



Universidad Nacional
SAN LUIS GONZAGA



Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional

Esta licencia permite a otras distribuir, combinar, retocar, y crear a partir de su obra de forma no comercial y, a pesar que son nuevas obras deben siempre rendir crédito y ser no comerciales, no están obligadas a licenciar sus obras derivadas bajo los mismos términos.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>



UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA

EVALUACIÓN DE ORIGINALIDAD



CONSTANCIA

El que suscribe, deja constancia que se ha realizado el análisis con el software de verificación de similitud al documento cuyo título de **Informe final de tesis** es:

CONTENIDO DE FENOLES TOTALES FLAVONOIDES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE HOJAS POS COSECHA DE PAPA *Solanum tuberosum* VARIEDAD UNICA QUE CRECE EN DISTRITO DE SAN JUAN BAUTISTA - ICA

Presentado por:


HUAMANI VILCA, AXEL

De la Facultad de **FARMACIA Y BIOQUÍMICA**. El resultado obtenido es **2%** por el cual se otorga el calificativo de:

APROBADO, según Reglamento de Evaluación de la Originalidad.

Se adjunta al presente el reporte de evaluación con el software de verificación de originalidad.
Observaciones:

Ica, 26 de Abril de 2023


.....
Dra. NORMA CECILIA PACHECO BERTOLOTTI
DIRECTORA DE LA UNIDAD DE INVESTIGACION
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

UNIVERSIDAD NACIONAL "SAN LUIS GONZAGA"

VICERECTORADO DE INVESTIGACIÓN

Facultad de Farmacia y Bioquímica



TÍTULO

Contenido de fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante de las hojas pos cosecha de *Solanum tuberosum* variedad única que crece en distrito de San Juan Bautista - Ica

Línea de Investigación
Salud Pública y conservación del Medio Ambiente

INFORME FINAL DE TESIS

AUTOR
Bach. AXEL HUAMANI VILCA

Ica, Perú

2023

DEDICATORIA

A Dios

Por iluminar mi mente y mi camino, por ayudarme a comprender día a día el sentido de la vida. Por ello le dedico con mucho esmero uno de mis primeros logros.

A mi querido padre, Richard Gilberto Huamaní López

Por su grata compañía y momentos compartidos, ya que con él vencimos muchas dificultades. Les doy gracias por hacerme lo que soy y por enseñarme a ver la vida de la mejor manera

A mis estimadas Arabelle y Victoria

Por su grata e indispensable compañía, por motivarme a continuar luchando por cada uno de nuestros logros a lo largo de nuestra vida, por su sincera comprensión y amor incondicional.

AGRADECIMIENTO

**A mi estimada asesora Patricia Castillo Romero y a mi estimado maestro Unfredo Pabel
Apumayta Vega**

Por su constante apoyo incondicional, por sus enseñanzas y consejos brindados a lo largo de mi carrera profesional. Por darme siempre el impulso de seguir con mis metas y sueños. Unos excelentes profesionales y admirables personas.

A los miembros del jurado

Extraordinarios profesionales y maestros, que a lo largo de su vida profesional han logrado impartir enseñanzas y conocimientos para el desarrollo y desempeño de mi carrera laboral.

A mi querida Alma Mater y docentes de la Facultad

Por ser parte de mi vida universitaria, Facultad de Farmacia y Bioquímica –Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica. Por inculcarnos valores, enseñanzas y plantearnos retos para demostrar que contamos con las mejores capacidades para destacar profesionalmente.

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE	iv
RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
I. INTRODUCCIÓN	10
II. ESTRATEGIA METODOLÓGICA	12
2.1. Aspectos metodológicos.....	12
2.1.1. Enfoque de la investigación.....	12
2.1.2. Tipo de investigación.....	12
2.1.3. Diseño de la investigación.....	12
2.1.4. Población y muestra.....	13
2.2. Técnicas e instrumentos de recolección de la información	13
2.3. Tratamiento de la muestra.....	13
2.3.1. Obtención de las hojas pos cosecha.....	13
2.3.2. Obtención de los extractos.....	15
2.3.3. Caracterización de los extractos.....	15
2.4. Determinación cuantitativa de fenoles totales	17
2.5. Determinación del contenido de flavonoides totales	21
2.6. Determinación de la actividad antioxidante.....	25
III. RESULTADOS	27
3.1. De la muestra estudiada.....	27
3.2. De la obtención de hojas pos cosecha de <i>Solanum tuberosum</i>	27
3.3. De la obtención de extractos.....	27
3.4. De la caracterización de los extractos.....	28
3.5. De la determinación del contenido de fenoles.....	30
3.6. De la determinación del contenido de flavonoides.....	32
3.7. De la determinación de la actividad antioxidante.....	34

IV.	DISCUSIÓN.....	37
V.	CONCLUSIONES.....	38
VI.	RECOMENDACIONES.....	39
VII.	FUENTES DE INFORMACIÓN.....	40
VIII.	ANEXOS.....	42

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Esquema de trabajo para obtener la curva de calibración entre las soluciones estándares de ácido gálico versus el reactivo de Folin Ciocalteu.....	19
Tabla 2. Esquema de trabajo para determinar el contenido de fenoles en las muestras a analizar.....	20
Tabla 3. Esquema de trabajo para preparar soluciones estándares de quercetina	22
Tabla 4. Esquema de trabajo para determinar las absorbancias de las soluciones estándares de quercetina frente a la reacción con tricloruro de aluminio.....	23
Tabla 5. Esquema de trabajo para determinar de absorbancias de las reacciones de flavonoides en las muestras analizadas frente al tricloruro de aluminio.....	24
Tabla 6. Esquema de trabajo para graficar la curva de calibración entre soluciones estándares de ácido gálico y el reactivo DPPH y determinar la equivalencia antioxidante de las muestras analizadas.....	26
Tabla 7. Resultados de la caracterización organoléptica de los extractos etanólico y acuoso de hojas pos cosecha de <i>Solanum tuberosum</i> variedad única.....	28
Tabla 8. Resultados de la caracterización físicoquímicas de los extractos etanólico y acetato de etilo de hojas pos cosecha de <i>Solanum tuberosum</i> variedad única.....	29
Tabla 9. Resultados de las absorbancias de la reacción entre soluciones patrón de ácido gálico y el reactivo de Folin Ciocalteu.....	30
Tabla 10. Resultados del contenido de fenoles totales en los extractos analizados	32
Tabla 11. Resultados de las absorbancias de las reacciones entre soluciones estándares de quercetina frente el reactivo de tricloruro de aluminio.....	32
Tabla 12. Resultados de las absorbancias de las soluciones estándares de ácido gálico versus el DPPH.....	34
Tabla 13. Resultados de la actividad antioxidante del extracto etanólico y acetato de etilo expresados como % de inhibición al radical DPPH.....	36

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Procesos para obtener hojas pos cosecha de <i>Solanum Tuberosum</i> variedad única.....	14
Figura 2. Curva de calibración de la reacción entre el reactivo de Folin Ciocalteu versus soluciones patrón de ácido gálico.....	31
Figura 3. De las absorbancias versus concentración de las reacciones entre quercetina y el reactivo tricloruro de aluminio.....	33
Figura 4. Curva de calibración entre soluciones estándares de ácido gálico y el reactivo DPPH.....	35
Figura 5. Certificación botánica de <i>Solanum tuberosum</i> variedad única.....	42
Figura 6. Planta pos cosecha de <i>Solanum tuberosum</i>	42
Figura 7. Hojas en proceso de secado al ambiente de <i>Solanum tuberosum</i>	42
Figura 8. Extracto acetato de etilo de <i>Solanum tuberosum</i>	44
Figura 9. Determinación de contenido de fenoles totales de <i>Solanum tuberosum</i>	44
Figura 10. Preparación de muestras para la determinacion de actividad antioxidante de <i>Solanum tuberosum</i>	45
Figura 11. Determinacion de actividad antioxidante de <i>Solanum tuberosum</i>	46

RESUMEN

Se presenta un estudio transversal experimental sobre las hojas pos cosecha de la especie vegetal *Solanum tuberosum L.* variedad única que crece en el distrito de San Juan Bautista de Ica, donde se evalúa el contenido de fenoles totales, flavonoides totales y actividad antioxidante. De las hojas secas y molidas se obtienen: extracto etanólico 10% (método de digestión) y extracto acuoso al 10% desde aquí la fracción acetato de etilo (método de partición). De ambos extractos secos preparados a una concentración de 1%, se obtuvieron sus características organolépticas, % rendimiento y % cenizas.

