



Universidad Nacional  
**SAN LUIS GONZAGA**



## [Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0)

Esta licencia permite a otras combinar, retocar, y crear a partir de su obra de forma no comercial, siempre y cuando den crédito y licencia a nuevas creaciones bajo los mismos términos.

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

**UNIVERSIDAD NACIONAL “SAN LUIS GONZAGA” DE ICA**



**FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**TESIS PARA OBTENER EL TÍTULO DE QUÍMICO FARMACÉUTICO**

**COMPOSICIÓN FENÓLICA Y CAPACIDAD  
ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE  
LAS HOJAS DE *Musa cavendishii* Lamb. “PLÁTANO  
BIZCOCHITO”**

**AUTORA:**

**Bach. HERNÁNDEZ URIBE; GREIS DE LOS MILAGROS**

**ICA-PERÚ  
2018**

## **DEDICATORIA**

### ***A Dios***

*Por guiarme, iluminarme, protegerme y bendecirme en el transcurso de mi vida y permitirme terminar uno de mis objetivos de vida.*

### ***A mis padres Juan A. Hernández Cabrera y Erika G. Uribe Echajalla***

*Quienes con su amor, apoyo y comprensión incondicional estuvieron siempre presentes a lo largo de mi vida, inculcándome principios y valores, dando palabras de sabiduría ante cada obstáculo.*

### ***A mi Hermano Juan J. Hernández Uribe***

*Por ser mi confidente, mi cómplice, mi mejor amigo. El logro de mis metas es también para ti, porque uno de mis grandes anhelos es que seas mucho mejor que yo.*

## **AGRADECIMIENTO**

*A mis asesoras Mg. Q.F. Patricia Cecilia Castillo Romero y Dra. Q.F. Jessica Yolanda Huarcaya Rojas*

*Por su valiosa asesoría y dedicación en la elaboración del presente trabajo.*

*A los catedráticos Dr. Q.F. Felipe A. Surco Laos y Mg. Q.F. Oscar Herrera Calderón*

*Por sus valiosas enseñanzas y contribución en este importante proceso.*

*Al Ing. Luis Valentín Elisban Navarrete Castro*

*Por su apoyo incondicional, por ser parte de esa fuerza que me impulsa a seguir luchando por mis metas.*

*A los miembros del Jurado Examinador y Calificador.*

# ÍNDICE

<b>RESUMEN</b>	<b>VI</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>VIII</b>
<b>INTRODUCCIÓN:</b>	<b>X</b>
<b>CAPÍTULO I</b>	<b>12</b>
<b>1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	<b>12</b>
1.1. Descripción de la realidad problemática	12
1.2. Formulación del problema	14
1.3. Justificación e importancia	14
1.4. Objetivos de la investigación	17
1.5. Hipótesis y variables.	18
<b>CAPITULO II</b>	<b>19</b>
<b>2. BASES TEÓRICA</b>	<b>19</b>
2.1. Antecedentes de la investigación	19
2.2. Marco teórico	23
2.3. Marco conceptual	46
<b>CAPITULO III</b>	<b>48</b>
<b>3. METODOLOGÍA</b>	<b>48</b>
3.1. Tipología de la investigación	48
3.2. Diseño de investigación.	48
3.3. Materiales y equipos de laboratorio	48
3.4. Técnicas de procedimientos de la información	51
3.5. Aspectos éticos	65

<b>CAPITULO IV</b>	<b>66</b>
<b>4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>66</b>
4.1. RESULTADOS	66
4.1.1. <i>Ubicación taxonómica del plátano.</i>	66
4.1.2. <i>Porcentaje de rendimiento del extracto etanólico seco de la obtención del extracto etanólico.</i>	66
4.1.3. <i>Determinación de los metabolitos secundarios en el extracto obtenido.</i>	67
4.1.4. <i>Determinación de la capacidad antioxidante in vitro</i>	69
4.1.5. <i>Relación de la composición fenólica con la actividad antioxidante en los extractos.</i>	74
4.2. DISCUSIÓN	75
<b>CONCLUSIONES</b>	<b>79</b>
<b>RECOMENDACIONES</b>	<b>80</b>
<b>FUENTES DE INFORMACIÓN</b>	<b>81</b>
<b>ANEXOS</b>	<b>88</b>

## **RESUMEN**

**Introducción:** *Musa cavendishii* Lamb. “plátano bizcochito” es una especie vegetal utilizada para para tratar enfermedades digestivas (disentería, diarrea y estreñimiento), enfermedades respiratorias (bronquitis, asma, gripe), enfermedades metabólicas (obesidad y diabetes), enfermedades renales (nefritis, cálculos), antiinflamatorio, antimicrobiano; así mismo las hojas se usan como compresas frías para quemaduras y/o heridas. Por ello apremia que, a través de técnicas científicas sofisticadas de investigación, se determine la composición fenólica y capacidad antioxidante, cuya importancia es vital para la prevención de muchas enfermedades multiorgánicas, así como algunos tipos de cáncer. **Objetivos:** Evaluar la composición fenólica y capacidad antioxidante del extracto etanólico de las hojas de *Musa cavendishii* Lamb. “plátano bizcochito”. **Institución:** Laboratorio de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica. **Material Biológico:** hojas de la especie vegetal *Musa cavendishii* Lamb. **Intervenciones:** Se determinaron el contenido de compuestos fenólicos por el método Folin-Ciocalteu, la capacidad antioxidante mediante el método del Poder Antioxidante de Reducción Férrica (FRAP) y el método de 2,2-Difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH•). **Resultados:** El extracto etanólico de las hojas de *Musa cavendishii* Lamb. tuvo una composición fenólica relativamente óptimo de  $30 \pm 0,48$  mg EAG/g del extracto; y las capacidades antioxidantes para el radical DPPH•

( $3,41 \pm 0,53$  mM/mg muestra) y para el FRAP ( $7,99 \pm 0,20$  mM/mg muestra). El estudio fitoquímico cualitativo indica la presencia de saponinas, flavonoides, compuestos fenólicos, taninos, alcaloides, quinonas, triterpenos y/o esteroides. **Conclusiones:** El extracto etanólico de las hojas de *Musa cavendishii* Lamb. "plátano bizcochito" tuvo un contenido compuestos fenólicos relativamente óptimo que fue de 30 mg EAG/g del extracto. El extracto etanólico de las hojas de *Musa cavendishii* Lamb. presenta una mayor actividad antioxidante por el método DPPH• por lo que se amerita concluir que posiblemente tenga una reacción de estabilización mediante un mecanismo de transferencia de átomos de Hidrógeno.

**Palabras claves:** *Musa cavendishii* Lamb., composición fenólica, capacidad antioxidante, método DPPH•, método FRAP.

## **ABSTRACT**

**Introduction:** *Musa cavendishii* Lamb. "Banana bizcochito" is a plant species used to treat digestive diseases (dysentery, diarrhea and constipation), respiratory diseases (bronchitis, asthma, flu), metabolic diseases (obesity and diabetes), kidney diseases (nephritis, stones), anti-inflammatory, antimicrobial; likewise the leaves are used as cold compresses for burns and / or wounds. Therefore, I urge that, through sophisticated scientific research techniques, the phenolic composition and antioxidant capacity, whose importance is vital for the prevention of many multi-organ diseases, as well as some types of cancer, be determined.

**Objectives:** To evaluate the phenolic composition and antioxidant capacity of the ethanolic extract of the leaves of *Musa cavendishii* Lamb.

"Banana bizcochito". **Institution:** Laboratory of the Faculty of Pharmacy and Biochemistry of the National University San Luis Gonzaga de Ica.

**Biological material:** leaves of the plant species *Musa cavendishii* Lamb.

**Interventions:** The content of phenolic compounds was determined by the Folin-Ciocalteu method, the antioxidant capacity by the Antioxidant Power of Ferric Reduction (FRAP) method and the 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH •) method.

**Results:** The ethanolic extract of the leaves of *Musa cavendishii* Lamb. had a relatively optimal phenolic composition of  $30 \pm 0.48$  mg EAG / g of the extract; and the antioxidant capacities for the DPPH radical • ( $3.41 \pm 0.53$  mM / mg sample) and for the FRAP ( $7.99 \pm 0.20$  mM / mg sample). The qualitative phytochemical study indicates the presence

of saponins, flavonoids, phenolic compounds, tannins, alkaloids, quinones, triterpenes and / or steroids. **Conclusions:** The ethanolic extract of the leaves of *Musa cavendishii* Lamb. "Biscuit banana" had a relatively optimal phenolic compound content that was 30 mg EAG / g of the extract. The ethanolic extract of the leaves of *Musa cavendishii* Lamb. It has a higher antioxidant activity by the DPPH method, so it is worth concluding that it may have a stabilization reaction through a hydrogen atom transfer mechanism.

**Key words:** *Musa cavendishii* Lamb., Phenolic composition, antioxidant capacity, DPPH• method, FRAP method.

## **INTRODUCCIÓN:**

*Desde tiempos remotos la historia del hombre está firmemente relacionada con las plantas medicinales, las cuales hasta hoy en día se recurre para el tratamiento terapéutico de diversas patologías. En la actualidad, existen evidencias de que los fármacos sintéticos provocan efectos colaterales negativos, añadiendo los altos precios de estos en el mercado nacional e internacional hacen que sean inaccesible para las personas de bajos recursos económicos, estimulando al hombre consumir productos naturales (1).*

*En el Perú, desde épocas de la antigüedad se tiene el privilegio de contar con una gran biodiversidad de plantas medicinales de aplicación tradicional en las diferentes regiones geográficas, no obstante, a pesar de su uso no se cuenta con la aseveración científica que avale su actividad farmacológica. En los últimos años investigaciones científicas, orientadas a la obtención de compuestos naturales a partir de plantas medicinales, han estado asociado con las especies reactivas de oxígeno (EROs) y su probable relación en la fisiopatología humana con problemas de la salud con el objetivo de mejorar la calidad de vida del ser humano (2). Diversas patologías cardíacas, gástricas, respiratorias, multiorgánicas; entre otras son resultado de la alteración morfofisiológicas celulares, debido a la elevada producción por encima de los niveles fisiológicos normales de moléculas denominadas radicales libres (3). La mencionada condición se*

*denomina estrés celular, caracterizado por presentar un desequilibrio entre el sistema antioxidante y la producción de oxidantes, incorporando las EROs, condición que puede originar la disminución de los niveles de las defensas de antioxidantes, del aumento de la velocidad de producción de las especies reactivas, o en ciertas ocasiones puede ser resultado de estas dos condiciones <sup>(4)</sup>. Un antioxidante se define como aquella sustancia capaz de disminuir el daño celular, proteger a las biomoléculas de la oxidación y/o inhibir los procesos apoptóticos generados por las especies reactivas del oxígeno (EROs) <sup>(5)</sup>. Estos antioxidantes principalmente se obtienen de plantas en forma de compuestos fenólicos tales como flavonoides, ácidos fenólicos, ácido ascórbico, entre otros; las cuales son antioxidantes naturales <sup>(6)</sup>. Estos componentes antioxidantes son capaces de neutralizar radicales libres <sup>(7)</sup>.*

*Así mismo, el objetivo general planteado en mi trabajo de tesis fue evaluar la composición fenólica y capacidad antioxidante del extracto etanólico de las hojas de *Musa cavendishii* Lamb.; Como objetivos específicos fue determinar el contenido de compuestos fenólicos del extracto etanólico de las hojas de *Musa cavendishii* Lamb. “plátano bizcochito”, determinar la actividad antioxidante in vitro mediante el método FRAP y el método DPPH• del extracto etanólico de las hojas de *Musa cavendishii* Lamb. “plátano bizcochito” y evaluar la relación entre el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante del extracto etanólico de las hojas de *Musa cavendishii* Lamb. “plátano bizcochito”.*

# CAPÍTULO I

## 1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

### 1.1. Descripción de la realidad problemática

*Los radicales libres (RL) o más recientemente llamados especies reactivas de oxígeno (EROs) son aquellas moléculas y/o átomos que contienen uno o más electrones no apareados en el orbital más externo, lo que produce una configuración que genera una alta inestabilidad electroquímica.*

*Una vez que el radical libre ha logrado sustraer el electrón que necesita, la molécula estable que se lo cede se convierte a su vez en un radical libre por quedar con un electrón desapareado, iniciándose así una veraz reacción en cadena que destruye nuestras células. La vida media biológica del radical libre es de microsegundos, pero tiene la capacidad de reaccionar con todo lo que esté a su alrededor provocando un gran daño a moléculas, membranas celulares y tejidos.*

*Estas acciones se dan continuamente en las células de nuestro cuerpo, proceso que debe ser controlado con una adecuada protección antioxidante. Un antioxidante es una sustancia capaz de neutralizar la acción oxidante de los radicales libres mediante la liberación de electrones en nuestra sangre, los que son*

*captados por los radicales libres. El problema para la salud se produce cuando nuestro organismo tiene que soportar un exceso de radicales libres durante años, producidos fundamentalmente por contaminantes externos, que provienen principalmente de la contaminación atmosférica y el humo de cigarrillos, los que producen distintos tipos de radicales libres en nuestro organismo <sup>(8)</sup>.*

*La capacidad antioxidante celular está dada por mecanismos a través de los cuales la célula anula la reactividad y/o inhibe la generación de radicales libres <sup>(9)</sup> estos mecanismos son adecuados a la muy corta vida media de los radicales libres y comprenden moléculas pequeñas, endógenas y exógenas con capacidad antioxidante. Los antioxidantes exógenos provienen de la dieta, y dentro de este grupo se incluyen la vitamina E, la vitamina C y los carotenoides. La vitamina C constituye el antioxidante hidrosoluble más abundante en la sangre, mientras que la vitamina E es el antioxidante lipofílico mayoritario <sup>(10)</sup>.*

*En la actualidad se han descubierto en algunos alimentos, otros antioxidantes no nutrientes como son los compuestos fenólicos. Los compuestos fenólicos tienen su origen en el mundo vegetal. Los beneficios farmacológicos y nutracéuticos derivados de los compuestos fenólicos son debido a su capacidad atrapadoras de*

*radicales libres. Por sus propiedades antioxidantes y por la capacidad de transformar estos elementos para uso farmacológico dichos compuestos reducen el riesgo de cáncer y enfermedades del corazón mediante la inhibición de la oxidación de las lipoproteínas. Cada día el ser humano está expuesto a grandes cantidades de radicales libres, bombardeado frecuentemente por rayos solares (UV) inclusive por el mismo aire que se respira (O<sub>2</sub>). Es por esto que se han realizado diferentes investigaciones para la obtención de compuestos de origen natural con actividad antioxidante capaz de neutralizar la oxidación por radicales libres <sup>(11)</sup>.*

## **1.2. Formulación del problema**

*¿Presenta el extracto etanólico de las hojas de Musa cavendishii Lamb. “plátano bizcochito” composición fenólica y actividad antioxidante?*

## **1.3. Justificación e importancia**

*Los compuestos fenólicos constituyen uno de los grupos de micronutrientes presentes en el reino vegetal, que forman parte fundamental de la dieta humana. Dentro de su clasificación general se encuentra los fenoles, ácidos fenólicos y flavonoides, que constituyen un abundante grupo de sustancias químicas consideradas metabolitos secundarios de las plantas, con*

*diferentes estructuras químicas y propiedades. Debido a sus propiedades antioxidantes, se tiene un gran interés en estudiarlos, además de sus posibles aplicaciones favorables para la salud humana, tales como el tratamiento y prevención del cáncer, enfermedades cardiovasculares y otras patologías de carácter inflamatorio* <sup>(12)</sup>.

