



Universidad Nacional
SAN LUIS GONZAGA



Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
EVALUACIÓN DE ORIGINALIDAD



CONSTANCIA

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

Evaluación comparativa del estudio fitoquímico y actividad antioxidante de la corteza y hoja de *Psidium guajava* L.

Presentado por:

CORDOVA HERNANDEZ, MIRELLA KATHERIN

De la Facultad de **FARMACIA Y BIOQUÍMICA**. El resultado obtenido es **3%** por el cual se otorga el calificativo de:

APROBADO, según Reglamento de Evaluación de la Originalidad.

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

Ica, 23 de Enero de 2024

.....
Dra. JOSEFA BERTHA PARI OLARTE
DIRECTORA DE LA UNIDAD DE INVESTIGACION
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

POJB/osad

UNIVERSIDAD NACIONAL "SAN LUIS GONZAGA"

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN

Facultad de Farmacia y Bioquímica



Evaluación comparativa del estudio fitoquímico y actividad
antioxidante de la corteza y hoja de *Psidium guajava L.*

Salud pública y conservación del medio ambiente

INFORME FINAL DE TESIS

BACH. MIRELLA KATHERIN CORDOVA HERNANDEZ

Ica - Perú

2024

Dedicatoria

Esta tesis está dedicada en primer lugar a DIOS quien ha sido mi guía y me ha dado la fortaleza para salir adelante y cumplir cada uno de mis objetivos. A mi mamá Julia y a mi papá Juvencio, quienes con su amor, paciencia, esfuerzo y apoyo incondicional me han permitido cumplir una meta más. A mis hermanos Baruch Y Sebastián, quienes han sido mi mayor motivación y poder ser un gran ejemplo para ellos.

Agradecimientos

A mi Asesora la Dra. Jessica Yolanda Huarcaya Rojas, mi más grande y sincero agradecimiento, quien, a pesar de las difíciles circunstancias, me brindó su apoyo, paciencia y dedicación, durante el desarrollo de mi tesis.

A todos los docentes de mi querida Facultad de Farmacia y Bioquímica, gracias a cada uno de ustedes, por la enseñanza de sus valiosos conocimientos, apoyo y amistad.

Índice

Dedicatoria	ii
Agradecimientos	iii
Resumen	viii
Abstract	ix
I. INTRODUCCIÓN	10
Problema general.....	10
Problemas específicos	10
Antecedentes de la investigación	11
Bases teóricas	14
Radicales Libres (RL)	14
Estrés Oxidativo	15
Antioxidante.....	16
Antioxidantes endógenos	17
Antioxidantes exógenos	18
Polifenoles y su acción antioxidante	18
Métodos para la evaluación de la capacidad antioxidante total	20
<i>Psidium guajava</i> L.	21
Objetivo general.....	25
Objetivos específicos	25
II. ESTRATEGIA METODOLÓGICA	26
Tipo de investigación	26
Diseño de la investigación.....	26
Nivel de investigación.....	26
Población y muestra	26
Procedimientos	26
Tratamiento del material vegetal.....	26
Obtención del extracto etanólico por maceración	29
Screening fitoquímico	29

Determinación de grupos funcionales	29
Detección de Taninos	30
Detección de Flavonoides	30
Detección de Aminoácidos.....	30
Detección de Alcaloides	31
Detección de Saponinas	31
Determinación de la actividad antioxidante	31
Métodos para determinar la actividad Antioxidante.....	31
Análisis e Interpretación de los Resultados.....	32
Preparación del extracto	33
III. RESULTADOS	35
IV. DISCUSIÓN	41
V. CONCLUSIONES	43
VI. RECOMENDACIONES	44
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	45
VIII. ANEXOS.....	52

Índice de tablas

Tabla 1. Screening fitoquímico de los extractos de hojas y corteza de la especie.	35
Tabla 2. Valores de absorbancia y porcentaje de inhibición del radical DPPH por disoluciones del extracto de las hojas de la especie <i>Psidium guajava</i> L.	36
Tabla 3. Valores de absorbancia y porcentaje de inhibición del radical DPPH por disoluciones del extracto de la corteza de la especie <i>Psidium guajava</i> L.	37
Tabla 4. Valores de absorbancia de las disoluciones de patrón trolox para la curva de cuantificación	38
Tabla 5. Valores de absorbancia de las disoluciones del extracto etanólico de las hojas de <i>Psidium guajava</i> L. y su TEAC correspondiente	39
Tabla 6. Absorbancia y TEAC correspondiente para disoluciones del extracto etanólico de la corteza de la especie <i>Psidium guajava</i> L.....	40

Índice de figuras

Figura 1. Capacidad antioxidante. Los radicales libres tiene la capacidad de conceder un electrón y de esta manera impedir la reaccion en cadena dañina para el organismo.	15
Figura 2. Factores de riesgo que contribuyen a la producción de radicales libres.	15
Figura 3. Correlación entre los factores externos que desencadenan un aumento en la formación de radicales libres y el origen de enfermedades a consecuencias del estrés oxidativo.	16
Figura 4. Neutralización de los radicales libre mediante la transferencia de electrones.	17
Figura 5. Clasificación de los antioxidantes.....	18
Figura 6. Alimentos ricos en polifenoles	19
Figura 7. <i>Psidium guajava</i> L	23
Figura 8. Tratamiento de la muestra vegetal	28
Figura 9. Mecanismo de reacción del método DPPH	33
Figura 10. Proceso del método ABTS.....	34
Figura 11. Correlación entre la concentración del extracto y el porcentaje de inhibición	36
Figura 12. Correlación entre la concentración del extracto de la corteza y el porcentaje de inhibición.....	37
Figura 13. Curva de cuantificación del trolox para determinar la actividad antioxidante por el método ABTS.....	38
Figura 14. Curva de correlación de concentración del extracto de hojas vs equivalente de trolox, por el método ABTS	39
Figura 15. Curva de correlación de concentración del extracto de corteza vs equivalente se trolox por el método ABTS.....	40
Figura 16. Dsecación natural de las hojas y corteza de <i>Psidium Guajava</i> L.....	52
Figura 17. Maceración de la muestra hojas y tallo de <i>Psidium Guajava</i> L.....	53
Figura 18. Screening fitoquímico de la muestra vegetal	54
Figura 19. Determinación de la actividad antioxidante por el método DPPH	54
Figura 20. Determinación de la actividad antioxidante por el método ABTS	54
Figura 21. Lectura de los patrones en el espectrofotómetro.....	54
Figura 22. Certificación botánica de la especie <i>Psidium guajava</i> L.....	55

Resumen

Objetivo: Esta investigación tuvo como objetivo general determinar la relación entre el estudio fitoquímico y actividad antioxidante de la corteza y la hoja de *Psidium guajava* L.

Métodos: Se preparó un extracto etanólico por maceración por un periodo de 7 días con etanol de 96 °, el cual luego se llevó a sequedad a fin realizar un screening fitoquímico, para la determinación de los metabolitos secundarios, método propuesto por Olga Lock., así mismo para la evaluación de la actividad antioxidante se usaron los métodos DPPH en el cual se determinó el porcentaje de inhibición para hallar el correspondiente IC50; y el método ABTS, se utilizó el trolox como patrón de referencia

Resultados: El Screening fitoquímico determinó que la corteza de *Psidium guajava* L., presenta metabolitos secundarios: Taninos, flavonoides y alcaloides. Las hojas contienen: Taninos, flavonoides, triterpenos/esteroides, antraquinonas, alcaloides y lactonas sesquiterpénicas, para determinar la antioxidante de la hoja por el método DPPH presenta un IC50 de 0.572 mg/mL, el extracto de la corteza obtuvo un IC50 de 8.206 mg/mL. Para el método ABTS 1 mg de extracto de la hoja de *Psidium guajava* L. equivale a 2.84 mM de trolox, en caso de la corteza equivale a 0.357 mM de trolox.

Conclusiones: La especie *Psidium guajava* L. presenta metabolitos secundarios que se pueden relacionar con su actividad antioxidante que se encuentra en la corteza y hoja.

Palabras Claves: *Fitoquímica, Antioxidante, método DPPH, ABTS.*

Abstract

Objective: The general objective of this research was to determine the relationship between the phytochemical study and antioxidant activity of *Psidium guajava* L. bark and leaf.

Methods: An ethanolic extract was prepared by maceration for a period of 7 days with 96 ° ethanol, which was then taken to dryness in order to perform a phytochemical screening, for the determination of secondary metabolites, method proposed by Olga Lock, also for the evaluation of antioxidant activity were used the DPPH methods in which the percentage of inhibition was determined to find the corresponding IC₅₀; and the ABTS method, trolox was used as a reference standard.

Results: The phytochemical screening determined that the bark of *Psidium guajava* L. presents secondary metabolites: tannins, flavonoids and alkaloids. The leaves contain: Tannins, flavonoids, triterpenes/steroids, anthraquinones, alkaloids and sesquiterpene lactones, to determine the antioxidant of the leaf by the DPPH method presents an IC₅₀ of 0.572 mg/mL, the bark extract obtained an IC₅₀ of 8.206 mg/mL. For the ABTS method 1 mg of *Psidium guajava* L. leaf extract is equivalent to 2.84 mM trolox, in case of the bark it is equivalent to 0.357 mM trolox.

Conclusions: *Psidium guajava* L. species presents secondary metabolites that can be related to its antioxidant activity found in the bark and leaf.

Palabras clave: *Phytochemistry, Antioxidant, DPPH method,*

I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad se conocen diversas enfermedades crónicas, como la hipertensión arterial, diabetes mellitus, cáncer entre otros; a raíz de la capacidad oxidativa de los radicales libres generados en el ambiente y en nuestro organismo, estudios avalan que el uso de recursos naturales como las plantas medicinales para contrarrestar los efectos dañinos de estos radicales libres. Es así, que los antioxidantes cumplen un rol muy importante en la prevención de enfermedades para así poder conservar la salud de cada persona.

Los antioxidantes son sustancias químicas que impiden o retrasan la oxidación de distintas sustancias, principalmente de los ácidos grasos. Debido a que pueden producirse reacciones químicas tanto por alimentos como por el organismo humano, el cual puede provocar alteraciones fisiológicas desencadenando distintas enfermedades. Además, los antioxidantes facilitan el uso fisiológico del oxígeno por parte de las mitocondrias celulares, reduciendo los efectos del estrés oxidativo y la falta de oxígeno, debido a que se forman complejos que mitigan las reacciones productoras de radicales libres, estas son moléculas inestables con electrones desapareados en sus órbitas exteriores, por lo que reaccionan con otros compuestos y previenen contra enfermedades crónicas no transmisibles (1).

La *Psidium guajava L* se ha utilizado como planta ceremonial o medicinal. Sin embargo, su actividad química biológica no es tan reconocida por lo que hay escasos estudios que utilicen técnicas de análisis para poder caracterizar los componentes de esta planta medicinal, para que se utilice como agente terapéutico para diversas enfermedades crónicas no transmisibles. (2)

El estudio de Durán et al (3), El estudio evaluó los extractos metanólicos de cortezas de frutas como afectan a las membranas de los eritrocitos. Utilizando el peróxido de hidrógeno, evaluaron la capacidad anti hemolítica y la deformabilidad de la membrana de los eritrocitos en concentraciones variadas (200, 100, 50, 20µg/mL) En particular, el extracto de corteza de guayaba verde mostró una viabilidad celular en mononucleares del 85-95% en esas concentraciones. Además, este extracto redujo significativamente la hemólisis inducida por H₂O₂ en los eritrocitos, con una inhibición del 37,7% al 62% según la concentración.

Problema general

¿Cuál es la relación entre el estudio fitoquímico y actividad antioxidante de la corteza y hoja de *Psidium guajava L*?

Problemas específicos

- ¿Cuáles serán los metabolitos secundarios que se encuentran en la corteza y hoja de *Psidium guajava L*?

- ¿Cuál será la actividad antioxidante in vitro de la corteza y hoja de *Psidium guajava* L. mediante el método DPPH?
- ¿Cuál será la actividad antioxidante in vitro de la corteza y hoja de *Psidium guajava* L. mediante el método ABTS?

Antecedentes de la investigación

Luo You et al., en 2019, China, en este estudio se determinaron las Actividad antioxidantes y antidiabéticas de los polisacáridos de las hojas *Psidium guajava* L. Se aislaron los polisacáridos por el método GLP para determinar su actividad antioxidante *in vitro* y su actividad hipoglucémica en ratones con diabetes inducida por estreptozotocina con una dieta alta en grasas. Los resultados indicaron que GLP tenía una gran capacidad para eliminar radicales libres de DPPH, OH y ABTS con IC50 de 46,49 µg/mL, 175,52 µg/mL y 102,82 µg/mL, respectivamente, que eran todos más altos que los del control positivo, como el ácido ascórbico o Trolox; en los ratones inducidos con diabetes, su peso corporal disminuyó continuamente de 31,07 g a 28,36 g al ser tratados con polisacáridos en bajas dosis o altas dosis durante 2 semanas. (4)

Hartati et al, en 2020, Indonesia, realizaron una investigación para evaluar la capacidad antioxidante y su contenido fitoquímico in vitro de las hojas y frutos de la *Psidium guajava* L., por lo que se realizó el valor del índice de actividad antioxidante por el método DPPH, CUPRAC y FRAP, para así poder evaluar su contenido de fenoles totales (TPC) y flavonoides totales (TFC). La extracción fue realizada por el método de reflujo usando n-hexano, etanol y acetato de etilo. El proceso de determinación se realizó por espectrofotometría UV-Visible, la correlación del TPC y TFC con el índice de actividad antioxidante por DPPH, CUPRAC y FRAP, y los 3 métodos fueron investigados por el método de Pearson. Como resultado de la actividad antioxidante de los extractos de hojas y frutos de la *Psidium guajava* L. mostró un índice de actividad antioxidante en un rango de 0.33 - 56.46, CUPRAC 0.20 - 7.31 y FRAP 1.65 - 59.89. El TPC más alto fue el de extracto de hojas de etanol (49,55 ± 1,45 g GAE/100 g), el TFC más alto fue el extracto de hojas en n-hexano (9,68 ± 0,210 g QE/100g). El TPC del extracto de hojas tiene una correlación positiva con el índice de actividad antioxidante DPPH, CUPRAC y FRAP. En conclusión, el extracto de hojas muestra una fuerte actividad antioxidante en los tres métodos. Sin embargo, el etanol mostró ser el mejor solvente para la extracción de hojas, así como el acetato de etilo para la extracción de frutos *Psidium guajava* L. La actividad antioxidante de los extractos de hojas y frutos fueron lineales en los tres métodos realizados. (5)