El extracto etanólico presenta un contenido de fenoles, determinada con el reactivo de Folin-ciocalteu, que es equivalente al de una solución 72,11 mg de ácido gálico/100 mL; su contenido de flavonoides, determinada mediante la reacción con tricloruro de aluminio, es equivalente al de una solución de 2,99 mg quercetina/100 mL y tiene la capacidad para inhibir el 59,45 % de la actividad de una solución de radical libre DPPH de absorbancia 1,016. La fracción de acetato de etilo, presenta un contenido de fenoles que es equivalente al de una solución 33,43 mg de ácido gálico/100 mL su contenido de flavonoides es equivalente al de una solución de 7,42 mg quercetina/100 mL y tiene la capacidad para inhibir el 34,54 % de la actividad de una solución de radical libre DPPH de absorbancia 1,016.

Palabras claves: *Solanum tuberosum*, fenoles flavonoides, actividad antioxidante

ABSTRACT

An experimental cross-sectional study on the post-harvest leaves of the plant species *Solanum tuberosum*, a unique variety that grows in the district of San Juan Bautista de Ica, is presented. From the dried and ground leaves are obtained: 10% ethanolic extract (digestion method) and 10% aqueous extract, from here the ethyl acetate fraction (partition method). The organoleptic characteristics, % yield and % ash were obtained from both extracts. The content of total phenols, total flavonoids and antioxidant activity of both dry extracts prepared at a concentration of 1% were determined.

The ethanolic extract presents a phenol content, determined with the Folin-ciocalteu reagent, which is equivalent to that of a 72,11 mg gallic acid/100 mL solution; its flavonoid content, determined by reaction with aluminum trichloride, is equivalent to that of a 2,99 solution. mg quercetin/100 mL and has the capacity to inhibit 59,45% of the activity of a DPPH free radical solution of absorbance 1,016. The ethyl acetate fraction presents a phenol content that is equivalent to that of a 33,43 mg gallic acid/100 mL solution, its flavonoid content is equivalent to that of a 7,42 mg quercetin/100 mL solution and has the ability to inhibit 34,54% of the activity of a DPPH free radical solution of absorbance 1,016.

Keywords: *Solanum tuberosum*, flavonoid phenols, antioxidant activity

I. INTRODUCCIÓN

Se tiene como referencia que el cultivo de la papa es quizás la actividad de mayor importancia económica del país generado por miles de pobladores de la costa, sierra y selva en Perú para su posterior exportación a nivel mundial. En la sierra aún se cultivan las variedades nativas que generalmente son para atender las demandas locales, pero en la costa y sierra este cultivo se efectúa con semillas de variedades mejoradas y desde aquí se atiende el consumo de las grandes ciudades. Si consideramos que para marzo del 2022 la producción de papas fue de cerca de 542,047 toneladas lo cual representó un incremento de 13,4 % con respecto a la producción del año anterior podemos imaginar el gran despliegue de trabajo que origina con este cultivo y grandes volúmenes de residuos agrarios que no tienen beneficio económico.¹

En nuestra provincia se cultiva papa de la variedad única por su alta producción que en promedio alcanza 42 toneladas por hectárea (TM/Ha)²; y los grandes volúmenes de plantas y hojas pos cosecha de estos cultivos no son aprovechados científicamente y terminan por lo general siendo quemados en el campo. Estas hojas deben de contener compuestos químicos denominados metabolitos secundarios los mismos que suelen tener actividad biológica aprovechable. Los tipos de metabolitos secundarios más frecuente son de naturaleza fenólica y son justamente los componentes químicos que tienen como actividad biológica de interés el atrapar los radicales libres que son los agentes que ocasionan el estrés oxidativo que genera múltiples disfunciones en el organismo^{3,4}.

Es mi propósito contribuir con un estudio que dé a conocer el contenido de flavonoides y fenoles totales, así como que actividad antioxidante tendrían estos compuestos químicos que se están desperdiciando con los residuos. Y me formule el problema ¿Cuál es el contenido de fenoles totales y flavonoides y qué porcentaje de actividad antioxidantes tienen las hojas pos cosecha de *Solanum tuberosum* variedad única que crece en distrito de San Juan Bautista - Ica?

El objetivo fue cuantificar el contenido de fenoles, flavonoides totales y determinar el % de actividad antioxidante en los extractos etanólico y acetato de etilo de las hojas pos cosecha de este cultivo; el trabajo es importante porque se deben iniciar estudios para dar uso al residuo o sub producto lo cual elevaría las ganancias del cultivo. Algunos estudios con propósitos similares al mío han sido desarrollados por:

Fu Z.⁵; quien demostró que de hojas residuos del cultivo de papa se pueden separar altos contenidos de metabolitos secundarios. Utilizó como solventes: agua, acetona, metanol, etanol acuoso para investigar el efecto de los solventes sobre la recuperación de fenoles con actividad antioxidante. Rodríguez I.⁶ desarrolló un estudio para la extracción de antioxidantes desde los residuos de cáscara de papa (variedad Agria). Determinando compuestos fenólicos derivados del ácido clorogénico y ferúlico y flavonoides demostrando que el desperdicio de la cáscara de papa es una buena fuente de antioxidantes.

Crececiur D.⁷ señala que los fenoles son metabolitos secundarios importantes en las plantas, participan en los mecanismos de defensa específicos contra el estrés abiótico, siendo los principales responsables de la foto protección contra la radiación solar UV.

Lewis C.⁸ determinó que las flores y las hojas de *Solanum tuberosum* contienen concentraciones altas de flavonoides entre ellos quercetina-3-glucósidos.

Quispe L.⁹ realizó un estudio en el que demuestra que el extracto acuoso de las hojas de *Solanum Pamericanum muller* tiene efecto antiespasmódico en cobayos y no tiene toxicidad aguda en ratones. Además, determina que las hojas tienen taninos, alcaloides, aminoácidos, flavonoides y saponinas. Torres L.¹⁰ separó y cuantificó el contenido de salosenol en hojas de *Solanum tuberosum*.

Castillo I.¹¹. indica que las especies vegetales de la familia Solanácea presentan alcaloides y glicósidos esteroidales que poseen bioactividad.

II. ESTRATEGIAS METODOLÓGICAS

2.1. Aspectos metodológicos ^{10,11,12,13,14,15,16,17,18}

2.1.1. Enfoque de investigación

El aprovechamiento de residuos es una problemática que debe ser abordada por la ciencia ya sea para hacer de los residuos menos o nada contaminantes u obtener un producto de uso específico que pueda ser comercializado lo cual elevará la rentabilidad de la actividad económica. Esta tarea debe ser asumida por las instituciones de nivel académico profesional como son principalmente las universidades.

2.1.2. Tipo de investigación

2.1.2.1. Tipo de investigación:

El trabajo de investigación es transversal ya que su desarrollo e información conseguida transcurrió en un mismo tiempo de trabajo.

2.1.2.2. Nivel de Investigación

Por la información obtenida es una investigación de carácter básica.

2.1.3. Diseño de la investigación

El trabajo es de diseño experimental transversal porque se busca información desconocida con respecto al contenido de fenoles totales, flavonoides totales y actividad antioxidante que tienen las hojas pos cosecha de *Solanum tuberosum* variedad única que crece en distrito de San Juan Bautista – Ica.

2.1.4. Población y muestra

2.1.4.1. Población:

Todas las hojas pos cosecha de *Solanum tuberosum* variedad única que crecen en distrito de San Juan Bautista - Ica.

El promedio de plantas del cultivo es de 90,000/Ha y 10 plantas en promedio dejan 4,2 kg de hojas frescas por lo que de una Ha se estaría produciendo aproximadamente entre 35 – 40 TM/Ha.

2.1.4.2. Muestra:

Fueron 4,2 kg de hojas pos cosecha de *Solanum tuberosum* variedad única que crece en distrito de San Juan Bautista - Ica. Las hojas fueron recolectadas en el mes de abril del año 2021.