*Las plantas medicinales nos ofrecen la oportunidad insuperable para el descubrimiento de nuevos compuestos naturales con diversas actividades. Las especies vegetales de la familia Musaceae, dentro de ellas la planta Musa cavendishii Lamb. reporta en la medicina tradicional para tratar enfermedades digestivas (disentería, diarrea y estreñimiento), enfermedades respiratorias (bronquitis, asma, gripe), enfermedades metabólicas (obesidad y diabetes), enfermedades renales (nefritis, cálculos), antiinflamatorio, antimicrobiano; así mismo las hojas se usan como compresas frías para quemaduras y/o heridas* <sup>(13)</sup>.

*El efecto beneficioso del genero Musa se atribuye principalmente a sustancias con actividad antioxidante, como los compuestos fenólicos (taninos, catequinas, epicatequina, flavonoides, lignina y antocianinas), el ácido ascórbico (vitamina C), los carotenoides y la vitamina E. Se ha determinado que estas sustancias aumentan la defensa antioxidante del*

*organismo, contra el “estrés oxidativo”, responsable de diferentes tipos de daños celulares <sup>(14)</sup>.*

*Por ello se apremia que, a través de técnicas científicas sofisticadas de investigación, se determine la composición fenólica y capacidad antioxidante, cuya importancia es vital para la prevención de muchas enfermedades multiorgánicas, así como algunos tipos de cáncer <sup>(15)</sup>.*

#### **1.4. Objetivos de la investigación**

##### **1.4.1. Objetivo General:**

*Evaluar la composición fenólica y capacidad antioxidante del extracto etanólico de las hojas de Musa cavendishii Lamb. “plátano bizcochito”.*

##### **1.4.2. Objetivos Específicos:**

- 1) *Determinar el contenido de compuestos fenólicos del extracto etanólico de las hojas de Musa cavendishii Lamb. “plátano bizcochito”.*
  
- 2) *Determinar la actividad antioxidante in vitro mediante el método del Poder Antioxidante de Reducción Férrica (FRAP) y el método de 2,2-Difenil-1-picrilhidracilo (DPPH<sup>•</sup>) del extracto etanólico de las hojas de Musa cavendishii Lamb. “plátano bizcochito”.*
  
- 3) *Evaluar la relación entre el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante del extracto etanólico de las hojas de Musa cavendishii Lamb. “plátano bizcochito”.*

## **1.5. Hipótesis y variables.**

### **1.5.1. Hipótesis**

*El extracto etanólico de las hojas de Musa cavendishii Lamb. “plátano bizcochito” presenta composición fenólica y capacidad antioxidante.*

### **1.5.2. Variables**

#### **1.5.2.1. Operacionalización de Variables**

##### **Variable dependiente**

*Composición fenólica y capacidad antioxidante.*

##### **Variable independiente**

*Extracto etanólico de las hojas de Musa cavendishii Lamb. “plátano bizcochito”.*

## CAPITULO II

### 2. BASES TEÓRICA

#### 2.1. Antecedentes de la investigación

##### 2.1.1. Antecedente internacional.

**MORAIS D, et al. (2015)** en Brasil; analizaron el contenido de fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu y la “actividad antioxidante”. A partir de la cáscara de “banana” (*Musa sp.*) se realizó la extracción con metanol encontrando  $425,24 \pm 57,39$  (cáscara cruda);  $385,83 \pm 8,58$  (cáscara secada en el horno); y  $215,57 \pm 30,57$  (cáscara liofilizada) de mg de EAG por 100 gramos de peso seco <sup>(16)</sup>.

**GOMES L, et al. (2014)** en Brasil; analizaron el contenido de fenólicos por el método de Folin-Ciocalteu y la “actividad antioxidante”. A partir de “harina de cáscara de “banana” (*Musa AAA*) se encontrando  $29,2 \pm 0,8$  mg de EAG por gramo. La “actividad antioxidante” fue de 14 (FRAP), 242 (ABTS), 436 (ORAC)  $\mu\text{M/g}$  de equivalentes de Trolox por gramo, respectivamente <sup>(17)</sup>.

**SULAIMAN S, et al. (2011)** en Malasia; analizaron el contenido fenólico totales por el método de Folin-

*Ciocalteu y la “actividad antioxidante” a partir de ocho cultivos de “banana” (Musa sp.). Obteniendo como valores de 3,98-15,33 mg de EAG/g y de 0,83-19,39 mg de equivalentes de Trolox por gramo (mg ET/g) para DPPH y 0,77-17,70 mg ET/g para FRA, respectivamente. Además, encontraron una débil correlación (0,1529;  $p < 0,05$ )<sup>(18)</sup>.*

**GONZÁLES R, et al. (2010)** en España; analizaron el contenido de fenólicos totales por el método de Folin-Ciocalteu y la “actividad antioxidante” de la cáscara de dos cultivos de “banana” (*Musa acuminata* colla AAA). Se evaluaron diferentes condiciones de extracción; solvente (metanol, etanol, acetona, agua). El sistema acetona: agua fue el más eficiente (2,6-4,7 gramos de EAG por 100 gramos de peso seco) y el de mejor “actividad antioxidante” (2,1-3,3 gramos de equivalentes de Trolox por 100 gramos de peso seco para el ensayo del DPPH<sup>•</sup>), siendo similar para los dos cultivos. En el sistema etanólico encontraron 0,26-0,68 gramos de EAG por 100 gramos de peso seco y la “actividad antioxidante” entre 0,45-0,80 gramos de equivalencia de Trolox por 100 gramos de peso seco para el ensayo DPPH<sup>•</sup> <sup>(19)</sup>.

**VIJAYAKUMAR S, et al. (2008)** En la India; estudiaron la actividad antioxidante de los flavonoides de “bananas” (*Musa paradisiaca*); las concentraciones de los productos de la peroxidación lipídica como el malonaldehído, hidroperóxidos y dienos conjugados disminuyeron significativamente, mientras las actividades de la catalasa y el superóxido dismutasa aumentaron significativamente; además las concentraciones de glutatión fueron elevadas. Enfatizaron en que los flavonoides de la “banana” actúan como antioxidantes efectivos <sup>(20)</sup>.

**SOMEYA S, et al. (2002)** en Japón; aislaron e identificaron galocatequina por cromatografía de alta resolución, espectrometría de masas y resonancia magnética nuclear a partir de la cáscara (158 mg por 100 gramos peso seco) y la pulpa (29,6 mg por 100 gramos de peso seco) de “bananas”. Al extracto acuoso se le adicionó agua-cloroformo (1:1, v/v), la fase acuosa fue adicionada en agua-acetato de etilo (1:1, v/v), y a partir de la fase orgánica se analizaron fenólicos totales por método de Folin-Denis encontrando 907 mg de (+)-catequina por 100 gramos de peso seco en cáscara y 232 mg por 100 gramos de peso seco en pulpa; y

evaluaron la “actividad antioxidante” sobre autooxidación lipídica por el método del tiocianato férrico, encontrando una actividad 2,2 veces mayor en la cáscara que en la pulpa. <sup>(21)</sup>.

### **2.1.2. Antecedente nacional**

**CRISTIAN VELIZ QUEZADA, et al. (2016)** en Perú; Se determinaron los contenidos de compuestos fenólicos por el método colorimétrico de Folin- Ciocalteu y las capacidades reductoras por el ensayo DPPH<sup>•</sup>. Se obtuvo el más alto contenido de compuestos fenólicos  $41,69 \pm 0,30$  mg EAG/g peso seco y la menos concentración reductora media ( $CR_{50}$ )  $19,39 \pm 0,007$  mg EAG/mL a partir del liofilizado del extracto de cáscara de *Musa paradisiaca* L. Se obtuvo una correlación relativamente alta entre los contenidos de compuestos fenólicos y las concentraciones reductoras medias ( $CR_{50}$ ) a partir de las cáscaras de *Musa* sp. “plátano” 0,996; 0,993; 0,989 entre DPPH<sup>•</sup>-FRAP; CCFT-DPPH<sup>•</sup>; CCFT-FRAP, por lo que los compuestos fenólicos de las cascarras de *Musa* sp. “plátano” tiene buena capacidad reductora <sup>(22)</sup>.

## **2.2. Marco teórico**

### **2.2.1. Los compuestos fenólicos en las plantas**

*Los compuestos fenólicos tienen su origen en el mundo vegetal, localizándose en todas las partes de las plantas y su concentración es variante a lo largo de su ciclo vegetativo. Son unos de los principales metabolitos secundarios de las plantas y su presencia en el reino animal se debe a la ingestión de éstas. Estas sustancias influyen en la calidad, aceptabilidad y estabilidad de los alimentos, ya que actúan como colorantes, antioxidantes y proporcionan sabor <sup>(23)</sup>.*

*En la actualidad este grupo de compuestos fitoquímicos presenta un gran interés por su contribución al mantenimiento de la salud humana debido a sus propiedades beneficiosas asociadas principalmente a la actividad antioxidante y las propiedades de estos compuestos, están relacionadas con la presencia y con el contenido de compuestos fenólicos.*

*Así mismo, los compuestos fenólicos intervienen como antioxidantes naturales de los alimentos, por lo que la obtención y preparación de alimentos con un alto contenido en estos compuestos supone una reducción en*

*la utilización de aditivos antioxidantes, a la vez que se obtienen alimentos más saludables, que incluso pueden llegar a englobarse dentro de los alimentos funcionales. Desde un punto de vista nutricional, esta actividad antioxidante se asocia con su papel protector en las enfermedades cardiovasculares y en el cáncer, así como en procesos de envejecimiento por lo que está siendo intensamente estudiado mediante ensayos "in vivo" e "in vitro" (24).*

### **2.2.2. Estructura de los compuestos fenólicos.**

*Químicamente los “compuestos fenólicos” son todas aquellas sustancias que poseen varias funciones fenol, unidas a estructuras aromáticas o alifáticas, con uno o más grupos hidróxidos incluyendo derivados funcionales. Los compuestos fenólicos se pueden agrupar en diferentes clases dependiendo de su estructura química, describiéndose a continuación (25):*

#### **Fenoles, ácidos fenólicos y ácidos fenil acéticos**

*Dentro de este grupo los fenoles simples como el fenol, cresol, timol y resorcinol están ampliamente distribuidos entre todas las especies vegetales. Igualmente, los ácidos fenólicos tales como el gálico, vainillínico,*

*phidroxibenzoíco, y los aldehídos como la vainillina, también son abundantes en plantas superiores y helechos (26).*

### **Ácidos cinámicos, cumarinas, isocumarinas y cromonoles**

*Los ácidos cinámicos (cafeíco, ferúlico, p-cumárico y sináptico) se encuentran raramente libres, ya que por regla general se hayan presentes en forma de derivados. Así, por ejemplo, el ácido cafeíco se encuentra esterificado con el ácido quínico como ácidos clorogénico, isoclorogénico, neoclorogénico y criptoclorogénico(26). Las cumarinas e isocumarinas se encuentran generalmente en forma de glicósido (27), mientras que los cromonoles son menos conocidos, y se forman a partir de las antocianidinas ante incrementos del pH del medio (26).*

### **Lignanos y neolignanos**

*Son metabolitos de las plantas de bajo peso molecular formados por el acoplamiento oxidativo de unidades de p-hidroxifenil-propano, las cuales se unen mediante puentes de hidrógeno (28). Son monómeros y dímeros del ácido hidroxicinámico y también del alcohol cinámico, propenilbenceno y alilbenceno (29). El término lignano se*

*aplica cuando el compuesto está formado a partir de uniones entre el ácido y/o el alcohol, entretanto cuando se unen las moléculas de propenilbenceno y/o alilbenceno la molécula resultante se denomina neolignano <sup>(30)</sup>.*

### **Flavonoides**

*Los flavonoides constituyen el grupo más importante dentro de esta clasificación, dividiéndose en varias subclases con más de 5000 compuestos <sup>(31)</sup>, siendo los polifenoles más distribuidos en las plantas. Son sustancias polifenólicas de bajo peso molecular que comparten el esqueleto común de difenilpiranos: dos anillos benceno unidos a través de un anillo pirona o pirán heterocíclico. Esta estructura básica presenta o permite una multitud de sustituciones y variaciones en el anillo pirona dando lugar a flavonoles, flavonas, flavanonas, flavanololes, isoflavonoides, catequinas, antocianidinas, leucoantocianidinas o flavandirol y proantocianidinas o taninos condensados (taninos no hidrolizables). Dentro de todos estos grupos las flavonas (p.e. apigenina, luteolina y diosmetina), los flavonoles (p.e. quercitina, mirecitina y kampferol) y sus glicósidos son los compuestos más abundantes en vegetales <sup>(32)</sup>.*

## **Taninos**

*Los taninos son compuestos fenólicos hidrosolubles con un peso molecular comprendido entre 500 Y 3000 D. Estos compuestos contienen un gran número de grupos hidroxilo, entre otros grupos funcionales (1 a 2 por 100 D), siendo por tanto capaces de unirse a proteínas y a otras macromoléculas.*

*Los taninos pueden clasificarse en dos grupos: taninos hidrolizables y no hidrolizables o taninos condensados. Los taninos condensados tienen como núcleo central un alcohol polihídrico como la glucosa, y grupos hidroxilo que se encuentran esterificados parcial o completamente bien con el ácido gálico o bien con el ácido hexahidroxidifenico, formando los galotaninos y elagitaninos, respectivamente. Tras la hidrólisis con ácidos, bases o ciertas enzimas, los galotaninos dan glucosa y ácido gálico <sup>(33)</sup>.*

### **2.2.3. Actividad antioxidante de los compuestos fenólicos.**

*Los antioxidantes son compuestos químicos que hallándose presente a bajas concentraciones con respecto a las de un sustrato oxidable, retarda o previene la oxidación de dicho sustrato. Así mismo, se definen*

*como compuestos que protegen el sistema celular de los efectos potencialmente perjudiciales en los procesos que puedan causar una oxidación excesiva* <sup>(34)</sup>.

*La actividad antioxidante de los compuestos fenólicos es debida a sus propiedades redox, las cuales juegan un papel importante en la absorción y neutralización de radicales libres y en la descomposición de peróxidos. Existen dos tipos de antioxidantes los sintéticos y los naturales. La desventaja del primero son las características carcinógenas atribuidas. La composición de grupos fenólicos y por ende la actividad antioxidante están presentes en las plantas medicinales* <sup>(35)</sup>.

*Para entender mejor la actividad fisiológica de los fenólicos se debe tener en cuenta la capacidad antioxidante varía en función del grupo de compuestos estudiados y de sus solubilidades en fase acuosa o lipídica. Así mismo, la gran diversidad de métodos empleados proporciona diferentes resultados, difíciles de comparar. Todos los fenoles han demostrado ser antioxidantes potentes, relacionando con la actividad anti cancerígena* <sup>(36)</sup>.

