



UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

**ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA
Y BIOQUÍMICA**

**CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE
POLIFENOLES TOTALES DEL EXTRACTO
METANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Malvaviscus
arboreus* Cav. (AMAPOLA)**

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

AUTOR:

PIUNDO POLO BRYAN RODDY

ORCID: 0000-0003-1252-3813

Asesor:

Mgtr. Aznaran Febres German Eduardo Isaac

ORCID ID 0000-0002-3151-9564

CHIMBOTE – PERÚ

2019

TÍTULO

**CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE
POLIFENOLES TOTALES DEL EXTRACTO
METANÓLICO DE LAS HOJAS DE *Malvaviscus
arboreus* Cav. (AMAPOLA)**

EQUIPO DE TRABAJO

AUTOR

Piundo Polo Bryan Roddy

ORCID: **0000-0003-1252-3813**

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

ASESOR

Aznaran Febres German 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

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

Dr. Jorge Luis Díaz Ortega

Presidente

Mgr. Teodoro Walter Ramírez Romero

Miembro

Mgr. Édison Vásquez Corrales

Miembro

Mgr. Aznaran Febres German Eduardo Isaac

Asesor

AGRADECIMIENTOS

El presente informe de investigación, agradezco principalmente a Dios por permitirme llegar hasta donde he llegado, porque hizo realidad esta meta tan anhelada.

A la UNIVERSIDAD CATOLICA LOS ANGELES DE CHIMBOTE por darme la oportunidad de estudiar y ser un profesional.

A mi asesor, Dr. German Aznaran Febres por su dedicación, conocimientos, su paciencia y su motivación ha logrado en mi pueda acabar esté presente trabajo.

Son muchas las personas que han formado parte de mi vida profesional a las cuales les agradezco por su gran apoyo y compañía en los momentos difíciles. Algunos están conmigo y otros en mis recuerdos y en mi corazón los agradezco por formar parte de mí, por lo que me han ayudado y por todas sus bendiciones.

DEDICATORIA

A Dios Por protegerme y brindarme esa fuerza para poder superar todos los obstáculos a lo largo de mi vida

A mis padres Alfredo que en paz descansa y Magaly, por los grandes valores que forjaron en mí, por su dedicación y amor, por su gran esfuerzo y sacrificio que hicieron por mí para llegar hasta aquí. Porque todo lo que soy y lo que pueda lograr en esta vida se lo debo a ellos

A mis hermanos Henry y Marcos, el cual me motiva a seguir adelante y aconsejándome para seguir adelante, son los hermanos que siempre quise tener y estoy muy agradecido por ellos que tienen hacia mi persona

A mi sobrina Alessia por el gran motivo para seguir adelante, por llenar mi vida en alegrías.

A mis abuelos por sus buenos consejos, por los valores que forjaron en mí, por su humildad y sencillez ante los buenos y malos momentos.

RESUMEN

La diversidad genética de plantas medicinales y aromáticas que se desarrollan en nuestros agroecosistemas son muy amplias, de gran importancia para la salud de la población, pues generalmente todos los principios activos para la cura de diferentes males provienen de la flora existente y de muchas especies aun no estudiadas., Uno de estos es la planta Amapola (*Malvaviscus arboreus* Cav.) el cual es una planta que crece mayormente en zonas tropicales de Sudamérica. El objetivo del estudio fue determinar la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales del extracto metanólico de las hojas de *Malvaviscus arboreus* Cav. (Amapola). De acuerdo a la investigación la extracción exhaustiva *Malvaviscus arboreus* Cav. (Amapola) y los métodos que se utilizaron fueron el método de secuestro de radicales libres DPPH para determinar la actividad antioxidante y el método de Folin-Ciocalteu, para determinar el contenido de polifenoles. Los resultados encontrados respecto al contenido de polifenoles Las hojas de *Malvaviscus arboreus* Cav. tiene una concentración de polifenoles 32.68 ± 1.52 mg catequina eq./g de muestra seca. Los resultados dados en la evaluación de la actividad antioxidante mediante el método DPPH, los resultados demuestran que las hojas de *Malvaviscus arboreus* Cav. Posee una capacidad antioxidante equivalente a una concentración de 384.69 ± 10.04 mM Trolox/g. Se concluye que el extracto metanólico de las hojas de *Malvaviscus arboreus* Cav. (Amapola) si tiene capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales.

Palabras claves: Antioxidante, DPPH, polifenoles, Folin-Ciocalteu, *Malvaviscus arboreus* Cav

ABSTRACT

The genetic diversity of medicinal and aromatic plants that develop in our agroecosystems are very wide, of great importance for the health of the population, because all the active principles for the cure of different males come from the existing flora and many species not yet studied, one of these is the Poppy plant (*Malvaviscus arboreus* Cav.) which is a plant that grows mostly in tropical areas of South America. The objective of the study was to determine the antioxidant capacity and the total polyphenol content of the methanolic extract of the leaves of *Malvaviscus arboreus* Cav. (Poppy) According to the investigation the exhaustive extraction *Malvaviscus arboreus* Cav. (Poppy) and the methods to be used were the DPPH free radical section method to determine the antioxidant activity and the Folin-Ciocalteu method, to determine the polyphenol content. The results found regarding the polyphenol content The leaves of *Malvaviscus arboreus* Cav. It has a concentration of polyphenols 32.68 ± 1.52 mg of catechin eq./g of dry sample. The results given in the evaluation of the antioxidant activity by means of the DPPH method, the results evaluated that the leaves of *Malvaviscus arboreus* Cav. It has an antioxidant capacity equivalent to a concentration of 384.69 ± 10.04 mM Trolox / g. It is concluded that the methanolic extract of the leaves of *Malvaviscus arboreus* Cav. (Poppy) if it has antioxidant capacity and total polyphenol content.

Keywords: Antioxidant, DPPH, polyphenols, Folin-Ciocalteu, *Malvaviscus arboreus* Cav.