2.2. Técnica e instrumento de recolección de la información

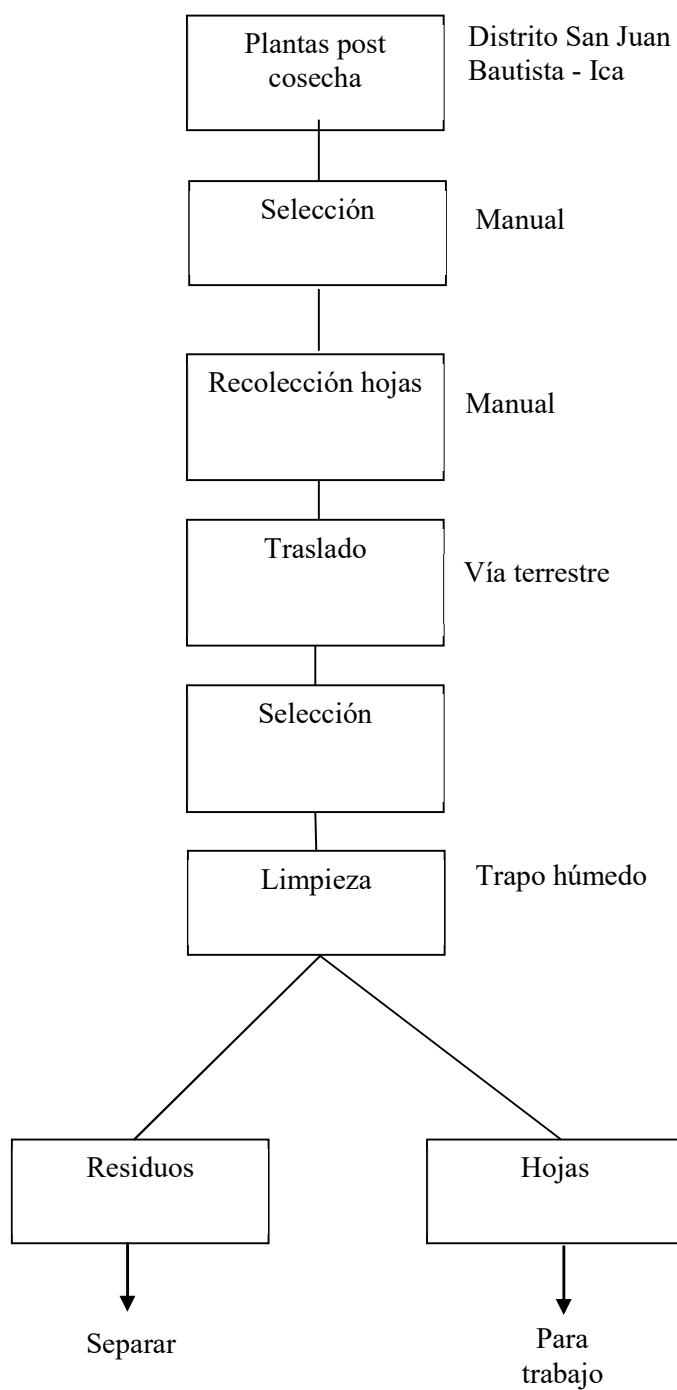
La técnica es el conjunto de procesos normados para garantizar resultados específicos y efectivos en la actividad que se desarrolla. La técnica que se usa es la experimental que consiste en tratar la muestra según la propuesta de los métodos que permitirán obtener extractos de hojas y luego cuantificar el contenido de fenoles y flavonoides y así determinar la actividad antioxidante de estos extractos.

2.3. Tratamiento de la muestra^{12,13}

2.3.1. Obtención de hojas pos cosecha

Los procesos para obtener hojas pos cosecha de *Solanum tuberosum* variedad única que crece en distrito de San Juan Bautista – Ica se ilustran en el gráfico siguiente:

Figura 1. Procesos para obtener hojas pos cosecha de *Solanum tuberosum*



Las hojas para el trabajo se secaron a la sombra por 7 días con remociones frecuentes y luego se llevaron a la estufa a una temperatura comprendida 50 °C – 55 °C hasta sequedad total, inmediatamente se procedió a la molienda con molino manual.

2.3.2. Obtención de extractos¹³.

2.3.2.1. Obtención de extracto etanólico

El extracto etanólico se obtuvo por el método digestión con agitación permanente de 10 g del material seco y molido con 100 mL de etanol a 50 °C – 55 °C por 12 horas, se filtró. El líquido filtrado se guarda y al marco es sometido a otra extracción de lo que se obtiene el líquido filtrado dos. Se unen los líquidos filtrados y se concentran a sequedad

2.3.2.2. Obtención de extracto acuoso y su fracción acetato de etilo.

Se utilizó el método de cocción por cuarenta y cinco minutos, se preparó a una concentración de 10 %. Se enfría y luego haciendo uso del solvente acetato de etilo y para de decantación por partición liquido se extrae la fracción de acetato de etilo y se concentra.

2.3.3. Caracterización de los extractos^{12,13}

Los extractos se caracterizaron al momento de su obtención y cuando se les elimino el solvente

2.3.3.1. Características organolépticas:

Con los órganos de los sentidos se determinó: color, olor, sabor y aspecto. El proceso fue el siguiente: De los extractos con solvente se colocaron 3mL en un frasco vial de 5 mL y desde aquí se juzga el color: por apreciación directa, olor: acercando el frasco a las fosas nasales, sabor: con una vagueta se topa el extracto y se lleva a la lengua para juzgar el sabor y el aspecto: con una pipeta de 1 ml se retira dos gotas de extracto y se colocaron en las yemas de los dedos pulgar e índice para la evaluación de textura.

Para los extractos libres de solventes la evaluación fue similar solo que se depositó aproximadamente 1,0 g de cada extracto en una cápsula de porcelana pequeña y desde aquí se realizan las determinaciones.

2.3.3.2. Características fisicoquímicas^{12,13}.

1º Rendimiento:

En un vaso de precipitados pequeño de peso conocido se colocan 10 mL del extracto etanólico obtenido y se lleva a la estufa a 55 °C - 60 °C hasta constancia de peso. Desde aquí se juzga el rendimiento, que se expresará en porcentaje (%).

2º Presencia de compuestos de naturaleza fenólica:

Para la determinación la presencia de compuestos de naturaleza fenólica se empleó la reacción del tricloruro férrico. Para lo cual se coloca 1 ml del extracto a ensayar y se le adiciona 5 gotas del reactivo tricloruro férrico al 5 %. La aparición de una coloración o precipitado de color verdusco intensa que va al color negro es indicativa de la presencia de compuestos de naturaleza fenólica.

3º Presencia de flavonoides:

Para la determinación la presencia de compuestos de estructura flavonoidea se empleó la reacción del Shinoda. Para el extracto etanólico se coloca 1 ml del extracto a ensayar y se le adiciona 20 partículas de limadura de magnesio más 5 gotas del reactivo ácido clorhídrico concentrado. Se lleva a concentrar a $\frac{1}{4}$ de su volumen y se adiciona 2 mL de agua destilada y seguidamente 1 ml de cloroformo, la aparición de coloración en la fase clorofórmica es indicativa de la presencia de flavonoides. Para el extracto acuoso se trata el extracto acuoso libre de solvente con etanol y se filtra y desde aquí se coge un ml de extracto y se procede similarmente como en el extracto etanólico.

4° Contenido de cenizas: Método gravimétrico

Se determinó por el método de incineración de la materia orgánica. El método se basa en exponer el material que se analiza a altas temperaturas con la finalidad de destilar toda la materia orgánica y deje como residuo la parte inorgánica.

Procedimiento: Se coge una cápsula de porcelana de peso conocido y se coloca 1 g del extracto a analizar, se lleva a la acción del calor para carbonizar la materia orgánica y luego a la mufla a 550 °C - 560 °C por dos horas y hasta constancia de masa

Cálculos: Se halla mediante la expresión siguiente:

$$\text{g C/100 g} = \text{PC obt} \times 100$$

Donde:

g C/100 g = gramos de cenizas por 100 g de extracto

PC obt = g de cenizas que se obtienen en la determinación

100 = para referir a porcentaje

2.4. Determinación cuantitativa de fenoles totales^{14,15,16}

Para esta determinación se usó el extracto etanólico y la fracción acetato de etilo proveniente del extracto acuoso.