#### **2.2.4. Radical libre y especies reactivas de oxígeno**

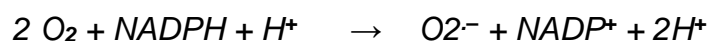
*Los radicales libres son todos aquellos átomos o moléculas que tiene uno o más electrones desapareados o impares, estos suelen ser muy inestables y buscan la manera de completar su par electrónico para anular su campo magnético, dichas reacciones son muy rápidas y el tiempo de vida de las moléculas suele ser muy corto.*

*Las especies reactivas de oxígeno (ERO) son formas reducidas del oxígeno (O<sub>2</sub>), y algunas consideradas radicales libres, sin embargo, no todos los productos lo son y se generan como resultado del metabolismo celular. Cuando hay un desequilibrio entre la producción de ERO y la capacidad del sistema antioxidante para metabolizarlas y prevenir o reparar el daño provocado por las mismas, se da el efecto conocido como estrés oxidativo. Todos los componentes celulares como lípidos, proteínas, ácidos nucleicos y azúcares son blancos potenciales de las ERO, el daño provocado por las ERO depende no solo de la cantidad y naturaleza de estas, sino también de factores como la temperatura, tensión del oxígeno y la composición del ambiente que lo rodea <sup>(37)</sup>.*

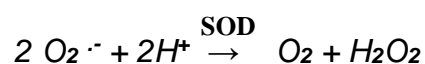
*El primer ERO es el anión superóxido; La formación del radical superóxido ocurre por la reducción univalente del*

oxígeno; es decir, cuando el oxígeno acepta un electrón, reacción que se puede llevar a cabo después de varios eventos. Esta especie es relativamente inestable y se encuentra en equilibrio con su ácido conjugado, el radical hidroperoxilo. El anión superóxido tiene una función importante in vivo, ya que participa en la descarga respiratoria (aumento súbito del consumo de oxígeno) de las células fagocíticas activadas por contacto con partículas extrañas en los eventos inmunológicos. Cuando estas células se activan, el complejo enzimático NADPH (forma reducida de nicotinamida adenín dinucleótido fosfato) oxidasa, localizado en la membrana citoplasmática, reduce parcialmente el oxígeno de la siguiente forma:

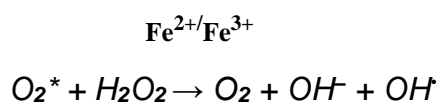
**NADPH oxidasa**



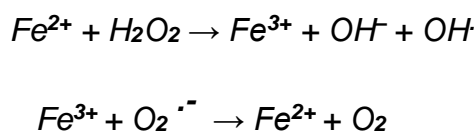
El peróxido de hidrógeno es formado por la enzima superóxido dismutasa SOD. Aunque no es un radical libre, tiene una gran lipofilidad que le permite atravesar las membranas celulares y reaccionar con el anión superóxido en presencia de metales de transición, para generar el radical hidroxilo.



*El radical hidroxilo es considerado una de las especies oxidantes más dañinas por su vida media corta y alta reactividad, y suele actuar en los sitios cercanos a donde se produce. La formación del radical hidroxilo puede lograrse fácilmente por la reacción de Haber-Weiss entre el anión superóxido y el peróxido de hidrógeno catalizada por un metal de transición <sup>(38)</sup>.*



*La reacción señalada anteriormente es la suma de la reacción de Fenton y de la reacción presente:*



#### **2.2.5. Sistema de defensa antioxidante**

*A lo largo de la evolución, el organismo ha adquirido mecanismos de defensa contra los radicales libres. Estos mecanismos intentan prevenir la producción de radicales libres, detener o retardar la reacción de oxidación en cadena que desencadena el radical, reparar los daños que causan a las macromoléculas o degradar las lesionadas.*

*El sistema de defensa antioxidante está constituido por un grupo de sustancias que, al estar presente en concentraciones bajas con respecto al sustrato oxidable, retrasan o previenen significativamente la oxidación de este. Como sustrato oxidable se pueden considerar casi todas las moléculas orgánicas o inorgánicas que se encuentran en las células vivas, como proteínas, lípidos, hidratos de carbono y las moléculas de ADN <sup>(39)</sup>.*

*Los antioxidantes impiden que otras moléculas se unan al oxígeno, al reaccionar-interactuar más rápido con los radicales libres del oxígeno y las especies reactivas del oxígeno que con el resto de las moléculas presentes, en un determinado microambiente -membrana plasmática, citosol, núcleo o líquido extracelular.*

*La acción del antioxidante es de sacrificio de su propia integridad molecular para evitar alteraciones de moléculas-lípidos, proteínas, ADN, etc. Funcionalmente vitales o más importantes <sup>(40)</sup>. Su acción la realizan tanto en medios hidrofílicos como hidrofóbicos <sup>(41)</sup>. Actúan como eliminadoras, con el objetivo de mantener el equilibrio prooxidante/antioxidante a favor de estos últimos. Los antioxidantes exógenos actúan como moléculas suicidas, ya que se oxidan al neutralizar al*

*radical libre, por lo que la reposición de ellos debe ser continua, mediante la ingestión de los nutrientes que los contienen.*

*Los antioxidantes se clasifican en endógenos (se encuentran en el organismo y son sintetizados por sus células) y exógenos (ingresan a través de la dieta).*

#### **2.2.6. Sistema de defensa antioxidante endógeno**

##### **• Enzimas antioxidantes**

*Los mecanismos de la defensa endógena del cuerpo para ayudar a proteger contra daño de célula radical-inducido libre.*

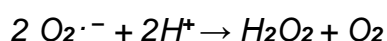
*Los sistemas de defensa antioxidante están formados por el superóxido dismutasa dependientes de cobre y zinc (Cu,Zn-SOD) y las peroxidasas (glutación peroxidasa y catalasa). El superóxido dismutasa y el glutación peroxidasa están localizadas tanto en el citosol como en la matriz mitocondrial. La catalasa se localiza predominantemente en los peroxisomas, donde el peróxido de hidrógeno se genera a una velocidad relativamente alta.*

##### **Superóxido dismutasa (SOD):**

*Es una enzima que se encuentra en el citoplasma (Cu-*

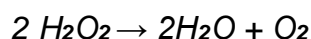
Zn- SOD), mitocondria (Mn-SOD) y en el fluido extracelular (Cu-Zn SOD). Se localiza dentro de la célula, específicamente, en el citosol y el espacio intermembranoso mitocondrial.

La SOD cataliza la conversión del anión superóxido a peróxido de hidrógeno:

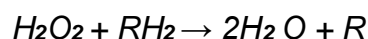


### **Catalasa (CAT)**

Esta enzima tetramérica se encuentra en las mitocondrias y los peroxisomas, tiene dos funciones fundamentales: catalítica y peroxidativa. Su principal función es catalizar la reducción del peróxido de hidrógeno a agua y oxígeno:



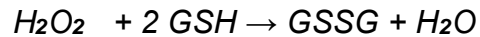
Cabe mencionar que esta enzima también tiene actividad de peroxidasa, en bajas concentraciones de peróxido de hidrógeno:



### **Glutación peroxidasa (GPx)**

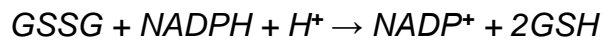
Es una selenoenzima presente en varias isoformas, entre las que se encuentran la GPx citosólica, la GPx plasmática y la GPx de fosfolípido. Esta enzima cataliza la reducción de peróxidos empleando dos moléculas de glutación reducido (GSH). Los productos de la reacción

son el glutatión oxidado (GSSG) y el agua.



### **Glutatión reductasa (GRs)**

Es una enzima que se encuentra en citoplasma y tiene a la coenzima FAD en su sitio activo. Esta enzima es dependiente del nicotinamín adenín dinucleótido fosfato reducido (NADPH) que cataliza la reducción del glutatión oxidado (GSSG) a glutatión reducido (GSH) el cual será utilizado por el glutatión peroxidasa para la reducción del peróxido de hidrógeno y de lipoperóxidos.



Aparentemente el NADPH reduce el FAD, el cual transfiere dos electrones a la unión disulfuro (—S—S—) entre dos residuos de cisteína del sitio activo. Los dos grupos —SH formados interactúan entonces con el GSSG reduciéndolo a dos moléculas de GSH.

### **Glutatión**

El tripéptido glutatión (GSH),  $\gamma$ -glutamil-cisteinil-glicina, constituye el tiol de bajo peso molecular más abundante de las células de los mamíferos, pudiendo alcanzar concentraciones de hasta 10 mM.

*El glutatión puede reaccionar con los radicales libres de oxígeno de diferentes maneras. Primero, mediante la acción del glutatión peroxidasa puede reducir especies como el  $H_2O_2$  u otros peróxidos orgánicos oxidándose a GSSG. Y Segundo, puede reaccionar directamente con radicales libres como el  $O_2^{\cdot-}$ ,  $OH^{\cdot}$ , y  $RO^{\cdot}$ , donando un átomo de hidrógeno y formando un radical tiilo, que posteriormente se puede transformar en GSSG. Tercero, puede reaccionar con electrófilos para formar aductos covalentes mediante reacciones catalizadas por el glutatión transferasas.*

*La pérdida del GSH y de otros tioles celulares favorece la peroxidación lipídica y la lesión celular; es conveniente mantener elevado cociente GSH/GSSG para prevenir los efectos nocivos del agotamiento de glutatión.*

### **2.2.7. Sistema de defensa antioxidante exógeno**

#### **Vitamina C**

*La vitamina C o ácido ascórbico es una molécula que se ha encontrado intra y extracelularmente en la mayor parte de los sistemas biológicos. El papel antioxidante del anión ascorbato radica en su capacidad para reaccionar directamente con el radical superóxido, el*

radical hidroxilo y diversos hidroperóxidos lipídicos. Cuando el ascorbato reduce estos radicales libres, se convierte en deshidroascorbato a través de la formación de un intermediario radical libre, el semideshidroascorbato. El deshidroascorbato es una molécula inestable y se puede romper en una ruta compleja que lleva a la producción de los ácidos oxálicos y L-treónico. No obstante, el ácido ascórbico se puede regenerar y lo hace a partir del deshidroascorbato por la deshidroascorbato reductasa que utiliza glutatión reducido, oxidándolo a GSSG, o bien, a partir del semideshidroascorbato por la NADH-semideshidroascorbato reductasa que oxida el NADH a NAD<sup>+</sup>. Se cree que el semideshidroascorbato. El ascorbato, en determinadas condiciones, también puede funcionar como prooxidante. A altas concentraciones ( $\approx 1$  mM) y en presencia de metales de transición, este antioxidante puede inducir la generación de radicales libres de oxígeno por su capacidad para reducir los iones metálicos que están implicados en las reacciones de formación de radical hidroxilo <sup>(42)</sup>.

### **Vitamina E**

*El término genérico de vitamina E se refiere a un conjunto de compuestos estrechamente relacionados entre sí, denominados tocoferoles. De entre todos éstos, el que posee una mayor actividad antioxidante es el  $\alpha$ -tocoferol. La vitamina E se ha encontrado en las membranas de la mayoría de las células y en mamíferos es especialmente abundante en hígado, corazón, glándulas adrenales y testículos. También hay en algunos fluidos corporales como el plasma sanguíneo* <sup>(43)</sup>.

### **Carotenoides**

*La mayor parte de estos polienos conjugados poseen actividad antioxidante. El  $\beta$ -caroteno, que es un precursor de la vitamina A, este carotenoide, además de secuestrar oxígenos singlete, es capaz de reaccionar con los radicales peroxilo que se generan durante la peroxidación lipídica para formar radicales centrados en el carbono de resonancia estable que, a su vez, pueden reaccionar con otros radicales peroxilo para formar un compuesto no radical libre. El  $\beta$ -caroteno, al igual que la vitamina C, parece funcionar también como prooxidante. A presiones parciales de oxígeno inferiores a 150 Torr es un excelente secuestrador de radicales libres* <sup>(44)</sup>.

### **2.2.8. Determinación de capacidad antioxidante in vitro**

*La determinación de la capacidad antioxidante de las plantas medicinales es fundamental e importante pues nos permite predecir la posible actividad antioxidante in vitro de diversos extractos o muestras.*

*El aumentado interés por los posibles efectos beneficiosos de los antioxidantes ha hecho que se realicen métodos sofisticados para determinar la capacidad antioxidante de extractos de los vegetales. Se han planteado una serie de condiciones que debería reunir un procedimiento estandarizado de medida de capacidad antioxidante in vitro <sup>(45)</sup>. Los antioxidantes ejercen su acción mediante diversos mecanismos (pueden suprimir la generación de los primeros radicales que inician el daño oxidativo, capturar radicales libres, quelar metales, formar complejos, reducir algunos compuestos, inducir la actividad de sistemas biológicos antioxidantes, entre otros); así mismo en un mismo vegetal podrían hallarse mezclas de diferentes antioxidantes con distintos mecanismos de acción habiendo una probabilidad de reacciones sinérgicas por lo que es necesario considerar los mecanismos de acción de todos los antioxidantes presentes en la muestra vegetal al momento de realizar los respectivos análisis.*

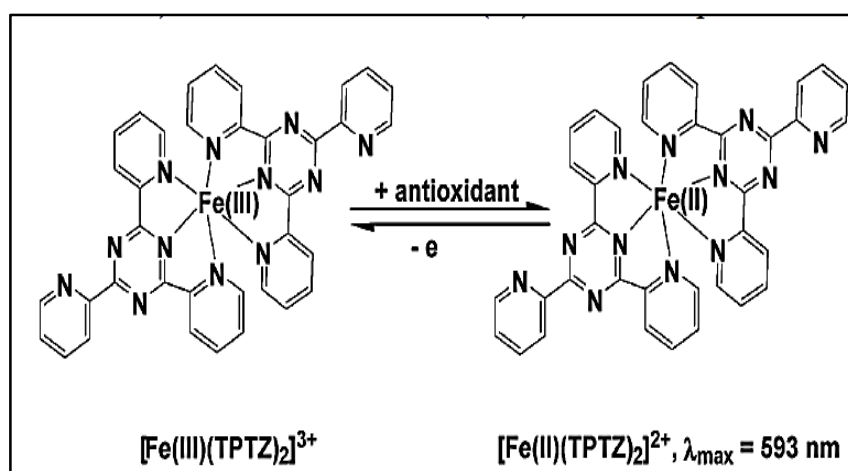
*Los métodos de determinación de la actividad antioxidante se basan en distintos sistemas generadores de radicales libres. Dichos radicales reaccionarían con la muestra y en virtud de la capacidad antioxidante de esta se inhibiría la generación de los primeros.*

*Las características ideales que debe reunir un método de determinación de capacidad antioxidante son: sencillez, mecanismo químico definido y punto final fijo, reproducibilidad, adaptabilidad a sustancias antioxidantes hidrofílicas y lipofílicas y elevado rendimiento de análisis. Existen varias aproximaciones para la clasificación de métodos para actividad antioxidante. Una de ellas se basa en clasificar los métodos como directos e indirectos <sup>(46)</sup>:*

- Métodos directos: están basados en el estudio del efecto de un antioxidante sobre la degradación oxidativa de un sistema.*
- Métodos Indirectos: se estudia la habilidad del antioxidante para estabilizar algún radical libre, de hecho, se ha popularizado el uso de algunos radicales libres metaestables, coloreados, con fuerte absorción en el espectro visible, como herramienta para determinar actividad estabilizadora de radicales libres <sup>(47)</sup>.*

### **Método del Poder Antioxidante de Reducción Férrica (FRAP).**

El método FRAP es conocido principalmente por sus siglas en inglés, desarrollado como metodología por Benzie y Strain. Como se muestra en la Figura 1, se determina la cantidad del catión férrico que se reduce a ferroso en presencia de un agente acomplejante, el denominado TPTZ (2, 4,6- tri (piridil)-1, 3,5-triazina). El complejo de TPTZ y el hierro III actúan con las sustancias antioxidantes obteniéndose como producto un ion complejo de hierro II, TPTZ y sustancias oxidadas. Este ion complejo  $[Fe(TPTZ)_2]^{2+}$  resultante es de color azul intenso y tiene una absorción máxima a 595 nm. Este ensayo es llevado a cabo a pH ácido (pH 3,6). Esta reacción produce un cambio de color que es monitorizado midiendo la absorbancia a 593 nm durante 30 minutos <sup>(48)</sup>.