Purba et al, en 2022, Tailandia, en esta investigación se realizó extractos de hojas de *Psidium guajava* L. y así poder evaluar sus perfiles fitoquímicos, sus propiedades antioxidantes, anti diabéticas y anti hemolíticas para la salud de los rumiantes. Se

realizaron extractos metanólicos y hexanoicos de distintas áreas agrícolas durante un período de 5 meses, con el método de HPLC-DAD se detectan y cuantifican: ácido ascórbico, eugenol, tanino (ácido gálico), ácidos cinámicos (ácido cafeico, ácido siríngico, p-ácido cumárico, ácido sinápico y ácido ferúlico) y flavonoides (catequina, rutina, miricetina, quercetina, apigenina y kaempferol). El tipo de solvente es el responsable de la variación observada en el perfil fitoquímico. Los fitoquímicos tienen menos concentración en los extractos hexánicos en comparación con los extractos metanólicos. Se determinó que el extracto hexánico es deficiente en la protección del daño oxidativo en los eritrocitos de rumiantes a comparación del extracto metanólico en lo que respecta la inhibición de la oxidación de la hemoglobina, la peroxidación lipídica y la hemólisis. Según los resultados de este estudio, las hojas de *Psidium guajava* L. contienen compuestos fitoquímicos con un alto potencial de bienestar en la producción de rumiantes. (6)

Peña Reyes, en 2019, Chimbote - Perú, realizó un estudio cuyo objetivo fue comparar los efectos del decocto y el extracto etanólico de hojas de *Psidium guajava* L. en el tiempo de coagulación de *Rattus rattus* var. *albinus*. Se preparó el extracto etanólico a partir de hojas secas y molidas al 30%. Se dividió a 12 ratas en tres grupos para realizar pruebas. Utilizando la técnica de Lee-White, se midió el tiempo de coagulación (Tc) in vitro tras extraer sangre de la vena cardiaca. En los ensayos, se usaron tubos con 1 mL de suero fisiológico para el control, 1 mL de EDTA para el grupo estándar, y 1 mL de extracto etanólico o decocto para los grupos experimentales. Se registró el tiempo de formación del coágulo a 37°C. Los resultados mostraron que el tiempo de coagulación con el decocto fue de 63.5 ± 0.765 min, mientras que con el extracto etanólico fue de 39.2 ± 0.455 min. Por lo tanto, se concluye que el decocto de hojas de *Psidium guajava* L. tiene un mayor efecto en prolongar el tiempo de coagulación comparado con el extracto etanólico en esta especie de ratas. (7)

Gamarra et al, en 2022, Arequipa - Perú, El estudio tuvo como objetivo comparar la cantidad de fenoles totales y la capacidad antioxidante de extractos etanólicos de hojas de *Psidium guajava* L. de cuatro ecotipos diferentes: Camaná, Moquegua, Tacna y Majes. Para ello, se prepararon extractos etanólicos de cada ecotipo y se analizaron mediante los métodos Folin-Ciocalteu y DPPH. Los resultados mostraron diferencias en la concentración de fenoles totales, con valores de 1641.19 ± 13.01 , 560.83 ± 3.22 , 244 ± 5.72 y 293.49 ± 3.30 mg EAG/L para cada ecotipo respectivamente. En cuanto a la capacidad antioxidante, los ecotipos presentaron resultados de 22.06 ± 0.14 , 3.72 ± 0.03 , 8.87 ± 0.03 y 3.99 ± 0.02 mmol ET/L, respectivamente. La conclusión de la investigación es que existe una diferencia significativa ($p < 0.05$) tanto en los fenoles totales como en la

capacidad antioxidante entre los extractos etanólicos de los distintos ecotipos de *Psidium guajava* L. estudiados. (8)

Pérez García, en 2022, Ica - Perú, esta investigación tuvo como propósito analizar fitoquímica y farmacognósticamente las hojas de *Psidium guajava* L., recolectadas cerca del lateral N°5 de la irrigación “Cabeza de Toro” en Independencia, Pisco, Ica, a una altitud de 211 msnm. En el análisis fitoquímico, utilizando la técnica de la Dra. Migdalia Miranda de la Universidad de la Habana-Cuba, se identificaron componentes activos como flavonoides, taninos, alcaloides, triterpenos, saponinas, aminoácidos y azúcares reductores, aplicando reactivos específicos para cada tipo de compuesto. El estudio farmacognóstico evaluó la calidad de la materia vegetal. Se realizaron análisis de macromorfología y características organolépticas, determinando que las hojas tienen un olor característico, color verde oscuro, superficie lisa, y dimensiones de 11,4 cm de largo y 4,7 cm de ancho. También se efectuaron pruebas fisicoquímicas, revelando una humedad relativa del 11.50%, cenizas totales del 12.52%, cenizas insolubles en ácido clorhídrico del 1.54%, cenizas solubles en agua del 2.72%, sustancias solubles en etanol del 0.87% y materias extrañas del 0.60%. (9)

Pérez Pérez et al. en 2022, Costa Rica, Esta investigación tuvo como objetivo analizar cómo las diferentes fases fenológicas afectan el contenido de sustancias antioxidantes en *Psidium guajava* L. Para ello, se estudió el 10% de las plantas de *Psidium guajava* L. del banco de germoplasma del CESID-Frutícola y Apícola-CORPOZULA. El estudio, realizado entre octubre de 2012 y septiembre de 2013, se centró en medir los niveles de fenoles totales, flavonoides totales y la capacidad antioxidante en muestras de hojas secas durante distintas fases fenológicas. La extracción de fenoles totales se realizó mediante ultrasonido, usando 0.5 g de muestra mezclada con un 80% de metanol y un 20% de agua. La cuantificación se llevó a cabo por espectrofotometría UV-VIS, utilizando ácido fáltico como estándar para fenoles totales y catequina para flavonoides totales. La capacidad antioxidante se determinó mediante el cation-radical ABTS. Para el análisis de los datos se emplearon estadísticas no paramétricas a través del programa estadístico SPSS. El estudio determinó que las plantas de *Psidium guajava* L. experimentaron tres fases fenológicas: floración, fructificación y brotación vegetativa. La fase reproductiva fue la más predominante, con un 38,99% de flores y frutos, y se observó un aumento significativo de brotes vegetativos durante la temporada de lluvias, así como una alternancia en la producción de flores y frutos. Hubo una variabilidad notable en la concentración de antioxidantes dentro de la población, siendo más alta durante la fructificación y casi nula en períodos de precipitaciones. De este modo, se concluyó que las fases fenológicas influyen en el nivel de sustancias antioxidantes en *Psidium guajava* L., destacando la fase de fructificación con la mayor cantidad de fenoles totales. Además,

se encontró una correlación entre la capacidad antioxidante y los niveles de fenoles y flavonoides totales. (10)

Vargas Bosmeadiano L., en 2018, Iquitos - Perú, realizó su investigación para poder evaluar los macrocomponentes y su capacidad antioxidante de *Psidium guajava* L. de sus frutos, siendo esta una muestra procedente del mercado Belén, donde su mayor característica fue el estado de madurez, siendo estos procesados para la obtención de la pulpa, la cual fue evaluada con análisis bromatológicos. Los resultados del análisis de la fruta fresca de *Psidium guajava* L. de la Amazonía peruana mostraron que contiene 85.08% de humedad, 13.45% de carbohidratos, 6.20% de fibra, 0.20% de grasas, 0.82% de proteínas, 0.45% de cenizas, 16.70 mg de vitamina C y aporta 58.88 Kcal de energía. En contraste, la fruta seca presentó 11.71% de humedad, 73.92% de carbohidratos, 36.60% de fibra, 2.96% de grasas, 9.19% de proteínas, 2.22% de cenizas, 50.40 mg de vitamina C y proporcionó 359.08 Kcal de energía. A partir de la pulpa seca se obtuvo un extracto etanólico con 1% de ácido fórmico. Este extracto mostró, mediante la prueba DPPH, un contenido significativo de compuestos antioxidantes: 267.988 ± 0.679 mg EAG/100 g de fenoles totales, 0.5650 ± 0.0337 mg de cianidina-3-glucosido/100 g de antocianinas, 43.80 ± 0.04 g de quercetina/100g de flavonoides y 62.816 ± 51.326 (+)-catequina/100g de taninos. En conclusión, se resaltan el alto valor nutricional de los frutos de *Psidium guajava* L. y sugieren la posibilidad de su industrialización para aprovechar al máximo sus propiedades antioxidantes. (11)

Bases teóricas

Radicales Libres (RL)

Debido a su “papel de espada de doble filo” en numerosos procesos fisiológicos y sus efectos en una amplia gama de patologías, los radicales libres han ganado la atención en el campo de la biología y la medicina. Los radicales libres que incluyen especies reactivas de oxígeno (ROS) y especies reactivas de nitrógeno (RNS), provienen tanto de fuentes endógenas como exógenas. Debido a sus características únicas, los radicales libres tienen la capacidad de afectar negativamente a biomoléculas esenciales como ácidos nucleicos, lípidos y proteínas, alterando así el estado redox intracelular normal y provocando estrés oxidativo. (SO) progreso. La diabetes mellitus, enfermedades neurodegenerativas y cardiovasculares, trastornos autoinmunes y varios tipos de cáncer se han relacionado con la superproducción de los radicales libres y el estrés oxidativo . (12)

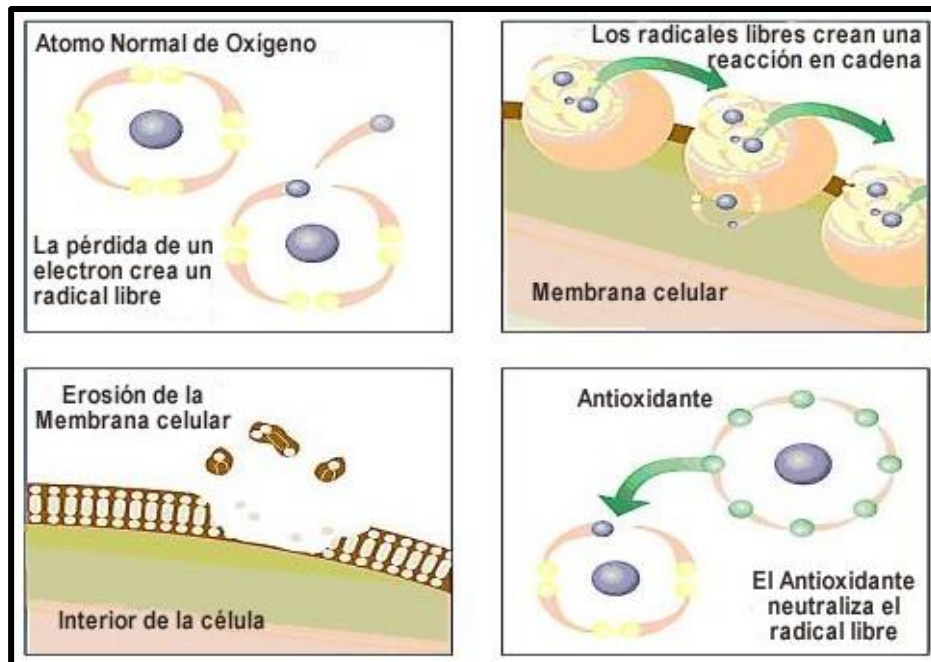


Figura 1. Capacidad antioxidante. Los radicales libres tiene la capacidad de conceder un electrón y de esta manera impedir la reacción en cadena dañina para el organismo.

Fuente: Aguirre J, 2012. (13)

Estrés Oxidativo

El aumento de la concentración de RL desbalancea la velocidad de formación y neutralización por el sistema antioxidante endógeno del organismo. lo que resulta en estrés oxidativo (EO), que puede causar graves daños celulares. (14)

Debido a que los RL pueden reaccionar químicamente con proteínas, lípidos y DNA en milisegundos, el EO es responsable de la degeneración celular. Este daño celular irreversible puede resultar en daños en los tejidos y finalmente en la muerte celular. (15)

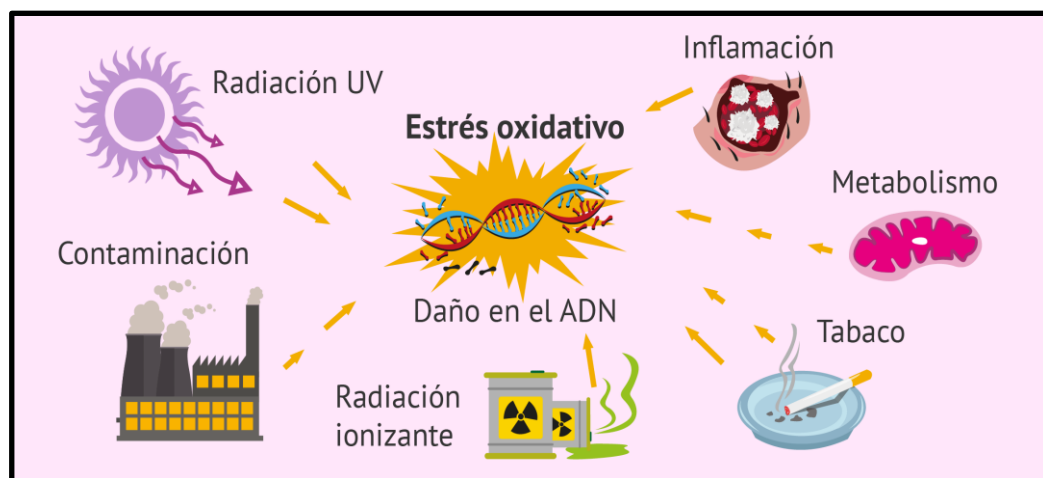


Figura 2. Factores de riesgo que contribuyen a la producción de radicales libres.