2.4.1. Método:

Espectrofotométrico Visible

2.4.2. Fundamento:

El método se basa en la reacción que ocurre entre el reactivo de Folin-Ciocalteu que es de color amarillo el cual se reduce por oxidación de compuestos de naturaleza fenólica a una coloración azul verdoso. La intensidad del color azul verdoso es proporcional al contenido de fenoles y se mide con el espectrofotómetro a una longitud de onda de 760 nanómetros (nm).

2.4.3. Preparación de reactivos

Reactivo de Folin-Ciocalteu

Producto adquirido Cimatec Perú.

Carbonato de sodio 20%

Se pesaron 20 g de carbonato de sodio y se diluyeron con agua destilada cantidad suficiente para 100 ml

Soluciones estándares de ácido gálico

Se preparó una solución madre de ácido gálico 1 % y desde aquí por el método de dilución: 2, 4, 6, 8, y 10 ml de esta disolución madre se depositan en fioles de 100 mL respectivamente y se enrasan hasta completar el aforo; obteniéndose soluciones estándares de ácido gálico de concentraciones 20, 40, 60, 80, y 100 mg de ácido gálico/100 mL.

2.4.4. Curva de absorbancias de la reacción entre soluciones patrón de ácido gálico frente al reactivo Folin Ciocalteu

Los procesos se presentan en la tabla siguiente:

Tabla 1. Esquema de trabajo para obtener la curva de calibración entre las soluciones estándares de ácido gálico versus el reactivo de Folin Ciocalteu.

Soluciones de ácido gálico	N.º/ ens.	mL muestra	mL Solvente	mL Na₂CO₃	mL Rx Folin-Ciocalteu
20 mg/100 mL	1	0,1	8,4	1,0	0,5
	2	0,1	8,4	1,0	0,5
	3	0,1	8,4	1,0	0,5
40 mg/100 mL	1	0,1	8,4	1,0	0,5
	2	0,1	8,4	1,0	0,5
	3	0,1	8,4	1,0	0,5
60 mg/100 mL	1	0,1	8,4	1,0	0,5
	2	0,1	8,4	1,0	0,5
	3	0,1	8,4	1,0	0,5
80 mg/100 mL	1	0,1	8,4	1,0	0,5
	2	0,1	8,4	1,0	0,5
	3	0,1	8,4	1,0	0,5
100 mg/100 mL	1	0,1	8,4	1,0	0,5
	2	0,1	8,4	1,0	0,5
	3	0,1	8,4	1,0	0,5

Los reactivos se homogenizan y se dejan al abrigo de la luz por 30 minutos; pasado este tiempo se lleva al espectrofotómetro para la lectura de la absorbancia a una longitud de onda de 760 nm.

2.4.5. Determinación cuantitativa de fenoles totales.

Los extractos usados: etanólico y fracción acetato de etilo del extracto acuoso se prepararon a una concentración de 1% en etanol como solvente. Desde estas disoluciones se cuantifica el contenido de fenoles totales. El trabajo, en cada caso, se hizo por triplicado. Los procesos se indican en la tabla siguiente:

Tabla 2. Esquema de trabajo para determinar el contenido de fenoles en las muestras a analizar

MUESTRA	N.º DE ENSAYO	MUESTRA. ANALIZAR (mL)	AGUA DESTILADA (mL)	NA₂CO₃ 20% (mL)	REACTIVO FOLIN-CIOCALTEU (mL)
Extracto etanólico (1 %)	1	0,1	8,4	1,0	0,5
	2	0,1	8,4	1,0	0,5
	3	0,1	8,4	1,0	0,5
Fracción acetato etilo del extracto acuoso. (1 %)	1	0,1	8,4	1,0	0,5
	2	0,1	8,4	1,0	0,5
	3	0,1	8,4	1,0	0,5

Los reactivos se mezclaron y homogenizaron en el orden de izquierda a derecha y se dejaron en reposo cuidándolos que no les de la luz por un periodo de 30 minutos; culminado este tiempo se procede a la lectura de la absorbancia en el espectrofotómetro a 760 nm de longitud de onda.

2.5. Determinación del contenido de flavonoides totales^{14,15,16}.

2.5.1. Método:

Espectrofotométrico

2.5.2. Fundamento

El método se basa en la reacción de formación del complejo estable que forma el ion de aluminio con los flavonoides contenido en el material que se analiza ocasionando un desplazamiento batocrómico en la longitud de onda a la que normalmente absorben los flavonoides y una intensificación de la absorción.

2.5.3. Reactivos

- **Disolución de tricloruro de aluminio al 10 % en etanol**
Se disuelven 10 g de tricloruro de aluminio en 100 ml de etanol 96°.
- **Disolución de acetato de potasio 1 M**
Se disuelven 9,89 g de acetato de potasio y se disuelven en 100 mL de agua
- **Disolución de patrón de Quercetina 1 mg/1ml**
Se disuelven 100 mg de quercetina en 100 ml de etanol
- **Metanol**
- **Etanol 96°**

2.5.4. Preparación de estándares de quercetina.

Se cogen 6 fioles de 100 mL, se enumeran y se procede como se indica en la tabla siguiente:

Tabla 3. Esquema de trabajo para preparar soluciones estándares de quercetina

N.º fiola	Quercetina Patrón (mL)	Solvente Etanol 96° (mL)	concentración quercetina mg/100 mL
0	0	100	0 mg/100 mL
1	2	98	2 mg/100 mL
2	4	96	4 mg/100 mL
3	6	94	6 mg/100 mL
4	8	92	8 mg/100 mL
5	10	90	10 mg/100 mL

2.5.5. Procedimiento para hallar la curva de absorbancias entre las soluciones estándares de quercetina y el ion aluminio.

Se cogen 6 tubos de ensayos y se enumeran, el tubo cero es el blanco, a los del número uno al cinco a cada uno de ellos se adiciona 0,5 ml de solución de 2, 4, 6, 8 y 10 mg de quercetina /100 mL respectivamente. Similarmente a todos los tubos se les adiciona 1,5 ml de etanol 96°; 0,1 mL de solución de AlCl_3 10% en etanol; 0,1 mL de solución de acetato de potasio 1 M y se diluye agregándole 2,8 mL de agua destilada respectivamente. Se deja en reposo por 30 minutos. Seguidamente se lleva a la lectura en el espectrofotómetro a una longitud de onda (λ) de 415 nm.

Tabla 4. Esquema de trabajo para determinar las absorbancias de las soluciones estándares de quercetina frente a la reacción con tricloruro de aluminio.

Tubo	mg quercetina / 100 mL	Alícuota mL	Concentración /mL	Solución de AlCl₃ 10% mL	Solución Acetato de K mL	Diluyente H₂O mL
0	0	0,1	00	0,1	0,1	2,8
1	2	0,1	20	0,1	0,1	2,8
2	4	0,1	40	0,1	0,1	2,8
3	6	0,1	60	0,1	0,1	2,8
4	8	0,1	80	0,1	0,1	2,8
5	10	0,1	100	0,1	0,1	2,8
6	12	0,1	120	0,1	0,1	2,8

2.5.6. Determinación de flavonoides en el material analizado

Se trabajó con el extracto etanólico y la fracción de acetato de etilo procedente del extracto acuoso. En ambos casos las concentraciones de las muestras fueron preparadas al 1 % p/v a partir de sus respectivos extractos. El proceso es similar al seguido en el paso E solo que en lugar de mL de disolución estándar de quercetina se añade 0,1 ml del extracto correspondiente. El resumen se presenta en la tabla siguiente:

Tabla 5. Esquema de trabajo para determinar de absorbancias de las reacciones de flavonoides en las muestras analizadas frente al tricloruro de aluminio.

Muestra analizada	Repeticiones	muestra analizada (mL)	Etanol 96° (mL)	AlCl₃ 10 % (mL)	A. de K 1M (mL)	Agua (mL)
Ext. Etanólico 1 %	1	0,1	1,5	0,1	0,1	2,8
	2	0,1	1,5	0,1	0,1	2,8
	3	0,1	1,5	0,1	0,1	2,8
Acetato de etilo 1 %	1	0,1	1,5	0,1	0,1	2,8
	2	0,1	1,5	0,1	0,1	2,8
	3	0,1	1,5	0,1	0,1	2,8

Las muestras se homogenizan se dejan en reposo 30 minutos y después se lleva al espectrofotómetro para las lecturas de las absorbancias a 415 nanómetros de longitud de onda.