ÍNDICE

1. Título de la tesis.....	ii
2. Equipo de trabajo.....	iii
3. Firma del jurado y asesor.....	iv
4. Agradecimiento.....	v
5. Dedicatoria.....	vi
6. Resumen.....	vii
7. Abstract.....	viii
8. Índice de Tabla.....	x
I. INTRODUCCIÓN:	1
II. REVISION LITERARIA.....	3.
2.1. Antecedente.....	3
2.2. Bases Teóricas de la Investigación.....	6
III. HIPOTESIS.....	13
IV. METODOLOGIA.....	14
4.1. Diseño de la investigación:	14
4.2. Población y muestra:	14
4.3. Definición y operacionalización de variables e indicadores:	16
4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos:	17
4.5. Plan de análisis:	17
4.6. Matriz de consistencia:	18
4.7. Principios éticos:	19
V. RESULTADOS.....	20
5.1. Resultados.....	20
5.2. Análisis de Resultados.....	22
VI. CONCLUSIONES.....	24
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:	25
ANEXOS.....	32

INDICE DE TABLAS

Tabla 1: Promedio y desviación estándar del contenido de polifenoles del extracto metanólico de las hojas de <i>Malvaviscus arboreus</i> Cav. (Amapola) expresado en mg de catequina eq/g.....	20
Tabla 2. Promedio y desviación estándar de la actividad antioxidante del extracto metanólico de las hojas <i>Malvaviscus arboreus</i> Cav. Expresado en una concentración mM equivalente de trolox /g de muestra.....	21

I. INTRODUCCIÓN

El presente proyecto, proviene de la línea de investigación de la escuela de Farmacia y Bioquímica denominada estudio de plantas medicinales con fines terapéutico. La diversidad genética de plantas medicinales y aromáticas que se desarrollan en nuestros agroecosistemas son muy amplias, de gran importancia para la salud de la población, pues generalmente todos los principios activos para la cura de diferentes males provienen de la flora existente y de muchas especies aun no estudiadas.

Desde la época de los incas, nuestros ancestros poseían el conocimiento milenario de varias plantas curativas debido al conocimiento tradicional de la etnobotánica, cuyo estudio ha sido ampliamente desarrollado en sus propiedades terapéuticas y con un gran potencial económico y social. La medicina tradicional se usa a nivel mundial y tiene una importancia económica, ya que es muy accesible a las plantas medicinales. En los países en desarrollo, la medicina tradicional es a menudo el único modo de tratamiento accesible y económicamente viable.^{1,2}

Malvaviscus arboreus Cav. Se le conoce como amapola, falso hibisco, manzanita, farolito en México y en Cuba como, pasiflora, originaria de México, Perú, Brasil y México Centroamérica y otras zonas tropicales de América, se encuentra presente desde el nivel del mar hasta los 1865 m, solo crece en climas, cálido, semicálido y semitemplado, y crece en muchas partes de la selva tropical.^{3,4}

Es un arbusto leñoso que puede alcanzar 2 m de altura y 18 m de ancho, presenta ramaje abundante y tallo delgado con hojas más anchas en la base, bordeadas de dientes blandos; sus flores rojas muestran estambres muy

sobresalientes, los cuales sobrepasan la corola que no llega a abrirse permaneciendo estrechamente alrededor del pistilo. Solo florece bien tanto en condiciones de pleno sol como en completa sombra, ya una vez que la plantación sea dada esta tolera la sequía.³

Se conoce muy poco acerca de la química de *Malvaviscus arboreus*. En las flores se ha identificado el flavonoide pelargonidín, y en la raíz, el esterol, beta-sitosterol, además de la presencia de taninos.⁴

Malvaviscus arboreus lo utilizan para el tratamiento de diferentes enfermedades nerviosas, las cuales sirve para el estrés, depresión, la ansiedad e insomnio, Cada año se consume una cantidad considerable de drogas sintéticas, lo que implica un gasto sistemático y significativo de recursos económicos, lo que demuestra la necesidad de buscar alivio a través de plantas medicinales que poseen principalmente propiedades tónicas nerviosas y relajantes nerviosos, muchas de las cuales combaten estas manifestaciones del sistema nervioso.⁵

La actividad antioxidante es de gran importancia porque evita el estrés oxidativo que causa enfermedades degenerativas como el Alzheimer, el Parkinson, la lesión cerebral hipertensiva, la distrofia muscular, la esclerosis múltiple, el cáncer, la catarogénesis, la degeneración de la retina, entre otras patologías. Estos se deben a la exposición directa o indirecta de los radicales libres.⁶

Y por consecuente se propone la siguiente pregunta de investigación:

¿Tendrá capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales el extracto metanólico de las hojas de *Malvaviscus arboreus* (amapola)? Teniendo en cuenta,

Objetivo general:

- Determinar la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales del extracto metanólico de las hojas de *Malvaviscus arboreus* Cav. (amapola).

Objetivos específicos:

- Determinar la concentración de polifenoles totales del extracto metanólico de las hojas de *Malvaviscus arboreus* Cav. (amapola).
- Determinar la capacidad antioxidante del extracto metanólico de las hojas *Malvaviscus arboreus* Cav. expresado en mM de trolox eq. /g de muestra seca.

II. REVISIÓN DE LA LITERATURA

2.1. Antecedentes

Artanti A. et al. Realizaron un estudio en el año 2018.⁷ de la actividad de barrido radical del extracto etanólico de flores de la familia *Malvaceae*. La flor de hibisco marino (*Hibiscus tiliaceus* L.), la flor de zapato (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) y la flor de gorra de turco (*Malvaviscus arboreus* Cav.). En el ensayo de actividad antirradical determinaron por el método DPPH. Según el estudio, la flor de la familia de las malváceas contenía taninos, polifenoles, saponina y antocianina. La actividad antioxidante, respectivamente, la flor de gorra de turco ($6,80 \pm 0,22$ mM de trolox eq. /g), la flor del zapato ($14,62 \pm 0,104$ mM de trolox eq. /g) y flor de hibisco marino ($38,8 \pm 0,086$ mM de trolox eq. /g). Los tres del extracto fueron teniendo una fuerte actividad antioxidante.

