, no dieron los mismos resultados. Estos aglicones son los que han demostrado menor requerimiento energético para poder ejercer una actividad antiradicalaria.

De acuerdo a todo lo dicho anteriormente observamos que la capacidad antioxidante podría estar relacionada a la concentración de polifenoles; ya que en diferentes bibliografías encontramos, la capacidad antiradicalaria ligada a los compuestos polifenólicos presentes en las hojas.

VI. CONCLUSIONES

- Las hojas de *Annona muricata* (L.) “guanábana”, tiene capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales.
- El extracto metanólico de las hojas de *Annona muricata* (L.) “guanábana” tiene contenido de polifenoles totales equivalente a 58.74 ± 6.18 mg catequina /g de muestra seca.
- La capacidad antioxidante del extracto metanólico de las hojas de *Annona muricata* (L.) “guanábana” fue equivalente a una concentración de 156.80 ± 27.19 mM de Trolox/g de muestra seca.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Alonso M. Plantas medicinales en uso tradicional al criterio científico. [En línea]. Barcelona: Real Académica; 2010. [Consultado 09 julio de 2019]. Disponible en: <http://rafc.cat/wp-content/uploads/2011/07/Discurs-a.c.-Sra.-M.-Jos%C3%A9-Alonso.pdf>
2. Segundo Leiva González; Guillermo Gayoso Bazán & Luis Chang Chávez. *Annona muricata* L. “guanábana” (*Annonaceae*), una fruta utilizada como alimento en el Perú prehispánico. Rev. Arnaldoa [Revista en línea]. 2018 [Consultado 09 julio de 2019]; 25 (1): 127 – 140. Disponible en: www.scielo.org.pe/pdf/arnal/v25n1/a08v25n1.pdf
3. Barahona v. Evaluación de la actividad antioxidante y valor nutracéutico de las hojas y frutos de la guanábana (*annona muricata*). [Tesis] Ecuador: Escuela Superior Politécnica de Chimborazo; 2013. [Consultado 09 julio de 2019]. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/2453/1/56T00321.pdf>
4. Vit P, Santiago B, Pérez E. Composición química y actividad antioxidante de pulpa, hoja y semilla de guanába *Annona muricata* L. Rev. Inter cien. [Revista en línea]. 2014 [Consultado 09 julio de 2019]; 39 (5): 350-353. Disponible en: <https://www.interciencia.net/wp-content/uploads/2017/11/350-c-VIT-4.pdf>
5. Vergara A. Páucar K. Morales C. Castro O. Pizarro P. Díaz J. Obtención de extractos de hojas de *Annona muricata* L. (guanábana) inducidos por su efecto inhibidor de la corrosión. Rev Soc Quím Perú. [Revista en línea]. Perú, 2018 [Consultado 09 julio de 2019]; 84(1): 119-131. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/rsqp/v84n1/a11v84n1.pdf>
6. Hasmila I. Natsir H. Soekamto N. Hasmila, I & Natsir, H & Soekamto, N. (2019). Phytochemical analysis and antioxidant activity of soursop leaf extract (*Annona muricata* Linn.). Journal of Physics: Conference Series. [Consulted 18 november

2019]; Available in:

https://www.researchgate.net/publication/337082973_Phytochemical_analysis_and_antioxidant_activity_of_soursop_leaf_extract_Annona_muricata_Linn

