

UNIVERSIDAD CATÓLICA LOS ÁNGELES
CHIMBOTE

FACULTAD CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y
BIOQUÍMICA

CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES TOTALES DEL
EXTRACTO METANÓLICO DE HOJAS Y FLORES DE
Bidens pilosa L. “CADILLO”

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

AUTOR

DOMINGUEZ IPARRAGUIRRE, MARTHA JHOSELIN

ORCID 0000-0002-3443-4857

ASESOR

VASQUEZ CORALES, EDISON

ORCID:0000-0001-9059-6394

CHIMBOTE - PERÚ

2021

CUANTIFICACIÓN DE FLAVONOIDES TOTALES DEL EXTRACTO
METANÓLICO DE HOJAS Y FLORES DE *Bidens pilosa* L. “CADILLO”

EQUIPO DE TRABAJO

AUTOR

Domínguez Iparraguirre, Martha Jhosselin

ORCID: 0000-0002-3443-4857

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

ASESOR

Vásquez Corales, Edison

ORCID: 0000-0001-9059-6394

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

JURADO

Dr. Díaz Ortega, Jorge Luis - Presidente

ORCID ID: 0000-0002-6154-8913

Mgt. Arteaga Revilla, Nilda María - Miembro

ORCID ID: 0000-0002-7897-8151

Mgt. Amaya Lau, Luisa Olivia - Miembro

ORCID ID: 0000-0002-6374-8732

FIRMA DEL JURADO Y ASESOR

Dr. Jorge Luis Díaz Ortega

Presidente del jurado

Mgtr. Nilda María Arteaga Revilla

Miembro del jurado

Mgtr. Luisa Olivia Amaya

Lau

Miembro del jurado

Dr. Edison Vásquez Corales

Asesor

DEDICATORIA

Agradecer en primer lugar a Dios, quien me ha permitido llegar hasta este punto de mi vida y a seguir adelante con mis metas propuestas para seguir cumpliéndolas al lado de la familia maravillosa que tengo.

También a mis padres, Miriam Iparraguirre Zegarra y Leonardo Domínguez Domínguez, quienes me apoyaron incondicionalmente a emprender este camino universitario y así cumplir mis metas trazadas; y lo siguen haciendo ayudándome emocionalmente y nunca rendirme y seguir adelante con mucho esfuerzo.

A mis hermanos, Jazmine y Jerry Domínguez Iparraguirre, quienes espero que se sientan orgullosos de su hermana mayor y ser un ejemplo para ellos en el presente y futuro.

Y, por último, pero no menos importante, agradecer a mi docente tutor, el Dr. Vásquez Corales Edison, quien me ha guiado y me ha brindado su apoyo en este ciclo académico para la elaboración de este trabajo de investigación; y que con sus enseñanzas me ha permitido mejorarlo.

RESUMEN

En el presente trabajo, el tipo de investigación es básico bajo un enfoque cuantitativo, de nivel descriptivo y con un diseño de tipo no experimental.

El objetivo de la investigación es determinar la cuantificación de flavonoides totales en el extracto metanólico de hojas y flores de *Bidens pilosa* L. "Cadillo".

La muestra, que son hojas y flores, fueron recolectada en la Urb. Nicolás Garatea, Distrito Nuevo Chimbote; la metodología se realizó según el método descrito por Liu y Col. buscando una evaluación cuantitativa, la presencia de flavonoides en las hojas y flores de la muestra elegida; tomando la catequina como estándar, de esta forma se busca comparar en qué parte de *Bidens pilosa* L. "Cadillo" se encuentra una mayor concentración de este metabolito a evaluar.

Los resultados se obtuvieron mediante el método de espectrofotometría, obteniendo como resultado, en el caso de las hojas 15.01 ± 1.34 , y en las flores fue de 37.72 ± 0.78 .

Concluyendo que ambas muestras sí contienen flavonoides, y en este caso, las que presentaron mayor valor de concentración de dicho metabolito fueron, las flores de *Bidens pilosa* L. "Cadillo".

Palabras clave: *Bidens pilosa* L., Cadillo, Catequina, Espectrofotometría, Flavonoides totales, Método por Liu y Col.

ABSTRACT

In the present work, the type of Research is basic under a quantitative approach, descriptive level and with a non-experimental type design.

The objective of the research is to determine the quantification of total flavonoids in the methanolic extract of leaves and flowers of *Bidens pilosa* L. "Cadillo".

The samples, which are leaves and flowers, were collected in Urb. Nicolas Garatea, Nuevo Chimbote District; the methodology was carried out according to the method described by Liu and Col. looking for a quantitative evaluation, the presence of flavonoids in the leaves and flowers of the chosen sample; Taking catechin as a standard, in this way it is sought to compare in which part of *Bidens pilosa* L. "Cadillo" there is a higher concentration of this metabolite to be evaluated.

The results were obtained by the spectrophotometry method, obtaining as a result, in the case of the leaves 15.01 ± 1.34 , and in the flowers it was 37.72 ± 0.78 .

Concluding that both samples do contain flavonoids, and in this case, those with the highest concentration value of said metabolite were the flowers of *Bidens pilosa* L. "Cadillo".

Keywords: *Bidens pilosa* L., Cadillo, Catechin, Spectrophotometry, Total flavonoids, Method by Liu et al.