Murrilo, et al. En Colombia en el año 2018⁸. Realizaron un estudio en las partes aéreas de la especie *M. arboreus* Cav. Los metabolitos secundarios a los cuales se les atribuyo acción farmacológica, y evaluaron sus propiedades antioxidant

es y su efecto citotóxico. El cual se hallaron los metabolitos secundarios mediante el tamizaje fitoquímico y la determinación de la capacidad antioxidante fue mediante el método de autooxidación del piragolol. Los resultados de los extractos de las flores y las hojas de la especie *M. arboreus* poseen metabolitos secundarios como alcaloides, flavonoides, taninos, naftoquinonas o antraquinonas, glucósidos cardiotónicos y lactonas terpénicas. La actividad antioxidante muestra un porcentaje de inhibición de 20 % para las flores y de 43 % para las hojas y concluyo que las hojas y flores de *Malvaviscus arboreus* Cav. Contiene propiedades antioxidantes.

Ceballos J. en el año 2018.⁹ Realizo un estudio de las condiciones de extracción de polifenoles a partir de flores de *hibiscus rosa sisnensis* (familia malvaceae), Usando el método La capacidad de atrapamiento de radicales de oxígeno y el análisis cromatográfico por UHPLC para determinación de polifenoles como resultados obtuvo en capacidad antioxidante 460 ± 9 mM trolox Eq/ g y en polifenoles totales $2,9 \pm 0,20$ mg de catequina eq./g .

Echevarria A, et al. En Ecuador en el año 2016¹⁰ realizaron un estudio de la evaluación de la capacidad antioxidante y metabolitos secundarios de extractos de dieciséis plantas medicinales. Dentro de las 16 especies estudiadas se encuentra la balsa (*Ochroma* sp.)Pertenece a la familia *malvaceae*. Para realizar el estudio usaron el método DPPH (radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazil). Como resultados a la actividad captadora de radicales libres de los extractos se expresó como valor de IC₅₀ (µg/mL) (cantidad necesaria para inhibir la formación de radicales DPPH en un 50%). El valor bajo de IC₅₀ refleja mejor acción eliminadora de radicales libres. Aunque la mayoría de las muestras evaluadas mostraron buena capacidad

antioxidante con este método (DPPH), los ensayos de los extractos hidro-alcohólicos demuestran que balsa (IC₅₀ 14,0 µg/mL) contiene capacidad antioxidante.

Guerrera T, et al. En el año 2014 ¹¹ realizaron una investigación sobre un análisis fitoquímico y la cuantificación de los flavonoides totales presentes en la especie *Malachra alceifolia Jacq.* perteneciente a la familia *malvaceae*. Los resultados obtenidos del análisis fitoquímico en las hojas se encontró la presencia de flavonoides, leucoantocianidinas, triterpenos, antocianinas, saponinas y presencia de alcaloides y taninos. Asimismo, en las flores fue el siguiente: flavonoides, leucoantocianidinas, triterpenos, antocianinas y presencia de taninos y también la presencia de alcaloides y saponinas. La cantidad de flavonoides totales se encontró en hojas y flores de *Malachra alceifolia* $7,87 \pm 0,089$ y $9,36 \pm 0,025$ Quercetina equivalente/g de muestra seca respectivamente. Concluyeron que la especie estudiada es rica en flavonoides antocianinas y leucoantocianidinas.

Lázara et al. En Cuba del año 2013 ¹² realizaron un estudio relacionado a la explotación de *Malvaviscus arboreus* Cav. con fines medicinales, hicieron un tamizaje fitoquímico en extractos etéreo, alcohólico y acuoso; parámetros farmacognósticos; tipo de secado; índices numéricos (humedad, ceniza totales, sustancias solubles en agua y alcohol 70 %), y vida útil de la droga conservada por año a temperatura ambiente. El cual se hallaron diversidades metabolitos secundarios en el extracto alcohólico de esta planta, el cual tiene una actividad antioxidante.

Galeano y Paladines en Colombia en el año 2012 ¹³ Realizaron un estudio de la actividad antioxidante de extractos metanólicos de granos de copoazu (*Teobroma grandiflorum*), perteneciente a la familia malvaceae, evaluaron la actividad antioxidante y el contenido de fenoles totales de extractos metanólicos de granos de copoazu, sometidos a procesos de desengrasado por prensado y Soxhlet. Demostraron que el extracto metanólico sometido al prensado presentó una mayor capacidad atrapadora de radicales DPPH ($3080,6 \pm 0,004 \mu\text{mol Tx/g}$ muestra seca) y capacidad reductora ($2780,1 \pm 0,0060 \mu\text{mol AA/g}$ muestra seca); mientras que el extracto total mostró mayor contenido de fenoles totales ($525,1 \pm 0,003 \text{ mg GA/g}$ muestra seca).

2.2. BASES TEÓRICAS

2.2.1. Taxonomía

Taxonomía de *Malvaviscus arboreus* Cav

Familia: *Malvaceae juss*

Género: *Malvaviscus fabr*

Especie: *M. arboreus*

Nombre común: amapola

Es un arbusto que alcanza un tamaño de 1 a 3 m de altura. Los tallos esparcidamente pubescentes con los tricomas recurvados. Las hojas lanceoladas u ovadas, agudas o acuminadas en el ápice, son más anchas en las bases o en forma de corazón y el borde tiene dientes suaves o marcados y cubiertos de pelos estrellados. Las flores brotan en la unión de la hoja con el tallo, son de color rojo, son péndulas, solitarias en las axilas o agrupadas apicalmente, con pedicelos de 2–4 cm de largo de 3 a 6 cm de largo y con los estambres muy

salientes, sobrepasando la corola que casi siempre está cerrada. Ahora es popular en cultivo como planta ornamental. Sus flores no se abren totalmente y ayudan a atraer mariposas y colibríes.¹⁴

