

UNIVERSIDAD PERUANA LOS ANDES

Facultad de Ciencias de la Salud

Escuela Profesional de Farmacia y Bioquímica



UPLA

TESIS

Título:

**CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA Y CAPACIDAD
ANTIOXIDANTE DE EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO Y
ACUOSO DE HOJAS DE COLEN (*Psoralea glandulosa*).**

Para optar el: Título profesional de Químico Farmacéutico

Autores: Bach. QUISPE QUISPE, Nerida Sevina

Bach. CORDOVA JULCARIMA, Lizbeth Mayela

Asesor: Mg. Quispe Napanga Kattia Monica

Línea de investigación Institucional: Salud y Gestión de la Salud

Fecha de inicio y término: febrero 2021 – abril /2022

Huancayo – Perú 2023

DEDICATORIA

A nuestros padres, por su inquebrantable apoyo y fe
en nosotros.

AGRADECIMIENTO

A Dios, por darnos esta oportunidad para demostrar los conocimientos adquiridos durante toda la carrera.

A la Dra. Kattia Quispe Napanga, por su constante apoyo durante la elaboración de este trabajo de investigación.

CONSTANCIA DE SIMILITUD



UPLA
UNIVERSIDAD PERUANA LOS ANDES

Oficina de
Propiedad Intelectual
y Publicaciones

NUEVOS TIEMPOS
NUEVOS DESAFIOS
NUEVOS COMPROMISOS

CONSTANCIA DE SIMILITUD

N° 0097-FCS -2023

La Oficina de Propiedad Intelectual y Publicaciones, hace constar mediante la presente, que la **Tesis** Titulada:

CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO Y ACUOSO DE HOJAS DE COLEN (Psoralea glandulosa).

Con la siguiente información:

Con autor(es) : **BACH. QUISPE QUISPE NERIDA SEVINA**
BACH. CORDOVA JULCARIMA LIZBETH MAYELA

Facultad : **CIENCIAS DE LA SALUD**

Escuela profesional : **FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

Asesor(a) : **Mg. QUISPE NAPANGA KATTIA MONICA**

Fue analizado con fecha **20/11/2023**; con **55 pág.**; en el Software de Prevención de Plagio (Turnitin); y con la siguiente configuración:

Excluye Bibliografía.

Excluye Citas.

Excluye Cadenas hasta 20 palabras.

Otro criterio (especificar)

El documento presenta un porcentaje de similitud de **24%**.

En tal sentido, de acuerdo a los criterios de porcentajes establecidos en el artículo N° 15 del Reglamento de Uso de Software de Prevención de Plagio Versión 2.0. Se declara, que el trabajo de investigación: **Si contiene un porcentaje aceptable de similitud.**

Observaciones:

En señal de conformidad y verificación se firma y sella la presente constancia.

Huancayo, 20 de noviembre de 2023.



MTRA. LIZET DORIELA MANTARI MINCAMI
JEFA

Oficina de Propiedad Intelectual y Publicaciones

INTRODUCCIÓN

Nuestra sociedad, al igual que muchas sociedades de Latinoamérica, convivimos con sociedades multirraciales, pluriculturales y multiétnicas. Existen usos y costumbres que, desde tiempos inmemoriales hasta la fecha, muchos sectores guardan con cautela los principios y bondades de sus plantas medicinales. Desde las llanuras amazónicas, pasando por las zonas alto andinas hasta la costa; un buen sector importante de habitantes, mantienen sus ritos folclóricos y creen en las curaciones a base de hierbas. El Instituto Nacional de Salud (INS), identificó 5000 plantas, de las cuales la mayor parte son nativas (4400 especies) y unas 600 son comercializadas formal o informalmente. Consecuentemente, la mayoría de las especies nativas son silvestres y cerca de dos mil son cultivadas. Algunos gobiernos locales, reconocen la creación de espacios biodiversos para hacer que la medicina folclórica, perdure por ser de vital importancia, como el caso de las comunidades nativas de Cacazú y el Ministerio de Desarrollo Agrario y Riego (MIDAGRI) que reconoce y entrega a los cibernautas un listado de hierbas medicinales.