CONTENIDO

1. Título de la tesis	i
2. Equipo de trabajo	iii
3. Firma del jurado y asesor	iv
4. Dedicatoria.....	v
5. Resumen	vi
6. Abstract	vii
7. Contenido.....	viii
8. Índice de gráficos, tablas y cuadros	x
I. Introducción.....	1
II. Revisión de literatura.....	3
III. Hipótesis	13
IV. Metodología.....	13
4.1 Diseño de la investigación	13
4.2 Población y muestra	13
4.3. Definición y operacionalización de variables y los indicadores	14
4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos.....	15
4.5. Plan de análisis.....	18
4.6. Matriz de consistencia	19
4.7. Principios éticos	21

V. Resultados	22
5.1 Resultados.....	22
5.2 Análisis de resultados	24
VI. Conclusiones.....	27
Referencias bibliográficas.....	28
Anexos	35

ÍNDICE DE GRÁFICOS, TABLAS Y CUADROS

Tabla 1. Determinación cuantitativa de flavonoides totales expresados como catequina, en hojas de <i>Bidens pilosa</i> L.	22
Tabla 2. Determinación cuantitativa de flavonoides totales expresados como catequina, en flores de <i>Bidens pilosa</i> L.	23

I. INTRODUCCIÓN

Las plantas han estado en la vida del hombre desde tiempos remotos, en toda cultura se ha aprovechado las propiedades de éstas y se ha ido transmitiendo por tradición de generación en generación. ⁽¹⁾

Los usos de las plantas se han dado tanto en la alimentación, como para curar o aliviar los síntomas de diversas patologías, todo esto dándose desde la creación del mundo hasta la actualidad; y aparentemente se seguirá aprovechando los beneficios de éstas, hasta el fin de los tiempos. ⁽²⁾

La medicina natural se ha ido desarrollando en muchas partes del mundo con características propias de cada lugar, rigiéndose como sustituto de los medicamentos o en combinación con éstas, de estos productos naturales se usa sus extractos, las cuales se preparan de diferentes formas para tener un mejor acceso de estos y así ayudar en la salud de las personas. Esta medicina se usa desde hace tiempo para curar o aliviar enfermedades, y es apreciada por su bajo costo, además que presenta bajos índices de toxicidad, en comparación con los productos sintéticos. ⁽³⁾

El Perú es un país rico en diversidad de plantas medicinales, quienes tienen muchas propiedades para beneficiar y/o ayudar en la salud de la población; una de ellas es Cadillo o Amor seco, como se llama comúnmente; científicamente nombrado *Bidens pilosa* L.

La *Bidens pilosa* L. es una planta medicinal de hojas aserradas y opuestas, con flores blancas y pequeñas; al que se le atribuye diversas propiedades medicinales como: antiinflamatorio, descongestionante hepático, expectorante, diurético, cicatrizante, entre otros.

Químicamente contiene muchos metabolitos, entre ellos se destacan los flavonoides. ⁽⁴⁾

Los flavonoides son compuestos fenólicos que químicamente está compuesto por dos anillos fenólicos ligado a través de un tercer anillo. De acuerdo a sus características, se pueden distinguir: Flavanos, Flavonoles, Flavonas, Isoflavonas. ⁽⁵⁾

Estos flavonoides son pigmentos presentes en especies vegetales y que tienen como función proteger al organismo de sustancias nocivas que se encuentran en los alimentos o de sustancias oxidantes como los rayos UV. Estos metabolitos fueron descubiertos por el Nobel Szent-Györgyi de Nagyrápolt, quien en 1930 aisló de la cáscara de limón una sustancia llamada citrina; desde ese entonces se han ido identificando miles de flavonoides, que se encuentran distribuidos en diversas partes de las plantas. ⁽⁶⁾

Como objetivo general está: Determinar la cuantificación de flavonoides totales en el extracto metanólico de hojas y flores de *Bidens pilosa* L.

Y como objetivos específicos está: Determinar la concentración de flavonoides totales del extracto metanólico de hojas de *Bidens pilosa* L., y determinar la concentración de flavonoides totales del extracto metanólico de flores de *Bidens pilosa* L.

Frente a todo lo anterior expuesto: ¿Presentó el extracto metanólico de hojas y flores de *Bidens pilosa* L.; flavonoides totales?

II. REVISIÓN DE LITERATURA

1. Antecedentes

Echevarría et al ⁽⁷⁾ (2016), realizaron “La evaluación de la capacidad antioxidante y metabolitos secundarios de extractos de dieciséis plantas medicinales”.

El objetivo de la investigación fue evaluar la capacidad antioxidante de los extractos de dieciséis plantas medicinales. Para su metodología, realizaron ensayos de reconocimiento de metabolitos secundarios a fin de obtener los primeros indicios de compuestos de interés fotoquímico.

En los resultados, mediante las pruebas químicas de caracterización, se detectó la presencia de flavonoides, taninos, triterpenos, alcaloides y saponinas en la mayoría de las especies analizadas, aproximadamente de 56 a 69%.

Como conclusión se podría considerar a las plantas mencionadas como fuentes prometedoras de metabolitos secundarios con actividad antioxidante.

Chonate et al ⁽⁸⁾ (2011), realizaron “Identificación de metabolitos secundarios y cuantificación de taninos y flavonoides (quercetina) por espectrofotometría UV - Vis en *Artemisia absinthium* L. (Asteraceae) “ajenjo”

El objetivo de la investigación fue identificar y extraer metabolitos secundarios, además de cuantificar flavonoides expresados como quercetina y taninos, con métodos validados en la Universidad de La Habana Cuba presentes en hojas de *Artemisia absinthium* L. “Ajeno”. Para la metodología usaron la marcha fitoquímica descrita por Olga Look, realizando una extracción de principios activos, para luego separarlos con solventes de diferente polaridad; además de identificar cualitativamente con reactivos de coloración y precipitación.

Obteniendo como resultados 3.78 % para flavonoides expresados en quercetina mediante el método espectrofotométrico, y 0.04 % para taninos por el método de tungsteno-molibdico-fosfórico.

Concluyendo que se determinó la presencia de flavonoides, taninos, esteroides, cumarinas, alcaloides, antraquinonas y absintina en hojas de *Artemisia absinthium* L.