Fuente: Bechthold J, 2018. (16)

La exposición a radicales libres está directa o indirectamente asociada con una amplia gama de enfermedades crónicas degenerativas. Estas enfermedades, que incluyen Alzheimer, Parkinson, lesiones cerebrales por hipertensión, distrofia muscular, esclerosis múltiple, cáncer, cataratas, degeneración retinal, fibroplasia retrolental, enfermedades autoinmunes, artritis reumatoide, diabetes mellitus, síndrome metabólico, trastornos cardiovasculares, hipertensión, problemas renales, enfisema pulmonar, infartos, anemia, hepatitis, pancreatitis y envejecimiento (incluyendo la enfermedad de Werner que causa envejecimiento prematuro), están vinculadas al daño celular provocado por el estrés oxidativo. Esto también se relaciona con signos visibles como arrugas prematuras, resequedad cutánea, disfunción endotelial y dermatitis. (17)

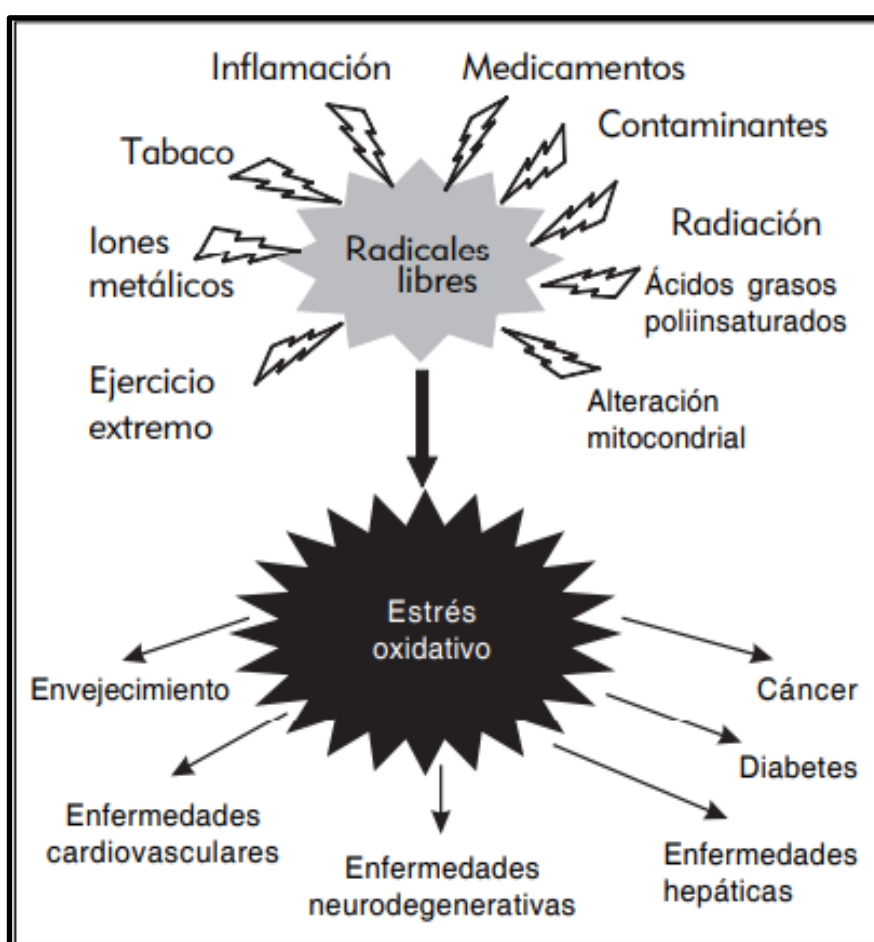


Figura 3. Correlación entre los factores externos que desencadenan un aumento en la formación de radicales libres y el origen de enfermedades a consecuencias del estrés oxidativo.

Fuente: Solano E. 2017. (18)

Antioxidante

Un antioxidante es una molécula que tiene la capacidad de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas. La oxidación es cuando los electrones de una sustancia pasan a un

agente oxidante. Las reacciones de oxidación pueden generar radicales libres, que puedan desencadenar reacciones de cadenas dañinas. Los antioxidantes se oxidan entre ellos para inhibir otras reacciones de oxidación y eliminar los intermedios del radical libre para terminar estas reacciones. Como resultado, los antioxidantes suelen ser agentes reductores como los tioles o los polifenoles. Los antioxidantes son sustancias químicas que evitan o retrasan la oxidación de un sustrato biológico oxidable cuando se encuentran en concentraciones más bajas. Los antioxidantes tienen una estructura química adecuada para reaccionar fácilmente, por lo que estos últimos pierden su reactividad y los antioxidantes se oxidan, los que los convierte en moléculas significativamente “más estables” hacia su entorno. (19)

Los antioxidantes son compuestos químicos que tienen la capacidad de reaccionar con los radicales libres y para reducir los efectos perjudiciales que pueden tener en el organismo. La dieta puede proporcionar algunos antioxidantes endógenos o los produce el cuerpo humano. La mayoría de los flavonoides tienen la capacidad de actuar como antioxidantes y reaccionar con radicales libres. (20)

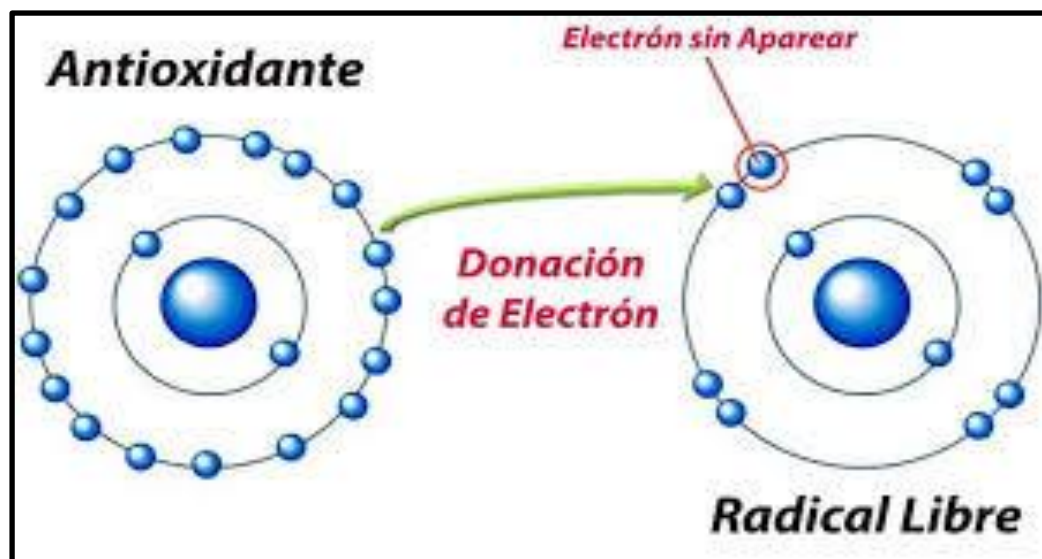


Figura 4. Neutralización de los radicales libre mediante la transferencia de electrones.
Fuente: Gimaraes A, 2016 (21).

Se clasifican en dos sistemas: antioxidantes endógenos y antioxidantes exógenos:

Antioxidantes endógenos

Son considerados como el primer sistema de defensa y los primeros que son sintetizados por el propio organismo. El superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa son antioxidantes enzimáticos y se encuentran localizados en la mitocondria y el citoplasma. Se conocen también como antioxidantes enzimáticos. (22)

Antioxidantes exógenos

Son aquellos que se adquieren a través de la dieta, compuestos por una variedad de sustancias con propiedades antioxidantes. Entre los más destacados se encuentran las vitaminas A, E y C, así como compuestos fenólicos como los flavonoides, ácido cafeico y sus derivados, ácido clorogénico y ácido rosmarínico. Además, minerales como el selenio y el zinc también forman parte de este grupo de antioxidantes. (23)

Exógenos	Endógenos No enzimáticos.
Vitamina E (VE)	Glutación. Coenzima Q
Vitamina C (VC)	Ácido tiótico.
Betacaroteno (BC)	Enzimáticos. Cofactor.
Flavonoides	Superóxidodismutasa (SOD), cobre, manganeso, zinc. Catalasa (CAT), hierro
Licopeno	Glutaciónperoxidasa (GPX) Selenio

Figura 5. Clasificación de los antioxidantes

Fuente: Mayor R, 2010. (24)

Polifenoles y su acción antioxidante

La presencia de uno o varios anillos fenólicos es una característica de una amplia gama de compuestos encontrados en la naturaleza. Estos elementos se conocen como polifenoles. Las plantas lo sintetizan en gran cantidad como resultado de metabolismo secundario. Algunos son esenciales para las funciones fisiológicas de las plantas. Otros actúan como defensa ante diversos estímulos (hídrico, luminoso, etc). Los polifenoles se dividen en varias clases y subclases según la cantidad de anillos fenólicos y los componentes estructurales que los componen. Los ácidos fenólicos (derivados del ácido hidroxibenzoico o del ácido hidroxicinámico), los estilbenos, los lignanos, los alcoholes fenólicos, y los flavonoides son los principales grupos de polifenoles.

La ruta de ácido siquímico y la ruta de los poliacetatos son las dos principales vías por las que se producen los polifenoles como resultado del metabolismo secundario de las plantas. Los aminoácidos aromáticos como la fenilalanina o la tirosina, o los ácidos cinámicos y sus derivados, como los fenoles sencillos, los ácidos fenólicos, las cumarinas,

los lignanos, y los derivados del fenilpropanol, se forman a través de la ruta del ácido siquímico. Las quinonas y las xantonas son producidas por la ruta de los poliacetatos. (25)

Los polifenoles naturales son metabolitos secundarios de plantas, verduras, cereales, frutas, café, té y otras plantas. Su extraordinaria eficacia y biocompatibilidad han despertado el interés de los investigadores para que se utilicen como componentes esenciales en alimentos funcionales, suplementos, cosméticos y medicamentos. (26, 27)

POLIFENOLES EN LOS ALIMENTOS	
Grupo	Principales Fuentes Alimentarias
<i>Antocianinas</i>	
<i>Flavonoles</i>	
<i>Flavononas</i>	
<i>Flavonoles</i>	
<i>Flavonas</i>	
<i>Isoflavonas</i>	

Figura 6. Alimentos ricos en polifenoles

Fuente: Aguilera M.2017.(28)

El anillo fenólico, un monómero fundamental, es responsable de la protección contra el daño oxidativo (29).

Al quelar el hierro y eliminar los radicales reactivos, los compuestos polifenólicos pueden controlar el estrés oxidativo y prevenir o incluso inhibir la oxidación. (30, 31)

Los polifenoles dietéticos pueden ayudar contra el cáncer, las osteoporosis, los eventos cardiovasculares a través de sus efectos hipocolesterolémicos, antitrombóticos, antihipertensivos y antiaterogénicos, disminuir y prevenir enfermedades relacionadas con

la edad y actuar como compuestos antioxidantes, antiinflamatorios y antialérgicos, diabetes y trastornos neurodegenerativos. (32)

La evidencia experimental demostró que los polifenoles protegen las partes celulares del daño oxidativo y las enfermedades degenerativas causadas por el estrés oxidativo. (33)

Los alimentos ricos en polifenoles pueden mejorar la capacidad antioxidante del plasma al eliminar especies radicales (como ROS, RNS) o reprimir la formación de radicales al inhibir las actividades de las enzimas oxidorreductoras y/o quelar los metales que impiden la producción de radicales libres. Sus grupos fenólicos pueden aceptar un electrón para formar radicales fenoxi, los que interrumpen las reacciones de oxidación en cadena, y los sistemas aromáticos conjugados pueden deslocalizar un electrón desapareado. (34)

Los polifenoles reducen la oxidación de lípidos y otras moléculas al donar hidrógeno a radicales (R). La resonancia hace que el PO· (radical fenoxi) sea relativamente estable (no se inician nuevas reacciones en cadena) y actúa como terminadores de la ruta de propagación cuando reacciona con otros radicales libres. (35)

Métodos para la evaluación de la capacidad antioxidante total

- **Capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC)**

Se evalúa utilizando un método fluorimétrico. Este proceso implica la generación de radicales peroxilo a través de la descomposición térmica de AAPH (2,2'-azobis(2-amidinopropano) dihidrocloruro). Estos radicales peroxilo buscan oxidar un sensor o marcador fluorescente, que puede ser una proteína como la ficoeritrina o un compuesto como la fluoresceína. Por otro lado, la función del antioxidante es prevenir esta oxidación. A medida que los radicales peroxilo oxidan el sensor fluorescente, se observa una disminución gradual en la fluorescencia del marcador, la cual se mide y registra con un fluorímetro. (36)

- **Poder de captación de radicales totales (TRAP)**

Para generar radicales peroxilos se utiliza un azo-iniciador, como AAPH o ABAP, y se mide el oxígeno consumido durante la reacción. Al añadir una muestra que contiene antioxidantes, se controla el consumo de oxígeno por estos compuestos. Se compara el período en el que la oxidación es inhibida por el antioxidante con una muestra estándar que contiene Trolox. Los resultados se expresan en equivalentes de Trolox (mmol de peroxilo capturado por molécula de Trolox/L de plasma). Esta prueba se puede llevar a cabo en plasma, suero o sangre. (37)

- **Capacidad antioxidante de equivalentes al Trolox (TEAC)**

El ensayo TEAC (Capacidad de Absorción de Radicales Trolox) utiliza una técnica espectrofotométrica fundamentada en la capacidad de los antioxidantes para inhibir la absorbancia del catión radical ABTS (2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-

sulfonato)). Este compuesto es un cromóforo de color azul-verde y estable, que se caracteriza por un espectro de absorción de longitud de onda larga distintivo. (38)

- **Capacidad antioxidante para Reducir el ion Férrico (FRAP)**

El ensayo FRAP es un método espectrofotométrico diseñado para evaluar la capacidad antioxidante. Funciona midiendo la transformación de un complejo de hierro férrico incoloro y TPTZ (2, 4, 6-tripiridil-s-triazina), un cromógeno, a un complejo ferroso de color azul verdoso. Esto ocurre gracias a la acción de antioxidantes en un medio ácido. El método es efectivo para medir diferentes antioxidantes no enzimáticos, como la vitamina C y el ácido úrico, pero no es adecuado para antioxidantes que contienen grupos SH como el glutatión, ácido lipóico y ciertos aminoácidos, los cuales no reducen efectivamente el hierro férrico a ferroso. Sin embargo, el ensayo FRAP puede aplicarse a muestras de saliva, suero, plasma, orina u otros fluidos biológicos. (39)

- **Método DPPH**

Este método nos facilita medir la actividad antioxidante de diferentes sustancias contra el radical libre estable 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), que se encuentra en una solución metanólica de color violeta intenso. A medida que se añaden muestras con antioxidantes, el color violeta se atenúa(40). La disminución de la absorbancia del radical DPPH se monitorea en su longitud de onda característica durante la reacción. El radical DPPH, que originalmente absorbe a 515 nm, muestra una reducción en la absorbancia cuando es neutralizado por un antioxidante. (41)

El radical libre DPPH, caracterizado por un electrón desapareado, muestra una absorbancia máxima a 515 nm y se presenta con un color violeta. Durante la reacción, este color cambia hacia un naranja pálido, lo que indica que el electrón desapareado del DPPH se ha emparejado con un hidrógeno procedente de un antioxidante, resultando en la forma reducida DPPH-H. (42). La eficacia de una muestra en capturar radicales DPPH varía en función de la cantidad de principio activo que contenga. Este proceso se refleja en la disminución de la absorbancia a lo largo del tiempo, mostrando la reducción en la concentración del DPPH-H. (43) La estequiometría de la reacción del DPPH es similar a la de antioxidantes convencionales como el ácido L-ascórbico o el Trolox, permitiendo así que los resultados se expresen en términos equivalentes a estos estándares. (44)

***Psidium guajava* L.**

Sinonimia botánica

Guaiava pyriformis Gaertn.; Guajava pyrifera (L.) Kuntze; Myrtus guajava (L.) Kuntze y su variante pyrifera; *Psidium guajava* en sus variantes cujavillum (Burman) Krug &

Urban ex Urban y pyriferu (L.) Kuntze; *Psidium guava* Griseb.; *Psidium guayava* Raddi; *Psidium igatemyensis* Barb. Rodr.; *Psidium pomiferum* L.; variantes de *Psidium pumilum*, como *guadalupense* DC. y Vahl.; *Psidium pyriferum* L.; *Psidium sapidissimum* Jacq.(45).