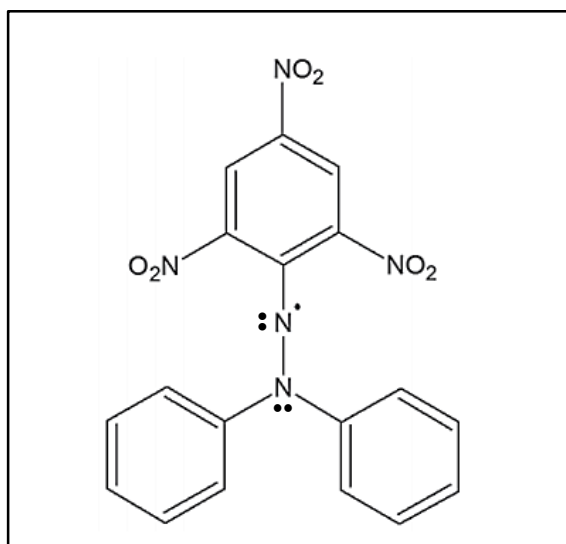


**FIGURA 1.** Mecanismo de reacción en el método FRAP.

(Beanzie & Strain, 1995)

**Método de inhibición frente al radical libre 2,2-Difenil-1- picrilhidrazilo (DPPH•).**

El método del DPPH se basa en la reducción del radical DPPH• (Figura 2) por captación de un átomo de hidrógeno al añadir el antioxidante de la muestra. El radical es estable y tiene una coloración púrpura que se desvanece progresivamente cuando se añade la muestra conteniendo sustancias antioxidantes. La decoloración del radical se determina a una  $\lambda$  de 517 nm después de un tiempo de 30 minutos de reacción. Las ventajas de usar este método DPPH se tiene que es rápido, sencillo (49).



**FIGURA 2.** Estructura química del radical libre metaestable DPPH (Brands & Williams, 1995)

### **Trolox**

*Es el compuesto ácido 6-hidroxi-2, 5, 7, 8-tetrametilcromo-2- carboxílico (Trolox) es un análogo del  $\alpha$ -tocoferol o vitamina E soluble en agua y permeable a las células. El Trolox es utilizado universalmente como un estándar en (las curvas de comparación de diversos ensayos de actividad antioxidante. Es conocido por su alta capacidad antioxidante por ende es expresada en Equivalentes Trolox (ET) por unidad de peso o de volumen de la muestra analizada.*

*Así mismo está demostrado que Trolox puede experimentar rápidas reacciones de transferencia de un electrón, así como procesos de transferencia de hidrógeno. (50, 51,52).*

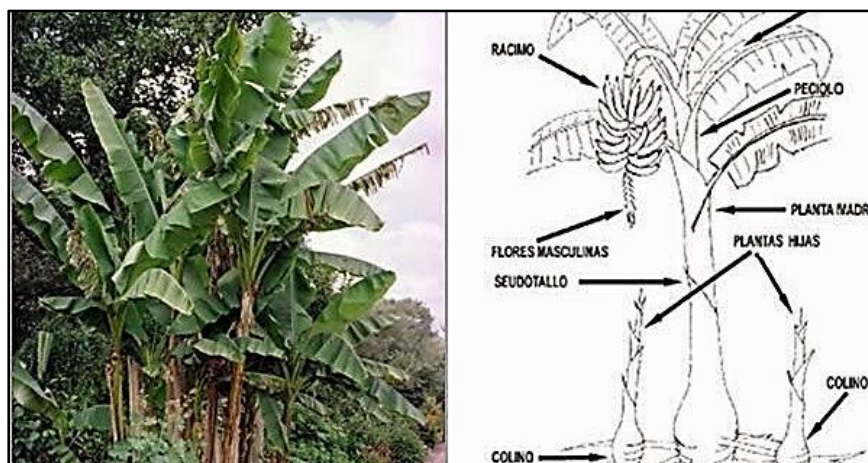
#### **2.2.9. Aspectos generales de la familia Musaceae.**

*La familia Musaceae está constituida por tres géneros y cerca de 42 especies: Musa (35 especies), Ensete (7 especies), Musella (1 sola especie Musella lasiocarpa). Algunos géneros son cultivados para el consumo humano como producto alimenticio y algunas veces como ornamentales (53).*

*Es una Planta de porte erguido, pero de consistencia herbáceas de gran tamaño, perennes (Figura 3); los*

Tallos son subterráneos, rizomatosos; las Hojas son basales, espiraladas, grandes, simples, de margen entero, de base envainadora (con las grandes vainas solapándose, formando un pseudotallo) y en *Musa* (pero no en *Ensete*) con pecíolo. Las Flores son ebracteadas, unisexuales, el perianto consta de 2 verticilos y es homoclamídeo (los tépalos son iguales), 3 piezas en cada verticilo, los tépalos fusionado; el Androceo está constituido generalmente por 6 o 5 estambres. Los óvulos son anátropos, bitégmicos, numerosos por carpelo. El Fruto es una baya.

En *Musa* se forma mediante el proceso conocido como partenocarpia (formación del fruto sin necesidad de fecundación). Las semillas tienen endospermas <sup>(54)</sup>.



**FIGURA 3.** Morfología de la familia Musaceae. (Gabriela Blasco López, et al., 2014)

#### **2.2.9.1. Estudio fitoquímico**

*Con el propósito de aportar conocimientos científicos de los componentes presentes en los vegetales se realiza el estudio fitoquímico que tiene como objeto el aislamiento, análisis, purificación, elucidación de la estructura y caracterización de la actividad biológica de diversas sustancias producidas por estas.*

*El estudio fitoquímico permite aislar e identificar los principios activos de numerosas plantas con importante actividad biológica, como es el caso de las plantas medicinales con fines terapéuticos.*

*Por la importancia que representan estos metabolitos presentes en el material vegetal, las investigaciones no solo se han dirigido a la elucidación de estructuras químicas y evaluación de su actividad biológica mediante bioensayos, sino hacia la obtención por cultivo in vitro.*

#### **2.2.9.2. Metabolitos de la familia Musaceae.**

*Se han reportado en la familia Musaceae la presencia de metabolitos secundarios de los flavonoides, alcaloides, saponinas, terpenoides, antraquinona y*

*carotenoides* <sup>(55)</sup>. El plátano está catalogado como una de las frutas más conocidas en el mercado a nivel mundial. Pertenece al género *Musa* de la familia *Musaceae*. Reporta además vitaminas (A, B, C y E),  $\beta$ -caroteno y compuestos fenólicos tales como catequina, epicatequina, lignina y taninos y antocianinas <sup>(56)</sup> minerales como potasio y fósforo; así mismo contiene azufre, calcio, hierro, magnesio, sílice, sodio, magnesio <sup>(57)</sup>.

### **2.3. Marco conceptual**

#### **Antioxidante**

*Son sustancias que cuando están presentes retardan o inhiben la oxidación de sustratos susceptibles al ataque de las ERO.*

#### **Capacidad antioxidante equivalente al Trolox**

*Permite medir la capacidad antioxidante de una sustancia dada, en comparación con el estándar de Trolox. Es una medida de la fuerza antioxidante basada en Trolox, medida en unidades llamadas Trolox equivalentes.*

#### **Compuestos fenólicos**

*Son sustancias que poseen varias funciones fenol, unido a estructuras aromáticas o alifáticas. Los compuestos fenólicos*

*tienen su origen en el mundo vegetal. Son unos de los principales metabolitos secundarios de las plantas.*

### ***Estrés oxidativo***

*Se define como el desequilibrio entre prooxidantes y antioxidantes, con un desplazamiento a favor de los primeros, de modo tal que esta alteración da lugar a cambios en las biomoléculas y, a modificaciones funcionales en los lugares donde las mismas se encuentren en un momento dado.*

### ***Plátano***

*Es una planta herbácea, que pertenece a la familia musácea, y que ostenta normalmente entre 3 o 4 metros de alto. Su tallo está rodeado por las vainas de las hojas y el fruto es una baya que tiene la particularidad de crecer en racimos. Popularmente se lo conoce como banano o banana.*

### ***Radical libre***

*Llamados especies reactivas de oxígeno (ERO) son átomos o moléculas que contienen uno o más electrones no apareados en el orbital más externo, lo que produce una gran reactividad en su estructura.*

## **CAPITULO III**

### **3. METODOLOGÍA**

#### **3.1. Tipología de la investigación**

*Es una investigación de diseño Aplicada, experimental.*

#### **3.2. Diseño de investigación.**

*Es una investigación de diseño experimental.*

#### **3.3. Materiales y equipos de laboratorio**

##### **3.3.1. Materiales**

- *Aro de soporte*
- *Baguetas*
- *Celdas de cuarzo*
- *Cubre Boca/Mascarillas*
- *Desecador*
- *Embudos*
- *Espátulas de metal*
- *Etiquetas*
- *Fiolas*
- *Gradillas*
- *Guantes*
- *Luna de reloj*
- *Lápiz marcador*
- *Matraces Aforados*
- *Micropipetas*

- *Molino manual*
- *Papel de aluminio*
- *Papel de filtro*
- *Papel Tissue*
- *Papel toalla*
- *Pinzas metálicas*
- *Pipetas*
- *Propipeta*
- *Porta embudo*
- *Probetas*
- *Soporte universal*
- *Tijeras*
- *Toca*
- *Tubos de ensayo*
- *Varillas*
- *Vasos de precipitación de 10mL, 250 mL y 500 mL*

### **3.3.2. Equipos de laboratorio**

- *Estufa*
- *Balanza Analítica BOECO Germany*
- *Espectrofotómetro UNICO 2100 ®*
- *Plancha calefactora VELP ® SCIENTIFICA*

### **3.3.3. Material biológico**

- *Musa cavendishii* Lamb. : hojas.

### **3.3.4. Reactivos**

- *2,2- difenil-picrilhidrazilo (DPPH), SIGMA- ALDRICH.*
- *Ácido acético (Merck®)*
- *Ácido clorhídrico (Merck®)*
- *Ácido gálico (Merck®)*
- *Ácido pícrico (Merck®)*
- *Ácido sulfúrico, UNI-CHEM*
- *Agua destilada*
- *Anhídrido acético*
- *Carbonato de sodio anhidro Merck*
- *Cloruro férrico (Merck®)*
- *Cloroformo*
- *Etanol (Fisher®)*
- *Hidróxido de potasio, Panreac*
- *Hidróxido de sodio (Merck®)*
- *Reactivo de Folin Ciocalteu Sigma- Aldrich (FCR)*
- *Reactivos para identificar alcaloides: Dragendorff, Mayer, Hager.*

### **3.4. Técnicas de procedimientos de la información**

#### **3.4.1. Recolección, selección, secado y conservación de la muestra**

*La muestra del material vegetal, las hojas Musa cavendishii Lamb. “plátano bizcochito”, fueron recolectadas en el distrito Tate, departamento de Ica, a 395 m.s.n.m. en el mes de enero del 2018.*

*Las hojas seleccionadas fueron lavadas con agua destilada y se colocaron sobre papel kraft para ser posteriormente secadas bajo sombra y estabilizada a temperatura no mayor de 40 °C. Las hojas secas se llevaron a un molino manual para reducirlas a pequeño tamaño. El material seco y molido se usó para obtener el extracto etanólico. Para su conservación se guardó en un frasco de vidrio de color ámbar, etiquetado y se indicó la fecha de almacenamiento.*

#### **3.4.2. Clasificación taxonómica de la especie vegetal.**

*La muestra vegetal fue determinada botánicamente mediante una clasificación taxonómica en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima- Perú.*

**3.4.3. Obtención del extracto etanólico de las hojas de *Musa cavendishii* Lamb. “plátano bizcochito”.**

*El extracto etanólico se obtuvo a partir de las hojas de *Musa cavendishii* Lamb. “plátano bizcochito” por el método de maceración, que consistió en extraer los metabolitos de la especie en estudio hasta agotamiento, empleando como solvente etanol 96 %.*

*Obtenido el extracto seco, se llevó a pesar la muestra seca y almacenarlo en lugar seco.*

**3.4.4. Determinación de los metabolitos secundarios en el extracto obtenido.**

**3.4.4.1. Determinación cualitativa. Screening fitoquímico según Lock de Ugaz <sup>(58)</sup>.**

*Se procedió a hacer las reacciones de identificación y coloración para cada tipo de metabolito secundario presente, con los reactivos específicos; en los resultados se indicó la presencia o ausencia de los metabolitos: 5 mg de extracto etanólico problema con 5 gotas de reactivos respectivamente en la muestra a utilizar.*

### **Determinación de Saponinas:**

#### **Prueba de la espuma:**

*Se le agrego solución acuosa a la muestra vegetal, luego se le sometió a una agitación vigorosa durante 30 segundos.*

**Interpretación:** *La presencia de saponinas se manifiesta por la formación de una espuma.*

### **Determinación de Flavonoides:**

#### **Reacción de Shinoda:**

*En un tubo de ensayo se colocó 5 mg de la muestra vegetal y se le añadió 3 virutas de magnesio metálico y unas 3 gotas del ácido clorhídrico concentrado.*

**Interpretación:** *Si se observa un intenso burbujeo y coloración rojo a naranja de color intenso indica la presencia de flavonoides.*

### **Determinación de Compuestos Fenólicos:**

#### **Reacción con Cloruro Férrico (FeCl<sub>3</sub>)**

*A 5 mg de muestra vegetal se disolvió en 1 mL de etanol y se agregó una gota de solución al 1% de cloruro férrico en agua.*

**Interpretación:** *La formación de una coloración azul, verde o*

violeta indica la presencia de un compuesto fenólico.

#### **Determinación de Taninos:**

##### **Reacción de la Gelatina**

A 5 mg de la muestra vegetal se le agregó 5 gotas del reactivo de la gelatina al 0,1 %;

**Interpretación:** Se observa una sustancia en el fondo un precipitado color blanco, confirma la presencia de taninos.

#### **Determinación de Alcaloides:**

##### **Reacción de Dragendorff**

A 5 mg de la muestra vegetal se le adicionó 1 mL de solución reactivo ácido clorhídrico 1% y 5 gotas del reactivo.

**Interpretación:** La aparición de un precipitado de color anaranjado, confirma la presencia de alcaloides.

##### **Reacción de Mayer**

A 5 mg de la muestra vegetal se disolvió en solución de ácido clorhídrico y se adiciono un exceso del reactivo.

**Interpretación:** La aparición de un precipitado color crema, confirma la presencia de alcaloides.

**Reacción de Hager**

A 5 mg de la muestra vegetal se le adicionó 5 gotas del reactivo (solución saturada de ácido pícrico en agua)

**Interpretación:** La formación de un precipitado amarillo, lo que confirma la presencia de alcaloides.

**Determinación de Quinonas:**

**Reacción de Bornträger**

Se hirvió 5 mg de la muestra vegetal con hidróxido de sodio al 5% en agua. Se dejó enfriar la solución, se aciduló y se extrajo con cloroformo.