Dada que nuestra región también es parte de la inmensa biodiversidad. El presente trabajo, consideró conveniente estudiar las hojas de colén (*Psoralea glandulosa*) del sector geográfico de Palo Seco- Concepción, departamento de Junín. El colén, es una planta perenne, aromática, silvestre y que crece mayormente en la sierra peruana. Para la mayoría de los conocedores es considerada como una hierba medicinal con propiedades terapéuticas que alivian los males digestivos, entre otras. La forma como lo haga, probablemente esté vinculada a la cantidad de antioxidantes y elementos fitoquímicos presentes en dicha hierba.

Dicho esto, el presente trabajo planteó como objetivo principal: diferenciar las cantidades de antioxidantes y componentes fitoquímicos, presentes en las hojas de colén (*Psoralea glandulosa*) procesadas con métodos de extracciones tradicionales: hidroalcohólico y acuoso. Para ello, se colectó hojas de colén de la zona de Palo Seco- Concepción, los mismos que fueron conducidos al laboratorio de la Universidad Peruana los Andes (UPLA) para su secado. Se realizó el pesaje y procesó de acuerdo al protocolo de elaboración y mediante espectrofotometría se constató la cantidad de antioxidantes, las mismas que se registró todos los datos y condujo para su análisis estadístico.

La forma como se estructuró el presente trabajo sigue el esquema siguiente:

- **Capítulo I**, sobre la descripción, delimitación y formulación del problema. Así como, justificación y sus objetivos.
- **Capítulo II**, relacionado a los antecedentes de la *Psoralea glandulosa*, sus compuestos fitoquímicos y fenólicos, su clasificación, análisis químico y marco conceptual.
- **Capítulo III**, detalla la hipótesis y sus variables.
- **Capítulo IV**, describe el método, tipo, nivel y diseño de la investigación. Así como su población y técnicas de recolección de datos.
- **Capítulo V**, expresa resultados de extractos y contrastación de hipótesis.
- **Capítulo VI**, relata los análisis y discusiones. Y finalmente.
- **Capítulos VII y VIII**, sobre conclusiones y recomendaciones.

CONTENIDO

Dedicatoria	ii
Agradecimiento	iii
Introducción	iv
Resumen	viii
Abstract	ix
Contenido.....	viii
RESUMEN	x
ABSTRACT.....	xi
CAPITULO I	1
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	1
1.1 DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA.	1
1.2 DELIMITACIÓN DEL PROBLEMA	2
1.3 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA	2
1.4 JUSTIFICACIÓN	3
1.5 OBJETIVOS	3
CAPÍTULO II	5
MARCO TEORICO.....	5
2.1 ANTECEDENTES.....	5
2.2 BASES TEÓRICAS.....	8
2.3 MARCO CONCEPTUAL.....	12
CAPÍTULO III.....	13
HIPOTESIS.....	13
3.1 HIPÓTESIS GENERAL	13
3.2 HIPÓTESIS ESPECÍFICO	13
3.3 VARIABLES	13
CAPÍTULO IV.....	14
METODOLOGÍA.....	14
4.1 MÉTODO DE INVESTIGACIÓN	14
4.2 TIPO DE INVESTIGACIÓN	14
4.3 NIVEL DE INVESTIGACIÓN.....	14
4.4 DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	15
4.5 POBLACIÓN Y MUESTRA	15
4.6 TÉCNICAS E INSTRUMENTOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS.....	16
4.7 TÉCNICAS DE PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE DATOS.....	16
4.8 ASPECTOS ÉTICOS DE LA INVESTIGACIÓN.....	18
CAPÍTULO V	20
RESULTADOS.....	20
5.1 DESCRIPCIÓN DE RESULTADOS.....	20
5.2 CONTRASTACIÓN DE HIPÓTESIS.....	23
CAPITULO VI.....	25

6.1 ANÁLISIS Y DISCUSIONES DE RESULTADOS	25
CONCLUSIONES	27
RECOMENDACIONES	28
Referencias Bibliográficas	29
ANEXOS	32

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Componentes fenólicos en especies vegetales.	10
Figura 2. Reacción química del radical DPPH frente al antioxidante	11
Figura 3. Flujo de perfil fitoquímico del extracto acuoso del colén	17
Figura 4. Flujo del perfil fitoquímico en el extracto hidroalcohólico del colén	17
Figura 5. Comportamiento de las 9 muestras del extracto hidroalcohólico	22
Figura 6. Comportamiento de las 9 muestras del extracto acuoso	23