Sinonimia común

Guayabo; Guayaba perulera (Rep. Mex.); Guayabo de venado (Col.); Guayaba manzana (Tab.); Jalocote, Xalácotl, Chalxócotl (l. náhuatl). (45)

Clasificación sistemática

DIVISIÓN: FANEROGAMAS

CLASE: EQUISETOPSIDA

SUBCLASE: MAGNOLIIDAE

SUPER ORDEN: ROSANAE

ORDEN: MYRTALES

FAMILIA: MYRTACEAE

GÉNERO: *Psidium*

ESPECIE: *Psidium guajava* L.

Descripción botánica

Árbol que puede llegar a medir de 2 a 10 metros, con hojas oblongas o elípticas, apiculadas de un largo de 4 a 12 cm con 3 a 4 de ancho, con nerviaciones prominentes y glándulas transparentes. Con flores blancas, axilares y grandes. Sus frutos son bayas aromáticas carnosas, con un cáliz persistente en el ápice, piriformes o globosas, con gran cantidad de semillas duras en la pulpa. (46)



Figura 7. *Psidium guajava* L.

Fuente: Vives P, 2016. (47)

Origen y distribución

Nativa de la región tropical de América, esta planta es popular por su consumo tanto en estado fresco como en productos procesados tales como jugos, mermeladas, conservas y pulpas. En Venezuela, particularmente en la planicie de Maraciba, se cultiva exitosamente en más de 4,000 hectáreas, beneficiándose de condiciones agroecológicas óptimas que favorecen una producción tradicional. (48)

Historia

Los cultivos del guayabo o guayaba se extendieron en distintas regiones del mundo, donde desde el año 1526 era común en las Indias Occidentales como la Antillas y las Bahamas. Donde los colonizadores españoles lo transportaron a las Islas Filipinas a través del Océano Pacífico para que después los portugueses lo introdujeran a principios del siglo XVII en las Indias orientales siendo esto en el sudeste y sur de Asia donde rápidamente se introdujo como cultivo. El primer cultivo comercial fue en la Florida, sitio de entrada a los Estados Unidos, plantado posiblemente en 1912. (49)

Parte utilizada: Hojas y corteza

Composición química

Las hojas contienen taninos, fenoles, flavonoides, triterpenos, esteroides, saponina y compuestos aminados. Contiene un aceite esencial y diversas sustancias volátiles, además de ácido guajanoico, β -sitosterol, uvaol, ácido oleanólico y ácido 2- α -hidroxiursólico, morin-3-O- α -L-arabopiranosido, hiperina, miricetina-3-O- α -D-glucosido, quercetin-3-O- β -D-glucuronopiranosido, ácido ursólico, 1-O-galoil- α -D-glucosa.

Se ha detectado ácido ascórbico, junto con otros flavonoides, azúcares reductores y alcaloides. Se logró aislar una benzofenona inédita y un flavonol de tipo galoil-glicósido, además de identificar 5 nuevos quercetin-glicósidos. También se ha reportado el

descubrimiento de 16 nuevos flavonoides y 4 triterpenos que no se conocían anteriormente. (50)

Se ha encontrado presencia de ácido ascórbico y otros flavonoides como azúcares reductores y alcaloides. Se pudo aislar una nueva benzofenona y un flavonol de naturaleza galoil-glicósido, con 5 nuevos quercetin-glicósidos. Se ha informado el aislamiento de nuevos flavonoides 16 y de 4 nuevos triterpenos. (50)

Usos etnomedicinales

Esta planta es comúnmente utilizada para tratar afecciones gastrointestinales como diarrea, escalofríos y cólicos estomacales, a través de infusiones de sus hojas tres veces al día o como agua de uso, y se puede combinar con leche, bicarbonato, azúcar y hojas de hierbabuena. Para problemas cutáneos, las hojas, solas o en mezcla con otras hierbas, se hierven y se aplican localmente en lavados o cataplasmas. Además, se recomienda para caries, inflamaciones, problemas biliares, escarlatina, hemorragia vaginal, heridas, fiebre y deshidratación. Las hojas machacadas sirven para curar heridas, úlceras y reumatismo. Masticar las hojas puede sanar heridas bucales y, junto con hojas de *Loranthus beengewess*, *Citrus limon* y *Jatropha curcas*, se usan para tratar la diabetes mellitus como hipoglucemiante. Cocer las hojas alivia molestias de pecho y garganta. En Venezuela, la cataplasma de hojas en el abdomen trata la obstrucción del bazo e inflamaciones. Los extractos fenólicos (guaverina, ácido psidiolico, quercetina) de hojas y flores han mostrado actividad antibiótica (G-) contra *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis* y *Shigella flexneri*. La corteza se usa para cicatrizar heridas cutáneas (llagas y úlceras). El té de hojas o corteza es efectivo para trastornos gastrointestinales (disentería, dispepsia, diarrea, dolores estomacales), vértigo, náuseas y regularización menstrual. La raíz, corteza, hojas y frutos verdes son astringentes y se utilizan contra disenterías atónicas y para tratar sarna y picazón. La raíz ayuda contra la hidropesía. El fruto fresco actúa como laxante y tiene propiedades hipoglucémicas. (51)

Otros usos

Artesanal debido a su madera compacta por lo que se usa en carpintería y torneado, dando la creación a juguetes y jirones en la India, colorante para teñir seda y algodón de color negro utilizando sus hojas, comestible en conservas o fresco, en jugos, vinos y bebidas debido a su fruto, curtiente de pieles por su presencia de taninos en la hoja 10% y corteza 11 a 30% (51).

Actividad farmacológica

El extracto de las hojas de la *Psidium guajava L.* tiene actividad anticatarral a dosis de 2 a 5 g/kg en ratas y caballos respectivamente, efecto antiinflamatorio y analgésico por vía intraperitoneal a dosis de 50 - 800 mg/kg, Este compuesto muestra un efecto

hipoglucemiante en la diabetes tipo 2 a una dosis de 10 mg/kg, gracias a su capacidad para inhibir la proteína tirosin-fosfatasa 1B. Además, su extracto acuoso detiene la enzima alfa-glucosidasa in vitro, lo que ayuda a reducir el aumento de glucosa en sangre después de comer. Posee una actividad antibacteriana de amplio espectro y actúa como antioxidante tanto in vitro como in vivo. Se ha demostrado su capacidad hepatoprotectora contra la intoxicación por CCl₄ en ratas Sprague Dawley a una dosis de 200 mg/kg, efecto atribuido a la quercetina presente en las hojas. Además, esta sustancia tiene un efecto antidiarreico debido a su acción espasmolítica. (52)

Contraindicaciones y efectos secundarios

Si es que tiene alguna hipersensibilidad observada, obstrucción intestinal, estreñimiento por más de 7 días, evacuaciones diarreicas o con sangre que no tenga mejora después de 3 días. No se recomienda en menores de 8 años. Evitar su consumo en pacientes hipotensos o que han tenido trastornos en la coagulación por consecuencia del efecto vasodilatador de los flavonoides. No se debe tomar en conjunto con antibióticos del grupo farmacológico de las quinoleínas por una posible inhibición de su acción de la quercetina. (53)

Toxicidad

Los estudios histopatológicos en ratas han mostrado edema cerebral ligero, en riñones tumefacción celular ligera del epitelio tubular, degeneración vascular ligera en el hígado y el intestino delgado un escaso infiltrado inflamatorio linfo-monocitario en mucosa con escasez de eosinófilos, reflejado en grupos controles con resultados similares (54).

Objetivo general

Determinar la relación entre el estudio fitoquímico y actividad antioxidante de la corteza y hoja de *Psidium guajava* L.

Objetivos específicos

- Identificar los metabolitos secundarios que se encuentran en la corteza y hoja de *Psidium guajava* L.
- Determinar la actividad antioxidante in vitro de la corteza y hoja de *Psidium guajava* L. mediante el método DPPH.
- Determinar la actividad antioxidante in vitro de la corteza y hoja de *Psidium guajava* L. mediante el método ABTS.

II. ESTRATEGIA METODOLÓGICA

Tipo de investigación

Básica, ya que tiene como interés el por qué la existencia de un fenómeno, tratando de justificar una teoría. (55)

Diseño de la investigación

No experimental, donde un grupo de sujetos realiza una prueba de medición de la variable dependiente sin manipulación en la variable independiente. (56)

Nivel de investigación

Descriptivo, donde se da comprensión de la obtención de los análisis, es decir las operaciones usadas y los tipos de medidas para poder presentar los datos en cuestión. (57)

Comparativo, se compara entre dos o más muestras para poder estimar semejanzas y diferencias según las variables. (57)

Prospectivo, donde se trata de estimar resultados futuros donde el acontecimiento aún no se presenta. (57)

Población y muestra

- **Población vegetal:**

Psidium guajava L.

- **Muestra vegetal:**

Hojas y corteza de *Psidium guajava L.*

Procedimientos

Tratamiento del material vegetal

- **Recolección**

La recolección de la muestra de la especie vegetal *Psidium guajava L.* se realizó en un huerto familiar ubicado distrito de Pachacútec de la Ciudad de Ica. Este proceso se llevó a cabo durante las primeras horas de la mañana.

Para la recolección de la muestra se utilizaron bolsas hechas de papel Kraft facilitando el traslado de la especie al museo de Historia natural de la UNMSM para su clasificación taxonómica.

- **Clasificación Taxonómica**

- Después de recolectar la muestra (incluyendo hojas, tallo, flor y fruto), se transportó una parte a Lima, al Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Allí, la Dra. Joaquina Alban Castillo, jefa del Herbario San Marcos, llevó a cabo la clasificación taxonómica de acuerdo con el sistema de clasificación APG IV del año 2016.

- **Selección**

Una vez recolectada la muestra se seleccionaron las hojas con mejor calidad, es decir las hojas sanas, estas fueron seleccionadas en papel Kraft, para protegerlas y evitar cualquier tipo de contaminación.

- **Limpieza**

La limpieza de la muestra (hojas y corteza) se realizó en las instalaciones del laboratorio de Farmacognosia de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica, en donde en primer lugar se utilizó agua de caño para retirar el polvo y cualquier otro tipo de impurezas propias del huerto, luego se procedió a limpiar con agua destilada.

- **Secado**

El proceso de desecación fue un proceso a temperatura ambiente bajo sombra, la muestra se colocó sobre láminas de papel Kraft durante un periodo de 15 días, durante este tiempo de secado la muestra se fue moviendo para finalmente obtener un secado uniforme. El secado se realizó de manera natural para evitar que la concentración de los principios activos de nuestro interés no sufra ningún tipo de alteración.

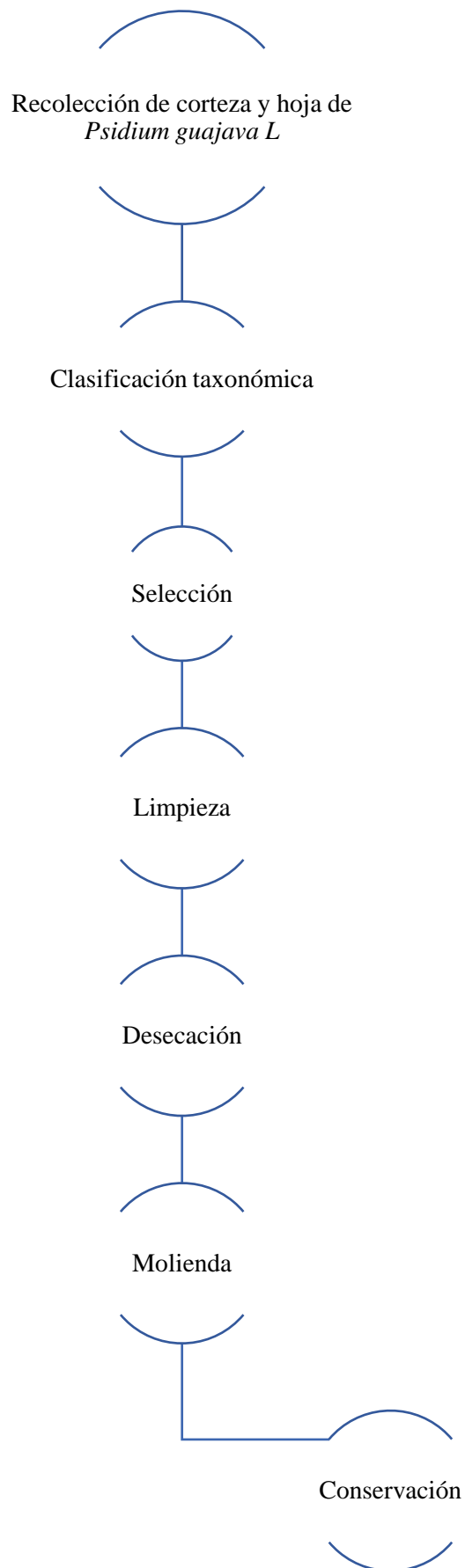
- **Molienda**

El proceso de molienda se realizó cuando se encontrara completamente seca, se procedió a moler tanto las hojas como la corteza de nuestra especie, utilizando un molino analítico, este proceso es sumamente importante para luego proceder con el proceso de maceración de nuestra muestra.

- **Conservación**

Para su mejor conservación se colocó la muestra en un frasco de color ámbar con tapa, indicando la fecha de almacenamiento.