2.2.2. Propiedades del malvavisco

Presencia de compuestos como los alcaloides, flavonoides, pudieran ser los que originan los efectos sedantes que se reportan de manera tradicional, puesto que esos grupos de compuestos han sido utilizados en el tratamiento de enfermedades relacionadas con el sistema nervioso central; los alcaloides como depresores y estimulantes y los flavonoides formando parte de drogas sedantes han demostrado efectos ansiolíticos.¹⁴

2.2.3. Componentes del malvavisco

Se conoce muy poco acerca de la química de *Malvaviscus arboreus*. En las flores se ha identificado el flavonoide pelargonidín, y en la raíz, el esterol, beta-sitosterol, además de la presencia de flavonoides, taninos, alcaloides, esteroides, quinonas y azúcares reductores, mucilago en las hojas⁴⁻⁸

2.2.4. Usos etnobotánicos

La única referencia la proporciona Maximino Martínez, que en el siglo XX la registra útil para las aftas, amigdalitis y como antidiarréico, antidisentérico, emoliente y pectoral.⁴

2.2.5. Antioxidante

Nuestro organismo tiene sistemas de defensa contra las ROS (los cuales son generados de manera fisiológica o patológica, estas sustancias son llamadas antioxidantes, los cuales según su origen son clasificados en endógenos y exógenos. Entre los denominados antioxidantes endógenos se encuentran: los antioxidantes enzimáticos (superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa) y los no enzimáticos (GSH, ácido úrico, coenzima Q). Cuando la producción de las ROS se incrementa en casos patológicos, se altera el equilibrio con los sistemas antioxidantes ocasionando un desbalance o estrés oxidativo. (Avello y Suwalsky, 2006).¹⁵

2.2.6. Radicales libres

Desde el punto de vista químico los radicales libres son todas aquellas especies químicas, cargadas o no, que en su estructura atómica presentan un electrón desapareado o impar en el orbital externo, dándole una configuración espacial que genera gran inestabilidad, señalado por el punto situado a la derecha del símbolo. Poseen una estructura birradicálica, son muy reactivos, tienen una vida media corta, por lo que actúan cercano al sitio en que se forman y son difíciles de dosificar. Desde el punto de vista molecular son pequeñas moléculas ubicuitarias y difusibles que se producen por diferentes mecanismos entre los que se encuentran la cadena respiratoria mitocondrial, la cadena de transporte de electrones a nivel microsomal y en los cloroplastos, y las reacciones de oxidación, por lo que producen daño

celular (oxidativo), al interactuar con las principales biomoléculas del organismo.¹⁶

2.2.7. Estrés oxidativo

El daño o estrés oxidativo se ha definido como la exposición de la materia viva a diversas fuentes que producen una ruptura del equilibrio que debe existir entre las sustancias y los mecanismos antioxidantes encargados de eliminar dichas especies químicas, ya sea por un déficit de estas defensas o por un incremento exagerado de la producción de especies reactivas del oxígeno. Todo esto trae como consecuencia alteraciones de la relación estructura-función en cualquier órgano, sistema o grupo celular especializado; por lo tanto se reconoce como mecanismo general de daño celular, asociado con la fisiopatología primaria o la evolución de un número creciente de entidades y síndromes de interés médico-social, involucrado en la génesis y en las consecuencias de dichos eventos.^{16,17}

2.2.8. Mecanismo de acción de Antioxidantes Polifenólicos

Actividad antimutagénica La palabra antimutagénica fue utilizada inicialmente por Novik y Szilard en 1951, cuando notaron que la presencia de nucleótidos normales de purinas en un medio de crecimiento causaba una reducción significativa en la frecuencia de mutaciones de resistencia de fagos en la población bacteriana. Es el proceso por el cual se reduce la frecuencia de mutaciones espontáneas o inducidas. La acción antimutagénica

de un compuesto se define como "la característica o acción de esta sustancia para reducir o evitar el daño mutacional en el ADN de la célula".¹⁸

2.2.9. Acción antirradicales

- Inhiben la oxidación de β -carotenos estudiados por la mioglobina.
- Inhiben la oxidación de β -carotenos realizada por el sistema Fe-ácido ascórbico.
- Son donantes de hidrógenos con actividad scavenger.¹⁹

2.2.10. Acción antiaterogénica

- Bloquean la oxidación de las lipoproteínas de baja densidad in vivo.
- Inhiben la oxidación de las LDL ex vivo en presencia de Cu^{++} .
- Exhiben mayor capacidad protectora que el α -tocoferol en la inhibición de la oxidación de las LDL.¹⁹

2.2.11. DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo)

Existen muchos métodos para medir la capacidad antioxidante de una especie o sustancia, un método ampliamente utilizado se basa en la estabilidad del radical 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH) que se atribuye 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 se produce con la consiguiente pérdida de color y, por lo tanto, la pérdida de absorbancia. Los efectos de los antioxidantes en la eliminación de radicales DPPH, se deba a su capacidad de donar hidrógeno, uno de los principales mecanismos antioxidantes para inhibir la reacción en cadena de la peroxidación lipídica²⁰

2.2.12. Técnica para determinar polifenoles totales

La prueba de Folin-Ciocalteu se usa como una medida del contenido de compuestos fenólicos totales en productos vegetales. 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.²¹

2.2.13. Técnica para determinar la capacidad antioxidante

Método DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo)

Este método, desarrollado por BRAND-WILLAMS et al., se basa en la reducción de la absorbancia medida a 515 nm del radical DPPH por antioxidantes. Se basa en la medida de la absorbancia del radical DPPH

100 μM (3,9 mL) disuelto en metanol al 80%, a la longitud de onda de 517 nm. Se añade 0,1 mL de la muestra, la mezcla se homogeniza cuidadosamente, y se mantiene en la oscuridad durante 30 minutos. Las medidas de absorbancia a 517 nm se realizan antes de añadir la muestra (A0) Y pasados los 30 y 60 minutos (Af). La concentración de DPPH en el medio de reacción se calcula a partir de una curva de calibrado obtenida por regresión lineal. Los resultados se expresan en TEAC, o sea, actividad equivalente a Trolox ($\mu\text{M/g}$ de muestra peso fresco). El antioxidante sintético de referencia Trolox, a una concentración de 0,08-1,28 mM en disolución de metanol al 80%, se ensaya en las mismas condiciones, expresándose los resultados en TEAC y VCEAC.^{22;23}

III. HIPOTESIS.

El extracto metanólico de las hojas de *Malvaviscus arboreus* Cav. (Amapola) si tiene capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales.