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Evaluación cualitativa del perfil fitoquímico de las hojas de colén	20
Tabla 2. Porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de colén	21
Tabla 3. Porcentaje de inhibición del extracto acuoso de colén.....	22

RESUMEN

En nuestra región, es común observar el consumo de infusiones de las hojas de colén (*Psoralea glandulosa*) para contrarrestar dolencias digestivas del tipo infeccioso (diarreas) y aliviar malestares. La presente investigación tiene el objetivo principal de determinar las características fitoquímicas y actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico y acuoso de las hojas de colén. Se utilizó como método general el método científico, la investigación fue del tipo básica y experimental, con un nivel de investigación explicativo. Para el estudio fitoquímico se realizó la caracterización con el método de tamizaje fitoquímico y la capacidad antioxidante se midió con el método de DPPH. Así mismo, se caracterizaron once elementos fitoquímicos para ambos extractos, resaltando los fenoles (+++), flavonoides (+++) y taninos (+++) en mayor cantidad en el extracto acuoso. Respecto a la capacidad antioxidante cuantificada por el método de DPPH se obtuvo que el extracto hidroalcohólico de las hojas de colén (*Psoralea glandulosa*) presentaron un porcentaje de inhibición del radical DPPH de 75.41%, mientras que el extracto acuoso presenta un porcentaje de inhibición del radical DPPH de 80.58%. Se utilizó el estadístico ANOVA, Rstudio, Shapiro Wilk y prueba T y la normalidad estadística. Concluyendo que el extracto acuoso presenta más metabolitos secundarios como de fenoles y flavonoides y mayor porcentaje de inhibición.

Palabras Claves: Fitoquímica, actividad antioxidante, extracto hidroalcohólico y extracto acuoso.

ABSTRACT

In our region, it is common to observe the use of infusions of cabbage leaves (*Psoralea glandulosa*) to avoid infectious digestive ailments (diarrhea) and alleviate some symptoms. The present investigation has the main objective of determining the phytochemical characteristics and the antioxidant activity of the hydroalcoholic and aqueous extract of cabbage leaves. The scientific method was changed as the general method, the research was of the basic and experimental type, with an explanatory research level. For the phytochemical study, the characterization was carried out with the phytochemical screening method and the antioxidant capacity was measured with the DPPH method. . Likewise, phytochemical elements were characterized once for both extracts, highlighting the phenols (+++), flavonoids (+++) and tannins (+++) in greater quantity in the aqueous extract. Regarding the antioxidant capacity quantified by the DPPH method, it was obtained that the hydroalcoholic extract of cabbage leaves (*Psoralea glandulosa*) presented a percentage of inhibition of the DPPH radical of 75.41%, while the aqueous extract presented a percentage of inhibition of the radical DPPH of 80.58%. The ANOVA, Rstudio, Shapiro Wilk and T test statistics and statistical normality were obtained. Concluding that the aqueous extract presents more secondary metabolites such as phenols and flavonoids and a higher percentage of inhibition

Keywords: Phytochemistry, Antioxidant activity; aqueous extract, hydroalcoholic extract

CAPITULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1 Descripción de la realidad problemática.

Hoy en día hay muchas dolencias que exigen el uso de un número ilimitado de medicamentos. Es necesario investigar nuevos fármacos sin efectos secundarios porque muchos de ellos tienen consecuencias negativas muy criticadas. En la naturaleza existen numerosas plantas con propiedades medicinales que aún no se han explorado a fondo. Desde la antigüedad, la gente ha utilizado las hojas de colén (*Psoralea glandulosa*) como purgante, tratamiento para la diabetes, espasmolítico, antiparasitario, tratamiento para la indigestión, hemorroides, y control de dolores menstruales y para regular la misma. La Organización Mundial de la Salud (OMS) apoya el uso de la medicina tradicional que utiliza hierbas, material vegetal, preparados herbales y productos herbales acabados que contienen componentes fitoquímicos de plantas u otros materiales vegetales como ingredientes activos. No obstante, son escasos los datos científicos sobre los componentes fitoquímicos y la capacidad antioxidante que ilustran las propiedades restauradoras y protectoras de las hojas de la planta.¹