Arroyo et al ⁽⁹⁾ (2007), realizaron la investigación “Compuestos fenólicos de la fracción metanólica de *Bidens pilosa* L., sobre la neoplasia gástrica, inducido en ratas”.

El objetivo fue determinar la influencia del extracto etanólico y la fracción metanólica conteniendo compuestos fenólicos y flavonoides de la planta entera de *Bidens pilosa* L. sobre la neoplasia gástrica inducida en ratas. En su metodología se dispuso de un grupo control normal, un grupo con NMU (N-nitroso-N-metilurea) y grupos de NMU, más tratamientos de extracto etanólico y fracción metanólica, a dosis de 300 mg/kg.

En sus resultados se indica displasia y estadios iniciales de carcinoma en los estómagos de las ratas, lo que fue menos evidente en el grupo de los animales con tratamiento, siendo mejor el grupo que recibió fracción metanólica.

El marcador de estrés oxidativo disminuyó en los grupos que recibieron tratamiento con la planta, resultando mejor la fracción metanólica. Se observó menor cantidad de micronúcleos (genotoxicidad) en los animales que recibieron tratamiento.

Como conclusión, el extracto etanólico y la fracción metanólica de *Bidens pilosa* L. en las condiciones experimentales han detenido la progresión de la neoplasia gástrica inducida en ratas.

Lastra et al ⁽¹⁰⁾ (2001), realizaron la investigación “La *Bidens pilosa* Linné”.

El objetivo fue fundamentar su amplio uso en la medicina natural y tradicional cubana, por las propiedades terapéuticas, las cuales han sido utilizadas por el pueblo cubano y han servido de base para el desarrollo de fitofármacos, desde varias generaciones. En la metodología se han desarrollado varios métodos analíticos para la cuantificación de taninos a partir de diferentes extractos y se han empleado varios reveladores.

En sus resultados en tamizaje fotoquímico de la planta entera se ha detectado la presencia de aminas, esteroles y esteroides, terpenos y flavonoides. Además de saponinas, mucílagos, alcaloides, azúcares, carotenos, taninos y fenoles.

Concluyendo, que los estudios químicos realizados tanto a la droga, como a los extractos, permiten conocer los metabolitos que conforman la composición de la planta entre los que se encuentran: taninos, esteroles y esteroides, flavonoides, glucósidos, auronas y chalconas, polisacáridos, entre otros.

2. Marco teórico – conceptual

2.1. *Bidens pilosa* L.

Es una planta que se distribuye ampliamente por el mundo y se considera una fuente rica en metabolitos necesarios para el organismo del ser vivo.

Taxonómicamente pertenece al género Asteraceae; y se estima que este género incluye en su grupo de 230 a 240 especies en todo el mundo. ⁽¹¹⁾

2.1.1. Taxonomía

Según Vibrans, la *Bidens pilosa* L. presenta el siguiente esquema taxonómico. ⁽¹²⁾

Reino: Plantae

Subreino: Traqueobionta

Superdivisión: Spermatophyta

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Asteridae

Orden: Asterales

Familia: Asteraceae

Subfamilia: Asteroideae

Género: *Bidens*

Especie: *Bidens pilosa* L.

2.1.2. Descripción botánica

La *Bidens pilosa* L. es una hierba erecta que está distribuida de manera amplia en regiones templadas y tropicales. Es de contextura veloso, con hojas verdes opuestas, que son cerradas o lobuladas y tiene flores pequeñas de color blanco.

Puede llegar a crecer un promedio de 60cm a 150 cm en ambientes favorables. ⁽¹³⁾

En cuanto a su disposición en el tallo se observan capítulos cimosos-corimbiformes y largamente pediculadas; son liguladas femeninas, de color amarillo, y las tubulosas hermafroditas.

Los frutos o semillas son alargados, con pelos de aspecto espinoso dispersos por todos lados y se pueden adherir fácilmente, ayudando a su dispersión y por lo tanto a su reproducción.

Una sola planta puede producir en promedio de 3000 a 6000 semillas. ^{(11) (12) (13)}

2.1.3. Distribución y hábitat

Es originaria de América Central, pero puede extenderse de manera fácil, lo que le ha permitido crecer en muchas partes del mundo. ⁽¹³⁾

Es una planta propia de regiones tropicales y subtropicales, crece comúnmente en suelos modificados y fértiles. ⁽¹²⁾

Sin embargo, también puede crecer en áreas secas, y suele preferir lugares que tengan una temperatura mayor a 15 °C y menor de 45 °C; no obstante, puede resistir heladas.

(13)

También se pueden encontrar en lugares abiertos, cultivos, en bordes de caminos y baldíos. Su altitud va desde el nivel del mar hasta los 2500 m. (14)

2.1.4. Composición química

Según la investigación de Bartolomé et al (11) , nos dan a conocer que la planta contiene muchos compuestos, donde se destacan: Los compuestos alifáticos, que son hidrocarburos no cíclicos y no aromáticos, los flavonoides que tienen propiedad antiinflamatoria, los terpenoides que le confiere cualidades aromáticas, los fenilpropanoides que protegen a la planta frente a depredadores, las porfirinas que son un grupo de pigmentos esenciales para la vida, entre otros.

Hasta el día de hoy, mediante investigaciones se calcula en promedio que los metabolitos contenidos en esta planta comprenden desde 70 alifáticos, 60 flavonoides, 25 terpenoides, 13 aromáticos y 6 de otros compuestos. (13)

2.1.5. Usos tradicionales

La planta *Bidens pilosa* L. tiene diversas propiedades conocidas, como el de ser antiinflamatoria y antioxidante debido al contenido de flavonoides oxigenados.