IV. METODOLOGIA

4.1. Diseño de la investigación

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

4.2. Población y muestra

4.2.1. Obtención de la muestra

El estudio se realizó con las hojas del espécimen vegetal *Malvaviscus arboreus* Cav. en buen estado de vegetativo y fitosanitario, y se obtuvieron de la zona de Campo de silvestre de PPAO, distrito Nuevo Chimbote, de la provincia de Santa, departamento de Ancash, Fueron secados en estufa a 40°C durante 6 horas, se utilizó 0.2136 g del extracto seco de las hojas de *Malvaviscus arboreus* Cav.

4.2.2. Procedimiento del extracto exhaustivo

Para realizar la extracción se utiliza la muestra seca y triturada de *Malvaviscus arboreus* Cav. (amapola), 0.2136 g 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. ²⁴

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 ppm 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.²⁴

4.2.4. Preparación del DPPH:

Se preparó metanol en 100 ml, en el que se necesitó 0.2136 g de polvo de DPPH, aforamos con metanol en la fiola de 100ml, para tenerlo 0.06mM. ²⁴

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 ul y 10 mM, para obtener la curva de calibración. Respectivamente de metanol. En una cubeta de poliestireno 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. Luego agregamos 50µL 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: ²⁴

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

Leyenda:

DPPH t0: absorbancia de la solución de DPPH control tiempo 0

DPPH t15: absorbancia de la muestra a tiempo 15

4.3. Definición y operacionalización de variables e indicadores.

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Indicadores
<p>Dependiente:</p> <p>Evaluación de la capacidad de las hojas de <i>Malvaviscus arboreus</i> Cav. (amapola)</p>	<p>Los antioxidantes son sustancias que evitan el estrés oxidativo.</p>	<p>La capacidad antioxidante fue evaluada mediante el método del DPPH y a través del espectrofotómetro.</p>	<p>mM de trolox/g de de las hojas de <i>Malvaviscus arboreus</i> Cav. (amapola)</p>
<p>Independiente:</p> <p>Contenido de Polifenoles totales en las hojas de <i>Malvaviscus arboreus</i> Cav. (amapola)</p>	<p>Contenido de Polifenoles totales expresados en mg. x gr. de muestra seca..</p>	<p>El contenido de polifenoles se determinó mediante el método de Folin Ciocalteau y a través del espectrofotométrico.</p>	<p>- mg de catequina /g de las hojas de <i>Malvaviscus arboreus</i> Cav. (amapola),</p>

4.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

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

4.5 Plan de análisis.

Los datos se procesaron mediante en una matriz elaborada en el programa Excel se obtuvieron los datos de la media y desviación estándar.

4.6. Matriz de consistencia

TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN	FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	OBJETIVOS:	HIPOTESIS	VARIABLE	TIPO DE INVESTIGACION	METODOLOGIA
Evaluación de la Capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales del extracto metanolico de las hojas de <i>Malvaviscus arboreus</i> (Amapola),	¿Tendrá capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales el extracto metanólico de las hojas de <i>Malvaviscus arboreus</i> (Amapola)?	<p>Generales Determinar la capacidad antioxidante y la contenido de polifenoles totales del extracto metanólico de las hojas de <i>Malvaviscus arboreus</i> Cav. (Amapola).</p> <p>Específicos *Determinar la concentración de polifenoles totales del extracto metanólico de las hojas de <i>Malvaviscus arboreus</i> Cav. (Amapola). *Determinar la capacidad antioxidante del extracto metanólico de las hojas <i>Malvaviscus arboreus</i> Cav. expresado en mM de trolox eq. /g de muestra seca.</p>	El presente informe tiene una hipótesis implícita.	<p>Dependiente: Evaluación de la capacidad antioxidante de la hojas de <i>Malvaviscus arboreus</i> Cav.</p> <p>Independiente Contenido de Polifenoles totales en la hojas de <i>Malvaviscus arboreus</i> Cav.</p>	Estudio de tipo prescriptivo	<p>Determinación de polifenoles totales según el método de FolinCiocalteu</p> <p>-Evaluación de la capacidad antioxidante según el método de DPPH.</p>

4.7. Principios éticos

Se impulsará la recuperación del conocimiento tradicional sobre el uso de *Malvaviscus arboreus* Cav. como antioxidante y con un alto contenido de polifenoles, no solo para preservar su legado cultural, sino también para patentar información relevante y demostrar científicamente sus efectos terapéuticos que servirán como nuevas fuentes en investigaciones 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: Promedio y desviación estándar del contenido de polifenoles del extracto metanólico de las hojas de *Malvaviscus arboreus* Cav. (Amapola) expresado en mg de catequina eq/g.

<i>MUESTRA</i>	<i>PARTE DE LA PLANTA</i>	<i>TIPO DE EXTRACTO</i>	<i>Polifenoles totales (mg de catequina eq./g de muestra seca)</i>
MAC	Hojas	Metanol 80 %	32.68± 1.52

Fuente: Datos propios de la investigación

MAC: *Malvaviscus arboreus* Cav.

Tabla 2: Promedio y desviación estándar de la actividad antioxidante del extracto metanólico de las hojas *Malvaviscus arboreus* Cav. Expresado en una concentración eq mM de trolox /g de muestra.