7. Diaz E. Efecto de tres niveles de temperaturas de secado en la concentración de antioxidantes y contenido de polifenoles totales presentes en hojas de guanábana (*Annona Muricata*), Pucallpa, Perú. [Tesis] Perú: Universidad Nacional de Ucayali; 2018 [Consultado 09 julio de 2019]. Disponible en: http://repositorio.unu.edu.pe/bitstream/handle/UNU/3902/UNU_AGROINDUSTRIAS_2019_T_ERIKADIAZ.pdf?sequence=1&isAllowed=y
8. Viluzca B, Ojeda G, Delgado J, Berradré M, Peña J, Nava R. Contenido mineral de la guanábana (*annona muricata*) cultivada en el occidente de Venezuela. Revista boletín del centro de investigaciones biológicas [Revista en línea]. 2007 [Consultado 09 julio de 2018]; 41(1): 86-95. Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/BETZABE_SULBARAN/publication/284704808_CONTENTIDO_MINERAL_DE_LA_GUANABANA_ANNONA_MURICATA_CULTIVADA_EN_EL_OCCIDENTE_DE_VENEZUELA/links/5656321108ae1ef92979e8b6.pdf
9. Serrano M. Evaluación de la actividad antioxidante para el aprovechamiento del muérdago que infesta la zona chinampera de Xochimilco. [Tesis] México: Universidad Autónoma Metropolitana; 2010. [Consultado 09 julio de 2018]. Disponible en: <http://148.206.53.84/tesiuami/UAMI14620.pdf>
10. Yen G. Chen H, Peng H. Antioxidant and Pro-Oxidant Effects of Various Tea Extracts Rev. J. Agric. Food Chem. [Online magazine]. 1997 [Consulted 07 jun 2019]; 45(1):30-34 Available in: <https://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf9603994>

11. Venereo J. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista Med Milit.* [Revista en línea]. 2002 [Consultado 09 julio de 2018]; 31(2): 126-133. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/mil/v31n2/mil09202.pdf>
12. Acosta R, Díaz B. “Evaluación composicional, capacidad antioxidantes de pulpa y cáscara de la *Annona muricata* L. (guanábana)”. [Tesis] Iquitos: Universidad Nacional de la Amazonía Peruana; 2016. [Consultado 09 julio de 2018]. Disponible en: http://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/UNAP/4086/Rosa_Tesis_Titulo_2016.pdf?sequence=1&isAllowed=y
13. Flanzky C. *Enología: Fundamentos Científicos y Tecnológicos.*, 2a ed., Madrid España., Ediciones Mundi Prensa. [Libro en línea] 2003 [Consultado 09 julio de 2018]. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/libro?codigo=1670>
14. Escamilla C, Cuevas E., Guevara J. Flavonoides y sus acciones antioxidantes., *Revista de la Facultad Medica.* [Internet]. 2009 [Consultado 09 julio de 2018]; 52(1):73-75. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=19578>
15. Hernández M. *Tratado de nutrición.*, S. ed., Madrid- España., Díaz de Santos S,A., 1999. [Consultado 09 julio de 2018]. Disponible en: <https://books.google.es/books?id=SQLNJOsZCIwC&printsec=frontcover&hl=es>
16. Mayor R. Estrés Oxidativo y Sistema de Defensa Antioxidante. *Rev. Inst. Med. Trop* [Revista en línea] 2010 [Consultado 09 julio de 2018]; 5(2): 23-29. Disponible en: <http://scielo.iics.una.py/pdf/imt/v5n2/v5n2a05.pdf>
17. Avello M, Suwalsky M. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Rev. Atenea* [Revista en línea] 2006 [Consultado 09 julio de 2018]; 494(1) 161-172 Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/328/32849410.pdf>