Figura 8. Tratamiento de la muestra vegetal



Obtención del extracto etanólico por maceración

10 g de hojas secas y molidas, así como de la corteza fueron tratadas con 60 mL de Etanol 96° macerándose por 7 días, con agitación diaria, luego se filtra, renovando el solvente y dejando el marco macerando por espacio de 7 días más. Los filtrados se reúnen y son evaporados al vacío en un evaporador rotatorio a 40°C. Se obtuvo aproximadamente 27g de extracto etanólico seco de color verde oscuro para el caso de las hojas y 2,3 g de extracto etanólico seco de color pardo amarillento en el caso de la corteza. (58, 59)

Screening fitoquímico

Con el objetivo de identificar los grupos de metabolitos secundarios presentes en los extractos, se realizó un screening fitoquímico con 2 g de los extractos etanólicos secos, considerando la extracción por solventes de diferentes polaridades, de los que se obtuvieron 5 fracciones en cada caso, en las que se realizaron reacciones de coloración y/o precipitación para realizar la identificación de los grupos de metabolitos secundarios. (58, 59)

Determinación de grupos funcionales.

Obtención de Fracciones

Procedimiento

Se procesaron 10 g de hojas secas y molidas y de corteza con 60 mL de etanol al 96%, dejándolos macerar durante 7 días con agitación diaria. Posteriormente, se filtró la mezcla y se renovó el solvente, continuando la maceración por otros 7 días. Los filtrados obtenidos se combinaron y se evaporaron en un evaporador rotatorio a 40°C bajo vacío. Como resultado, se produjeron aproximadamente 27 g de extracto etanólico seco de color verde oscuro a partir de las hojas y 2,3 g de extracto etanólico seco de color pardo amarillento de la corteza.

- Insoluble

Primero se lavó la muestra hasta alcanzar un pH neutro usando agua destilada H₂O. Después, se disolvió en diclorometano (5 ml), eliminando cualquier residuo de agua con sulfato de sodio anhidro. Finalmente, se filtró la mezcla para obtener la Fracción B.

- Solución ácida

- La mezcla fue filtrada y luego alcalinizada con amoníaco. Posteriormente, se realizó una extracción usando diclorometano (2x50 mL), lo que resultó en la obtención de distintas fases.

✓ Fase Diclorometánica

Se utilizó un volumen de 10 mL de agua destilada para lavar y luego se secó la fase de diclorometano, empleando sulfato de sodio anhidro. Después de filtrar, se obtuvo la Fracción C.

✓ **Fase Acuosa**

Se añadieron 5g de sulfato de sodio anhidro para saturar la solución, seguido de una extracción con una mezcla de diclorometano y etanol en proporción 3:2 (2x25 mL). De este proceso se obtuvieron distintas fases.

- **Fase Orgánica**

Se procedió a lavar la fase diclorometánica-etanólica con una solución de 10 mL de sulfato de sodio anhidro, reuniendo las fases acuosas. Posteriormente, se utilizó 1g de sulfato de sodio anhidro para deshidratar la fase orgánica. El filtrado resultante de este proceso constituyó la Fracción D.

- **Fase Acuosa**

Esta está compuesta por residuos de la fase orgánica, formando así la Fracción E. En estas fracciones se procedió a determinar la presencia de diferentes metabolitos.

Detección de Taninos

- **Reacción de gelatina-Sal**

Se utilizaron 3 tubos de ensayo, y se agregó 0.5 mL de extracto sobre 1 mL de NaCl 5% en el tubo N°1, al tubo N°2° se adiciono la solución de gelatina al 1%, el 1° y 2° tubo es indicativo para determinar la presencia de taninos, si ocurre en el tubo 1° el resultado sería un falso positivo.

- **Reacción de Cloruro Férrico**

Se añadieron 0.5 mL de la muestra denominada "fracción A" y una gota de FeCl₃ al 1%. La aparición de colores azul-negro, verde o azul verdoso indica un resultado positivo.

Detección de Flavonoides

- **Reacción de Shinoda**

En una placa se agregó 3 gotas de extracto de la fracción A, después se añadió limaduras de Mg y 2 gotas de HCl concentrado. La reacción resulta positiva cuando aparecen tonos de color rojo, anaranjado y violeta.

Detección de Aminoácidos

- **Reacción de Ninhidrina**

La reacción se realizó sobre tiras de papel de filtro, utilizando una pipeta capilar se colocó: a) Fracción A más reactivo de Ninhidrina al 2%. b) Blanco: Sol. etanólica más Ninhidrina al 2%. Las tiras secas de papel se colocaron a 110°C hasta darnos un color blanco. El color azul violáceo es positivo.

Detección de Alcaloides

Se utilizaron cuatro tubos de ensayo para el experimento. En cada uno, se añadieron 4 mL de extracto y 1 mL de HCl al 1%. Posteriormente, se llevaron a cabo las siguientes reacciones de precipitación:

- Con Mayer, se espera ver un precipitado blanco.
- Con Dragendorff, un precipitado de color anaranjado.
- Con Hager, un precipitado amarillo.

Detección de Saponinas

- Prueba de Espuma

Se agitó una cantidad de 2.5 mL del extracto durante 60 segundos, seguido de un período de reposo de 15 minutos. Posteriormente, se observó la formación de espuma. Para considerar el resultado como positivo, la altura de la espuma debe superar los 5 mm.

Determinación de la actividad antioxidante

Métodos para determinar la actividad Antioxidante

- Ensayo de decoloración del catión radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH)

La capacidad de los extractos para capturar radicales libres se evaluó mediante la decoloración que causan en una solución metanólica de 100mM del radical DPPH, utilizando el método propuesto por Brand-Williams con ciertas modificaciones. Se preparó una solución madre de DPPH con una concentración aproximada de 31 mg/L en metanol, verificando que su absorbancia a 517 nm estuviera entre 0,9 y 1,1 unidades. Luego, se mezclaron 2.9 mL de esta solución con 100 µL de solución de diferentes concentraciones de cada extracto.

Para el blanco del reactivo, se combinaron 2.90 mL de la solución de DPPH y 100 µL de solvente (etanol). Las muestras se incubaron a temperatura ambiente durante 30 minutos en oscuridad, tras lo cual se midió la absorbancia a 517 nm. El ensayo se realizó por triplicado y el porcentaje de inhibición del radical se calculó usando la fórmula correspondiente:

$$\% \text{ inhibición} = \frac{\text{Absorbancia (blanco)} - \text{absorbancia (muestra)}}{\text{absorbancia (blanco)}} \times 100$$

Expresando la actividad antioxidante como IC 50 que se refiere a la concentración del extracto que inhibe el 50% de la absorbancia del radical DPPH. (58, 60)

- **Ensayo de decoloración con el radical catiónico ABTS**

Se fundamenta en la cuantificación de la decoloración del radical ABTS, como consecuencia de la interacción del radical con especies donantes de ion hidrógeno o de electrones. El radical catiónico ABTS es un cromóforo que absorbe a distintas longitudes de ondas, siendo la longitud de onda de 734 más específica. El radical se genera por la reacción de oxidación del ABTS (2,2'-azino-bis-(3-etil benzotiazolin-6-sulfonato de amonio) con persulfato de potasio. se toma 1 mL y se disuelve en 70 mL del solvente (buffer fosfato de pH 7,2). La absorbancia de la solución se mide y debe ser $0,70 \pm 0.02$ unidades. Para la evaluación de la actividad antioxidante se emplearon 20 μ L de las diluciones de diferentes concentraciones de los extractos y 1,980 mL de la solución del radical ABTS. Se agito y después de 4 min de reacción a 37°C, se lee nuevamente la absorbancia y se le resta la absorbancia de referencia del reactivo. La referencia del reactivo consistió en una solución del radical ABTS con el solvente de la muestra (en este caso etanol 96°). El experimento se realizó por triplicado y los resultados se expresaron como valores TEAC (trolox equivalent antioxidant capacity) para lo cual se realiza la construcción de una curva patrón de Trolox a partir de una solución del rango de 0.5 a 0,0312 mM (58, 59).

Análisis e Interpretación de los Resultados

Cada resultado se registró en un cuaderno de trabajo designado por el autor, así mismo se puso en uso el programa Excel para la organización de tablas, asimismo se determinó el promedio mediante su desviación estándar, así como las grafica de correlación.

Preparación del extracto

- Método DPPH

Siendo este un radical orgánico estable con una coloración fuerte violeta, se puede medir por espectrofotometría a un decaimiento de absorbancia a 517 nm, sus resultados son expresados en EC₅₀ - “Concentración de antioxidante necesaria para estabilizar 50% del DPPH” (26).

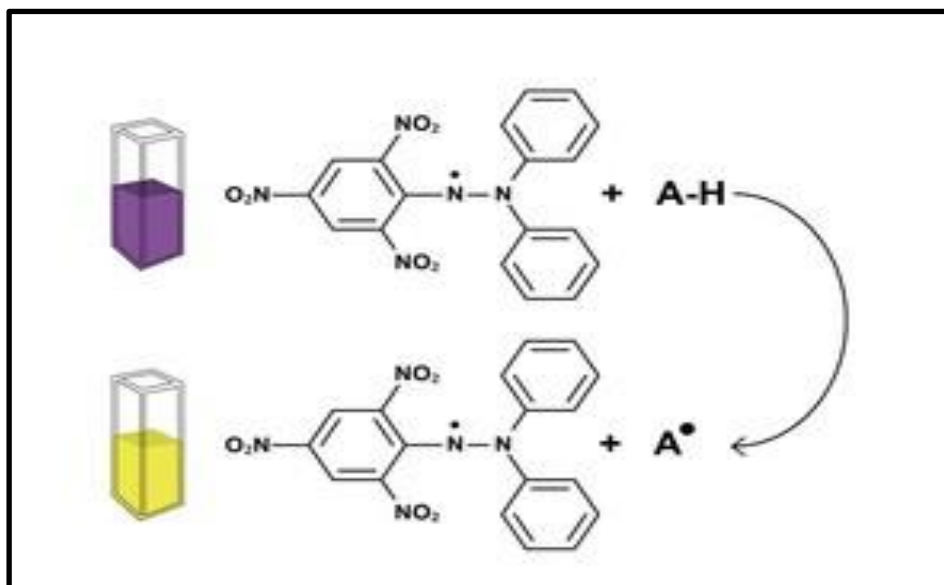


Figura 9. Mecanismo de reacción del método DPPH

Fuente: Shutterstock, 2023.

- Método ABTS

Primero se debe generar la oxidación del ABTS y para poder fundamentar su actividad antioxidante se debe estabilizar el radical catión coloreado, los resultados de este método se dan en equivalentes Trolox (55).

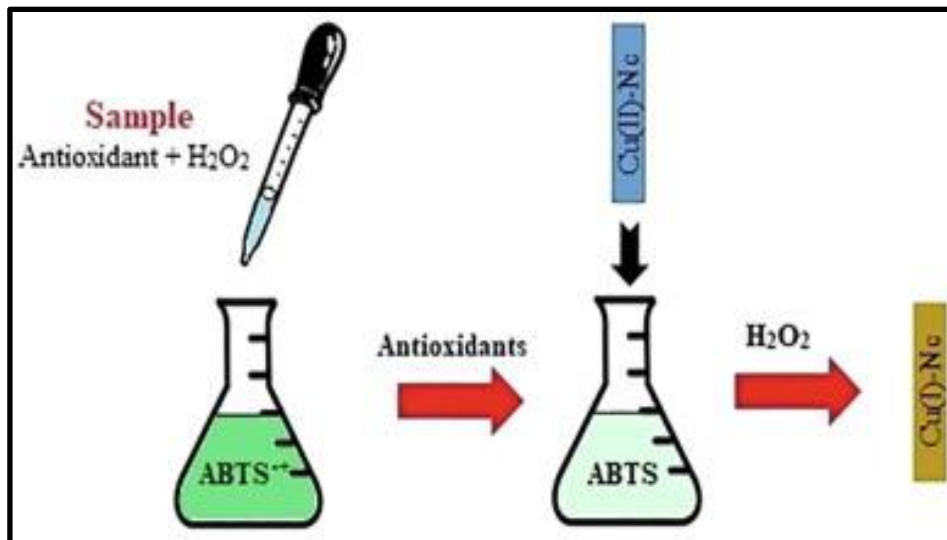


Figura 10. Proceso del método ABTS

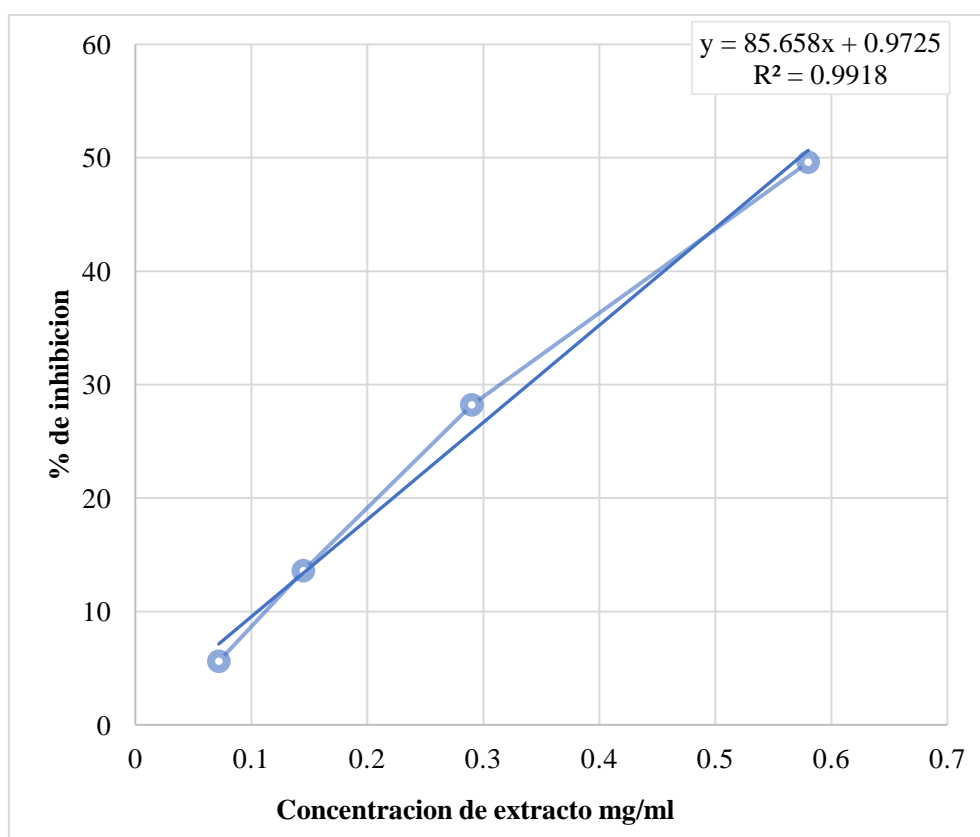
Fuente: Shutterstock, 2023.