2.5.7. Cálculos

Para la determinación de flavonoides en el material analizado se utilizó el modelo matemático que facilita la ecuación de la recta. Los valores de la recta de absorbancias de las soluciones estándares de quercetina versus el tricloruro de aluminio fueron la base para esta determinación. Matemáticamente se calculó el contenido de flavonoides totales y se expresa como equivalentes a μg de quercetina/mL.

2.6. Determinación de la actividad antioxidante^{14,15,16}

2.6.1. Método: Espectrofotométrico

2.6.2. Fundamento

El radical libre 2,2 difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) preparado en disolución etanólica es de color violáceo intenso presenta una absorbancia a 517 nm de la cual decimos que es de absorbancia conocida y es el 100 % de absorbancia; cuando reacciona con compuestos químicos secuestradores de electrones desapareados o radicales libres disminuye su concentración ocasionándose pérdida de la intensidad de color violáceo que es monitoreada en el espectrofotómetro a la misma longitud de onda. El % de pérdida de absorbancia es por acción del compuesto químico presente en la muestra y decimos que ese es el % de inhibición al radical libre DPPH que tiene la muestra ensayada.

2.6.3. Preparación de reactivos

- **Solución de DPPH**

Se preparó disolviendo 22 mg del reactivo DPPH en 100 ml de etanol 96°

- **Solvente etanol 96°**

2.6.4. Determinación de la actividad antioxidante

1° Expresada como % inhibición al radical DPPH

El % de inhibición al radical libre DPPH por parte del material que se analiza es la pérdida de la concentración o actividad del radical libre DPPH cuya absorbancia conocida representa el 100 % de actividad del radical libre. Cuando se pone en contacto una solución de DPPH de absorbancia conocida con compuestos que atrapan radicales libres. La pérdida o disminución de la absorbancia se expresa como % que es lo que se conoce como % de inhibición al radical libre DPPH.

2° Expresada como equivalente de una solución de mg ácido gálico/100 mL

Se preparan soluciones estándares de ácido gálico de concentraciones 2, 4, 6, 8, 10 y 12 mg/100 mL y se utilizan como patrones referenciales para poder expresar la actividad antioxidante del material que se analiza en comparación o equivalencia con la actividad antioxidante de las soluciones de ácido gálico. Las muestras a analizar son tratadas similarmente. El esquema del proceso se presenta en la tabla siguiente:

Tabla 6. Esquema de trabajo para graficar la curva de calibración entre soluciones estándares de ácido gálico y el reactivo DPPH y determinar la equivalencia antioxidante de las muestras analizadas.

Muestras analizadas	mL analizado	mL solvente	mL DPPH
Blanco etanol	0,0	3,0	0,0
DPPH	0,0	2,5	0,5
A. Gálico 2 mg/100 mL	0,1	2,4	0,5
A. gálico 4 mg /100 mL	0,1	2,4	0,5
A. gálico 6 mg /100 mL	0,1	2,4	0,5
A. gálico 8 mg /100 mL	0,1	2,4	0,5
A. gálico 10 mg /100 mL	0,1	2,4	0,5
A. gálico 12 mg /100 mL	0,1	2,4	0,5
Ext. etanólico 1%	0,1	2,4	0,5
Fracción de A. de etilo 1 %	0,1	2,4	0,5

Los reactivos se homogenizan y se dejan en reposo al abrigo de la luz por 30 minutos. Después son llevadas al espectrofotómetro para la lectura de su absorbancia a 517 nm de longitud de onda.

III. RESULTADOS

3.1. De la muestra estudiada

Se utilizaron las hojas de las plantas pos cosecha de la especie vegetal *Solanum tuberosum* variedad única que se cultivan en el distrito de San Juan Bautista de la provincia de Ica

3.2. De la obtención de hojas pos cosecha de *Solanum tuberosum*.

De 10 plantas pos cosecha de la especie vegetal *Solanum tuberosum* variedad única que crecen en el distrito de San Juan Bautista de la provincia de Ica se obtiene 4,2 Kg de hojas pos cosecha con una humedad de 64,1 %.

3.3. De la obtención de extractos.

3.3.1. Del extracto etanólico y sus fracciones

De 100 g de material seco y molido procedentes de las hojas pos cosecha se obtiene 11,60 g de extracto etanólico libre de solvente.

3.3.2. Del extracto acuoso

De 100 mL de extracto acuoso obtenido con 10 g de hojas pos cosecha secas y molidas sometidas a una cocción de 5 minutos se obtiene 2,74 % de la fracción acetato de etilo libre de solvente.

3.4. De la caracterización de los extractos.

3.4.1. Análisis organoléptico

Los resultados del análisis organoléptico del extracto etanólico y acuoso con y sin solvente se presentan en la tabla siguiente:

Tabla 7. Resultados de la caracterización organoléptica de los extractos etanólico y acuoso de hojas pos cosecha de *Solanum tuberosum* variedad única.

Característica organoléptica	Extracto etanólico		Fracción acetato de etilo del Extracto acuoso	
	Extracto etanólico	Extracto etanólico seco	Acetato de etilo con solvente	Acetato de etilo seco
Color	Verde	Verde intenso	Color Ámbar	Caramelo
Olor	Etanol	Sin olor característico	Sin olor característico	Sin olor característico
Sabor	Amargo y alcohólico	Amargo	astringente	Amargo
Aspecto	Uniforme	Gomoso	Límpido	Carameloso

Fuente: Autor del trabajo

3.4.2. Caracterización fisicoquímica

Los resultados de las características fisicoquímicas de los extractos obtenidos se presentan en la tabla siguiente:

Tabla 8. Resultados de la caracterización fisicoquímicas de los extractos etanólico y fracción de acetato de etilo de hojas pos cosecha de *Solanum tuberosum* variedad única.

Determinado	Extracto etanólico	Fracción de acetato de etilo
Rendimiento	11,60 %	2,74 %
Cenizas	1,07 %	0,021%
Reacción tricloruro férrico	Positivo	Positivo
Reacción de Shinoda	Positivo	Positivo

Fuente: Autor del trabajo

3.5. De la determinación del contenido de fenoles

3.5.1. De la curva de calibración de la reacción entre soluciones patrón de ácido gálico y el reactivo de folin ciocalteu.

Los resultados se presentan en la tabla siguiente:

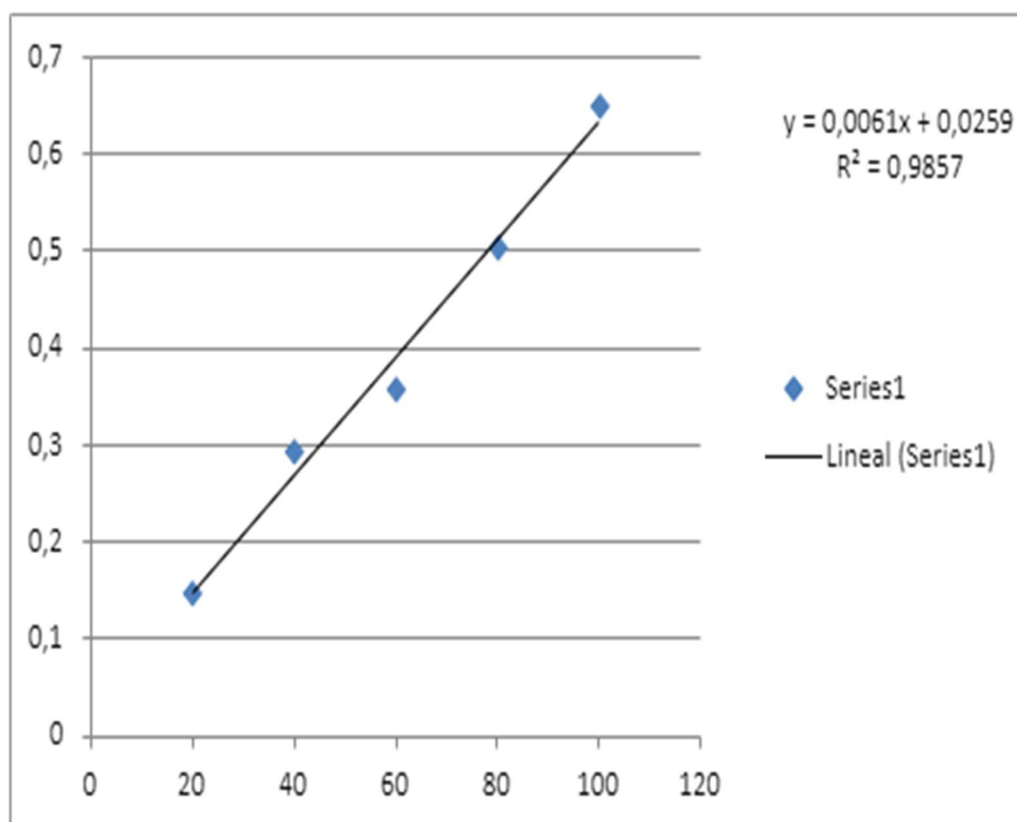
Tabla 9. Resultados de las absorbancias de la reacción entre soluciones patrón de ácido gálico y el reactivo de Folin Ciocalteu.