18. Quintero M. Osteoartrosis., Biología, fisiopatología, clínica y tratamiento. [Internet] 2010 [Consultado 09 julio de 2018]. Disponible en: <https://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:Bchy2uha7KUJ:https://www.medicapanamericana.com/Libros/Libro/3922/Osteoartrosis.html+&cd=1&hl=es&ct=cInk&gl=pe>
19. Quintanar M., Calderón J. La Capacidad antioxidante total, bases y aplicaciones. Revista de Educación Bioquímica. [Revista en línea]. 2009 [Consultado 09 de julio del 2019]: 28(3): 89-101. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/490/49016098004.pdf>
20. Colina R. Análisis fitoquímico, determinación cualitativa y cuantitativa de flavonoides y taninos, actividad antioxidante, antimicrobiana de las hojas de “*Muehlenbeckia hastulata* (J.E.Sm) I.M. Johnst” de la zona de Yucay (Cusco) [Tesis] Perú: Universidad nacional mayor de san marcos; 2016. [Consultado 09 julio de 2019]. Disponible en: http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/7121/Colina_ra.pdf?sequence=1&isAllowed=y
21. Barrón R. “Glicósidos de flavonoides y actividad antioxidante y citotóxica de *Calia secundiflora* (Ort) Yakovlev. [Tesis]. México: Universidad Autónoma Chapingo; 2011 [Consultado 14 mayo del 2019]. Disponible en: <https://www.chapingo.mx/horticultura/pdf/tesis/TESISDCH2011061606126316.pdf>
22. Rodríguez O, Andrade W, Díaz F. Actividad antioxidante de extractos de hojas de *Bocconia frutescens* L. (Papaveraceae). Revista de Tecnología [Revista en línea]. 2015 [Consultado 01 julio del 2019]; 14 (2): 21-36. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6041492>
23. Tedechi P, Maietti A, Vaquez E, Bonetti G, Bergantin C, Marchetti N; et al. Una alimentación antigua funcional: El Ortico. Art Nutraceutico de Ortiga. Italia. 2018.

[Consultado 10 julio del 2018]. Disponible en:
<https://www.natural1.it/nutraceutica/item/download/2134>

24. Cijo G, Naveen K, Suresh R, Rajkumar V, Ashok K. Quantitative Assessment of the Relative Antineoplastic Potential of the n-butanolic Leaf Extract of *Annona Muricata* Linnin Normal and immortalized Human Cell Lines [Internet]. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention. 2012. 2(13); 699-704, [Consultado 09 julio del 2019]. Disponible en:
<http://www.koreascience.or.kr/article/JAKO201218552489191.page>
25. Cijo G, Naveen K, Suresh R, Ashok K. Antioxidant, DNA protective efficacy and HPLC analysis of *Annona muricata* (soursop) extracts [Internet]. Journal of Food Science and Technology. 2015, 52(4): 2328–2335 [Consultado 9 de julio del 2019] Disponible en:<https://link.springer.com/article/10.1007/s13197-014-1289-7>
26. Manrique M. Evaluación de la capacidad antioxidante de los flavonoides presentes en las hojas de *Annona muricata* (guanábana) mediante química computacional [tesis]. Universidad Católica de Santa María. Perú, 2018. [Consultado 09 julio del 2019]. Disponible en: <http://tesis.ucsm.edu.pe/repositorio/handle/UCSM/7895>