Actividad antioxidante por el método del radical DPPH

Tabla 2. Valores de absorbancia y porcentaje de inhibición del radical DPPH por disoluciones del extracto de las hojas de la especie *Psidium guajava* L.

Extracto mg/mL	Abs 1	Abs 2	Abs Prom	%Inh
0.072	0.92	0.928	0.924	5.6
0.145	0.851	0.839	0.845	13.6
0.29	0.711	0.693	0.702	28.2
0.58	0.49	0.497	0.493	49.6
1.16	0.238	0.252	0.245	75
Blanco	0.978			

Figura 11. Correlación entre la concentración del extracto y el porcentaje de inhibición

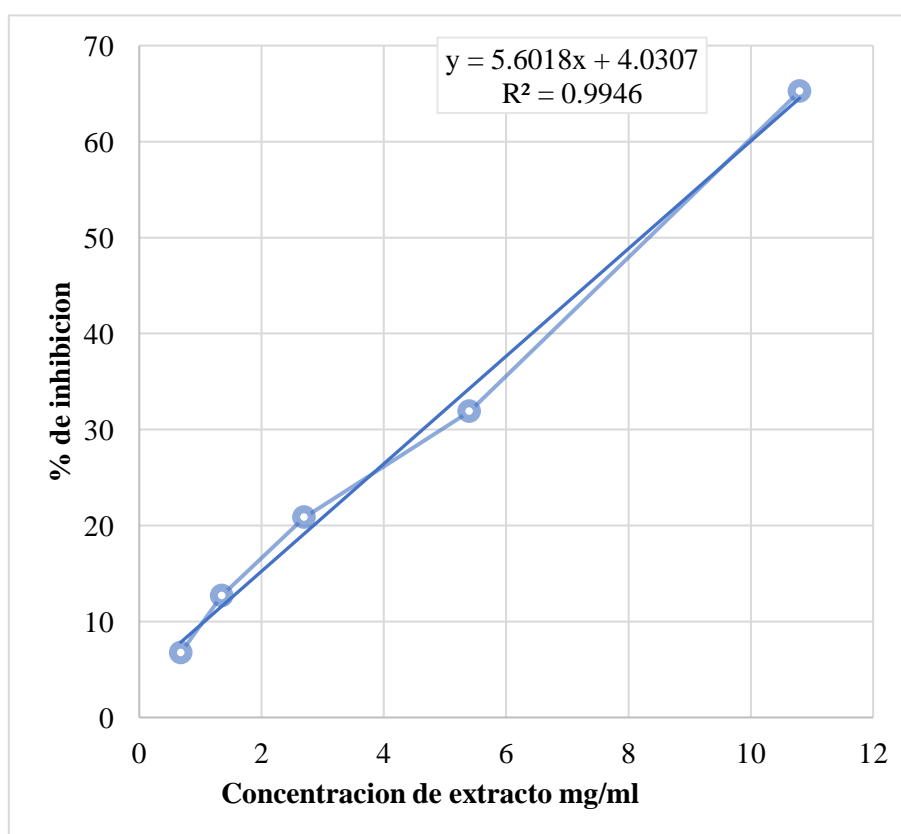


Por lo tanto: $IC_{50} = 0.572$ mg/mL de extracto de hoja

Tabla 3. Valores de absorbancia y porcentaje de inhibición del radical DPPH por disoluciones del extracto de la corteza de la especie *Psidium guajava* L.

Concentración del extracto mg/mL	Absorbancia 1	Absorbancia 2	Absorbancia Promedio	% Inhibición
0.68	0.902	0.921	0.912	6.75
1.35	0.85	0.868	0.859	12.68
2.7	0.777	0.771	0.774	20.85
5.4	0.68	0.692	0.686	31.88
10.8	0.347	0.334	0.34	65.24
Blanco	0.978			

Figura 12. Correlación entre la concentración del extracto de la corteza y el porcentaje de inhibición



Por lo tanto: IC₅₀ = 8.206 mg/mL de extracto de corteza

Actividad antioxidante por el método del radical ABTS

Tabla 4. Valores de absorbancia de las disoluciones de patrón trolox para la curva de cuantificación

Concentración trolox (mM)	Absorbancia 1	Absorbancia 2	Absorbancia Promedio	% TEAC
0.0312	0.594	0.608	0.6	0.087
0.0625	0.554	0.549	0.552	0.136
0.125	0.483	0.491	0.487	0.2
0.25	0.322	0.318	0.320	0.317
0.5	0.187	0.181	0.184	0.503
Blanco reactivo	0.687			

Figura 13. Curva de cuantificación del trolox para determinar la actividad antioxidante por el método ABTS

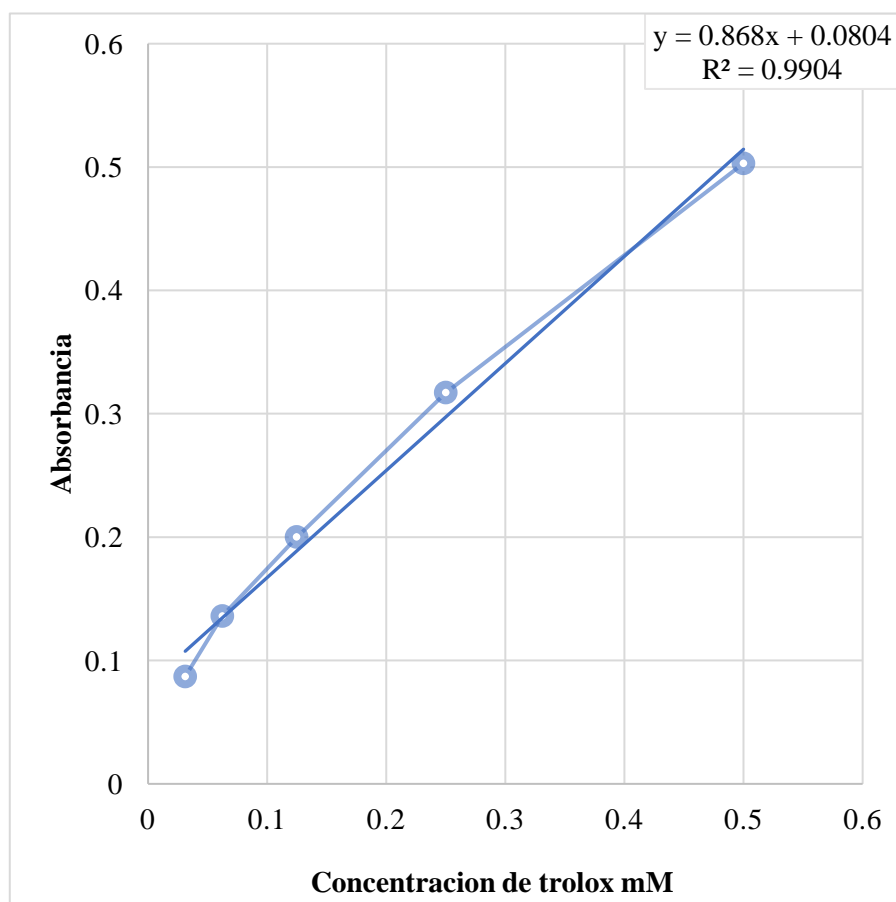
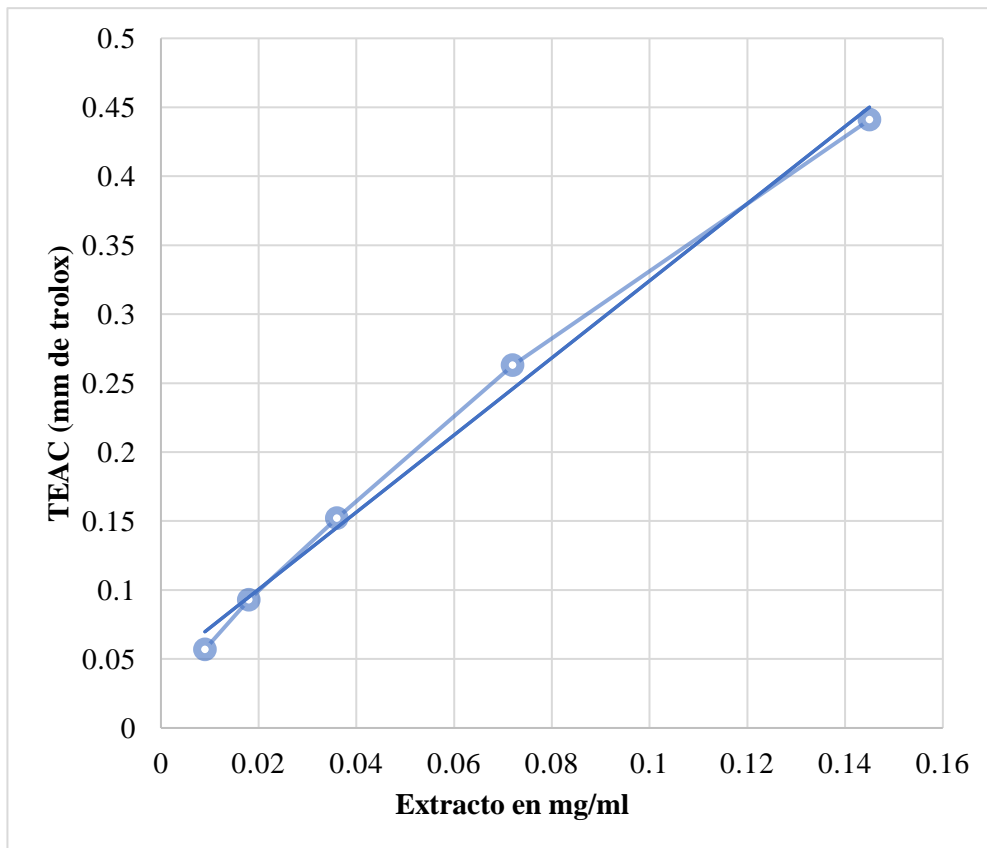


Tabla 5. Valores de absorbancia de las disoluciones del extracto etanólico de las hojas de *Psidium guajava* L. y su TEAC correspondiente

Concentración del extracto mg/mL	Absorbancia 1	Absorbancia 2	Absorbancia Promedio	Abs res.	TEAC
0.009	0.565	0.553	0.559	0.128	0.057
0.018	0.533	0.515	0.524	0.163	0.093
0.036	0.463	0.483	0.473	0.214	0.152
0.072	0.37	0.382	0.376	0.311	0.263
0.145	0.244	0.238	0.241	0.446	0.441

Figura 14. Curva de correlación de concentración del extracto de hojas vs equivalente de trolox, por el método ABTS

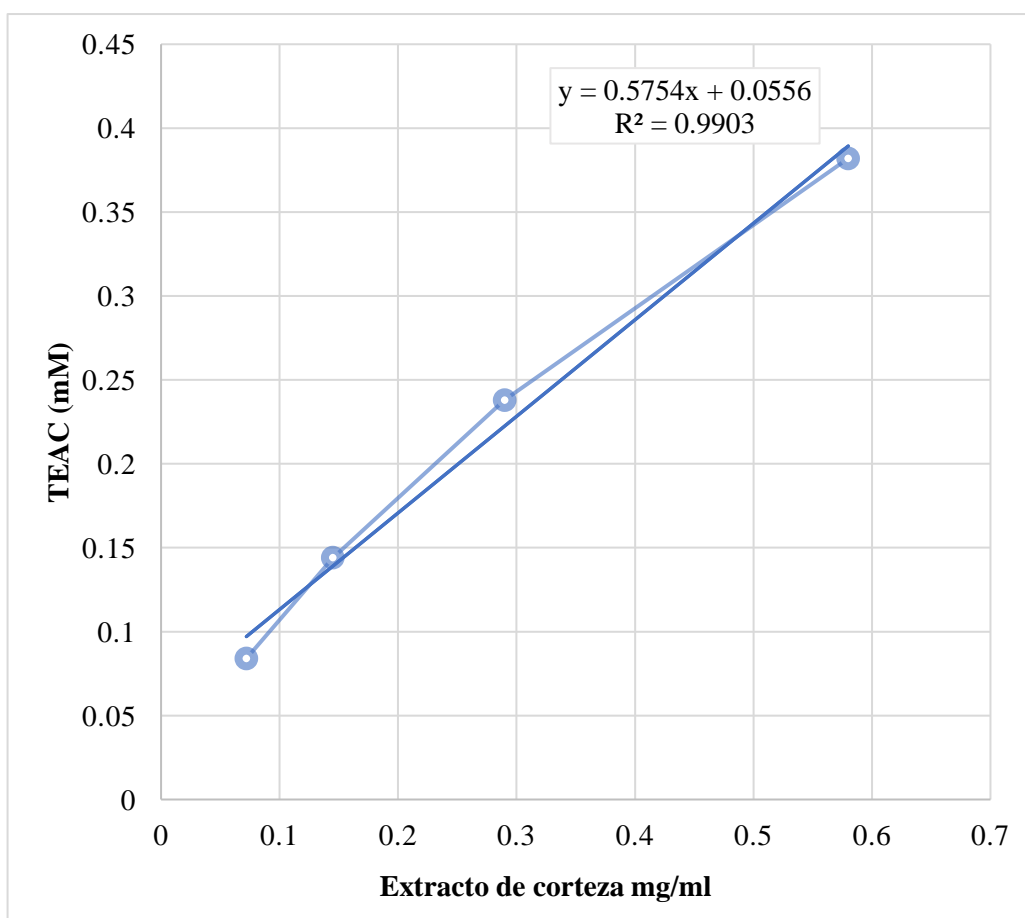


En consecuencia: 1mg de extracto equivale a 2,84 mM de trolox

Tabla 6. Absorbancia y TEAC correspondiente para disoluciones del extracto etanólico de la corteza de la especie *Psidium guajava* L.

Concentración del extracto mg/mL	Absorbancia 1	Absorbancia 2	Absorbancia Promedio	Abs res.	TEAC
0.036	0.605	0.601	0.603	0.074	0
0.072	0.528	0.536	0.532	0.145	0.084
0.145	0.483	0.472	0.48	0.207	0.144
0.29	0.386	0.381	0.381	0.309	0.238
0.58	0.274	0.288	0.281	0.4	0.372

Figura 15. Curva de correlación de concentración del extracto de corteza vs equivalente se trolox por el método ABTS



Por lo tanto: 1mg de extracto de corteza es equivalente a 0.357 mM de trolox

IV. DISCUSIÓN

Pérez García, en 2022, Ica - Perú, realizó una investigación para determinar los análisis fitoquímicos y farmacognósticos de las hojas de *Psidium guajava* L. En su tamizaje fitoquímico, se identificaron diversos principios activos: Flavonoides, Taninos, Alcaloides, Triterpenos, Saponinas, Aminoácidos y Azúcares reductores. Para ello se utilizó la técnica de la Dra. Migdalia Miranda de la Universidad de la Habana-Cuba. Empleando reactivos de coloración y/o precipitación, mientras que en la investigación realizada empleando el método de Olga Lock, se determinó que la corteza de *Psidium guajava* L., presenta metabolitos secundarios: Taninos, flavonoides y alcaloides. Las hojas contienen: Taninos, flavonoides, triterpenos/esteroides, antraquinonas, alcaloides y lactonas sesquiterpénicas. Por ambos métodos se identificaron metabolitos secundarios. Taninos, flavonoides, alcaloides y triterpenos y/o esteroides.