En cuanto a las hojas de colén, no hay los suficientes análisis sobre sus componentes y ventajas, sólo en términos generales se contemplan y no hay datos concretos sobre su composición. Debido a las referencias escasas sobre su procesamiento y uso en la literatura, esta hoja aún no se aprovecha en beneficio de las personas.¹

1.2 Delimitación del Problema

En la actualidad hay muchas enfermedades que deben tratarse con diversos fármacos, pero muchos de ellos tienen efectos secundarios muy criticados por lo perjudiciales que pueden llegar a ser. Por ello, es necesario investigar nuevas medicinas alternativas que no tengan efectos secundarios tan dañinos para la salud de las personas. En la naturaleza hay muchas plantas con propiedades medicinales que aún no se conocen del todo, pero se sabe que las hojas de colén (*Psoralea glandulosa*) han sido utilizadas por la gente para tratar problemas estomacales desde la antigüedad; sin embargo, hay pocas pruebas científicas que respalden los efectos curativos y la capacidad antioxidantes de las hojas de la planta de estudio, especialmente a la luz del apoyo de la OMS a la medicina tradicional.¹

Hay muy pocos estudios sobre la planta de colén (*Psoralea glandulosa*), que destaquen los componentes y beneficios de la misma. Además, en la literatura hay escasas referencias sobre la utilización y procesamiento correcto de esta planta, debido a ello los beneficios de esta hoja no son aprovechadas por la población.

1.3 Formulación del problema

1.3.1 Problema General

¿Cuáles son las características fitoquímicas y capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico y acuoso de las hojas de colén (*Psoralea glandulosa*)?

1.3.2 Problemas específicos.

- ¿Cuáles son las características fitoquímicas del extracto hidroalcohólico y acuoso de las hojas de colén (*Psoralea glandulosa*)?
- ¿Cuál es la capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico de las hojas de colén (*Psoralea glandulosa*)?
- ¿Cuál es la capacidad antioxidante del extracto acuoso de las hojas de colén (*Psoralea glandulosa*)?

1.4 Justificación

1.4.1 Social

El desarrollo del presente trabajo de investigación contribuirá a una alternativa de identificación y valoración de los componentes fitoquímicos en los extractos hidroalcohólico y acuoso de las hojas de colén (*Psoralea glandulosa*) y considerar a esta planta como recurso indispensable para el tratamiento de diversas enfermedades.² Esta investigación permitirá conocer la caracterización fitoquímica y demostrar la capacidad antioxidante de los extractos hidroalcohólico y acuoso de las hojas de colén.

1.4.2 Teórica

En el Departamento de Junín se pueden encontrar muchas plantas con propiedades curativas de las cuales no se conoce el análisis fitoquímico y la capacidad antioxidante, usando procedimientos como: cromatografía en capa fina, espectrofotometría UV/Visible; por lo que el presente estudio brindara a la comunidad científica una caracterización de las hojas de colén (*Psoralea glandulosa*), que servirá de base para estudios posteriores y en el sector farmacéutico para desarrollar formas farmacéuticas..³

1.4.3 Metodológico

El estudio, permitirá el empleo de técnicas y métodos instrumentales actualizados y estandarizados para caracterizar los componentes fitoquímicos y capacidad antioxidante, así también el empleo de procedimientos que se utilizarán para obtener los extractos que contribuirán al aporte metodológico.

1.5 Objetivos

1.5.1 Objetivo general

Determinar las características fitoquímicas y actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico y acuoso de hojas de colén (*Psoralea glandulosa*)”

1.5.2 Objetivos específicos

- a) Determinar las características fitoquímicas de los extractos hidroalcohólico y acuoso de las

hojas de colén (*Psoralea glandulosa*)”.

- b) Determinar la capacidad antioxidante de extracto hidroalcohólico de las hojas de colén (*Psoralea glandulosa*).
- c) Determinar la capacidad antioxidante del extracto acuoso de las hojas de colén (*Psoralea glandulosa*).