ANEXOS

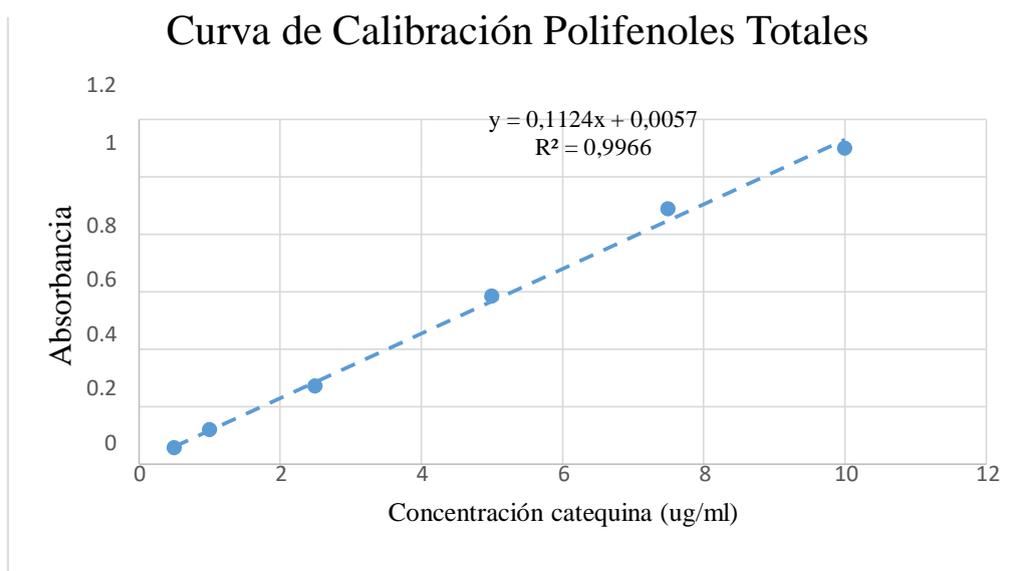


Gráfico N° 1: Curva de calibración de polifenoles totales del extracto metanólico de las hojas de guanábana (*annona muricata*).

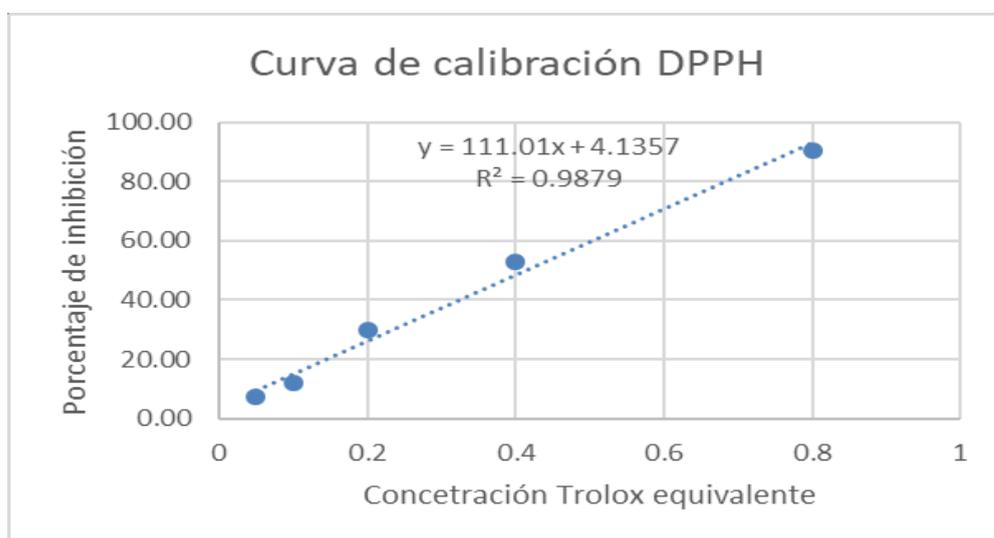


Gráfico N° 2: Curva de calibración de DPPH (2,2- difenil-1-picrilhidrazilo) del extracto metanólico de las hojas de guanábana (*annona muricata*).



Planta de guanábana



Trituración de la hoja



Hoja triturada para llevar a la estufa 40°C



Pulverización



0,2019gr de la muestra en 15ml solución de metanol al 80%



Conservación en fiola de 25ml, cubierta con papel aluminio



Muestra en el gravímetro por 15 minutos (3 veces)



Muestra llevada a la fiola por cada gravímetro



Solución con metanol al 80% para ser nuevamente llevada al gravímetro



Soluciones con la muestra según la metodología para la respectiva lectura



Lectura en el espectrofotómetro

CERTIFICADO DE LA PLANTA *annona muricata* (L.) **GUANÁBANA**

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:	Magnoliales
Orden:	Magnoliales
Familia:	Annonaceae
Género:	<i>Annona</i>
Especie:	<i>A. muricata</i> L.
Nombre común:	"guanábana"

Muestra alcanzada a este despacho por RAUL MANUEL VALIENTE MEJIA, estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud, Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica los Angeles de Chimbote (ULADECH)

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

Trujillo, 08