**Interpretación:** La coloración roja en fase acuosa indica un resultado positivo.

**Determinación de triterpenos y/o esteroides:**

**Reacción de Liebermann-Burchard**

El medio de reacción debe ser completamente

*anhidro. Por lo cual se disolvió 1 mg de muestra vegetal en cloroformo y luego se le añadió unas gotas del reactivo, se observó cambios de coloración; el reactivo se preparó agregando una gota de ácido sulfúrico a una mezcla de 1 mL de anhídrido acético y 1 mL de cloroformo.*

***Interpretación:*** *La formación de colores azul verdoso, confirma que la prueba es positiva.*

***Determinación de Leucoantocianidina y/o catequinas:***

***Reacción de Rosenheim***

*Se Adicionó a la muestra vegetal disuelta en agua la mitad de volumen de ácido clorhídrico concentrado. Se calentó la muestra durante 15 minutos a 100 °C, y se dejó enfriar, luego se le agregó 1 mL de agua destilada, así mismo se le adicióno 2 mL de 1- propanol y se agito.*

***Interpretación:*** *considera positiva con la aparición de colores rosado o rojo.*

*Marrón: catequinas.*

*Rojo: Leucoantocianidinas.*

### **3.4.4.2. Determinación cuantitativa de la composición fenólica del extracto obtenido.**

#### **3.4.4.2.1. Determinación del contenido de compuestos fenólicos**

*El contenido de compuestos fenólicos presentes en el extracto etanólico de las hojas de *Musa cavendishii* Lamb. se determinó empleando la reacción de Folin-Ciocalteu, descrito por (García et al., 2012) utilizando ácido gálico como compuesto fenólico de referencia <sup>(59)</sup>. El reactivo de Folin-Ciocalteu es una mezcla de ácido fosfotúngstico  $H_3PW_{10}O_{10}$  y ácido fosfomolibdico  $H_3PM_{12}O_{14}$ . Se produce una reacción óxido- reducción entre los reactivos de Folin-Ciocalteu (se reduce) y los polifenoles (se oxidan), dando origen a los óxidos de coloración azul (óxidos de wolframio y molibdeno), los cuales exhiben una amplia absorción de luz, con un máximo de 760 nm. Se utilizó también carbonado de sodio ( $Na_2CO_3$ ) al 20% y una solución stock de ácido gálico 400  $\mu g/mL$ .*

**Procedimiento:**

Se preparó una curva de calibración de ácido gálico cuyo rango de concentración fue de 25; 50; 75; 100 y 125  $\mu\text{g/mL}$ . El extracto de la muestra vegetal es evaluado a una concentración de 0,1  $\text{mg/mL}$ . A 300  $\mu\text{L}$  de la muestra se le añadió 450  $\mu\text{L}$  de la solución de Folin-Ciocalteu, se sónico por 5 min, luego se le añadió 450  $\mu\text{L}$  de carbonato de sodio al 20% y 1800  $\mu\text{L}$  de agua bidestilada. Se agito vigorosamente, se cubrió de la luz y se le llevo a reposo por 30 minutos a temperatura ambiente. Las absorbancias respectivas fueron medidas a 760 nm en un espectrofotómetro.

Las muestras fueron analizadas por triplicado y el contenido total de compuestos fenólicos fueron expresados en mg de ácido gálico/g de extracto etanólico.

### **3.4.5. Determinación de la capacidad antioxidante in vitro**

#### **3.4.5.1. Ensayo del DPPH• según (Brand-Williams et al, 1995) con modificaciones <sup>(60)</sup>.**

*El método empleado fue el ensayo de DPPH• (2,2-Difenil-1-picrilhidrazilo), El fundamento del método consiste en que este radical tiene un electrón desapareado y es de color azul-violeta, decolorándose hacia amarillo pálido por la reacción de la presencia de una sustancia antioxidante, siendo medida espectrofotométricamente a 517 nm.*

*La actividad antioxidante mediante el método de DPPH• se expresa como IC<sub>50</sub>, este valor corresponde a la concentración del extracto que reduce un 50% de la absorbancia de una solución etanólica de DPPH•.*

*Se usó como estándar el reactivo TROLOX (ácido 6-hidroxi - 2, 5, 7, 8-tetrametilcromo-2-carboxílico) a como un antioxidante comparador para obtener la capacidad antioxidante equivalente de Trolox.*

**Procedimiento:**

**a) Preparación del radical DPPH<sup>•</sup> :**

*Se preparó la solución stock de DPPH<sup>•</sup> a 0,1 mM, pesando 2,2 mg de DPPH<sup>•</sup>, en una luna de reloj previamente tarado y se disolvió en un vaso precipitado de 10mL hasta homogenizarlo y enrasarlo en un matraz aforado de 100mL, luego se utilizó como solvente etanol hasta obtener una absorbancia entre 0,6 – 0,7 a 517 nm.*

**b) Preparación del Trolox:**

*Se preparó una solución stock de Trolox de 1mM, para ello se pesó 2,4 mg de ácido 6-hidroxi - 2, 5, 7, 8-tetrametilcromo-2-carboxílico (Trolox), se disolvió en 1000 $\mu$ L de etanol y se le agregó 9000 $\mu$ L de agua destilada.*

**c) Reacción del Trolox para establecer la curva de calibración:**

*Para la realización de la curva de estándar de Trolox se prepararon 5 diluciones en tubos de ensayo por triplicado para ello se hizo reaccionar 300  $\mu$ L de Trolox y 2 700 $\mu$ L*

de DPPH<sup>•</sup> (Ver tabla 1). Se mantuvo en oscuridad por 30 minutos a temperatura ambiente, para después realizar la lectura en el espectrofotómetro UV/VIS a 517 nm.

<b>TUBO</b>	<b>TROLOX (mM)</b>	<b>VOLUMEN DE TROLOX <math>\mu</math>L</b>	<b>VOLUMEN DE DPPH <math>\mu</math>L</b>
<b>1</b>	1	300	2700
<b>2</b>	0,5	300	2700
<b>3</b>	0,25	300	2700
<b>4</b>	0.125	300	2700
<b>5</b>	0,0625	300	2700

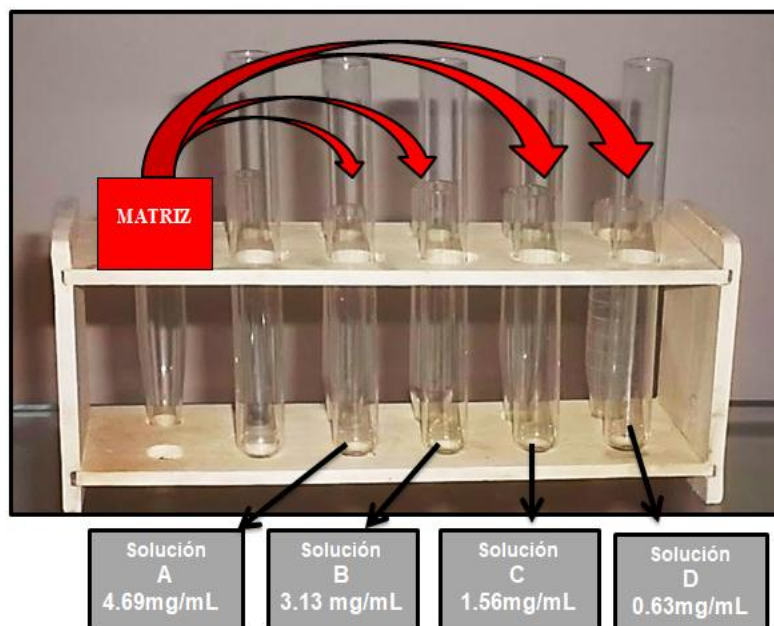
**TABLA 1.** Concentraciones finales del estándar de Trolox en la reacción

**d) Reacción de las muestras:**

Para la muestra (matriz) se pesó 6.25 mg de extracto etanólico de las hojas de *Musa cavendishii* Lamb. y se diluyó en 1 mL de etanol 96% (Figura 4). De las soluciones preparadas de las muestras se tomó de cada una 300  $\mu$ L y se hicieron reaccionar con 2700  $\mu$ L de DPPH. Se mantuvo en oscuridad durante 30 minutos a temperatura ambiente,

para después realizar la lectura en el espectrofotómetro UV/VIS a 517 nm.

La actividad antioxidante fue expresada como actividad antioxidante equivalente de mM de Trolox.



**FIGURA 4.** Batería de la muestra del extracto de *Musa cavendishii* Lamb. “plátano bizcochito”.

#### **3.4.5.2. Ensayo del Poder Antioxidante de Reducción Férrica (FRAP) <sup>(61)</sup>.**

La determinación del poder reductor/antioxidante férrico (FRAP) del extracto etanólico de *Musa cavendishii* Lamb. “plátano bizcochito” fue basado por la molécula 2, 4,6- tri (piridil)-1, 3,5-triazina (TPTZ)

que actúa como un ligando estabilizador del  $Fe^{+2}$ . El ión férrico ( $Fe^{+3}$ ) en presencia de TPTZ fácilmente oxida a los antioxidantes y generándose el complejo reducido TPTZ –  $Fe^{+2}$ . La absorción se incrementa en presencia de antioxidantes.

**Para este ensayo se utilizó:**

Reactivo (A): Buffer Acetato de sodio 300 mM pH 3,6.

Reactivo (B): TPTZ (2, 4,6- tri (piridil)-1, 3,5-triazina) 10 mM preparado en solución de HCl 40 mM.

Reactivo (C): Solución de  $FeCl_3$  20 mM.

**Solución de trabajo FRAP:** Se preparó en la proporción 10:1:1

(Reactivo A. Reactivo B: Reactivo C).

**Solución Stock de  $FeSO_4$ :** 20mM.

**Solución Stock de TROLOX:** 1 mM.

La actividad antioxidante fue expresada como actividad antioxidante equivalente de mM de Trolox.

#### **3.4.6. Relación de la composición fenólica con la actividad antioxidante en los extractos.**

*Los resultados obtenidos del contenido de compuestos fenólicos fueron expresados como mg de ácido gálico equivalente/g de extracto, y fueron correlacionados con los métodos DPPH\* y FRAP expresados en equivalentes de mM de Trolox.*

*La relación fue evaluada utilizando la prueba de correlación de Pearson ( $r$ ), los datos del contenido de compuestos fenólicos y las concentraciones máximas de los métodos DPPH\* y FRAP se ingresaron en el software estadístico IBM-SPSS Versión 23 y se reportó como coeficiente de correlación ( $r$ ) con un nivel de significancia de 0,01 ( $p < 0,01$ ).*

### **3.5. Aspectos éticos**

- *Constancia de aprobación del proyecto de tesis titulada: Composición fenólica y capacidad antioxidante del extracto etanólico de las hojas de Musa cavendishii Lamb. “plátano bizcochito”.*
  
- *Constancia de los asesores de haber realizado el trabajo de investigación titulado: Composición fenólica y capacidad antioxidante del extracto etanólico de las hojas de Musa cavendishii Lamb. “plátano bizcochito”*
  
- *Se tendrá en cuenta el manual de bioseguridad en el laboratorio decretada por la organización mundial de salud (OMS) <sup>(61)</sup>.*
  
- *Considerando que el proyecto de tesis se realizará in vitro, no se amerita otras consideraciones.*

## CAPITULO IV

### 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1. RESULTADOS

##### 4.1.1. Ubicación taxonómica del plátano.

La posición botánica, según la Dirección del Museo de Historia Natural de la U.N.M.S.M. Es la siguiente:

**DIVISIÓN: MAGNOLIOPHYTA**

**CLASE: LILIOPSIDA**

**SUBCLASE: ZINGIBERIDAE**

**ORDEN: ZINGIBERALES**

**FAMILIA: MUSACEAE**

**GÉNERO: Musa**

**ESPECIE: Musa cavendishii Lamb.**

Nombre vulgar: "plátano bizcochito"

##### 4.1.2. Porcentaje de rendimiento del extracto etanólico seco de la obtención del extracto etanólico.

El porcentaje de rendimiento del extracto etanólico seco (%EES) fue de 2 %. Este resultado fue obtenido con la siguiente expresión:

$$\begin{aligned} \%EES &= \frac{\text{Peso final del extracto seco}}{\text{Peso inicial de la muestra seca}} \times 100 \\ \%EES &= \frac{50 \text{ g}}{100 \text{ g}} \times 100 \\ \%EES &= 2 \end{aligned}$$

**4.1.3. Determinación de los metabolitos secundarios en el extracto obtenido.**

**4.1.3.1. Determinación cualitativa. Screening fitoquímico según Lock de Ugaz <sup>(58)</sup>.**

Los resultados del análisis fitoquímico cualitativo se observan en la **tabla 2**.

**TABLA 2.** Prueba preliminar cualitativa de los metabolitos secundarios del extracto etanólico de las hojas de *Musa cavendishii* Lamb. “plátano bizcochito”

<b>PRUEBA DE CARACTERIZACIÓN</b>	<b>RESULTADO</b>	<b>METABOLITO SECUNDARIO</b>
<b>Prueba de la ESPUMA</b>	(+)	Saponinas
<b>Reacción de SHINODA</b>	(+)	Flavonoides
<b>Reacción con CLORURO FERRICO (FeCl<sub>3</sub>)</b>	(+)	Compuestos Fenólicos
<b>Reacción de GELATINA</b>	(+)	Taninos
<b>Reacción de DRAGENDÖRFF</b>	(+)	Alcaloides
<b>Reacción MAYER</b>	(+)	Alcaloides
<b>Reacción de HAGER</b>	(+)	Alcaloides
<b>Reacción de BORNTRAGER</b>	(+)	Quinonas
<b>Reacción de LIEBERMANN-BURCHARD</b>	(+)	Triterpenos y/o esteroides
<b>Reacción de ROSENHEIM</b>	(-)	Leucoantocianidina y/o catequinas

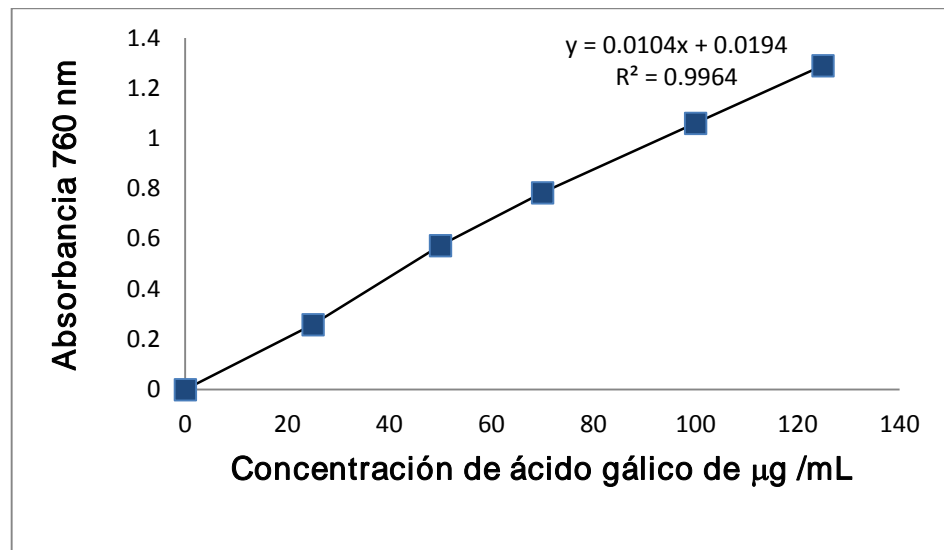
(-) = Ausencia; (+) = Presencia

#### 4.1.3.2. Determinación cuantitativa de la composición fenólica en los extractos obtenidos.

##### 4.1.3.2.1. Determinación del contenido de compuestos fenólicos.

El contenido total de compuestos fenólicos presentes en el extracto etanólico de las hojas de *Musa cavendishii* Lamb. "plátano bizcochito".

Se expresaron en mg equivalentes al ácido gálico (mgEAG/g).