CAPÍTULO II

MARCO TEORICO

2.1 Antecedentes

2.1.1 Nacionales

Pérez E.⁴ investigó los elementos hidroetanólicos de las hojas de *Psoralea glandulosa* "colén" y su potencial para la regeneración. Procedieron con la recolección muestras de esta especie en la provincia de Ayacucho. Las muestras fueron primero deshidratadas, pulverizadas, el cual fue removido y separado del extracto pulverizado por lixiviación en alcohol absoluto. En comparación con el grupo experimental, los resultados muestran un mayor aumento de las secreciones gastrointestinales, que fue estadísticamente insignificante, pero inhibió la lipoperoxidación. En conclusión, la administración del alcohol-extracto de la especie de colén (*Psoralea glandulosa*) a animales de experimentación con úlcera gástrica combinado con alcohol tiene un efecto beneficioso que regenera a nivel histológico y eleva el perfil de GSH y la secreción gástrica, disminuyendo la gravedad de la úlcera.

Ramírez J.⁵ desarrolló el estudio efecto hipoglicemiante de la infusión de toda la planta del colén (*Psoralea glandulosa*) en ratas comunes con la glicemia normal. El objetivo fue determinar el efecto hipoglucemiante de la infusión de planta total de colén (*Psoralea glandulosa*) en ratas comunes normoglicémicas. El objetivo era comprobar el impacto hipoglucemiante de la infusión de planta de colén (*Psoralea glandulosa*) en ratas comunes con normoglicemia. El estudio fue aleatorizado con un diseño experimental prospectivo. Un total de 36 ratas adultas (de 4 a 6 meses de edad) con un peso comprendido entre 19 y 230 gramos constituyeron la población. La glucosa se midió con un glucómetro y tiras reactivas PRESTIGE®. Los resultados demostraron que, en *Rattus rattus* var *albinus* normoglicémicos, una dosis de 30 cc/kg de peso corporal de infusión de hojas de colén (*Psoralea glandulosa*) producía una disminución significativa de los valores de glucosa. Por último, se observó un efecto hipoglucemiante de la infusión de hojas de colén (*Psoralea glandulosa*).

Soto M.⁶ evaluó los elementos fitoquímicos utilizando métodos de eficacia comprobada y determinó el contenido de flavonoides de las plantas *Piper aduncum* y *Piper peltatum* de la

Amazonia. Se encontraron concentraciones significativas de metabolitos secundarios, de acuerdo con los informes experimentales. Las especies de estudio *Piper peltatum* L. y *Piper aduncum* L. presentaron concentraciones de quercetina de $1,8 \pm 0,16$ y $2,51 \pm 0,15$ g expresado en quercetina/100 g de muestra deshidratada.

Gutiérrez M. y Alva S.⁷ realizaron estudios sobre los fitoconstituyentes de las hojas de colén (*Psoralea glandulosa*) y el impacto de la infusión sobre la glucemia en ratas comunes con hiperglucemia experimental. El objetivo fue identificar los fitoconstituyentes que se encuentran en las hojas. Veinticuatro animales fueron divididos en cuatro grupos experimentales para probar los efectos de los fitoconstituyentes sobre la glicemia, los cuales resultaron ser 13% derivados terpénicos (cadenas cíclicas), 11% flavonoides, 10% cumarinas, 9% saponinas, 8% taninos, 5% alcaloides y 3% antraquinonas. Se administraron 2,5 g/kg de glucosa al Grupo I y se anotó la glucemia basal a los 30, 60 y 120 minutos. Aunque el grupo II experimentó una sobrecarga de glucosa, se repitió el procedimiento del primer grupo con una infusión administrada a una dosis de 160 mg/kg. Además de administrar la glucosa y medir los tiempos de presión basal, también se evaluó la absorción intestinal del grupo III. Se evaluó la absorción intestinal del grupo IV, se administró glucosa y también se inició una infusión. El estudio indica que la infusión de hojas colén presenta efectos a una dosis de 160 mg/kg.