Además de los mencionado anteriormente; también se destaca las propiedades de ser hepatoprotectora y cicatrizante. Debido a eso, hay un reporte de Colombia, que plasma la aprobación del uso de esta planta, la *Bidens pilosa* L. en el tratamiento de gastritis. ⁽¹⁵⁾

2.2.Flavonoides

Son metabolitos, que químicamente hablando son de naturaleza fenólica, que se caracteriza por poseer dos anillos aromáticos bencénicos unidos por un puente de tres átomos de carbono. Suelen presentar al menos tres hidroxilos fenólicos y se encuentran en su mayoría combinados con glucósidos, aunque también pueden presentar agliconas libres. ⁽¹⁶⁾

2.2.1. Tipos

Se divide en subgrupos de acuerdo a como se sustituye su anillo C; entre los que destaca: Flavonas, Auronas, Flavonoles, Antocianidinas, Flavanonas, Leucoantocianidinas, Flavanonoles, Chalconas e Isoflavonas. ⁽¹⁷⁾

2.2.1.1.Flavonas

Poseen un grupo carbonilo en posición 4 del anillo C y carecen del grupo hidroxilo en posición C3. ⁽¹⁸⁾

Están presentes en muchos vegetales y son los flavonoides más comunes. ⁽¹⁹⁾

2.2.1.2.Auronas

Son los pigmentos amarillos dorados que existen en ciertas flores. ⁽¹⁹⁾

La estructura química de las auronas es similar a la de chalconas, con la diferencia de que la cadena lineal está sustituida por un anillo heterocíclico de cinco miembros relacionados con los anillos A y B. ⁽²⁰⁾

2.2.1.3.Flavonoles

Estos flavonoides suelen estar presentes en alimentos vegetales en forma de compuestos: O-glucósidos y C-glucósidos.

Los compuestos más comunes que se hallan en este grupo y que están presentes como glucósidos en los alimentos, son la quercetina y el kaempferol. ⁽²⁰⁾

2.2.1.4.Flavanonas

Son los flavonoides que, en comparación con los otros, existen en pequeñas cantidades; son de color ligeramente amarillo o incoloro. ⁽¹⁹⁾

Los compuestos más importantes son: el liquiritósido e isoliquiritósido. ⁽²¹⁾

2.2.1.5.Flavanonoles

Son los flavonoides menos conocidos e incoloros. ⁽¹⁹⁾

2.2.1.6.Isoflavonas

Se encuentran en la soya y sus derivados. Estructuralmente soy similares a los estrógenos humanos, por lo que también son llamados fitoestrógenos. ⁽²²⁾

2.2.1.7.Chalconas

Se difiere de las otras visualmente porque son más coloreadas, por lo general son de color anaranjadas-rojizas; y son menos abundantes. ⁽²³⁾

2.3. Espectrofotometría UV-Visible

Es una técnica analítica que permite determinar una concentración de un compuesto que se halla en la solución a estudiar. Se basa en que las moléculas absorben las radiaciones electromagnéticas y a su vez que la cantidad de luz absorbida depende de forma lineal de la concentración.

Para llevar a cabo esta técnica se usa el espectrofotómetro, instrumento que permite seleccionar la longitud de onda de la luz que pasará por la solución para medir la luz que absorbe. ⁽²⁴⁾

Estos espectrofotómetros se usan en análisis ya sean cuantitativos o cualitativos de compuestos químicos; como ya se mencionó es gran utilidad en ámbitos farmacéuticos y químicos; debido a su capacidad de proyectar un haz de luz

monocromática que pasará por la muestra y así medir la cantidad de luz que llega a absorber la muestra.

A la vez se evaluará la intensidad del color de la muestra relacionado a la cantidad de soluto que hay dentro en sí misma. ⁽²⁵⁾

2.4.Catequina

Es un compuesto fenólico que se encuentra en diversos alimentos, para ser más exacto, se trata de un Flavonol que tiene propiedad de ser antioxidante.

Químicamente, consta de dos anillos bencenos (A y B), además de un heterociclo dihidropirano (que sería el anillo C) y un grupo hidroxilo en el carbono 3. ⁽²⁶⁾

III. HIPÓTESIS

Implícita

IV. METODOLOGÍA

4.1 Diseño de la investigación

El diseño de la presente investigación es de tipo no experimental, de nivel descriptivo con un enfoque cuantitativo.

4.2 Población y muestra

La población abarca el conjunto de hojas y flores de *Bidens pilosa* L. obtenidos en el la Urbanización Nicolás Garatea, distrito Nuevo Chimbote.

Con respecto a la muestra, es de 100 gramos correspondientes respectivamente a hojas y flores de *Bidens pilosa* L.

4.3. Definición y operacionalización de variables y los indicadores

VARIABLES	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	INDICADOR
Extracto metanólico de hojas y flores de <i>Bidens pilosa</i> L. “Cadillo”	La muestra pasa por varios procesos para extraer los metabolitos presentes.	Se obtiene mediante la extracción exhaustiva de la muestra	50 ml de extracto metanólico de hojas y flores de <i>Bidens pilosa</i> L. “Cadillo”
Cuantificación de flavonoides totales del extracto metanólico de hojas y flores de <i>Bidens pilosa</i> L. “Cadillo”	Hallazgo de flavonoides totales en la muestra expresados como (mg de catequina eq./g de muestra seca)	Se realizará mediante el ensayo de Liu y Col. mediante el uso de la espectrofotometría con cierto valor de absorbancia.	Flavonoides totales (mg de catequina eq./g de muestra seca)

4.4. Técnicas e instrumentos de recolección de datos

4.4.1. Recolección de la muestra

Las hojas y flores fueron recolectadas en la Urbanización Nicolás Garatea, distrito de Nuevo Chimbote, provincia de Santa, departamento de Áncash, Perú.

Teniendo a $9^{\circ}07'00.1''S$ como longitud de este y a $78^{\circ}30'35.2''W$ como latitud sur con 25 m.s.n.m.

4.4.2. Identificación y determinación taxonómica de la especie

Para el reconocimiento taxonómico se llevó un ejemplar de la planta previamente seca al herbario de la UPAO.