**FIGURA 5.** Determinación de Contenido de compuestos fenólicos.

*Recta Patrón.* En el eje de abscisas se expresan los miligramos de ácido gálico µg/mL y en eje de ordenas, la absorbancia a 760 nanómetros (nm).

La concentración de ácido gálico en la muestra se determinó usando una ecuación que se obtuvo a partir de la curva de ácido gálico estándar. La ecuación se da a continuación:

$$y = 0.0104x + 0.0194$$

$$R^2 = 0.9964$$

**TABLA 3.** Cuantificación del contenido de compuestos fenólicos del extracto etanólico de las hojas de *Musa cavendishii* Lamb. “PLÁTANO BIZCOCHITO”.

<b>Muestra</b>	<b>Masa del extracto seco (g / mL)</b>	<b>Absorbancia promedio</b>	<b>mg EAG / g extracto</b>	<b>D.E.</b>
<b>Extracto etanólico de las hojas de <i>Musa cavendishii</i> Lamb. “PLÁTANO BIZCOCHITO”</b>	0,001 g / 10 mL	0,327	30 mg EAG/g extracto	± 0,48

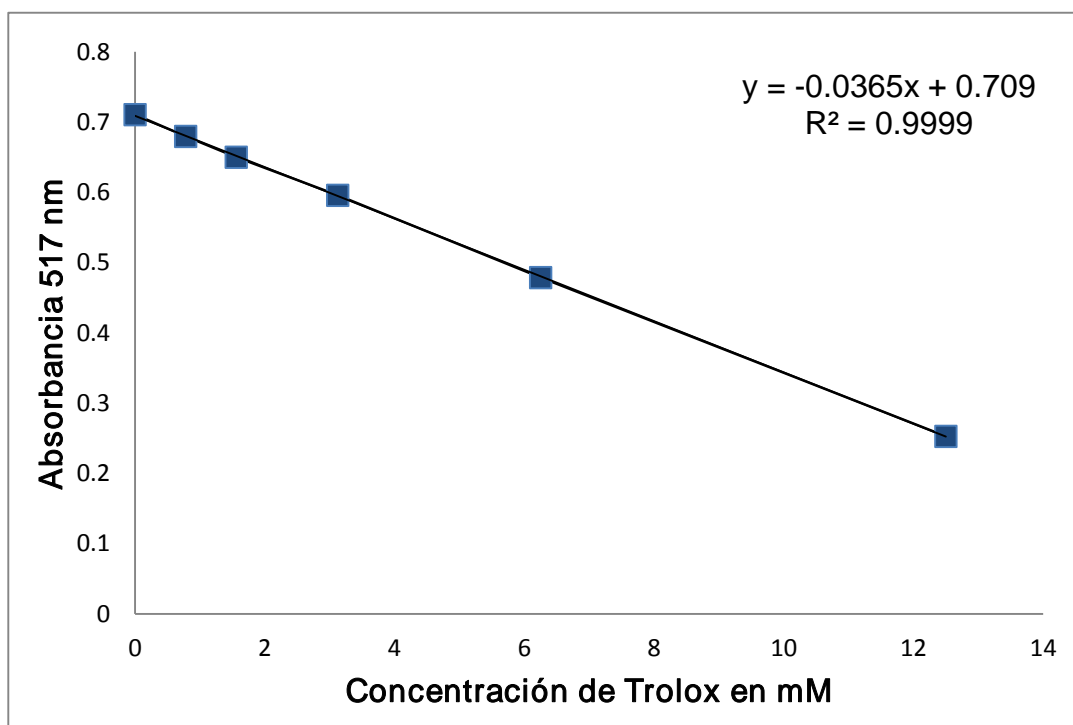
D.E.: Desviación estándar

#### **4.1.4. Determinación de la capacidad antioxidante in vitro**

**4.1.4.1. Ensayo del DPPH\* según (Brand-Williams et al, 1995) con modificaciones del extracto etanólico de las hojas de *Musa cavendishii* Lamb. “plátano bizcochito”.**

**TABLA 4.** Concentración del Trolox en mM - Absorbancia para realización de la curva de calibración, mediante el ensayo DPPH\*

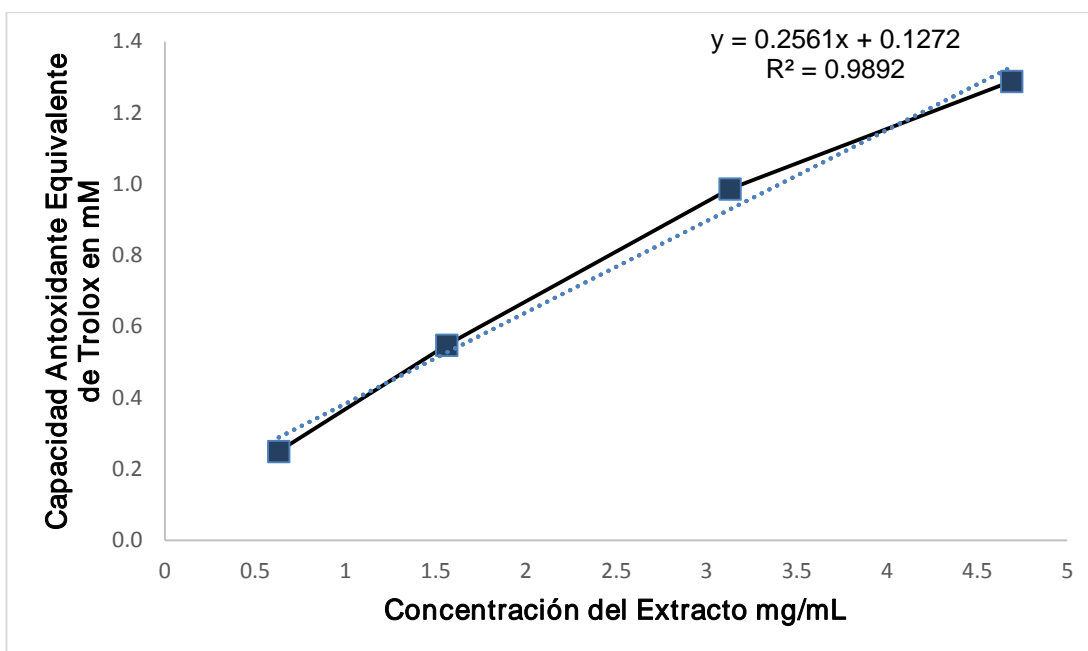
CONCENTRACIÓN DEL TROLOX mM	ABSORBANCIA 517 nm	IC <sub>50</sub> ± D.E mM.
1	0,253	9.68 ± 0,17
0,5	0,479	
0,25	0,596	
0,125	0,650	
0,0625	0,680	
0	0,711	



**FIGURA 6.** Grafica de la curva de captación de DPPH\* del estándar de Trolox (mM) para la determinación antioxidante, mediante el ensayo del DPPH\*.

**TABLA 5.** Capacidad Antioxidante Equivalente de Trolox (TEAC) por el ensayo DPPH\* del extracto etanólico de las hojas de *Musa cavendishii* Lamb. “plátano bizcochito”.

Concentración (mg / mL)	Absorbancia 517 nm	TEAC mM	mM /mg de extracto
4,69	0,662	1,288	3,41 ± 0,53
3,13	0,673	0,986	
1,56	0,689	0,548	
0,63	0,700	0,250	

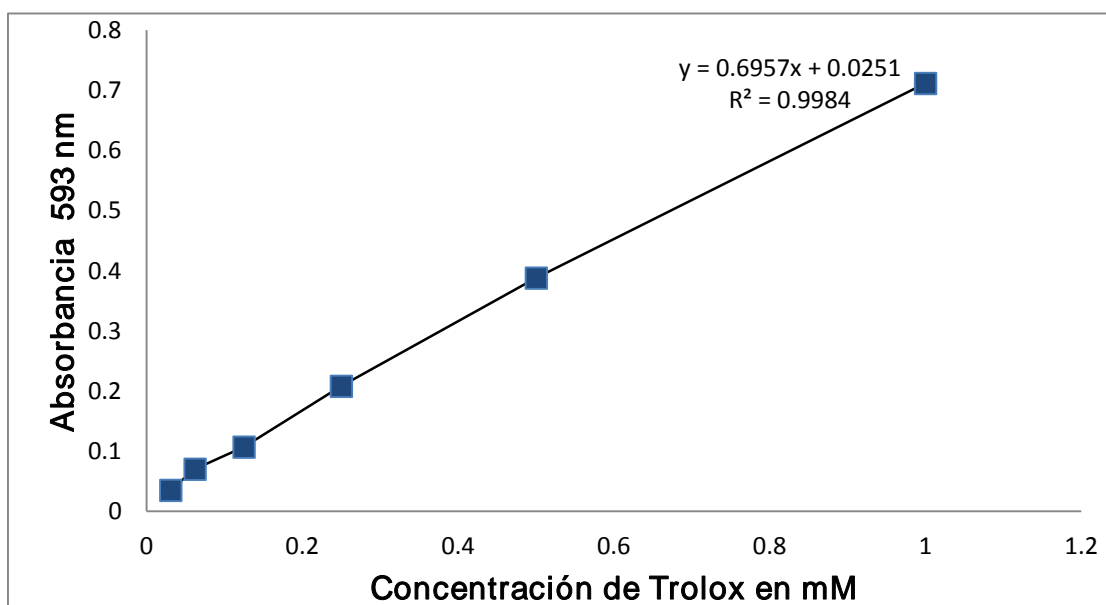


**FIGURA 7.** Grafica de la determinación de la capacidad antioxidante equivalente a Trolox (TEAC) de la muestra vegetal *Musa cavendishii* Lamb. “plátano bizcochito” para la determinación antioxidante, mediante el ensayo del DPPH\*.

**4.1.4.2. Ensayo del Poder Antioxidante de Reducción Férrica (FRAP) del extracto etanólico de las hojas de *Musa cavendishii* Lamb. “plátano bizcochito”.**

**TABLA 6.** Concentración del Trolox mM - Absorbancia para realización de la curva de calibración, mediante el ensayo FRAP.

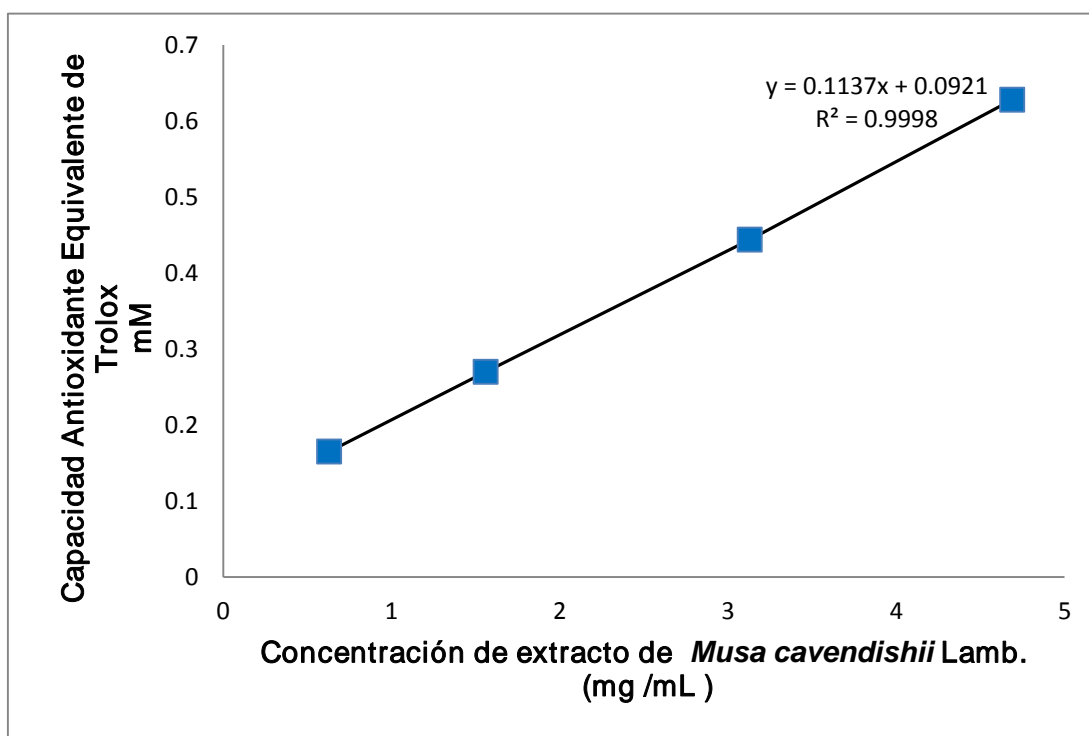
Concentración Trolox mM	Absorbancia 593 nm	IC <sub>50</sub> ± D.E. mM
1	0,712	0.48 ± 0,26
0,5	0,388	
0,25	0,208	
0,125	0,107	
0,062	0,070	
0,031	0,035	



**FIGURA 8.** Grafica de la curva de calibración de Trolox (mM) para la determinación antioxidante, mediante el ensayo del FRAP.

**TABLA 7.** Capacidad Antioxidante Equivalente de Trolox (TEAC) por el ensayo FRAP del extracto etanólico de las hojas de *Musa cavendishii* Lamb. “plátano bizcochito”.

Concentraciones (mg/mL)	Absorbancia 593 nm	TEAC mM	mM /mg de extracto
4,69	0,462	0,628	7,99 ± 0,20
3,13	0,334	0,444	
1,56	0,213	0,270	
0,63	0,140	0,165	



**FIGURA 9.** Grafica determinación de la capacidad antioxidante equivalente a Trolox (TEAC) de la muestra vegetal *Musa cavendishii* Lamb. “plátano bizcochito” para la determinación antioxidante, mediante el ensayo del FRAP.

**4.1.5. Relación de la composición fenólica con la actividad antioxidante en los extractos.**

**TABLA 8.** Correlaciones bivariadas de los ensayos de contenido total de compuestos fenólicos y actividad antioxidante del extracto etanólico de las hojas de *Musa cavendishii* Lamb. “plátano bizcochito”.