Molero A.⁸ contrastó las plantas medicinales cultivadas en China y Perú. Tales como: *Glycyrrhiza uralensis* F.; *Crataegus cuneata* S.; *Artemisia scoparia* W.; *Gardenia jasminoides* E.; *Poria cocos* W. y 5 especies de Perú: *Piper angustifolium* R. (Mático); *Aloe vera* L. (Sábila); *Baccharis genisteloides* L. (Carqueja); *Malva sylvestris* L. (Malva); *Psoralea glandulosa* L. (Colén). Por último, identificaron los siguientes componentes fitoquímicos secundarios: 13% de componentes terpenoides, 11% de flavonas, 10% de cumarinoides, 9% de sapogeninas, 8% de taninos condensados y 5% de sustancias relacionadas con alcaloides. Se ha determinado que las especies presentan efectos protectores gástricos con orígenes tanto en China como en Perú.

2.1.2 Internacionales

Madrid A. y et al.⁹ evaluaron las cualidades antioxidantes de varios extractos de colén (*Psoralea glandulosa* L., Fabaceae de la región del Gran Valparaso de Chile). Se evaluó la

capacidad de los extractos para eliminar radicales libres, incluyendo 2,2-difenil-1-pirilhidrazilo (DPPH), peróxido de hidrógeno (H₂O₂), poder antioxidante férrico reductor (FRAP) y potencial total de atrapamiento de radicales pirroxilo (TRAP). Los resultados muestran que los extractos de hojas de *P. glandulosa* en diclorometano y acetato de etilo tienen un potencial antirradical significativo. Esto se debe probablemente a la cantidad compuestos fenólicos (1,65 mg GAE / g de extracto seco) y flavonoides (55,34 mg QE / g de extracto seco) de las fracciones de la planta, respectivamente.

Madrid M. et al.¹⁰ analizaron a las especies de *Otholobium glandulosum* y la planta de *Psoralea glandulosa* L. de origen chileno. Se realizaron métodos químicos para determinar sus propiedades químico proximales. El potencial antirradical de los componentes terpenoides de dicho extracto se evaluaron utilizando el radical libre DPPH, y el método de reducción del Hierro III (FRAP) y actividad antirradical mediante el método de TRAP.

Madrid M. y et al.¹¹ examinaron la eficacia del colén (*Psoralea glandulosa*) en el tratamiento del melanoma. El objetivo fue identificar agentes fitoquímicos con propiedades anti-crecimiento y actividad pro apoptóticas sobre el cáncer de melanoma, así como evaluar los efectos biológicos de los extractos de las hojas de colén (*Psoralea glandulosa*) de sus principios activos bakuchiol (1), 3-hidroxi-bakuchiol (2) y 12-hidroxi-iso-bakuchiol (3) contra las células de melanoma (A2058) y del acetato de bakuchiol (4). Tras 48 horas de tratamiento, los resultados demuestran que los extractos inhibieron el crecimiento de las células cancerosas con un valor IC₅₀ de 10,5 g/ml (que indica la concentración a la que un fármaco es capaz de inhibir un proceso biológico específico en un 50%). En cuanto a los compuestos puros, el compuesto semisintético fue el más activo. Los resultados también muestran que el extracto puede provocar la muerte apoptótica de las células, lo que puede estar relacionado con la acción global de los terpenos presentes. Según las conclusiones del estudio, la planta de colén (*Psoralea glandulosa*), es una buena fuente de moléculas que pueden utilizarse para crear análogos más eficaces contra las células del melanoma.

Zhang X. y et al.¹² reportaron estudios de revisión científica sobre los constituyentes químicos y las bioactividades de *Psoralea corylifolia* Linn, en donde se menciona que las especies de la

Psoralea corylifolia Linn. (*P. corylifolia*) es una importante hierba con propiedades curativas y una larga historia de uso clínico. Se utiliza con frecuencia en fórmulas de medicina tradicional china para tratar una amplia gama de afecciones, como leucoderma y otros defectos cutáneos, afecciones cardiovasculares, nefritis, osteoporosis y cáncer. También muestra que los componentes primarios de la *P. corylifolia*, según determinan los estudios fitoquímicos, son cumarinas, flavonoides y terpenos, y que la mayoría de estos componentes se encuentran en las semillas o los frutos. Se ha demostrado que los extractos de *P. corylifolia* y sus principios activos tienen una amplia gama de efectos biológicos, entre ellos efectos estrogénicos, antitumorales, antioxidantes, antimicrobianos, antidepresivos, antiinflamatorios, osteoblásticos y hepatoprotectores.