4.4.3. Preparación de la muestra

✓ Selección

Se recolectó hojas y flores las cuales se llevaron al laboratorio de la Escuela Profesional de Farmacia de Bioquímica de la universidad ULADECH, donde se seleccionaron las hojas enteras y frescas de las marchitas o con excretas; al igual que las flores.

✓ Lavado

Posterior a la selección, se lavó las hojas y flores.

✓ **Secado**

Las hojas se secaron a 35 °C en la estufa por 6 horas y las flores se harán a temperatura ambiente por tres días.

✓ **Pulverizado**

Esto se llevó a cabo en un molino de cuchillos.

✓ **Tamizaje**

Se realizó con un tamiz.

✓ **Almacenamiento**

Las hojas y flores se almacenaron en frascos de vidrio por separado de boca ancha envueltos en papel aluminio y en lugar sin humedad y luz directa.

4.4.4. Obtención del extracto metanólico (MeOH 80% - Extracción exhaustiva)

Se usó 0.3970 g de hojas de la muestra vegetal previamente pulverizada y tamizada, y 0.2593 g de flores de la misma; cada muestra se añadió a un tubo Falcón, se agregó 15 mL de Etanol 80% + ácido fórmico al 0.1 % y se envolvió con papel aluminio para proteger a la muestra de la degradación de flavonoides que puedan resultar fotosensibles.

Luego, se llevó a un agitador magnético por 30 minutos, seguidamente fue llevado a la centrifugadora por 5 minutos a una velocidad de 6000 rpm; el sobrenadante obtenido se depositó en fioles de 50 mL, este proceso se repitió 3 veces, finalmente se aforó y el extracto se mantuvo en el congelador a una temperatura de 8°C hasta su análisis correspondiente. ⁽²⁷⁾

4.4.5. Cuantificación de flavonoides

En una fiola de 5 mL se agregó 2.5 mL de agua tipo II, luego se añadió estándar de catequina a concentraciones de 0.5; 1; 2.5; 5; 7.5 y 10 ppm ($\mu\text{g}/\text{mL}$) para la obtención de la curva de calibración y a las demás fiolas se agregó 50 μg del extracto metanólico a las hojas y flores respectivamente; después se adicionó 150 μL de NaNO_2 al 5 % y se dejó reposar 6 minutos.

Luego se adicionó 300 μL de AlCl_3 al 10% y dejar reposar 5 minutos, posteriormente agregar 1mL NaOH 1M y finalmente se completó el volumen de cada fiola con agua tipo II.

Por último, la absorbancia fue leída en un espectrofotómetro UV-Vis a 510 nm antes de los 30 minutos.

Los resultados se expresaron en mg de catequina por gramos de muestra seca (mg de catequina eq. /g de muestra seca).

Se realizó el ensayo por triplicado. ⁽²⁸⁾

4.5. Plan de análisis

Los resultados obtenidos se procesaron en el programa Microsoft Excel obteniendo la media, desviación estándar, y la regresión final para así elaborar la curva de calibración de los respectivos estándares.

Además, se compara los resultados con los de otras investigaciones.

4.6. Matriz de consistencia

Título	Enunciado del problema	Objetivos	Hipótesis	Variables	Metodología	Muestra
<p>Cuantificación de flavonoides totales del extracto metanólico de hojas y flores de <i>Bidens pilosa</i> L. “Cadillo”</p>	<p>¿Presentará el extracto metanólico de hojas y flores de <i>Bidens pilosa</i> L. “Cadillo”; flavonoides totales?</p>	<p>GENERAL</p> <p>Determinar la cuantificación de flavonoides totales del extracto metanólico de hojas y flores de <i>Bidens pilosa</i> L. “Cadillo”</p> <p>ESPECÍFICOS</p> <p>- Determinar la concentración de</p>	<p>Implícita</p>	<p>Extracto metanólico de las hojas y flores de <i>Bidens pilosa</i> L. “Cadillo”</p> <p>Cuantificación de flavonoides totales del extracto metanólico de hojas y flores de <i>Bidens pilosa</i> L. “Cadillo”</p>	<p>El tipo de Investigación es básico bajo un enfoque cuantitativo, de nivel descriptiva y con un diseño de tipo no experimental</p>	<p>POBLACIÓN</p> <p><i>Bidens pilosa</i> L. “Cadillo” de la urbanización Nicolás Garatea, distrito Nuevo Chimbote.</p> <p>MUESTRA</p> <p>100 gramos de <i>Bidens pilosa</i> L. “Cadillo” de la urbanización Nicolás Garatea , distrito Nuevo Chimbote</p>

		<p>flavonoides totales del extracto metanólico de hojas de <i>Bidens pilosa</i> L.</p> <p>- Determinar la concentración de flavonoides totales del extracto metanólico de flores de <i>Bidens pilosa</i> L.</p>				
--	--	---	--	--	--	--

4.7. Principios éticos

Al realizar la investigación, se debe tomar en cuenta las acciones o materiales que puedan dañar a nuestro medio ambiente; en este caso este tipo de investigación no se manipulará materiales peligrosos que puedan poner en riesgo la salud de la persona. Al contrario, mediante esta investigación esperamos encontrar resultados positivos que pueden servir a la humanidad y ayudar a reforzar el campo de la medicina natural, para la creación de futuros productos, que se espera ser de utilidad para satisfacer las necesidades de las personas.

V. RESULTADOS

5.1 Resultados

Tabla 1. Determinación cuantitativa de flavonoides totales expresados como catequina, en hojas de *Bidens pilosa* L.

Especie	Parte de la muestra	Flavonoides totales (mg de catequina eq. /g de muestra seca)
<i>Bidens pilosa</i> L.	Hojas	15.01±1.34

Tabla 2. Determinación cuantitativa de flavonoides totales expresados como catequina, en flores de *Bidens pilosa* L.