N.º Tubo	Solución de ácido gálico	Absorbancia
0	00 mg/100mL	0,000
1	20 mg/100mL	0,144
2	40 mg/100mL	0,296
3	60 mg/100mL	0,359
4	80 mg/100mL	0,504
5	100 mg/100mL	0,651

Fuente: Autor del trabajo

Con estos datos se trabajó el método estadístico de los mínimos cuadrados para obtener los valores de la pendiente, el origen del intercepto y el valor de la recta y fueron utilizados en aplicación a la ecuación de la recta y matemáticamente obtener los resultados de concentración o mg de fenoles detectados a partir de la absorbancia de la muestra analizada.

Figura 2. Curva de calibración de la reacción entre el reactivo de Folin Ciocalteu versus soluciones patrón de ácido gálico.



3.5.2. De la determinación del contenido de fenoles en las muestras analizadas

El promedio de tres determinaciones fue analizado matemáticamente usando los datos del gráfico 1 y los resultados de las determinaciones del contenido de fenoles totales se presentan en la tabla siguiente:

Tabla 10. Resultados del contenido de fenoles totales en el extracto y la fracción analizados.

Muestra analizada	Absorbancia promedio	mg fenoles (equivalentes a ácido gálico) /100 mL
Extracto etanólico	0,465	72,11
Fracción de acetato de etilo	0,234	33,43

Fuente: Autor del trabajo

3.6. De la determinación del contenido flavonoides

3.6.1. De las absorbancias de la reacción entre soluciones estándares de quercetina frente el reactivo de tricloruro de aluminio.

Los resultados se presentan en la tabla siguiente:

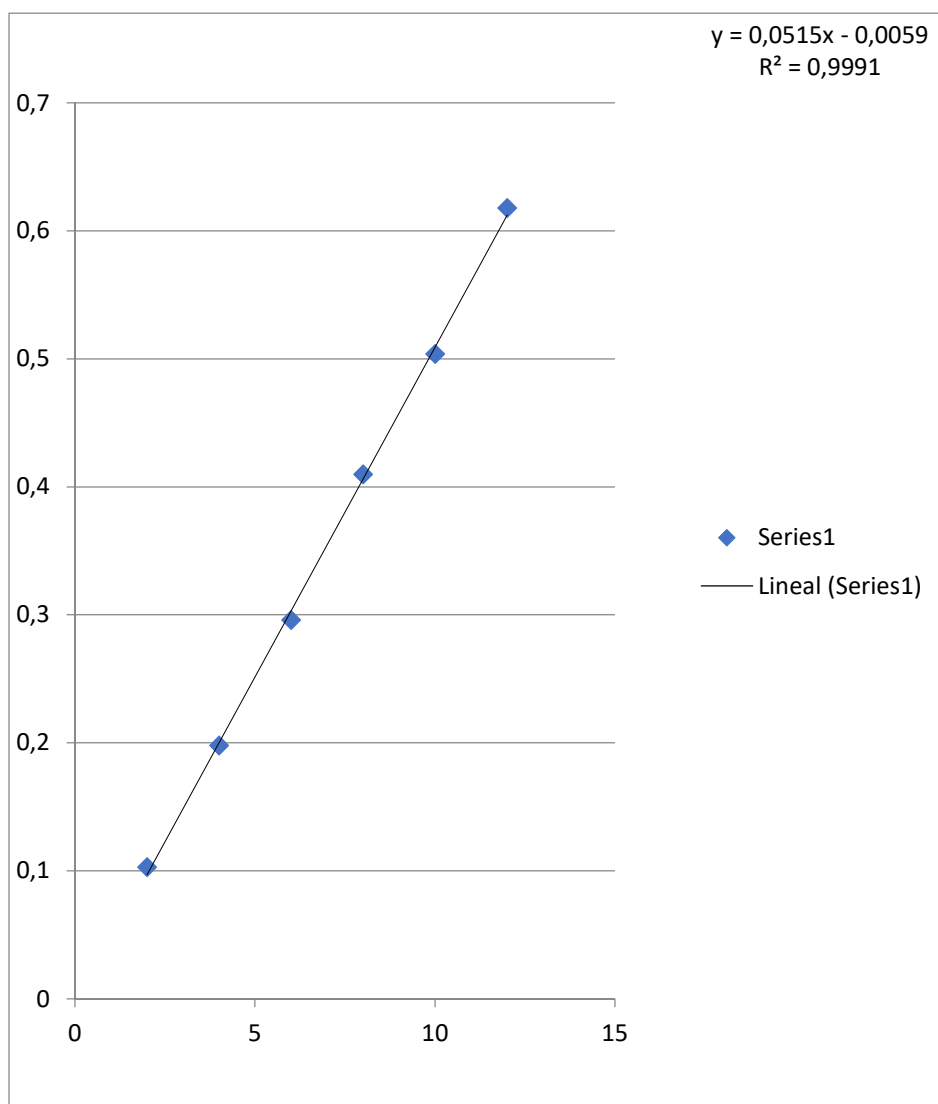
Tabla 11. Resultados de las absorbancias de las reacciones entre soluciones estándares de quercetina frente el reactivo de tricloruro de aluminio.

tubo	mg quercetina/ 100 mL	Alícuota mL	Concentración µg/mL	Absorbancia
0	0	0,1	00	0,000
1	2	0,1	20	0,103
2	4	0,1	40	0,198
3	6	0,1	60	0,296
4	8	0,1	80	0,410
5	10	0,1	100	0,504
6	12	0,1	100	0,618

Fuente: Autor del trabajo

Estos datos fueron analizados por el método estadístico de los mínimos cuadrados y se determinaron los valores de la recta (gráfico 3): $Y = mx + b$ Obteniéndose los siguientes valores: $m = 0,00515x$, $b = 0,0059$ y $R^2 = 0,9991$

Figura 3. De las absorbancias versus concentración de las reacciones entre quercetina y el reactivo tricloruro de aluminio



Fuente: Autor del trabajo

3.6.2. De la determinación del contenido de flavonoides en las muestras analizadas

Los promedios de las absorbancias para tres determinaciones de flavonoides en el extracto etanólico y acetato de etilo fueron: Extracto etanólico 0,148 y este es equivalente al contenido de una solución de 2,99 mg de quercetina/100 mL. Para el extracto acetato de etilo la absorbancia fue de 0,376 lo cual corresponde al contenido de fenoles de una solución 7,42 mg de quercetina/100 mL.

3.7. De la determinación de actividad antioxidante

3.7.1. De las absorbancias para graficar la curva de calibración de la reacción entre soluciones estándares de ácido gálico y el reactivo DPPH.