<i>MUESTRA</i>	<i>PARTE DE LA PLANTA</i>	<i>TIPO DE EXTRACTO</i>	<i>(mM Trolox Eq./1 g de muestra seca)</i>
MAC	Hojas	Metanol 80%	384.69± 10.04

Fuente: Datos propios de la investigación

Leyenda:

mM: Milimolar

MAC: *Malvaviscus arboreus* Cav.

5.2. ANALISIS DE RESULTADOS

En el análisis de contenidos de compuestos fenólicos es importante debido a la gran variedad de actividades biológicas que estos compuestos presentan, considerándose uno de los fitoquímicos alimentarios ya que es importante por su contribución al mantenimiento a la salud. La actividad de los polifenoles está relacionada con su carácter antioxidante. Los compuestos fenólicos constituyen una de las principales clases de metabolitos secundarios de las especies vegetales, donde desempeñan diversas funciones fisiológicas.¹⁹

La determinación de concentración de polifenoles totales en la hoja de *Malvaviscus arboreus* Cav. se realizó mediante el método de Folin Ciocalteu, previo a este análisis se realizó extracción exhaustiva de las hojas de *Malvaviscus arboreus* Cav. **Tabla 1** demostrando que las hojas contienen un promedio de 32.68 de ± 1.52 mg catequina eq./g muestra seca. Según los resultados dados se hizo una comparación con *hibiscus rosa sisnensis* perteneciente a la familia malvaceae, este estudio realizado en el año 2018 por Ceballos J.⁹ realizó el estudio de las condiciones de extracción de polifenoles a partir de flores de *hibiscus rosa sisnensis*. Usando el método de capacidad de atrapamiento de radicales de oxígeno y el análisis cromatográfico por UHPLC para la determinación de polifenoles, como resultado obtuvo una capacidad antioxidante 460 ± 9 mM trolox Eq/ g y en polifenoles totales $2,9 \pm 0,20$ mg de catequina eq./g. En este estudio de las flores de *hibiscus rosa sisnensis* nos indica que también presenta una actividad antioxidante y contenido de polifenoles al igual que *Malvaviscus arboreus* Cav.

En la determinación para la actividad antioxidante de las hojas de *Malvaviscus arboreus* Cav. Se realizó de acuerdo al método DPPH, para esta determinación se utilizó el extracto que se obtuvo tras la extracción exhaustiva de las hojas *Malvaviscus arboreus* Cav. Dando como resultados en la **tabla 2** que las hojas se muestra una capacidad antioxidante de 384.69 ± 10.04 mM al trolox equivalente/g muestra seca, esto nos indica que las hojas tienen capacidad antioxidante. Los resultados de esta investigación se comparan al realizado en el año 2018 por Artani A. et al. ⁷ En el cual se encontró una actividad de eliminación de radicales libres por el método DPPH en la flor de gorra de turco (*Malvaviscus arboreus* Cav.) con una capacidad antioxidante de $(6,80 \pm 0,22$ mM trolox Eq/g), de acuerdo al resultado presente en las hojas de *malvaviscus arboreus* Cav. **Tabla 1** las hojas presentan mayor capacidad antioxidante a diferencia de las flores. Se cree que los efectos de los antioxidantes en la eliminación de radicales DPPH, se deba a su capacidad de donar hidrógeno, uno de los principales mecanismos antioxidantes para inhibir la reacción en cadena de la peroxidación lipídica.²⁰

Malvaviscus arboreus Cav. Presenta actividad antioxidante debido a que presenta metabolitos según estudios en las flores se ha identificado el flavonoide pelargonidín, y en la raíz, el esteroide, beta-sitosterol, naftoquinonas o antraquinonas, glucósidos cardiotónicos y lactonas terpénicas. Además de la presencia de flavonoides, taninos, alcaloides, esteroides, quinonas y azúcares reductores, mucilago en las hojas ⁴⁻⁸

VI. CONCLUSIONES:

1. Las hojas de *Malvaviscus arboreus* Cav. (amapola) tiene actividad antioxidante y contenido de polifenoles.
2. Las hojas de *Malvaviscus arboreus* Cav. tiene una concentración de polifenoles 32.68 ± 1.52 mg catequina eq./g de muestra seca.
3. Las hojas de *Malvaviscus arboreus* Cav. Posee una capacidad antioxidante equivalente a una concentración de 384.69 ± 10.04 nM trolox eq./g de muestra seca.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Instituto Nacional de Innovación Agraria (INIA) - Cultivo de plantas medicinales y aromáticas [Internet]. Inia.gob.pe. [citado 22 Junio 2018]. Disponible en: <http://www.inia.gob.pe/capacitacion-a-distancia/cap-cursos-virtuales/171-capacitacion/cursos-2015/963-curso-2015-03>
2. Rainer B, Douglas S. Plantas medicinales de los Andes y la Amazonia. La Flora mágica y medicinal del Norte del Perú [Libro internet] Perú , 2015. [Citado 22 junio 2018] Disponible en: https://www.researchgate.net/profile/Rainer_Busmann/publication/283355334_PLANTAS_MEDICINALES_DE_LOS_ANDES_Y_LA_AMAZONIA_-_La_Flora_magica_y_medicinal_del_Norte_del_Peru/links/563a6f7808ae405111a5883f/PLANTAS-MEDICINALES-DE-LOS-ANDES-Y-LA-AMAZONIA-La-Flora-magica-y-medicinal-del-Norte-del-Peru.pdf
3. Fryxell P. Malvaceae. In: Hammel BE, Grayum MH, Herrera C, Zamora N. Manual de Plantas de Costa Rica. [Internet] Costa Rica: Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden; 2007. [Citado 22 junio 2018] 6 Pp. 313-73 <https://www.nhbs.com/series/manual-de-plantas-de-costa-rica>
4. Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana. Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana [Internet] Instituto Nacional Indigenista. México, 2009. Disponible en:

<http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=Manzanita&id=7612>

5. Acosta de la Luz, Hechevarría S, Rodríguez F, Rivera A, Milanés F, Solano M, et al . Explotación de *Malvaviscus arboreus* Cav. con fines medicinales. *Rev Cubana Plant Med [Revista de Internet]*. 2013 Septiembre [citado 2018 Junio 22] ; 18(3): 461-468. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962013000300012&lng=es.