<b>VARIABLES</b>	<b>COEFICIENTE DE CORRELACIÓN PEARSON</b>
<b>contenido total de compuestos fenólicos - ensayo de DPPH •</b>	0.990*
<b>contenido total de compuestos fenólicos - ensayo de FRAP</b>	0.997*
<b>ensayo de DPPH• – ensayo FRAP</b>	0.979*

\*La correlación es significativa en el nivel 0,01

## 4.2. DISCUSIÓN

*El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo principal: Evaluar la composición fenólica y capacidad antioxidante del extracto etanólico de las hojas de las Musa cavendishii Lamb. “plátano bizcochito”. Es indispensable referir que el aporte de la información científica que se ha obtenido como resultado aseverará a la población la actividad farmacológica en el uso de esta especie vegetal en la medicina tradicional para tratar diversas patologías.*

*Los resultados obtenidos en la determinación de los compuestos fenólicos por el método de Folin – Ciocalteu mostraron que el extracto etanólico de las hojas de Musa cavendishii Lamb. “plátano bizcochito”, presenta 30 mg EAG/g del extracto, siendo un valor relativamente óptimo. Comparando con los valores reportados por Gomes, et al. de 29,20mg EAG/g <sup>(17)</sup> y Sulaiman, et al. De 1,04-15,33mg EAG/g de la cáscara de plátano de la especie Musa AA y Musa sp., respectivamente <sup>(18)</sup>.*

*La composición fenólica del extracto etanólico de las hojas de Musa cavendishii Lamb. , no aparecen reportados en las literaturas científicas de la especie en estudio. Sin embargo se ha determinado para otras especies y muchas de estas pertenecen al género Musa a la cual pertenece la planta medicinal objetivo de estudio.*

*Por otro lado, ante la incidencia de los resultados es necesario considerar que las hojas de Musa cavendishii Lamb. “plátano bizcochito”, suelen crecer en climas tropicales donde la temperatura oscila entre los 24 °C aproximadamente, ya que está científicamente comprobado que la síntesis de los metabolitos secundarios guarda una estrecha relación entre las plantas y el medio ambiente. Debido a que ciertas sustancias solo se sintetizan ante un entorno óptimo o que el contenido de determinadas sustancias pueden aumentar significativamente por estas. La humedad, la iluminación, radiación solar, temperatura, suelos; entre otros factores son importantes para el síntesis de metabolitos sean primarios o secundarios.*

*La actividad antioxidante fue evaluada mediante dos métodos: el método del Poder Antioxidante de Reducción Férrica (FRAP) y el método de 2,2-Difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH•). En la determinación de la capacidad antioxidante del extracto etanólico de las hojas de Musa cavendishii Lamb. “plátano bizcochito” fueron expresados en capacidad antioxidante equivalente de Trolox mM, obteniendo los siguientes resultados:*

*En el ensayo con DPPH• se obtuvo una capacidad antioxidante equivalente de Trolox (TEAC) de  $3,41 \pm 0,53$  mM/mg muestra (ver tabla 5); y para el ensayo FRAP se obtuvo una capacidad*

*antioxidante equivalente de Trolox (TEAC) de  $7,99 \pm 0,20$  mM/mg muestra (ver tabla 7). Los resultados demuestran que el extracto etanólico de las hojas de *Musa cavendishii* Lamb. “plátano bizcochito” posee una mayor actividad antioxidante por el método DPPH que en el FRAP. La diferencia de los resultados por el método DPPH y FRAP puede atribuirse a los diferentes mecanismos antioxidantes de estos, pues el mecanismo antioxidante del DPPH se basa en la transferencia de átomos de Hidrógeno y transferencia de electrones; mientras el mecanismo de antioxidante del método FRAP se basa en la transferencia de electrones.*

*En el estudio fitoquímico preliminar se ha identificado la presencia de metabolitos secundarios (ver tabla 1) tales como saponinas, flavonoides, compuestos fenólicos, taninos, alcaloides, quinonas, triterpenos y/o esteroides. La determinación de la presencia de estos metabolitos secundarios evidenciaría que las propiedades medicinales de *Musa cavendishii* Lamb. que se desarrollan en la ciudad de Ica para tratar enfermedades digestivas (disentería, diarrea y estreñimiento), enfermedades respiratorias (bronquitis, gripe), enfermedades metabólicas (obesidad y diabetes); compresas frías para quemaduras y/o heridas, se les atribuyen a estos metabolitos secundarios de la naturaleza señalada.*

*En relación de la composición fenólica con la actividad antioxidante por los métodos DPPH• y FRAP del etanólico de las hojas de las Musa cavendishii Lamb. “plátano bizcochito”, se pueden apreciar que el coeficiente de correlación que existen entre los parámetros analizados es relativamente alto para  $p < 0.01$  con un coeficiente de Pearson; siendo los valores entre el contenido total de compuestos fenólicos frente al ensayo de DPPH• de 0,990; entre el contenido de compuestos fenólicos frente al ensayo de FRAP de 0,997; entre el ensayo de DPPH• frente al ensayo FRAP de 0.979 (ver tabla 8), comparando con los valores reportados por (Sulaiman, et al.,) CCFT-DPPH• 0,159; CCFT-FRAP 0,4017 y DPPH•-FRAP 0,5944<sup>(18)</sup>.*

*Así mismo coincide con los valores reportados por (Veliz, et al.,) cuyo correlaciones fueron altas 0,996; 0,993; 0,989 entre DPPH•-FRAP; CCFT-DPPH•, DPPH•-FRAP <sup>(22)</sup>; respectivamente. Así mismo estas comparaciones de los resultados de correlación fortalece nuestro sustento que tanto el clima y como el suelo del territorio peruano favorece la síntesis de metabolitos secundarios, pues dichos trabajos de investigación antes señalados fueron desarrollados en Malasia y Perú; respectivamente.*

## CONCLUSIONES

1. *El extracto etanólico de las hojas de Musa cavendishii Lamb. “plátano bizcochito” tuvo un contenido de compuestos fenólicos relativamente óptimo que fue de 30 mg EAG/g del extracto.*
2. *Los métodos antioxidantes in vitro DPPH• y FRAP demostraron que el extracto etanólico de las hojas de Musa cavendishii Lamb. “plátano bizcochito” presenta una mayor actividad antioxidante por el método DPPH• por lo que se amerita concluir que el extracto tiene una reacción de estabilización mediante un mecanismo de transferencia de átomos de Hidrógeno.*
3. *El extracto etanólico de las hojas de Musa cavendishii Lamb. “plátano bizcochito” presentó una correlación elevada las cuales fueron 0,990; 0,997; 0,979; respectivamente.*
4. *El estudio fitoquímico cualitativo indica la presencia de saponinas, flavonoides, compuestos fenólicos, taninos, alcaloides, quinonas, triterpenos y/o esteroides.*

## **RECOMENDACIONES**

- 1. Se recomienda profundizar en el estudio la composición química de la especie, para determinar cuáles son las moléculas responsables de la actividad antioxidante.*
- 2. Se debe implementar métodos de actividad antioxidante basados en la transferencia de Hidrógenos (CARO, PATAR), a fin de ratificar las conclusiones del presente trabajo de investigación.*
- 3. Se debe continuar con el estudio de esta especie por que representa un recurso natural que puede ser aprovechado por el pueblo iqueño, ya que se encuentra localizado en el Distrito de Tate, Provincia de Ica, Departamento de Ica.*
- 4. Se recomienda profundizar con los estudios farmacológicos que permitan hacer una evaluación general del uso de la especie en diversas patologías que son producidas por el estrés oxidativo.*

## FUENTES DE INFORMACIÓN

1. **Abelson Philip H.** *Medicine from plants. Science.* 1990; 247:513. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2300807>.
2. **Laguerre M., Lecomte J., Villeneuve P.** *Evaluation of the ability of antioxidants to counteract lipid oxidation: existing methods, new trends and challenges. Prog Lipid Res.* 2007; 46: 244–82.
3. **Bello A.** *Dano oxidativo e regulação Biológica pelos Radicais Livres* Canoas- RS (Brasil). Editora ULBRA. 2002.
4. **Pavanatto M, Llesuy S.** *Espécies ativas de oxigênio e de nitrogênio.* Canoas- RS (Brasil). Editora da ULBRA. 2008: 13 -24.
5. **Macbride JF.** *Flora del Perú. Ed. Publ. Field Museum Natural History Bot.* Tomo II. 1937.
6. **Nacz M, Shahidi F.** *Phenolics in cereals, fruits and vegetables: Occurrence, extraction and análisis. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* 2006, 41: 1523 –1542.
7. **Carratú B, Sanzini E.** *Sostanze biologicamente attive presenti negli limenti di origine vegetale. Ann. Ist. Super Sanita.* 2005; 41: 7 – 16.
8. **Finkel., T. & Holbrook, N.J.** “Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing”, en *Nature.* 2000; 408: 239-247.
9. **Thornalley, P.J., Vasak, M.** “Possible role for metallothionein in protection against radiation-induced oxidative stress. Kinetics and mechanism of its reaction with superoxide and hydroxyl radicals”, en *Biochimica et Biophysica Acta.* 1985 21 de enero; 827(1): 36-44.

10. **Kinsella, J.E.; Frankel, E.; German, B. & Kanner, J.** "Possible mechanism for the protective role of antioxidants in wine and plants foods", in *Food Technology*; 1993. p. 85-89
11. **Marja P. Kahkonen\* Anu I. Hopia, And Marina Heinonen J., Berry.** phenolics and their antioxidant activity, *Agric Food Chem. Departament of applied*. 2001; 49: 4076-4082.
12. **A.P. Porrás-Loaiza, A. López -Malo.** *Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos*. 2009;3(1):121-134
13. **Mostacero J, Castillo F, Mejía F, Gamarra O, Charcape J, Ramírez R.** *plantas medicinales del Perú: Taxonomía, Ecogeografía, Fenología, Etnobotánica*. Perú: Asamblea Nacional de Rectores Fondo Editorial; 2011. p. 406, 407.
14. **Murillo E.** *Principales Antioxidantes de los Alimentos. Memoria del Seminario Taller Vitaminas Antioxidantes y Salud, Panamá, Julio 2002.*
15. **Flores S.** *Cultivos de Frutales Nativos Amazónicos. TCA Tratado de Cooperación Amazónica-secretaría Pro-Tempore*; 1997.
16. **Morais D. Rotta E, Sargi S, Schmidt E, Bonafe E, Eberlin M, et al.** *Antioxidant activity, phenolics and UPLC-ESI (-)- MS of extracts from different tropical fruits parts and processed peels. Food Research International*. 2015; 77: 392-399.
17. **Gomes L, Mota A, Becker P, Teixeira M, Castillo N, Hermosin I.** *Flour of banana (Mussa AAA) peel as a source of antioxidant phenolic compounds. Food Research International*. 2014; 55: 397-403
18. **Sulaiman S, Yusoff N, Eldeen I, Seow E, Sajak A, Ooi K, et al.** *Correlation between total phenolic and mineral contents with antioxidant activity of eight*

*Malaysian bananas (Musa sp). Journal of Food Composition and Analysis.*  
2011; 24(1): 1-10.

19. **Gonzales R, Lobo M, Gonzáles M.** *antioxidant activity in banana peel extracts: Testing extraction conditions and related bioactive compounds. Food Chemistry.* 2010;119(3): 1030-1039
20. **Vijayakumar S. Presannakumar G. Vijayalakshmi N.** *Antioxidant activity of banana flavonoids. Fitoterapia.*2008; 79 (4):279-282.
21. **Someya S. Yoshiki Y. Okubo K.** *Antioxidant compounds from bananas. Food chemistry.* 2002; 79 (3): 351-354.
22. **Veliz Quezada C.** *Contenido de compuestos fenólicos totales y capacidad reductora de la cascara de Musa sp. "plátano". [tesis]. Perú: Universidad Nacional de Trujillo. Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2016.*
23. **Berra B, Caruso D, Cortesi N, Fedeli E, Rasetti Mf, Galli G.** *Antioxidant properties of minor polar components of olive oil on the oxidative processes of cholesterol in human LDL. Riv. It. Sost. Grasse.* 1995; 72: 285- 291.
24. **Tsimidou, M.** *Polyphenols and quality of virgin olive oil in retrospect. Ital J Food Sci.* 1998; 2(10): 99-116.
25. **Harborne JB.** *General procedures and measurements of total phenolics. In: Harborne J.B. Ed. Plant Phenolics, vol 1, from "Methods in Plant Biochemistry Series": Academic Press, London.* 1989:1-28.
26. **Belitz Y Grosch.** *Química de los alimentos. Ed. Acribia España: Zaragoza;* 1988.
27. **Bravo L.** *Polyphenol: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. Nutr Rev.* 1998; 56 (11): 317-333.

- 28. Windholz, M.** *The Merck Index. An encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals.* 10<sup>a</sup> ed. U.S.A; 1983.
- 29. Chesson A, Russell Wr Y Provan GJ.** *Metabolites of the phenylpropanoid pathway - common origin, common properties? In: Polyphenols in foods. Proceedings of a European COST concerted action scientific workshop. Aberdeen, Scotland. 1997: 17-23*
- 30. Harborne JB.** *The flavonoids: Advances in Research Since 1986.* Chapman y Hall Ed. London; 1993
- 31. Hertog Mgl, Hollman Pch, Van De Putte B.** *Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions, wines, and fruit juices. J Agric Food Chem. 1993; 41: 1242-1246*
- 32. Chung K-T, Wong T-Y, Wei C-I, Huang Y-W Y Lin Y.** *Tannins and Human Health: A review. Crit. Rev. Food Sci. 1998; 38 (6): 421-464.*
- 33. Posada Jaramillo, M., Pienda-Salinas, V. Y Agudelo-Ochoa, G. M.** *Los antioxidantes y los alimentos y su relación con las enfermedades crónica: El chocolate y su contenido de antioxidantes. Colombia. Sociedad Colombiana de Cardiología; 2004.*
- 34. Zheng.W. Y Wang. S.Y.** *Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. Agricultural and Food Chemistry.2001; 49(11): 5165-5170.*
- 35. Owen, R, W., Mier, W., Giacosa, A., Hull, W. E., Spiegelhalder, B. Y Bartsch, H.** *Phenolic compounds and squalene in olive oils: the concentration and antioxidant potential of total phenols, simple phenols, secoiridoids, lignansand squalene. Food Chemistry and Toxicology. 2000; 38(8):647-659*

- 36. Walsh Sw, Vaughan Je, Wang Y, Roberts LJ.** "Placental isoprostane is significantly increased in preeclampsia". *FASEB J.* 2000; 14: 1289-1296.
- 37. Thomas JA.** *Oxidative stress, oxidant defense and dietary constituents. Modern nutrition in health and disease. 8 ed. Willians and Wilkins; Philadelphia. 1994:501-12.*
- 38. Davies, Mj, Lg Forni Y RI Willson.** "Vitamina E Analogica Trolox CEsr y Pulse-Radiolysis Studies of Free-Radical Reactions." *Biochemical Journal* 255.2 (1988): 513-522.
- 39. Davies, Mj, Forni, Lg, Y Willson, RI.** Análisis de Vitamina E Trolox CEsr y estudios de radiólisis por pulso de reacciones de radicales libres. *Biochemical Journal.* 1988; 255 (2), 513 - 522.
- 40. Carrazana J, Chávez S, Chávez F, Huape S, Moreno A, Camargo A, et al.** Hipertensión esencial enfermedad subdiagnosticada, pero, ¿también sobreestimada? *Rev Asoc Med Int Mex.* 1995; 11(1):37-40.
- 41. Leiva L.** Estrés oxidativo. Evidencias y reflexiones. *Rev cubana Med.* 2000; 39(1):3-6.
- 42. Haliwell B.** Antioxidants: elixir of life or tonics for tired sheep? *Biochemist* 1995; feb-marz 3.
- 43. Paravicini Tm, Touyz RM.** Señalización redox en hipertensión. *Cardiovasc Res.* 2006; 71: 247 – 258.
- 44. Lassègue B, Griending KK.** Especies reactivas del oxígeno en la hipertensión; Una actualización. *Am J Hypertens.* 2004; 17: 852 - 860.
- 45. Benzie Iff, Strain JK.** The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power"µ the FRAP assay. *Anal Biochem.* 1996; 239:70–6.