Los resultados se presentan en la tabla siguiente:

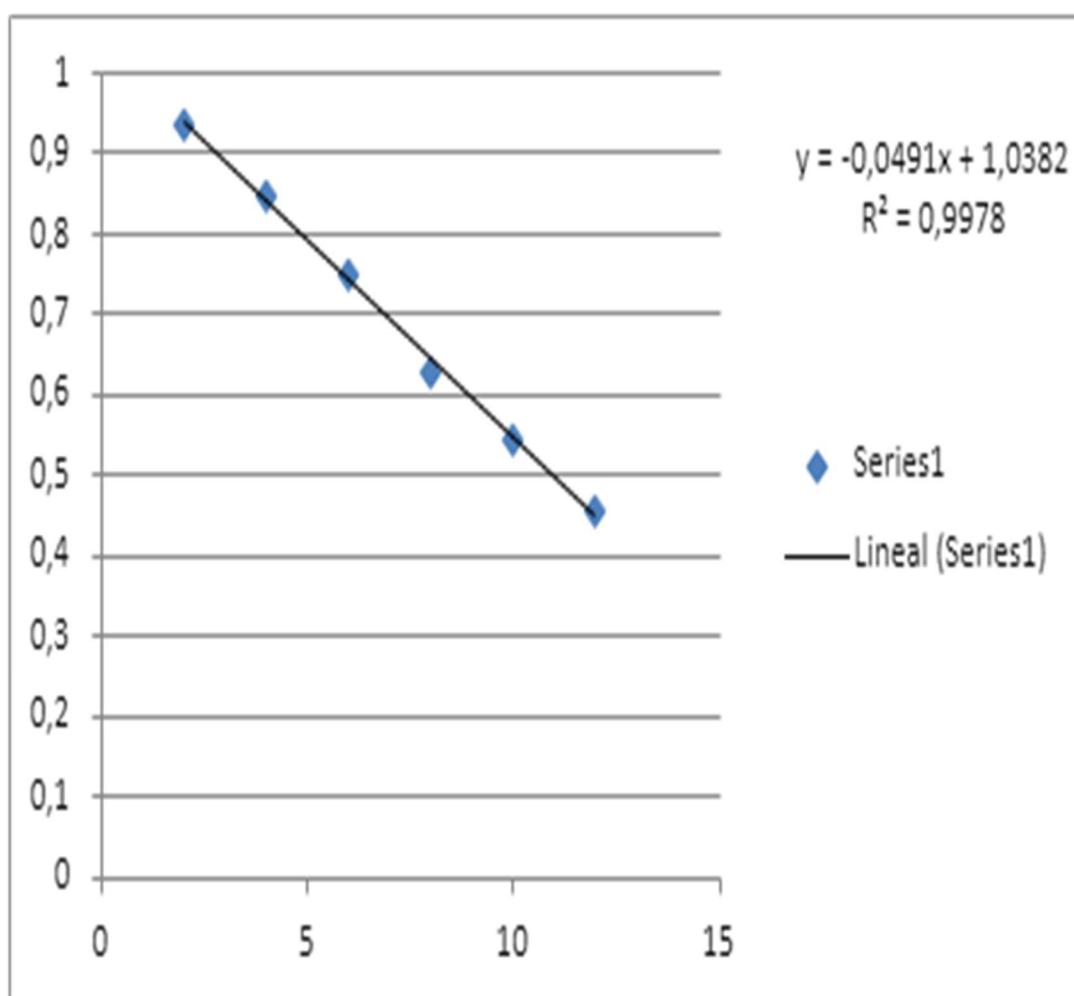
Tabla 12. Resultados de las absorbancias de las soluciones estándares de ácido gálico versus el DPPH

Muestra analizada	Solución de ácido gálico mg/100MI	Absorbancias
Tubo Blanco	0,0	0,0
Tubo DPPH solo	0,0	1,016
Tubo 1	2	0,937
Tubo 2	4	0,840
Tubo 3	6	0,742
Tubo 4	8	0,634
Tubo 5	10	0,549
Tubo 6	12	0,450

Fuente: Autor del trabajo

Los datos de las absorbancias fueron tratados por el método estadístico de los mínimos cuadrados y se obtuvieron los valores de la recta: pendiente, el origen del intercepto y el valor de la recta. Con los valores de la recta y la ecuación de la recta y conociendo las absorbancias de las muestras analizadas se obtuvieron los resultados de actividad antioxidante equivalente a soluciones de mg de ácido gálico/ 100 mL.

Figura 4. Curva de calibración entre soluciones estándares de ácido gálico y el reactivo DPPH



Fuente: Autor del trabajo

Tabla 13. Resultados de la actividad antioxidante del extracto etanólico y fracción de acetato de etilo expresados como % de inhibición al radical DPPH.

Muestra analizada	Absorbancia	% de inhibición al radical DPPH
Solución de DPPH	1,016	0,00
Extracto etanólico	0,412	59,45
Fracción de acetato de etilo	0,665	34,54

Fuente: Autor del trabajo

3.7.2. DE LA COMPARACION DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE CON RESPECTO A SOLUCIONES DE ACIDO GALICO

Con los valores de la recta y conociendo las absorbancias de las muestras analizadas se procedió a calcular las equivalencias de actividad antioxidante. Para el extracto etanólico la absorbancia fue 0,412 la actividad antioxidante es equivalente a la de una solución de 12,57 mg ácido gálico/100 ml y para la fracción de acetato de etilo cuya absorbancia fue 0,665 la actividad antioxidante es equivalente a la de una solución de 7,35 mg ácido gálico/100 ml.

IV. DISCUSIÓN

No hay duda alguna que en nuestro país la papa (*Solanum tuberosum*) fue, es y parece seguirá siendo un recurso alimenticio disponible para todos y especialmente para las poblaciones económicas más vulnerables. Este histórico panorama ha promovido la investigación para la obtención de mejor productividad, conservación y manejo de la papa así por ejemplo Gutierrez² desarrolló la variedad de papa “variedad única” que se está cultivando masivamente en Ica generándose grandes volúmenes de residuos orgánicos procedentes de este cultivo. Algunos trabajos de investigación para el aprovechamiento de los sub productos agrarios como por ejemplo del cultivo de papas que ha desarrollado. Soto M⁴ y para el cultivo de camote desarrollado por Fu I.⁵ determinan que existen buenos contenidos de metabolitos secundarios del tipo fenoles y flavonoides en los sub productos de estos cultivos lo cual es concordante con mi trabajo.

Mi trabajo es un estudio para la determinación de compuestos fenólicos, flavonoides y actividad antioxidante en hojas pos cosecha de la especie vegetal *Solanum tuberosum* variedad Única; otra alternativa para el uso de hojas de papa que presenta Torres⁹ quien separa y cuantifica solanesol en este residuo agrario.

Con el propósito de aprovechar residuos agrarios similares al cultivo de la papa Fu⁴ estudió las hojas del cultivo del camote y reporta un contenido de fenoles totales de 43,8 mg (Equivalentes a ácido clorogénico) /g de muestra y un contenido de fenoles de 3,48 mg de fenoles (equivalentes a quercetina) /g de muestra.

En mi trabajo para el extracto etanólico de hojas pos cosecha del cultivo de la papa reporto un contenido de fenoles que es equivalente a 72,11 mg de ácido gálico/100 mL, con un contenido de flavonoides que es equivalente al de una solución 2,99 mg de quercetina/100 mL; este extracto tiene la capacidad para inhibir 59,45 % la actividad de una solución de DPPH de absorbancia 1,016. En la fracción de acetato de etilo proveniente del extracto acuoso al 10 % reporto un menor contenido de fenoles 33,43 mg FT(EAG) / 100 mL, pero con mayor contenido de flavonoides 7,42 mg flavonoides (EQ)/100mL sin embargo la inhibición de la actividad antioxidante es menor 34,54 % esto pudiera deberse a que la actividad antioxidante del extracto etanólico sería la sumatoria de actividades antioxidante de otros compuestos de naturaleza fenólica como los ácidos polihidroxi fenólicos.

V. CONCLUSIONES

- 5.1. El contenido de fenoles (equivalentes a mg de ácido gálico/100 mL) en el extracto etanólico libre de solvente preparado en la concentración 1 % de hojas pos cosecha de *Solanum tuberosum* variedad única que crece en el distrito de San Juan Bautista de Ica es equivalente al de una solución 72,11 mg de ácido gálico/100mL. Mientras que la fracción de acetato de etilo libre de solvente y preparado a la concentración de 1 % en etanol tiene un contenido de fenoles que es equivalentes al de una solución 33,43 mg de ácido gálico/100 mL.