Luo You et al., en 2019, China, en este estudio se determinaron las Actividad antioxidantes y antidiabéticas de los polisacáridos de las hojas *Psidium guajava* L. Los resultados indicaron que GLP tenía una gran capacidad para eliminar radicales libres de DPPH, OH y ABTS con IC50 de 46,49 µg/mL, 175,52 µg/mL y 102,82 µg/mL, respectivamente, que eran todos más altos que los del control positivo, como el ácido ascórbico o Trolox; mientras en nuestro estudio se empleó el método de DPPH, el extracto etanólico de la hoja de *Psidium guajava* L., presentó actividad antioxidante expresada como IC50 de 0.572 mg/mL el extracto de la corteza obtuvo un IC50 de 8.206 mg/mL. Por el método ABTS 1 mg de extracto de la hoja de *Psidium guajava* L. equivale a 2.84 mM de trolox, en caso de la corteza equivale a 0.357 mM de trolox. La diferencia entre los valores obtenidos por cada investigador podría deberse al método de extracción de los compuestos antioxidantes y las condiciones externas a las que fue sometida la planta hasta el momento del secado otros factores importantes como la ubicación geográfica, condiciones agronómicas, condiciones ambientales, estado de madurez, tiempo de la cosecha, condiciones de almacenamiento, entre otros. (56)

(Skrovankova, Sumczynski, Mlcek, Jurikova, & Sochor, 2015; El Kashef et al., 2018).

Según resultados se puede determinar que hay una relación significativa entre el estudio fitoquímico y la actividad antioxidante, debido a la presencia de polifenoles.

Las frutas como alimentos son fuente potencial de antioxidantes y aportan nutrientes como agua, carbohidratos, minerales y vitaminas necesarios en la dieta.

Los metabolitos secundarios se encuentran distribuidos en toda la planta, en caso de guayaba, se consume el fruto por su gran valor nutricional, es necesario realizar investigaciones a otros órganos de la planta, en la investigación se consideró evaluar la corteza y hoja, así como identificar los compuestos bioactivos, podemos afirmar que la hoja posee mayor actividad antioxidante que la corteza, sin embargo se requería hacer

más estudios con la finalidad de obtener un panorama amplio de las bondades terapéuticas que posee *Psidium guajava* L.

V. CONCLUSIONES

1. Se determinó que existe relación entre el estudio fitoquímico y la actividad antioxidante de la corteza y hoja de *Psidium guajava* L.
2. El Screening fitoquímico determinó que la corteza de *Psidium guajava* L., presenta metabolitos secundarios: Taninos, flavonoides y alcaloides. Las hojas contienen: Taninos, flavonoides, triterpenos/esteroides, antraquinonas, alcaloides y lactonas sesquiterpénicas.
3. Por el Método de DPPH el extracto etanólico de la hoja de *Psidium guajava* L., presentó actividad antioxidante expresada como IC50 de 0.572 mg/mL el extracto de la corteza obtuvo un IC50 de 8.206 mg/mL.
4. Por el Método ABTS 1 mg de extracto de la hoja de *Psidium guajava* L. equivale a 2.84 mM de trolox, en caso de la corteza equivale a 0.357 mM de trolox.

VI. RECOMENDACIONES

1. Continuar las investigaciones de la especie *Psidium guajava* L., por poseer principios activos con propiedades medicinales.
2. Determinar la actividad antioxidante empleando otros métodos: FRAP, ORAC, TRAP.
3. Investigar otras propiedades terapéuticas empleando métodos farmacológicos
4. Determinar la toxicidad subaguda para determinar posibles efectos adversos.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Zamora S JD. ANTIOXIDANTES: MICRONUTRIENTES EN LUCHA POR LA SALUD. Revista chilena de nutrición [Internet]. 2007 [citado 11 Febrero 2023];34(1). Recuperado a partir de: https://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0717-75182007000100002
2. Pérez-Pérez L. Caracterización de compuestos bioactivos en hojas de guayaba (*Psidium guajava*) como un potencial de valor agregado en botánicos tropicales. Uprmedu [Internet]. 2021 [citado 11 Febrero 2023]; Recuperado a partir de: <https://scholar.uprm.edu/handle/20.500.11801/1301#:~:text=La%20actividad%20antioxidante%20promedio%20encontrada,TE%20en%20la%20fase%20metan%C3%B3lica.>
3. Durán M, Montero P, Marrugo Y. EXTRACTOS METANÓLICOS DE CORTEZA DE GUAYABA (*Psidium guajava* L.) Y MANGO (*Mangifera indica* L.): EFECTO CITOTÓXICO, ANTIHEMOLÍTICO Y EN LA MORFOLOGÍA DE MEMBRANA DE ERITROCITOS. Scielo [Internet]. 2013 [citado 11 Febrero 2023]; Recuperado a partir de: <http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v16n2/v16n2a06.pdf>
4. Luo, You et al. Antioxidant and Anti-Diabetic Activities of Polysaccharides from Guava Leaves [Internet]. PubMed. 2019 [Citado 7 de febrero de 2023] Recuperado a partir de: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30959759/>
5. Martínez MJ, López M, Badell Betancourt J, Barceló Pérez H, Montes ME, Regó R. Estudio toxicológico preclínico de la *Psidium guajava* L. (guayaba). Revista Cubana de Plantas Medicinales [Internet]. 2023 [citado 16 Julio 2023]; Recuperado a partir de: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962001000200005
6. Hartati R, Nadifan H, Fidrianny, I. Crystal Guava (*Psidium guajava* L. "Crystal"): Evaluation of In Vitro Antioxidant Capacities and Phytochemical Content. PubMed [Internet]. 2020 [Citado 7 de febrero de 2023]. Recuperado a partir de: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32952456/>
7. Purba, R. A. P., Paengkoum, P. Farang (*Psidium guajava* L.) Dried Leaf Extracts: Phytochemical Profiles, Antioxidant, Anti-Diabetic, and Anti-Hemolytic Properties for Ruminant Health and Production. [Internet]. 2022. [Citado 7 de febrero de 2023]; 27(24), 8987. Recuperado a partir de: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/36558117/>
8. Peña Reyes ES. Efecto comparativo del decocto y el extracto etanólico de las hojas de *Psidium guajava* L. (guayaba) sobre el tiempo de coagulación en *rattus rattus var. albinus* [Tesis en Internet]. [Chimbote]: Universidad Católica los Ángeles Chimbote;

- 2019 [Citado 7 de febrero de 2023]. Recuperado a partir de: http://repositorio.uladech.edu.pe/bitstream/handle/20.500.13032/14989/COMPARATIVO_DECOCTO_PENA_REYES_EVILYN_SILVIA.pdf?sequence=1&isAllowed=y
9. Gamarra Panca JA, Panca Arapa de Gamarra LR. Comparación de fenoles totales y capacidad antioxidante de extractos de hojas de cuatro ecotipos de *Psidium guajava* L. (Guayaba), Arequipa-2021 [Tesis de Internet]. [Arequipa]: Universidad Privada Autónoma del Sur; 2022 [Citado 7 de febrero de 2023]. Recuperado a partir de: <http://bolsa-trabajo.upads.edu.pe/bitstream/handle/UPADS/311/TESIS%20GAMARRA%20PANCA%20JIMENA%20ALEJANDRA%20%20PANCA%20ARAPA%20DE%20GAMARRA%20LUCY%20RUTH.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
 10. Matos Charmelo, M. Tipos de investigación. UNIVERSIDAD NACIONAL EXPERIMENTAL SIMÓN RODRÍGUEZ NÚCLEO VALLE DE LA PASCUA TIPOS DE INVESTIGACIÓN [Internet]. [Citado 8 de agosto de 2023]. Recuperado a partir de: <http://planmaestroinv.udistrital.edu.co/documentos/PMICI-UD/Documentos%20PMICI-UD/Investigaci%C3%B3n/tipos%20de%20investigacion.pdf>
 11. Matos Charmelo, M. Tipos de investigación. UNIVERSIDAD NACIONAL EXPERIMENTAL SIMÓN RODRÍGUEZ NÚCLEO VALLE DE LA PASCUA TIPOS DE INVESTIGACIÓN [Internet]. [Citado 8 de agosto de 2023]. Recuperado a partir de: <http://planmaestroinv.udistrital.edu.co/documentos/PMICI-UD/Documentos%20PMICI-UD/Investigaci%C3%B3n/tipos%20de%20investigacion.pdf>
 12. Tvrda, E., & Benko, F. (2020). Radicales libres: qué son y qué hacen: what they are and what they do. Pathology: Oxidative Stress and Dietary Antioxidants, 3–13. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815972-9.00001-9>
 13. Aguirre J. Zugasti A. Belmares R. Aguilar C. Toledo. Actividad Antioxidante de algunas plantas tropicales, Subtropicales y semidesérticas. [Internet].2012. [Citado el 12 de diciembre del 2023]. Disponible en: https://www.researchgate.net/figure/Figura-1-Accion-antioxidante-Los-antioxidantes-poseen-la-capacidad-para-donar-un_fig1_236168937.
 14. VENEREO, G.J.R., Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes, Revista Cubana Medico Militar. 31(2), 126- 133, 2002
 15. TURRENS, F.J., Mitochondrial formation of reactive oxygen species, Journal Physiology. 552(2), 335-344, 2003.

16. Bechthold J, Barranguero M, Masid M, Salvador Z. Los espermatozoides y el estrés oxidativo [Internet]. 2018 [citado el 10 de diciembre del 2023]. Disponible en: <https://www.reproduccionasistida.org/la-cantidad-y-calidad-de-los-espermatozoides-puede-aumentar-al-tomar-antioxidantes/espermatozoides-y-estres-oxidativo/>
17. (Halliwell, 1996; Markesbery, 1997; Zalba, et al., 2002; Málaga y Ordoñez, 2006; Uttara, et al., 2009, Roerts y Sindhu, 2009). Sistema antioxidante y la terapia antioxidante.
18. Solano E. Modelo de digestión gastrointestinal In vitro para la obtención de fracciones peptídicas antioxidantes y quelantes de metales a partir de las semillas de *Erythrina edulis* [Internet]. 2017.[Citado el 05 de diciembre del 2023]. Disponible en:https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/8225/Solano_a_e.pdf?sequence=3
19. Speisky H. Antioxidantes fundamentales para la Salud.Editorial Indualimentos Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos de la Universidad de Chile, 2006
20. Paredes G. Alimentos funcionales: Flavonoides e Isoflavonas. Artículo de conferencia magistral.Universidad Peruana Unión, 2007.
21. Alessandra G. Estudio de compuestos bioactivos de las hojas de *Byrsonima Crassifolia* e *Inga Edulis*, con fines de purificación e identificación. [Internet].2016. [Citado el 14 de diciembre del 2023]. Disponible en: <https://ppgcta.propesp.ufpa.br/ARQUIVOS/dissertacoes/2016/ALESSANDRA%20SOBRINHO.pdf>
22. Victoria Tinoco L, Castro Luna AJ. Polifenoles, flavonoides y actividad antioxidante, anticlagenasa, antieslatasa in vitro del extracto hidroalcohólico de tallos y hojas de *Krapfia weberbaueri*(Ubrl.)Standl.& JF.Macbr “Rima Rima”[Tesis de pregrado].Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2022. Recuperado a partir de: https://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12672/18887/Victoria_tl.pdf?sequence=1&isAllowed=y
23. Janampa Gonzáles C. Alfaro Cruz S. Antioxidantes en los alimentos [Internet] Lima Perú:Editorial UNAB: Universidad Nacional de Barranca, 2017[revisado 2017, citado el 05 de Octubre de 2023. Disponible en: https://repositorio.unab.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12935/17/NC_Antiox_Nicodemo.pdf?sequence=1&isAllowed=y
24. Mayor R. Estrés oxidativo y sistema de defensa antioxidante. [Internet].2010. [Citado el 08 de diciembre del 2023]. Disponible en:

http://scielo.iics.una.py/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1996-36962010000200005

25. Quiñones M., Miguel M., Aleixandre A.. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutr. Hosp.* [Internet]. 2012 Feb [citado 2023 Oct 05] ; 27(1): 76-89. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112012000100009&Ing=es.
26. Schroeter H, Heiss C, Balzer J, Kleinbongard P, Keen CL, Hollenberg NK, Sies H, Kwik-Urbe C, Schmitz HH, Kelm M. (-)-Epicatequina media los efectos beneficiosos del cacao rico en flavanol sobre la función vascular. *Proc Natl Acad Sci EE.UU.* 2006; 103: 1024-1029.
27. Pérez-Vizcaíno F, Duarte J, Jiménez R, Santos-Buelga C, Osuna A. Efectos antihipertensivos del flavonoide quercetina. *Representante de Pharmacol* 2009; 61: 67-75.
28. Aguilera M. Anemia Ferropénica en los ancianos [Internet].2017. [Citado el 07 de diciembre del 2023]. Disponible en: <https://mdcga2006.blogspot.com/2017/05/caso-clinico-unidad-4.html>
29. Bravo L. Polifenoles: química, fuentes dietéticas, metabolismo e importancia nutricional. *NutrRev* 1998; 56: 317-333
30. VL único. Tóxicos alimentarios de origen natural: sustancias fenólicas de origen vegetal habituales en los alimentos. *Adv Food Res* 1981; 27: 149-242
31. Martínez-Flórez S, González-Gallego J, Culebras JM, Tuñón MJ. Flavonoides: propiedades y acción antioxidante. *NutrHosp* 2002; 17: 271-278
32. Manach C, Scalbert A, Morand C, Rémésy C, Jiménez L. Polifenoles: fuentes alimentarias y biodisponibilidad. *Soy J Clin Nutr* 2004; 79: 727-747
33. Li HF, Chen SA, Wu SN. Evidencia del efecto estimulante del resveratrol sobre la corriente de K⁺ activada por Ca (2⁺) en las células endoteliales vasculares. *Cardiovasc Res* 2000; 45: 1035-1045.
34. McKenna E, Smith JS, Coll KE, Mazack EK, Mayer EJ, Antanavage J, Wiedmann RT, Johnson RG Jr. Disociación de la regulación del fosfolambán del retículo sarcoplásmico cardíaco Ca²⁺ATPasa por la quercetina. *J Biol Chem* 1996; 271: 24517- 24525.
35. Dini, I.; Grumetto, L. Avances recientes en la investigación de polifenoles naturales. *Moléculas* 2022, 27, 8777. <https://doi.org/10.3390/molecules27248777>
36. KARADAG, Ayse, Ozcelik, B., & Saner, S. Review of methods to determine antioxidant capacities. *Food analytical methods*, 2009, vol. 2, no 1, p. 41-60.