- 46. Brand-Williams W, Cuvelier Me, Berset C.** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Science and Technol.* 1995; 28 (1): 25 -30.
- 47. Bompadre S, Leone L, Politi A, Battino M.** Improved FIA-ABTS method for antioxidant capacity determination in different biological samples. *Free Radical Research.* 2004; 38(8): 831-838.
- 48. Einbond R, Reynertson K, Luo X, Basile M, Kennelly E.** Anthocyanin antioxidants from edible fruits. *Food Chem.* 2004; 84:23-28.
- 49. Scott J, Cort W, Harley H, Parrish D, Saucy G.** 6-Hydroxychroman-2-carboxylic acids: novel antioxidants. *J. Am. Oil Chem.* 1974; 51:200-203.
- 50. Stevens, W; Ulloa, C; Pool, A; Montiel.** *Flora de Nicaragua: Angiospermas (Fabaceae-Oxalidaceae). Volumen 85, tomo II.* Missouri Botanical Garden Press. Missouri, Estados Unidos. 2001.
- 51. Cabañas, M.** *Tratado de Botánica Morfológica y Sistemática;* 2005.
- 52. Meechaona, R., Sengpracha, W., Banditpuritat, J., Kawaree, R., Phutdhawong, W.,** Fatty acid content and antioxidant activity of Thai bananas. *Maejo International Journal of Science and Technology.* 2007; 1: 222–228.
- 53. Sulaiman S, Yusoff, Eldeen I, Seow E, Sajak A, Ooi K, et al.** Correlation between total phenolic and mineral contents with antioxidant activity of eight Malaysian bananas (*Musa sp.*). *Journal of Food Composition and Analysis.* 2011; 24 (1):1-10.
- 54. Someya, S., Yoshiki, Y., Okubo, K.** Antioxidant compounds from bananas (*Musa Cavendish*). *Food Chemistry.* 2002; 79, 351–354.

- 55. Hardisson, A., Rubio, C., Baez, A., Martín, M., Alvarez, R., Díaz, E.** *Mineral compositions of the banana (Musa acuminata) from the island of Tenerife. Food Chemistry. 2001; 73, 153–161.*
- 56. García Nava M.J.** *Cuantificación de fenoles y flavonoides totales en extractos naturales.* [http://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias2007/56\\_IUAQGarciaNava.pdf](http://www.uaq.mx/investigacion/difusion/veranos/memorias2007/56_IUAQGarciaNava.pdf) (último acceso 8 de octubre del 2012).
- 57. Lock De Ugaz O.** *Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales. 2da ed. Lima: Fondo Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú; 1994. p.1-7*
- 58. Ganoza M, Costilla N, Velásquez S, Polo M.** *Compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante de extractos de especies vegetales de cachicadán, La Libertar-Perú. Pespectiva. 2015; 16(18): 203-208.*
- 59. Brand-Williams W, Cuvelier Me, Berset C.** *Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensm.Wiss. Technol 22, 25-30, 1995.*
- 60. Benzie Iff, Strain JJ.** *The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. Anal Biochem 239:70–6, 1996.*
- 61. Organización Mundial De La Salud.** *Manual de bioseguridad en el laboratorio. 3a ed. Ginebra: Organización Mundial de la Salud; 2005. [http://www.who.int/topics/medical\\_waste/manual\\_bioseguridad\\_laboratorio.pdf](http://www.who.int/topics/medical_waste/manual_bioseguridad_laboratorio.pdf).*

## ANEXOS

### ANEXO N° 01. Matriz de consistencia.

PROBLEMA	OBJETIVO	OBJETIVO ESPECÍFICO	HIPOTESIS	VARIABLES	METODOLOGÍA
¿Presenta el extracto etanólico de las hojas de <i>Musa cavendishii</i> Lamb? “plátano bizcochito” composición fenólica y actividad antioxidante?	Evaluar la composición fenólica y capacidad antioxidante del extracto etanólico de las hojas de <i>Musa cavendishii</i> Lamb. “plátano bizcochito”	<ol style="list-style-type: none"> <li>Determinar el contenido de compuestos fenólicos de las hojas de <i>Musa cavendishii</i> Lamb. “plátano bizcochito”.</li> <li>Determinar la actividad antioxidante in vitro mediante el método del Poder Antioxidante de Reducción Férrica (FRAP) y el método de 2,2-Difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) del extracto etanólico de las hojas de <i>Musa cavendishii</i> Lamb. “plátano bizcochito”.</li> <li>Evaluar la relación entre el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante del extracto etanólico de las hojas de <i>Musa cavendishii</i> Lamb. “plátano bizcochito”.</li> </ol>	El extracto etanólico de las hojas de <i>Musa cavendishii</i> Lamb. “plátano bizcochito” presenta Composición fenólica y capacidad antioxidante.	<p><b>VARIABLE DEPENDIENTE:</b> Composición fenólica y capacidad antioxidante.</p> <p><b>VARIABLE INDEPENDIENTE:</b> El extracto etanólico de las hojas de <i>Musa cavendishii</i> Lamb. “plátano bizcochito”.</p>	<p><b>TIPO DE INVESTIGACIÓN:</b> Experimental.</p> <p><b>POBLACIÓN:</b> Especie: <i>Musa cavendishii</i> Lamb. “plátano bizcochito”.</p> <p><b>MUESTRA:</b> Las hojas de <i>Musa cavendishii</i> Lamb. “plátano bizcochito”.</p> <p><b>TÉCNICAS DE PROCEDIMIENTOS DE LA INFORMACIÓN</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Recolección, selección, secado y conservación de la muestra</li> <li>- Clasificación taxonómica de la especie vegetal.</li> <li>- Obtención del extracto etanólico de las hojas de <i>Musa cavendishii</i> Lamb. “plátano bizcochito”</li> <li>- Determinación de la composición fenólica en los extractos obtenidos.</li> <li>- Determinación de la capacidad antioxidante in vitro.</li> <li>- Relación de la composición fenólica con la actividad antioxidante en los extractos.</li> </ul>

## **Anexo N° 02**

### **ABREVIATURAS**

**OMS:** Organización Mundial de la Salud.

**FAO:** Organización para la Alimentación y la Agricultura.

**FC:** Folin Ciocalteu.

**EROs:** Especies reactivas derivadas del oxígeno.

**DPPH:** 2,2 difenil-1-picrilhidrazilo.

**TEAC:** Actividad antioxidante equivalente a Trolox.

**FRAP:** Poder reductor/antioxidante de hierro férrico.

**TPTZ:** 2, 4,6-tripiridil-2-triazina.

## **Anexo N° 03**

### **LISTA DE FIGURAS**

**FIGURA 1.** *Mecanismo de reacción en el método FRAP (Beanzie & Strain, 1995).*

**FIGURA 2.** *Estructura química del radical libre metaestable DPPH• (Brands & Williams, 1995)*

**FIGURA 3.** *Morfología de la familia Musaceae (Gabriela Blasco López, et al., 2014)*

**FIGURA 4.** *Batería de la muestra del extracto de Musa cavendishii Lamb. “plátano bizcochito”*

**FIGURA 5.** *Determinación Contenido de compuestos fenólicos. Recta Patrón. En el eje de abscisas se expresan los miligramos de ácido gálico  $\mu\text{g/mL}$  y en eje de ordenas, la absorbancia a 760 nanómetros (nm).*

**FIGURA 6.** *Grafica de la curva de captación de DPPH• del estándar de Trolox (mM) para la determinación antioxidante, mediante el ensayo del DPPH•.*

**FIGURA 7.** *Grafica de la determinación de la capacidad antioxidante equivalente a Trolox (TEAC) de la muestra vegetal Musa cavendishii Lamb. “plátano bizcochito”) para la determinación antioxidante, mediante el ensayo del DPPH•.*

**FIGURA 8.** *Grafica de calibración de Trolox (mM) para la determinación antioxidante, mediante el ensayo del FRAP.*

**FIGURA 9.** *Grafica determinación de la capacidad antioxidante equivalente a Trolox (TEAC) de la muestra vegetal (Musa cavendishii Lamb. “plátano bizcochito”) para la determinación antioxidante, mediante el ensayo del FRAP.*

## **Anexo N° 04**

### **LISTA DE TABLA**

**TABLA 1.** *Concentraciones finales del estándar de Trolox en la reacción*

**TABLA 2.** *Prueba preliminar cualitativa de los metabolitos secundarios del extracto etanólico de las hojas de Musa cavendishii Lamb. “plátano bizcochito”*

**TABLA 3.** *Cuantificación de polifenoles totales del extracto etanólico de las hojas de Musa cavendishii Lamb. “PLÁTANO BIZCOCHITO”.*

**TABLA 4.** *Concentración del Trolox en mM - Absorbancia para realización de la curva de calibración, mediante el ensayo DPPH\**

**TABLA 5.** *Capacidad Antioxidante Equivalente de Trolox (TEAC) por el ensayo DPPH\* del extracto etanólico de las hojas de Musa cavendishii Lamb. “plátano bizcochito”.*

**TABLA 6.** *Concentración del Trolox mM- Absorbancia para realización de la curva de calibración, mediante el ensayo.*

**TABLA 7.** *Capacidad Antioxidante Equivalente de Trolox (TEAC) por el ensayo FRAP del extracto etanólico de las hojas de Musa cavendishii Lamb. “plátano bizcochito”.*

**TABLA 8.** *Correlaciones bivariadas de los ensayos de contenido total de compuestos fenólicos y actividad antioxidante del extracto etanólico de las hojas de Musa cavendishii Lamb. “plátano bizcochito”.*

## ANEXO N° 05

**Recolección, selección, secado y conservación del material vegetal.**



**Recolección de las hojas de *Musa cavendishii* Lamb. "PLÁTANO BIZCOCHITO"**



**Selección de las hojas de *Musa cavendishii* Lamb. "PLÁTANO BIZCOCHITO"**



**Secado de las hojas de *Musa cavendishii* Lamb. "PLÁTANO BIZCOCHITO"**

## ANEXO N° 06

### Clasificación taxonómica de la especie *Musa cavendishii* Lamb. "plátano bizcochito"



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS  
Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA  
VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO  
MUSEO DE HISTORIA NATURAL



"Año del Diálogo y la Reconciliación Nacional"

### CONSTANCIA N° 145-USM-2018

EL JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM) DEL MUSEO DE HISTORIA NATURAL, DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS, DEJA CONSTANCIA QUE:

La muestra vegetal (hojas y fruto) recibida de **Greis de los Milagros HERNANDEZ URIBE**, estudiante de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica, Facultad de Farmacia y Bioquímica; ha sido estudiada y clasificada como: *Musa cavendishii* Lamb. y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación de Cronquist (1988).

**DIVISIÓN:** Magnoliophyta

**CLASE:** Liliopsida

**SUBCLASE:** Zingiberidae

**ORDEN:** Zingiberales

**FAMILIA:** Musaceae

**GENERO:** Musa

**ESPECIE:** *Musa cavendishii* Lamb.

Nombre vulgar.: "plátano bizcochito"

Determinado por: Profesor Ricardo Fernández

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para fines de estudios.

Lima, 20 de abril de 2018



Mag. ASUNCIÓN A. CANO ECHEVARRIA  
JEFE DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

ACE/ddb

**ANEXO N° 07**

**Secuencia fotográfica de los ensayos realizados al extracto etanólico de las hojas de *Musa cavendishii* Lamb. “plátano bizcochito”**



**Colocación de las hojas de *Musa cavendishii* Lamb. “PLÁTANO BIZCOCHITO” en la estufa**



**Reducción de tamaño de las hojas de *Musa cavendishii* Lamb. “PLÁTANO BIZCOCHITO” mediante el uso del molino manual.**



***Pesado de las hojas molidas de Musa cavendishii Lamb.  
“PLÁTANO BIZCOCHITO”.***



***Maceración de las Hojas de las Musa cavendishii Lamb.  
“PLÁTANO BIZCOCHITO”.***

## ANEXO N° 08

### Identificación de metabolitos secundarios mediante Screening fitoquímico.

**Filtración y Evaporación del solvente para la obtención del extracto etanólico de las Hojas Musa cavendishii Lamb. "PLÁTANO BIZCOCHITO".**



**Identificación de metabolitos secundarios mediante Screening fitoquímico.**

**Determinación de Saponinas:  
Prueba de espuma**



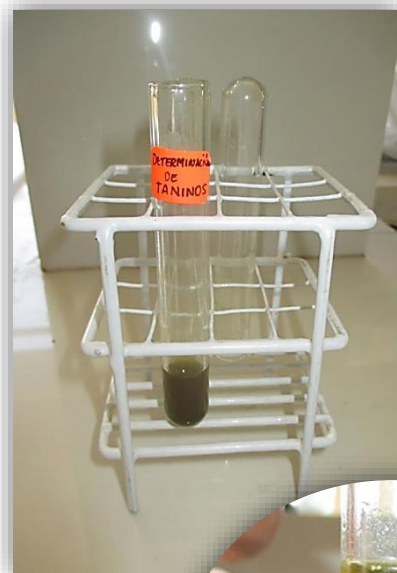
**Determinación de Flavonoides:  
Reacción de Shinoda**



**Determinación de Compuestos Fenólicos:  
Reacción de cloruro férrico ( $FeCl_3$ )**

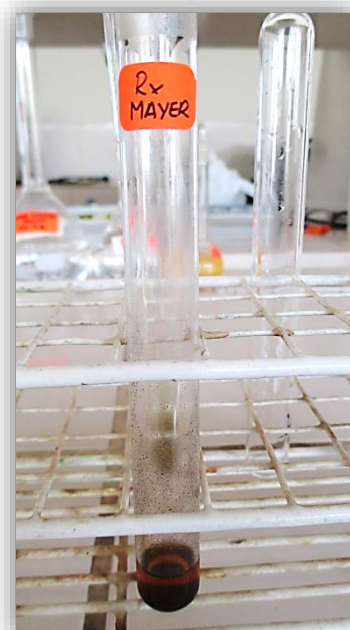


**Determinación de Taninos:  
Reacción de Gelatina**

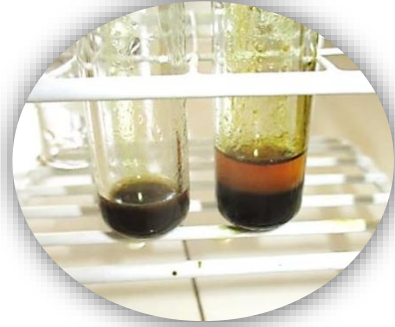


**Determinación de Alcaloides:**

- **Reacción de Dragendorff**
- **Reacción de Mayer**
- **Reacción de Hager**



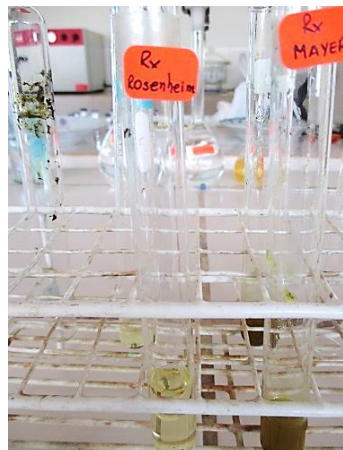
**Determinación de Quinonas:  
Reacción de Bornträger**



**Determinación de triterpenos y/o esteroides:  
Reacción de Liebermann-Burchard**



**Determinación de Leucoantocianidina y/o catequinas:**



## ANEXO N° 09

**Determinación cuantitativa del Contenido de composición fenólica y capacidad antioxidante.**

### **Determinación del contenido total de compuestos fenólicos**



**Preparación de la curva de calibración del ácido gálico.**



**Medición de la Absorbancia para la elaboración de la curva de calibración.**



**Preparación de la muestra**



**Medición de la absorbancia después de 30 minutos.**

***Determinación de la capacidad antioxidante in vitro.***

***Ensayo del DPPH según (Brand-Williams et al, 1995) con modificaciones***



***Preparación de la curva de calibración del DPPH – TROLOX.***



***Medición de la Absorbancia para la elaboración de la curva de calibración.***



***Preparación de la muestra***



***Medición de la absorbancia después de 30 minutos.***

## **Ensayo del Poder Antioxidante de Reducción Férrica (FRAP)**



**Preparación de la curva de calibración del FRAP – TROLOX.**



**Medición de la Absorbancia para la elaboración de la curva de calibración.**



***Preparación de la muestra***



***Medición de la absorbancia después de 30 minutos.***