Especie	Parte de la muestra	Flavonoides totales (mg de catequina eq. /g de muestra seca)
<i>Bidens pilosa</i> L.	Flores	37.72±0.78

5.2. Análisis de resultados

Para llevar a cabo la cuantificación de flavonoides totales en el extracto metanólico de flores y hojas de *Bidens pilosa* L., se utilizó el método de Liu y Col.

En la tabla 1 y 2 podemos observar el resultado de la cuantificación de flavonoides totales expresados mg de catequina eq. /g de muestra seca, obteniendo como resultado, 15.01 ± 1.34 en hojas y 37.72 ± 0.78 en caso de flores, para ello se utilizó la técnica espectrofotométrica.

Chonate et al ⁽⁸⁾ realizó el estudio de “Identificación de metabolitos secundarios y cuantificación de taninos y flavonoides (quercetina) por espectrofotometría UV - Vis en *Artemisia absinthium* L. (Asteraceae) “ajenjo”, dicha planta pertenece a la misma familia que la *Bidens pilosa* L., ambas pertenecen a las Asteraceae.

En este estudio, usaron solo hojas en su muestra, obteniendo como resultados por espectrofotometría 18.88 mg de quercetina eq. /g de muestra seca.

Contrastando mis resultados con los de los autores referenciados, se puede apreciar que las muestras de ambas las plantas presentan flavonoides totales y tienen valores altos de catequina expresados en eq. /g de muestras seca; esto posiblemente por el uso de solventes polares que ayudaron en la extracción de metabolitos de la misma polaridad, debido a su afinidad.

Considerando también que ambas muestras pertenecen a la misma familia y como lo mencioné anteriormente, debido al uso de solventes polares, todo esto hace posible que se demuestre aparentemente la presencia de metabolitos polares como los flavonoides totales, que es el objetivo principal.

Por otro lado, Colina ⁽²⁹⁾ realizó el estudio de “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).”, dicha planta no pertenece a la misma familia que mi muestra vegetal; sin embargo, con ello se realizó un análisis de flavonoides usando como estándar a la quercetina, que tiene la misma naturaleza , que el estándar que usé en mi estudio , otra diferencia que existe , es el uso del solvente , para dicho estudio se usó el etanol ; en mi caso el metanol; todas las características mencionados pueden producir la diferencia que existe en los resultados de ambos estudios , tanto el mío , como el de dicho autor , ya que analizando ambos resultados , el del autor Colina obtuvo una cantidad mínima a comparación de mis resultados ; esto pudo haberse dado por el solvente a usar , ya que el metanol tiene mayor polaridad en contraste con el etanol produciendo una mejor extracción de los metabolitos presentes en la muestra vegetal ; y además quizá , al no ser plantas de la misma familia , se puede evidenciar la diferencia que hay en la cuantificación de flavonoides por la concentración diferencial que hay expresados como sus respectivos estándares usados para su elaboración.

También tenemos a las flores, que, si bien no se encontró un estudio científico para contrastar, sus posibles resultados, con los resultados obtenidos en mi investigación; se pudo evidenciar, que, a pesar de haber tenido un peso en gramos inferior a la muestra de las hojas de la especie vegetal, llegó a presentar una concentración mayor de flavonoides totales, expresados como mg de catequina eq./g de muestra seca; revelándonos, que es esa parte de la planta, es decir las flores

de la *Bidens pilosa* L. , la que presenta un valor mayor de este metabolito en comparación con las hojas.

La explicación del porque se pudo obtener una mayor concentración de flavonoides totales en las hojas, puede ser explicado por la Fundación CANNA⁽³⁰⁾ , quien nos explica brevemente, que, a los flavonoides, se le confiere una actividad en particular, y es la de dar pigmento o color a las flores, para que de esta manera ocurra el proceso de polinización; además de ayudarlas a captar ciertas longitudes de onda de luz; manifestando y evidenciando una presentación mayoritaria de este metabolito en esta parte de la muestra vegetal.

VI. CONCLUSIONES

1. Se cuantificó los flavonoides totales en el extracto metanólico de hojas y flores de *Bidens pilosa* L. mediante el análisis espectrofotométrico con una absorbancia leída a 510 nm antes de los 30 minutos de haber empezado el procedimiento. De esta manera se obtuvieron dos valores distintos expresando la concentración de flavonoides totales expresados en mg de catequina eq. / g de la muestra seca.
2. Se determinó la cantidad de flavonoides totales en el extracto metanólico de hojas de *Bidens pilosa* L., teniendo como estándar a la catequina; obteniendo el resultado de 15.01 ± 1.34 expresados como flavonoides totales (mg de catequina eq. /g de muestra seca), mediante el uso del espectrofotómetro.
3. Se determinó la cantidad de flavonoides totales en el extracto metanólico de flores de *Bidens pilosa* L. teniendo como estándar a la catequina; obteniendo como resultado 37.72 ± 0.78 expresados como flavonoides totales (mg de catequina eq. /g de muestra seca), mediante el uso del espectrofotómetro.