- 5.2. El contenido de flavonoides (equivalentes a mg de quercetina/100 mL) en el extracto etanólico libre de solvente preparado en la concentración 1 % de hojas pos cosecha de *Solanum tuberosum* variedad única que crece en el distrito de San Juan Bautista de Ica es equivalente al de una solución 2,99 mg quercetina/100mL. Mientras que la fracción de acetato de etilo libre de solvente y preparado a la concentración de 1 % en etanol analizado, tiene un contenido de flavonoides equivalente al de una solución 7,42 mg quercetina/100 mL.

- 5.3. La actividad antioxidante del extracto etanólico 1 % tiene la capacidad de inhibir el 59,45 % la actividad de una solución de DPPH de absorbancia 1,016; esta actividad es comparable a la actividad antioxidante de una solución 12,57 mg de ácido gálico/100mL, mientras que la fracción de acetato de etilo 1% tiene la capacidad de inhibir el 34,54 % la actividad de la misma solución de DPPH esta actividad antioxidante es comparable a la actividad antioxidante de una solución 7,35 mg de ácido gálico/100mL.

VI. RECOMENDACIONES

- 6.1. Seguir estudiando la presencia y separación de otros grupos de metabolitos secundarios, como los alcaloides, por ejemplo, de la especie vegetal *Solanum tuberosum* variedad única que se cultivan en nuestro medio con el propósito de aportar conocimiento sobre la característica de estos residuos.

- 6.2. Iniciar estudios para investigar cuales son las propiedades farmacológicas y/o benéficas que tendrían los metabolitos secundarios presentes en extractos de las hojas de plantas pos cosecha de *Solanum tuberosum* variedad única que se cultivan en nuestro medio y que solo sirven para ser quemadas en los alrededores de los cultivos.

VII. FUENTES DE INFORMACIÓN

- 7.1. Instituto Nacional de estadística e informática. Producción de papa alcanzó 542 mil 47 toneladas en marzo del presente año y creció en 13,4%. Disponible en: <https://www.gob.pe/institucion/inei/noticias/610004-produccion-de-papa-alcanzo-542-mil-47-toneladas-en-marzo->
- 7.2. Gutiérrez Rosales R, Espinoza Telles J, Bonierbale M. UNICA: Variedad. Peruana de papa de condiciones climáticas adversas para mercado fresco y papa frita con tolerancia y resistencia para cadena de virus. Revista Latinoamericana de la Papa. (2007). 14(1): 41-509.
- 7.3. Tomas-Barberán F. Los polifenoles de los alimentos y la salud. Revista Alim. Nutri. Salud vol. 10, N. ° 2, pp. 41-53, 2003.
- 7.4. Soto Vásquez Marilú. Estudio fitoquímico de las hojas, flores y frutos de *solanum multifidum lam.* y *lycianthes lycioides* (l.) hassl. (solanaceae) procedentes del Cerro Campana, Región la Libertad, Perú. Arnaldoa 21 (1): 91 - 104, 2014
- 7.5. Fu Z., Tu Z, Zhang L, Wang H, Wen Q y Huang T. y col. Antioxidant activities and polyphenols of sweet potato (*Ipomoea batatas* L.) leaves extracted with solvents of various polarities. Food Bioscience. Volume 15, 1 September 2016, Pages 11-18.
- 7.6. Rodríguez I, Franco D, Sánchez M Zapata C, y Vasquez J. Optimization of antioxidant extraction from *Solanum tuberosum* potato peel waste by surface response methodology. Food Chemistry. Volume 165, 15 December 2014, Pages 290-299
- 7.7. Cruceriu D, Molnar I, Diaconeasa Z, y col. In Vitro Culture as a Stressful Factor Triggers Changes in Polyphenols, Flavonoids and Antioxidant Activity in Somatic Hybrids between *Solanum tuberosum* and *S. bulbocastanum* and their Respective Parents. Cruceriu D et al / Not Bot Horti Agrobo, 2017, 45(1)
- 7.8. Lewis C, Walker J, Lancaster J y col. Determination of anthocyanins, flavonoids and phenolic acids in potatoes. I: Coloured cultivars of *Solanum tuberosum* L. Journal of Science of food and agriculture. Vol. 77, issue 1, may 1998.
- 7.9. Quispe Napoanga Kattia. Efecto antiespasmódico y toxicidad aguda del extracto acuoso de las hojas del *Solanum americanum* Muller (Ñushco). (2017) Tesis Para optar el Grado Académico de Magíster en Farmacología con mención en Farmacología Experimental.UNMSM.
- 7.10. Torres L, Hincapié C y Barrera R. Evaluación preliminar del uso de residuos del cultivo de papa como fuente de solanesol. Scientia et Technica Año XXII, Vol. 22, No. 4, diciembre de 2017

- 7.11. Castillo-Sánchez I, Jiménez Osorio J, Delgado Herrera M. Metabolitos secundarios de las familias Annonaceae, Solanaceae y Meliaceae usadas como control biológico de insectos. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 12 (2010): 445 -462.
- 7.12. Zumbado H. Análisis químico de los alimentos. Métodos Clásicos. Instituto de Farmacia y Alimentos. Universidad de la Habana.2007.
- 7.13. Domínguez X. Métodos de Investigaciones Fotoquímicas. Editorial LIMUSA 1,988
- 7.14. Gracia Nava Manuel Alejandro. Cuantificación de fenoles y flavonoides totales en extractos naturales. Disponible en: https://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias2007/56_1UAQGarciaNava.pdf.
- 7.15. Ramos C. 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) [Bachiller]. Universidad nacional mayor de San Marcos; 2016. Se puede conseguir en: <https://core.ac.uk/download/pdf/323351821.pdf>
- 7.16. Ricco, Rafael A.; Ignacio J. Agudelo; Marcelo L. Wagner. Métodos empleados en el análisis de polifenoles en un laboratorio de baja complejidad. Se puede conseguir en: <http://www.lillo.org.ar/revis/lilloa/2015-52-2/07.pdf>
- 7.17. José Cegarra Sánchez. Metodología de la investigación científica y tecnológica. Editorial Díaz do Santos. Madrid.2001.
- 7.18. Harris D. Química Analítica. Editorial Reverte S.A..6ta edición 2001

VIII. ANEXOS

8.1. CERTIFICACION BOTÁNICA

Figura 5. Certificación botánica de *Solanum tuberosum* variedad única



Figura 6. Planta pos cosecha de *Solanum tuberosum*



Figura 7. Hojas en proceso de secado al ambiente de *Solanum tuberosum*



Figura 8. Extracto acetato de etilo de *Solanum tuberosum*

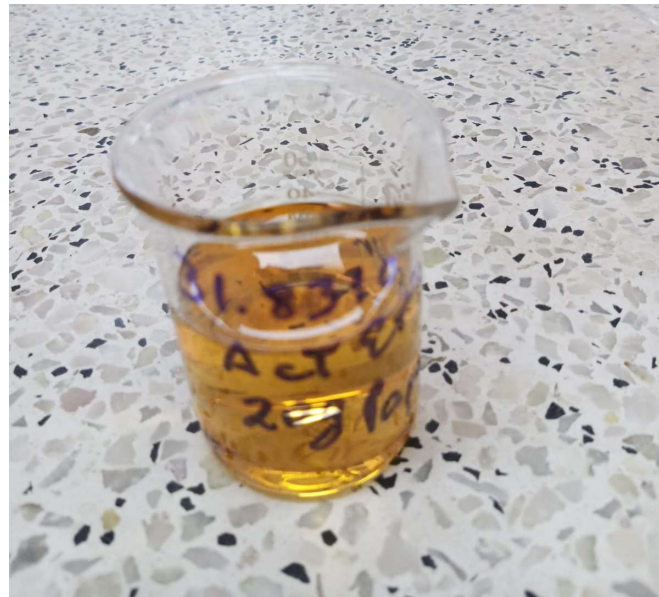


Figura 9. Determinación de contenido de fenoles totales de *Solanum tuberosum*



Figura 10. Preparación de muestras para la determinación de actividad antioxidante de *Solanum tuberosum*



Figura 11. Determinacion de actividad antioxidante de *Solanum tuberosum*



Ica, 30 de Junio del 2022

Axel Huamaní Vilca
Bach. Farmacia y Bioquímica