37. FERNANDEZ PACHON, María Soledad, VILLAFIO, D., TRONCOSO, A. M., & GarcíaParrilla, M. Revisión de los métodos de evaluación de la actividad antioxidante in vitro del vino y valoración de sus efectos in vivo. Archivos latinoamericanos de nutrición, 2006, vol. 56, no 2, p. 110-122.
38. PRIOR, Ronald L.; Cao, G. In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods 1. Free Radical Biology and Medicine, 1999, vol. 27, no 11, p. 1173-1181.
39. CAO, Guohua; Prior, R. L. Comparison of different analytical methods for assessing total antioxidant capacity of human serum. Clinical chemistry, 1998, vol. 44, no 6, p. 1309-1315.
40. Leyva Daniel Diana Elizabeth. (2009). Determinación de antocianinas, fenoles totales y actividad antioxidante en licores y fruto de mora. [Tesis de pregrado]. Oaxaca: Facultad de Ingeniería de Alimentos, Universidad Tecnológica de la Mixteca
41. Brand-Williams, W., Cuvelier, M., Berset, C. (1995). Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Trends in Food Sci. and Tech., 28(3), 25-30.
42. Arena E, Fallico B, Maccarone E. (2001). Evaluation of antioxidant capacity of blood orange juices as influenced by constituents, concentration process and storage. Food Chem., 74: 423-427.
43. Zavaleta Melgar, Juana Consuelo. (2005). Capacidad antioxidante y determinación de ácidos fenólicos y flavonoides en 8 alimentos nativos del Perú. [Tesis de postgrado]. Lima: Escuela de Post Grado-Especialidad de Bioquímica y Nutrición, Facultad de Medicina Humana, Universidad de San Martín de Porres.
44. Huamán Castro, Nery Elvira. (2006). Influencia del tipo de cocción en el contenido de fracción indigestible y compuestos fenólicos en 4 variedades de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Tesis de postgrado. Lima: Escuela de PostgradoEspecialidad de Tecnología de Alimentos, Universidad Nacional Agraria La Molina
45. Monografía de Psidium guajava L..pdf [Internet]. Scribd. 2023 [citado 16 Julio 2023]; Recuperado a partir de: <https://es.scribd.com/document/364433817/Monografia-de-Psidium-guajava-L-pdf#>
46. Araujo FJ, Urdaneta T, Salazar N, Simancas R. 1999. Effect of plant density on the guava (*Psidium guajava* L.) yield in the Maracaibo, Venezuela plain. Rev. Fac. Agron. (LUZ) 16 supl. 1:13-16
47. Vives P. Flora de Puerto Rico ilustrada. [Internet].2016. [Citado el 04 de diciembre del 2023]. Disponible en: <https://plantasdepuertorico.blogspot.com/2016/11/plantas-indeseables-para-el-cultivo-6.html>

48. Hoyos, J. 1985. Flora de la isla Margarita, Venezuela. Sociedad y fundación La Salle de Ciencias Naturales, Monografía No. 34; Caracas, Venezuela; 927 p.
49. AgroFrutales. La cadena de valor de la Guayaba en Cuba, 2020. [Internet]. [citado 16 Julio 2023]; Recuperado a partir de: <https://www.undp.org/sites/g/files/zskgke326/files/migration/cu/Tripa-Guayaba-WEB.pdf>
50. Rodríguez R, Ariadna A, Prada L, Liana, Rondón P. Hojas de Psidium guajava L. Psidium guajava L. leaves [Internet]. [citado 16 Julio 2023]; Recuperado a partir de: <https://www.medigraphic.com/pdfs/revcubfar/rev-2013/rev131n.pdf>
51. Psidium guajava. Species Plantarum 1: 470. 1753. [Internet]. [citado 16 Julio 2023]; Recuperado a partir de: http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/info_especies/arboles/doctos/52-myrt3m.pdf
52. Rodriguez Amado R, Lafourcade Prada A, Pérez Rondón L. Hojas de Psidium guajava L. Revista Cubana de Farmacia [Internet]. 2013 [citado 16 Julio 2023];47(1):127–35. Recuperado a partir de: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152013000100014
53. REF N° RF1353423 REG ISP N° N-632/21 FOLLETO DE INFORMACIÓN AL PROFESIONAL QG5 PSIDIUM GUAJAVA COMPRIMIDOS 166,60 mg (Extracto seco de hojas secas de Psidium guajava L. (4:1)) [Internet]. [citado 16 Julio 2023]; Recuperado a partir de: https://www.ispch.cl/wp-content/uploads/2021/12/N_632.pdf
54. Martínez MJ, López M, Badell Betancourt J, Barceló Pérez H, Montes ME, Regó R. Estudio toxicológico preclínico de la Psidium guajava L. (guayaba). Revista Cubana de Plantas Medicinales [Internet]. 2023 [citado 16 Julio 2023]; Recuperado a partir de: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962001000200005
55. Matos Charmelo, M. Tipos de investigación. UNIVERSIDAD NACIONAL EXPERIMENTAL SIMÓN RODRÍGUEZ NÚCLEO VALLE DE LA PASCUA TIPOS DE INVESTIGACIÓN [Internet]. [Citado 8 de agosto de 2023]. Recuperado a partir de: <http://planmaestroinv.udistrital.edu.co/documentos/PMICI-UD/Documentos%20PMICI-UD/Investigaci%C3%B3n/tipos%20de%20investigacion.pdf>
56. Tam, J., Vera G., Oliveros R. 2008 Tipos, métodos y estrategias de investigación. Pensamiento y Acción. 5:145-154 [Internet]. [Citado 8 de agosto de 2023]. Recuperado a partir de:

http://www.imarpe.pe/imarpe/archivos/articulos/imarpe/oceanografia/adj_modela_pa-5-145-tam-2008-investig.pdf

57. Sánchez Carlessi H., Reyes Romero C., Mejía Sáenz K. 2018. Manual de términos en investigación científica, tecnológica y humanística. Universidad Ricardo Palma [Internet]. [Citado 8 de agosto de 2023]. Recuperado a partir de: <https://www.urp.edu.pe/pdf/id/13350/n/libro-manual-de-terminos-en-investigacion.pdf>
 58. Alarcon R, Salcedo Y, Sosaya M. Evaluación de la actividad antioxidante Hepatoprotectora del extracto etanólico de las flores de *Cordea lutea* LAM Changuaro
 59. Lock O. Investigación Fitoquímica. Perú: Fondo editorial PUCP; 1994:7-10.
 60. Brand-Williams W, Cuvelier M, Berset C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm. Wiss. Technol.* 1999;22:25-30.
 61. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Rad. Boil. Med.* 1999;26:1231-37.
- Matos Charmelo, M. Tipos de investigación. UNIVERSIDAD NACIONAL EXPERIMENTAL SIMÓN RODRÍGUEZ NÚCLEO VALLE DE LA PASCUA TIPOS DE INVESTIGACIÓN [Internet]. [Citado 8 de agosto de 2023]. Recuperado a partir de: <http://planmaestroinv.udistrital.edu.co/documentos/PMICI-UD/Documentos%20PMICI-UD/Investigaci%C3%B3n/tipos%20de%20investigacion.pdf>
62. Skrovankova, S., Sumczynski, D., Mlcek, J., Jurikova, T., & Sochor, J. (2015). Bioactive Compounds and Antioxidant Activity in Different Types of Berries. *International Journal of Molecular Sciences*, 16(10), 24673-24706. doi:10.3390/ijms161024673

VIII. ANEXOS

Figura 16. Desección natural de las hojas y corteza de *Psidium Guajava L.*



Figura 17. Maceración de la muestra hojas y tallo de *Psidium Guajava* L.



Figura 18. Screening fitoquímico de la muestra vegetal



Figura 19. Determinación de la actividad antioxidante por el método DPPH



Figura 20. Determinación de la actividad antioxidante por el método ABTS



Figura 21. Lectura de los patrones en el espectrofotómetro

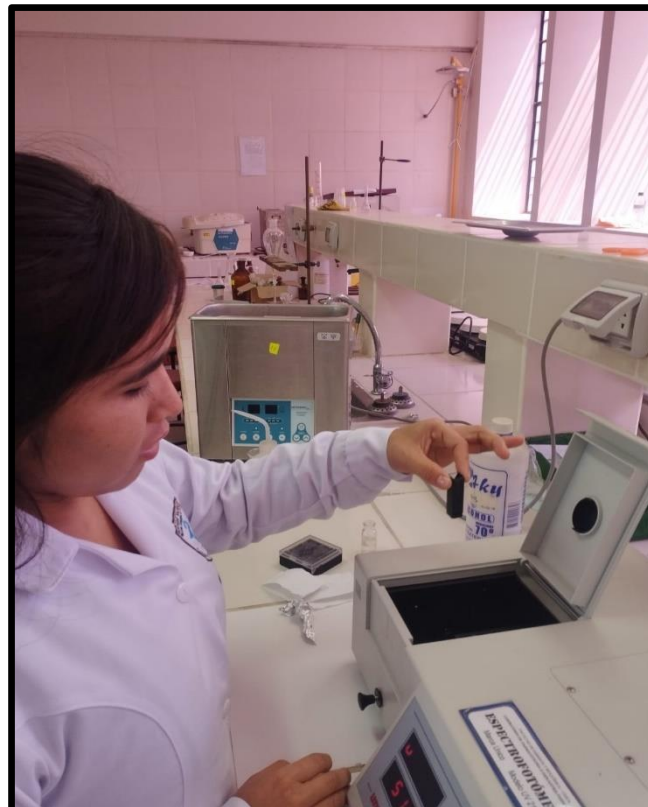
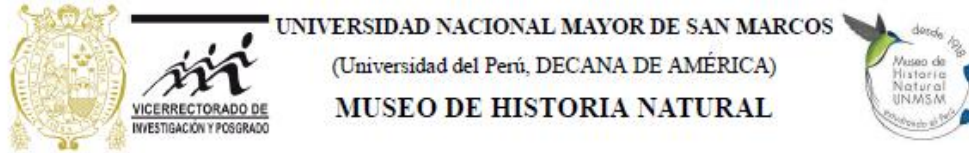


Figura 22. Certificación botánica de la especie *Psidium guajava* L.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
MUSEO DE HISTORIA NATURAL

“Año de la unidad, la paz y el desarrollo”

CONSTANCIA N° 084-USM-MHN-2023

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

La muestra vegetal (fértil, con fruto) recibida de **Mirella Katherin Cordova Hernandez**, estudiante de pregrado de la Universidad Nacional San Luis Gonzaga de Ica ha sido estudiada y clasificada como: *Psidium guajava* L. y tiene la siguiente posición taxonómica, según el Sistema de Clasificación APG IV (2016).

ORDEN : Myrtales

FAMILIA : MYRTACEAE

GÉNERO : *Psidium*

ESPECIE : *Psidium guajava* L.

Nombre vulgar: “guayaba”

Procedencia: Ica

Determinado por: MSc. Hamilton Beltrán Santiago.

Se extiende la presente constancia a solicitud de la parte interesada, para los fines que estime conveniente.

Lima, 9 de mayo de 2023

Dra. Joaquina Arban Castillo

JEFA DEL HERBARIO SAN MARCOS (USM)

Matriz de consistencia

Título: Evaluación comparativa del estudio fitoquímico y actividad antioxidante de la corteza y hoja de *Psidium guajava* L.

Problema	Objetivo	Hipótesis	Variables	Metodología
<p>Problema general ¿Cuál es la relación entre el estudio fitoquímico y actividad antioxidante de la corteza y hoja de <i>Psidium guajava</i> L.?</p> <p>Problemas específicos</p> <ol style="list-style-type: none"> ¿Cuáles serán los metabolitos secundarios que se encuentran en la corteza y hoja de <i>Psidium guajava</i> L.? ¿Cuál será la actividad antioxidante in vitro de la corteza y hoja de <i>Psidium guajava</i> L. mediante el método DPPH? ¿Cuál será la actividad antioxidante in vitro de la corteza y hoja de <i>Psidium guajava</i> L. mediante el método ABTS? 	<p>Objetivo general Determinar la relación entre el estudio fitoquímico y actividad antioxidante de la corteza y hoja de <i>Psidium guajava</i> L.</p> <p>Objetivos específicos</p> <ol style="list-style-type: none"> Identificar los metabolitos secundarios que se encuentran en la corteza y hoja de <i>Psidium guajava</i> L. Determinar la actividad antioxidante in vitro de la corteza y hoja de <i>Psidium guajava</i> L. mediante el método DPPH. Determinar la actividad antioxidante in vitro de la corteza y hoja de <i>Psidium guajava</i> L. mediante el método ABTS. 	<p>Hipótesis general La hoja de <i>Psidium guajava</i> L. tendrían metabolitos secundarios con mayor poder antioxidante que la corteza.</p> <p>Hipótesis específicas</p> <ol style="list-style-type: none"> <i>Psidium guajava</i> L. tendría menor cantidad de metabolitos secundarios antioxidantes en la corteza que en la hoja. La hoja de <i>Psidium guajava</i> L. demuestra mayor actividad antioxidante mediante el método DPPH La corteza de <i>Psidium guajava</i> L. demuestra mayor actividad antioxidante mediante el método ABTS 	<p>Variable independiente: Metabolitos secundarios de la corteza y hoja de <i>Psidium guajava</i> L.</p> <p>Indicadores V.I - (+++), (++) , (+), (.)</p> <p>Variable dependiente: Actividad antioxidante de las corteza y hoja de <i>Psidium guajava</i> L.</p> <p>Indicadores V. D - Equivalentes trolox.</p>	<ol style="list-style-type: none"> Tipo de investigación: Básica Diseño de la investigación: No experimental Nivel de investigación: Descriptivo, comparativo y prospectivo Técnicas: Tamizaje fitoquímico y método espectrofotométrico Instrumentos: Espectrofotómetro