Estos valores nos manifiestan la presencia de flavonoides en la muestra vegetal, siendo así una base para futuras investigaciones que se puedan centrar en un uso más profundo y nos permita su uso en diversos campos, como en el campo alimenticio o farmacéutico; y así obtener nuevos datos más extensos basándose en este trabajo de investigación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Salaverry O, Cabrera J. Florística de algunas plantas medicinales. [Internet]. Rev. Perú Med Exp Salud Pública. Perú; 2014. [Citado 30 abril 2020]. Disponible en: <https://www.scielosp.org/pdf/rpmesp/2014.v31n1/165-168/es>
2. Pascual D, Pérez Y, Morales I, Castellanos I, Gonzales E. Algunas consideraciones sobre el surgimiento y la evolución de la medicina natural y tradicional. [Internet]. Cuba; 2018. vol.18 no.10. [Citado 29 mayo 2021]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S102930192014001000019
3. Gallegos M. Las plantas medicinales: principal alternativa para el cuidado de la salud, en la población rural de Babahoyo, Ecuador. [Internet]. Perú; 2016. [Citado 11 junio 2019]. Disponible en: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1025-55832016000400002
4. ISSG. Bidens pilosa. [Internet].2010. [Citado 01 junio del 2019]. Disponible en: <http://www.iucngisd.org/gisd/species.php?sc=1431>
5. Martínez S, González J, Culebras J, Tuñón M. Los Flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. [Internet]. España;2002. [Citado 19 julio 2019]. Disponible en: <http://www.nutricionhospitalaria.com/pdf/3338.pdf>

6. Chong R. Alimentos ricos en flavonoides y sus beneficios a la salud. [Internet]. Perú;2011. Universidad Nacional De San Martín Tarapoto. [Citado 11 mayo 2021]. Disponible en:
<http://repositorio.unsm.edu.pe/bitstream/handle/11458/3564/FIAI%20-%20Rodrigo%20Grey%20Chong%20Tuesta.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
7. Echavarría A, Armas H, Matute N, Jaramillo C, Rojas L, Benítez R. Evaluación de la capacidad antioxidante y metabolitos secundarios de extractos de dieciséis plantas medicinales. [Internet]. Ecuador; 2016.vol.9. [Citado 11 de mayo 2019]. Disponible en:
<http://ojs.unemi.edu.ec/index.php/cienciaunemi/article/view/344>
8. Chonate C, Figueroa N. Identificación de metabolitos secundarios y cuantificación de taninos y flavonoides (quercetina) por espectrofotometría UV - Vis en *Artemisia absinthium* L. (Asteraceae) “ajenjo”. [Internet]. Perú; 2011. [Citado 10 mayo 2021]. Disponible en:
<https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/4471/Chonate%20Urtecho%20c%20Cindy%20Medali.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
9. Arroyo J, Bonilla P, Ráez E, Suárez S, Palomino R, Terán S et al. Compuestos fenólicos de la fracción metanólica de *Bidens pilosa*, sobre la neoplasia gástrica, inducida en ratas. [Internet]. Lima; 2007.vol. 68.[Citado el 11 de mayo del 2019]. Disponible en:
<https://www.redalyc.org/pdf/379/37968202.pdf>

10. Lastra H, Ponce De León H. *Bidens pilosa* Linné. [Internet]. Cuba; 2001. [Citado 18 mayo del 2019]. Disponible en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S102847962001000100007
11. Bartolomé A, Villaseñor I, Yang W. *Bidens pilosa* L. (Asteraceae): Botanical Properties, Traditional Uses, Phytochemistry, and Pharmacology. [Internet].2013. [Citado 01 junio del 2019]. Disponible en:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3712223/>
12. Vibrans H. *Bidens pilosa* L. Amor Seco. [Internet]. México; 2009. [Citado 11 mayo 2019]. Disponible en:
<http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/asteraceae/bidenspilosa/fichas/ficha.htm>
13. Boffil M, Cardellá L. La *Bidens pilosa*: Planta medicinal que posee una amplia potencialidad terapéutica. [Internet]. Cuba; 2015.vol 3. [Citado 01 junio del 2019]. Disponible en:
<http://www.medicentro.sld.cu/index.php/medicentro/article/view/2244/1769>
14. Bastidas P, Villegas J, Muñoz J. Contribución al conocimiento de la Papunga, *Bidens pilosa* L.[Internet]. Colombia; 1989. Acta. Agron. vol. 39. [Citado 20 mayo 2021]. Disponible en:
https://revistas.unal.edu.co/index.php/acta_agronomica/article/view/15435/16212

15. SkinCareColombia. *Bidens Pilosa*: Una planta con muchos beneficios para la salud y la belleza. [Internet]. Colombia; 2020. [Citado 11 mayo 2021]. Disponible en:
<https://www.skincareorigenes.com/blog/bidens-pilosa-una-planta-con-muchos-beneficios-para-la-salud-y-la-belleza>
16. Porras A, López A. Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos. [Internet]. México; 2009. [Citado 31 mayo 2020]. Disponible en:
[https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3\(1\)-Porras-Loaiza-et-al-2009.pdf](https://www.udlap.mx/WP/tsia/files/No3-Vol-1/TSIA-3(1)-Porras-Loaiza-et-al-2009.pdf)
17. García D. Los metabolitos secundarios de las especies vegetales. [Internet]. Cuba; 2004. [Citado 08 noviembre 2019]. Disponible en:
<https://payfo.ihatuey.cu/index.php?journal=pasto&page=article&op=view&path%5B%5D=795&path%5B%5D=297>
18. Escamilla C, Cuevas E, Guevara J. Flavonoides y sus acciones antioxidantes. [Internet]. Perú;2009. Rev Fac Med UNAM.Vol. 52 No. 2. [Citado 11 mayo 2021]. Disponible en:
<https://www.medigraphic.com/pdfs/facmed/un-2009/un092g.pdf>
19. Cartaya O, Reynaldo I. Flavonoides: Características Químicas y Aplicaciones. [Internet]. Cuba; 2001. vol. 22, no. 2. [Citado 12 mayo 2021]. Disponible en:
<https://www.redalyc.org/pdf/1932/193215009001.pdf>