2.2 Bases teóricas

2.2.1 *Psoralea glandulosa* L.

La *Psoralea glandulosa* L., también llamada "colén" o "culén" en la cultura popular, se ha utilizado tradicionalmente en Chile como medicamento alternativo natural y se aconseja para el tratamiento de malestares digestivos, en particular la diarrea, la cicatrización de heridas y tratamiento ante las hemorroides. Tiene propiedades antihelmínticas y es usado para reducir la concentración de glucosa en sangre.¹¹

El aceite de las hojas de colén (*Psoralea glandulosa*) ha demostrado diversos beneficios para la salud, incluida la actividad contra bacterias Gram-positivas en extractos de éter de petróleo y diclorometano.¹²

No se ha informado del potencial antioxidante de *P. glandulosa* L. Sin embargo, existen informes sobre el potencial antioxidante de las especies de *Psoralea*, en particular *P. corylifolia*, que sugieren que estas especies son beneficiosas para la salud humana porque tienen propiedades antifebril y antiinflamatorias.¹³ Por otra parte, se ha demostrado que el *Aspergillus Nigra*, uno de los fitopatógenos más peligrosos para plantas y hortalizas, no inactiva al aceite esencial presente.¹⁴

Incluso en el diccionario de plantas de Van Wijk (1911) se enumeran varios nombres dados a *Psoralea glandulosa*. No se encuentra justificación alguna para la designación del nombre de esta planta que antes se conocían como *Psoralea corylifolia* L. y *P. glandulosa* L. Entre ellas figuran los nombres comunes coulen (de Emile Littré Dictionnaire de la Langue Française publicado en 1886), así como el nombre alemán cullentee.¹⁵ Los indios araucanos que vivían en el centro de Chile debieron dar ese nombre, del que debe haber descendido el nombre colén. Irónicamente, 24 de las 32 especies de colén descritas por Grimes (1997) han sido trasladadas por Grimes (1990) al género diferente *Otholobium*. Son endémicas de Australia. Según la revista botánica Curtis Magazine (Vol. 25 1807), que presenta una ilustración de esta especie en la lámina 990, *Psoralea glandulosa* se introdujo por primera vez en Europa hacia 1770. Robert Sweet menciona en sus escritos británicos a esta planta.¹⁶

Se incorpora a varias fórmulas de la medicina tradicional china para el tratamiento de una amplia gama de enfermedades, como la leucoderma, el cáncer, las enfermedades cardiovasculares, la nefritis y la osteoporosis. Recientemente se han realizado estudios sobre las propiedades químicas y farmacológicas de este género.¹⁰ Las hojas de la *Psoralea glandulosa* L. tiene múltiples formas, un fuerte aroma y florece de 10 a 20 cm de extensión.³

2.2.2 Compuestos fitoquímicos

Estas sustancias, conocidas como metabolitos secundarios, se encuentran con frecuencia en las matrices alimentarias de frutas y verduras y están estrechamente relacionadas con las actividades fisiológicas durante los procesos de maduración. Algunos ejemplos de estas sustancias son los polifenoles, los carotenoides, las cumarinas y los sesquiterpenos.¹⁷ También desempeñan un papel en la prevención de procesos patológicos, favoreciendo, a la prevención de enfermedades crónicas no transmisibles, como: el cáncer y la enfermedad de Alzheimer.¹⁸

Los beneficios de la actividad antirradical de los componentes fitoquímicos se atribuyen directamente a la neutralización de los radicales libres que pueden dañar los lípidos y el ADN.¹⁸ No obstante, el tipo, el origen y la naturaleza de las especies medicinales también están vinculados con estos metabolitos secundarios.¹⁹

2.2.3 Compuestos Fenólicos como Antioxidantes

En los últimos diez años, los estudios epidemiológicos que relacionan las dietas ricas en antioxidantes naturales con un menor riesgo de enfermedades como el cáncer y las enfermedades relacionadas al estrés oxidativo como, daños a nivel cardiaco y el cáncer, han despertado un considerable interés por la capacidad antioxidante y componentes fenólicos entre los consumidores y la comunidad científica.¹⁸ Los compuestos fenólicos son grandes grupos heterogéneos de metabolitos secundarios de las plantas que se han dispersado y son partes cruciales de la dieta humana.¹⁸