6. Robalino L. Evaluación del efecto antidiarréico y cicatrizante de la infusión y del extracto etanólico de *Cyclospermum leptophyllum* (Pers.) Sprague En ratones (*Mus musculus*) Y CONEJOS (*Oryctologus cuniculus*) [Tesis de grado] Riobamba, Ecuador. Escuela superior politécnica de Chimborazo 2014. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/3314/1/56T00439.pdf>

7. Artanti A. et al. Actividad de barrido radical del extracto etanólico de Flores de la familia Malvaceae. Serie de conferencias de la PIO: Ciencia e ingeniería de materiales [Artículo en internet] 2018 [Citado 22 de octubre 2019] Disponible en: <https://drive.google.com/open?id=1jKpCUbOl8fohjDNwbDw96GP5ILXPhh>
e_

8. Murillo A, Gómez M, Hurtado L. Determinación de la actividad antioxidante de *Malvaviscus arboreus* Cav. (Malvavisco). Revista Cubana de Plantas Medicinales [revista en Internet]. 2018 [citado 2019 Jun 13];23(2) Disponible en: <http://www.revplantasmedicinales.sld.cu/index.php/pla/article/view/588>

9. Ceballos J. estudio de las condiciones de extracción de polifenoles a partir de flores de *hibiscus rosa sisnensis* (familia malvaceae) [Trabajo de Grado] Bucaramanga, Universidad industrial de Santander; 2018. Disponible en: <http://noesis.uis.edu.co/bitstream/123456789/5950/1/173563.pdf>

10. Echevarria A, et al. Evaluación de la capacidad antioxidante y metabolitos secundarios de extractos de dieciséis plantas medicinales. Ciencia UNEMI. [Revista en internet] 2016 [Citado el 10 de agosto 2010] 9(20): 29-35. Disponible en: <http://ojs.unemi.edu.ec/index.php/cienciaunemi/article/view/344/297>

11. Guerrero T, et al. Tamizaje fitoquímico y cuantificación de flavonoides totales de las hojas y flores de *malachra alceifolia jacq.* Investigación amazonia.[Revista internet] 2014 [citado 10 de agosto 2019] 4 (1 y 2): 70-75. Disponible en: <http://revistas.unas.edu.pe/index.php/revia/article/view/73>

12. Lazaro A. et al. Explotación de *Malvaviscus arboreus* Cav. con fines medicinales. Rev Cubana Plant Med [Revista Internet]. 2013 [citado 22 de junio 2019] ; 18(3): 461-468 : Disponible en

:http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962013000300012

13. Galeano G, Paladines B. Actividad antioxidante de extractos metanólicos de granos de copoaz/ (*Theobroma grandiflorum*). Vitae [Artículo en internet] 2012 [Citado 15 de junio 2019] 19 (1): 436-438. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/1698/169823914137.pdf>

14. Sierra C, González L, Rodríguez A, Marrero D. Tamizaje fitoquímico del *Malvaviscus penduliflorus* que crece en Cuba. Rev Cubana Plant Med [Revista Internet]. 2010 Dic [citado 2018 Jun 22] ; 15(4): 192-197. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962010000400002&lng=es.

15. Torres C. Determinación de la actividad antioxidante de los extractos clorofórmico, etanólico y acuoso del arrayán, calaguala, canayuyo, y tipo [Tesis] Riobamba, Ecuador, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, 2012 Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/1999/1/56T00307.pdf>

16. Camarena B. Efecto antioxidante del extracto hidroalcohólico de hojas de *Jungia paniculata* (dc.) A. Gray “matico serrano” en un modelo de daño gástrico en ratas inducido por etanol 70% [Tesis] Lima, Perú. Universidad

nacional mayor de san marcos, 2016. Disponible en:
[http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/5594/Bejar_ce.pdf](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/5594/Bejar_ce.pdf?f?sequence=1&isAllowed=y)
[f?sequence=1&isAllowed=y](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/5594/Bejar_ce.pdf?f?sequence=1&isAllowed=y)

17. Diaz S, Venereo G. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. Rev Cubana Med Milit [Revista de internet] 2002. [Citado 22 junio 2018] 31(2):126-33. Disponible en:
http://bvs.sld.cu/revistas/mil/vol31_2_02/MIL09202.pdf
18. Bruce N. Ames, Mark K. Shigenaga,, Tory M. Hagen Oxidants, antioxidants, and the degenerative diseases of aging. Proc. Natl. Acad. Sci. USA [Revista en internet] septiembre 1993. [Citado 22 junio 2018] 90. Pp. 7915-7922. Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC47258/pdf/pnas01474-0015.pdf>
19. Alvis D. Detección del efecto antimutagénico del extracto acuoso del fruto de Myrciaria dubia H. B. K. Mc Vaugh “camu camu”, utilizando la prueba in vivo de micronúcleos [Tesis para optar título de Profesional biólogo] Lima, Peru.Universidad nacional mayor de san marcos. 2010 Citado 14 de mayo 2019] pp. 1-86. Disponible en:
[http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/1357/Alvis_dr.pdf](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/1357/Alvis_dr.pdf?f?sequence=1&isAllowed=y)
[f?sequence=1&isAllowed=y](http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/1357/Alvis_dr.pdf?f?sequence=1&isAllowed=y)