20. Peñarrieta J, Tejeda L, Mollinedo P, Vila J, Bravo J. Phenolic Compounds In Food. [Internet]. Bolivia;2014. Rev. Bol. Quim v.31 n.2. [Citado 03 junio 2020]. Disponible en:
http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0250-54602014000200006
21. López T. Flavonoides. [Internet]. España;2002. Vol. 21. Núm. 4. [Citado 01 mayo 2020]. Disponible en:
<https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-flavonoides-13028951>
22. González N, Durán S. Isoflavonas de soya y evidencias sobre la protección cardiovascular. [Internet]. Chile;2014. Nutr. Hosp. vol.29 no.6. [Citado 13 mayo 2021]. Disponible en:
https://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S021216112014000600007
23. Bello A, Camargo M. Identificación de flavonoides en inflorescencias de Chromolaena tacotana (klatt) R.M. King & H. Rob y determinación de su actividad antioxidante. [Internet]. Colombia; 2018. [Citado 13 mayo 2021]. Disponible en:
<https://repository.udca.edu.co/bitstream/handle/11158/983/IDENTIFICACION%20DE%20FLAVONOIDES%20EN%20INFLORESCENCIAS%20DE%20Chromolaena%20tacotana%20%281%29%20MAYO%209%20%281%29%20%281%29.pdf?sequence=1&isAllowed=y>


24. Díaz N, Barcena J, Fernández E, Galván A, Jorrín J, Peinado J, Meléndez F, Túnez I. Espectrometría: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas. Argentina. [Internet]. [Citado 02 mayo 2020]. Disponible en: https://www.uco.es/dptos/bioquimica-biolumol/pdfs/08_ESPECTROFOTOMETRIA.pdf
25. Martínez F, Pérez I. “Calibración de un Espectrofotómetro UV-Visible y Evaluación de la Incertidumbre”. [Internet]. Nicaragua; 2009. [Citado 13 mayo 2021]. Disponible en: <http://riul.unanleon.edu.ni:8080/jspui/retrieve/2738>
26. Pérez C. Qué son las catequinas y qué beneficios ofrece a la salud. [Internet].2020. [Citado 13 mayo 2021]. Disponible en: <https://www.miarevista.es/salud/articulo/que-son-las-catequinas-y-que-beneficios-ofrece-a-la-salud-671583248658>
27. Tedeschi P, Maietti A, Vásquez E, Bonetti G, Bergantin C, Marchetti N, Brandolini V. Una alimentación antigua funcional: El Ortico. Art. Nutracético de Ortiga. [Internet]. Italia ;2018. Disponible en: <https://www.natural1.it/nutraceutica/item/download/2134>
28. García R, Aguilar L, Soto M, Nieto R, Kite G. Compuestos Fenólicos Totales, Flavonoides y Actividad Antioxidante en las Flores de Crataegus spp. de México. [Internet]. 2012.vol.46 no.7. [Citado 13 mayo 2021]. Disponible en: <http://www.scielo.org.mx/pdf/agro/v46n7/v46n7a2.pdf>

29. Colina A. 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). [Internet]. Lima; 2016.pp 67. [Citado 26 octubre 2019]. Disponible en: https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/7121/Colina_ra.pdf?sequence=1&isAllowed=y
30. CANNA. Flavonoides. [Internet]. España. [Citado 14 junio 2021]. Disponible en: <https://www.fundacion-canna.es/flavonoides>

ANEXOS

ANEXO N° 01: CONSTANCIA DE LA TAXONOMÍA DE LA ESPECIE

Bidens pilosa L.

 **UPAO** | Museo de Historia Natural y Cultural

HERBARIO ANTENOR ORREGO (HAO)

CONSTANCIA N° 36-2019-HAO-UPAO

El que suscribe, Director del Museo de Historia Natural y Cultural de la Universidad Privada Antenor Orrego, deja:


CONSTANCIA

Que Martha Jhosselin Dominguez Iparraguirre, estudiante de la Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Católica Los Ángeles de Chimbote ha depositado en este herbario la especie:

Asteraceae
***Bidens pilosa* L.**

Se expide la presente constancia a solicitud de los interesados para los fines que correspondan.

Trujillo, 12 de noviembre de 2019


Segundo Leiva
Mg. Segundo Leiva González
Director
Museo de Historia Natural y Cultural

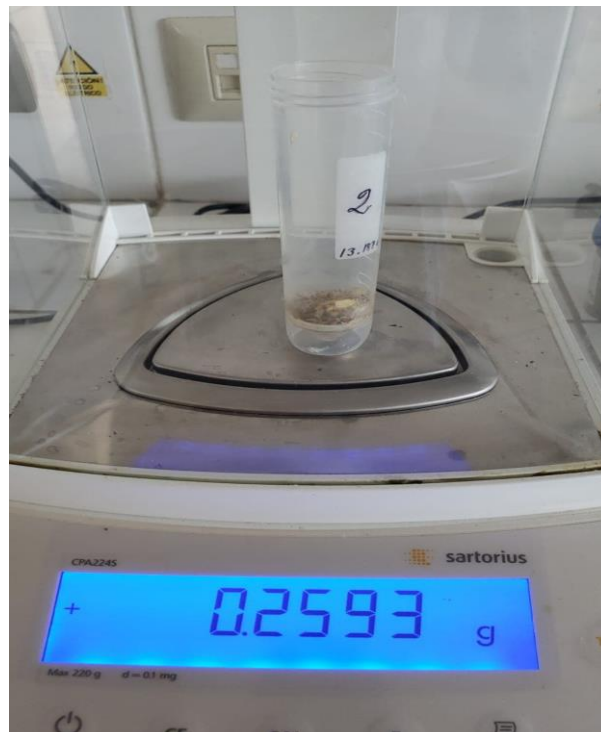
UNIVERSIDAD PRIVADA ANTENOR ORREGO
www.upao.edu.pe

Av. América Sur 3145 Monserrate Trujillo - Perú
Telf: [+51][044] 604444 Fax: 282900

ANEXO N°2: PESO DE LAS MUESTRAS



Hojas de *Bidens pilosa* L.



Flores de *Bidens pilosa* L.

ANEXO N°03: CURVA DE CALIBRACIÓN