20. Barrón Yáñez Rosario Melina. “Glicósidos de flavonoides y actividad antioxidante y citotóxica de *Calia secundiflora* (Ort) Yakovlev. [Tesis doctoral]. Chapingo, Estado de México. Universidad Autónoma Chapingo. 2011. [Citado el 14 de mayo del 2019]; pág. 1-101 Disponible en: <http://www.chapingo.mx/horticultura/pdf/tesis/TESISDCH2011061606126316.pdf>
21. 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] Lima, Perú. Universidad nacional mayor de san marcos. 2016. Disponible en : http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/cybertesis/7121/Colina_ra.pdf?sequence=1&isAllowed=y
22. Martinez G. Fernandez S. Fuentes L. Determinación de polifenoles totales por el método de FolinCiocalteu [En línea] Universidad Politécnica de Valencia. Disponible en: <https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/52056/Garcia%20Mart%C3%ADnez%20et%20al.pdf?sequence=1>
23. Brand W. Cuvelier M. Berset C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol.*, Elsevier. [Artículo] 1995 [Consultado 14 de mayo 2019] 22, 25-30, <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0023643895800085>

24. Quiroz S. Capacidad antioxidante y cuantificación de polifenoles en corteza y hojas de jacaranda acutifolia (arabisca) [Tesis] Chimbote, Perú. Universidad Católica Los ángeles de Chimbote, 2018 Disponible en: http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/123456789/8008/JACARANDA_POLIFENOLES_QUIROZ_SUXE_KIMBERLY_YASMIN.pdf?sequence=1&isAllowed=y

ANEXOS

ANEXO 1 CERTIFICADO DE LA PLANTA

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: Malvales
- Familia: Malvaceae
- Género: *Malvaviscus*
- Especie: *M. arboreus* Cav.

Muestra alcanzada a este despacho por **BRYAN RODDY PIUNDO POLO**. Estudiante de la Facultad de Ciencias de la Salud. Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica los Ángeles de Chimbote (ULADECH).

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

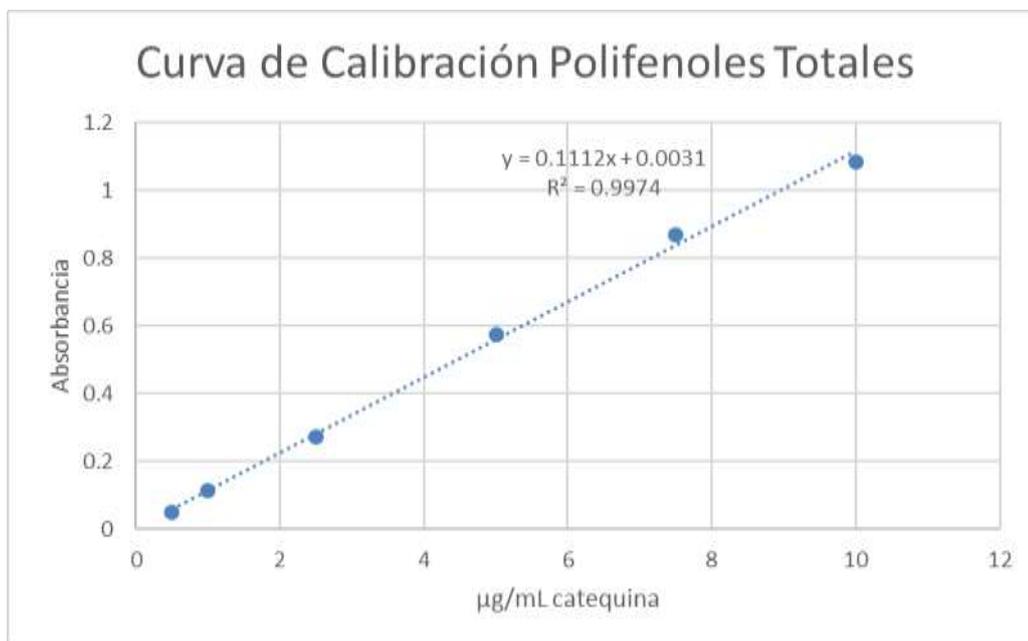
Trujillo, 08 de noviembre del 2019




Dr. José Mostacero León
Director del Herbario HUT

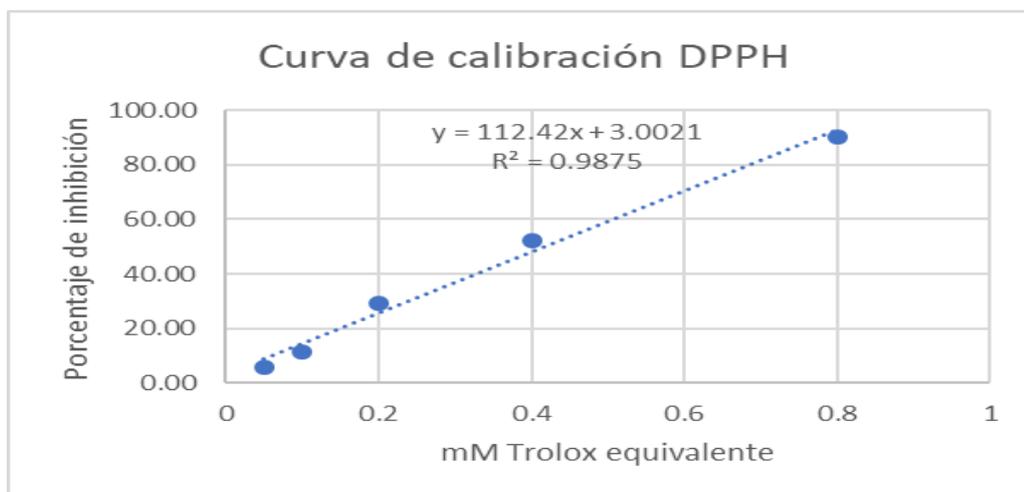
ANEXO 2 GRAFICO

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



Fuente: Datos obtenidos directamente de la investigación

Gráfico 2: Curva de calibración del DPPH utilizando Trolox como estándar.



Fuente: Datos obtenidos directamente de la investigación

ANEXO 3 EVIDENCIAS



Procedimiento: Preparación del extracto metanólico – MeOH 80%



**Actividad Antioxidante
(Extracción Exhaustiva)**