2.2.4 Clasificación de los polifenoles

El anillo aromático unido a un grupo hidroxilo determina la clasificación de los compuestos fenólicos. La presencia y cantidad de átomos de carbono a nivel estructural determina cómo se categorizan.¹⁷

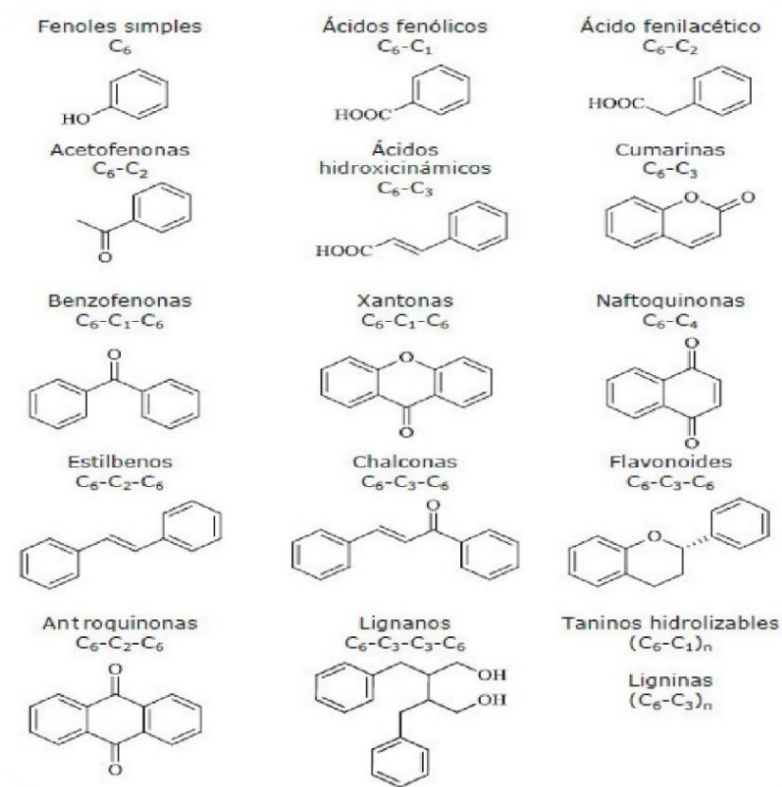


Figura 1. Compuestos fenólicos que se encuentran en especies vegetales.

Fuente: Backhouse N. et al

2.2.5 Análisis químico de polifenoles

La composición química de los compuestos, el método de extracción, la cantidad y las condiciones de almacenamiento, el tamaño de las partículas, la elección de los patrones, los agentes interferentes y las impurezas, así como las técnicas de ensayo, son algunos de los principales factores que afectan a la cuantificación e identificación de los compuestos fenólicos. La cuantificación de los compuestos fenólicos del material vegetal se ha realizado utilizando diversas técnicas espectrométricas. Con el desarrollo de la ciencia analítica y el uso de herramientas actuales como HPLC, GC, LC-MS, GC-MS, FT-IR y NMR.

2.2.6 Actividad antioxidante: Método del DPPH

Actividad de eliminación de radicales libres utilizando el radical DPPH. Según Sánchez-Moreno et al. (1998), esta técnica, que fue planteada por primera vez por Brand-Williams et al. (1995). Se basa en la medición del barrido de radicales libres de compuestos antioxidantes mediante el radical DPPH. A 3,9 mL de DPPH (64 mL) en etanol recién preparado, se añadió una alícuota (0,1 mL) de solución de muestra que contenía diversas cantidades de las preparaciones antioxidantes (0,05 - 5,0 mm). Hasta que la reacción alcanzó el estado estacionario (7 min), se midió la absorbancia a 515 nm cada 10 segundos con un espectrofotómetro (Shimadzu Modelo UV 1240V conectado a un PC, Shimadzu Corp., Tokio, Japón).^{19,20}

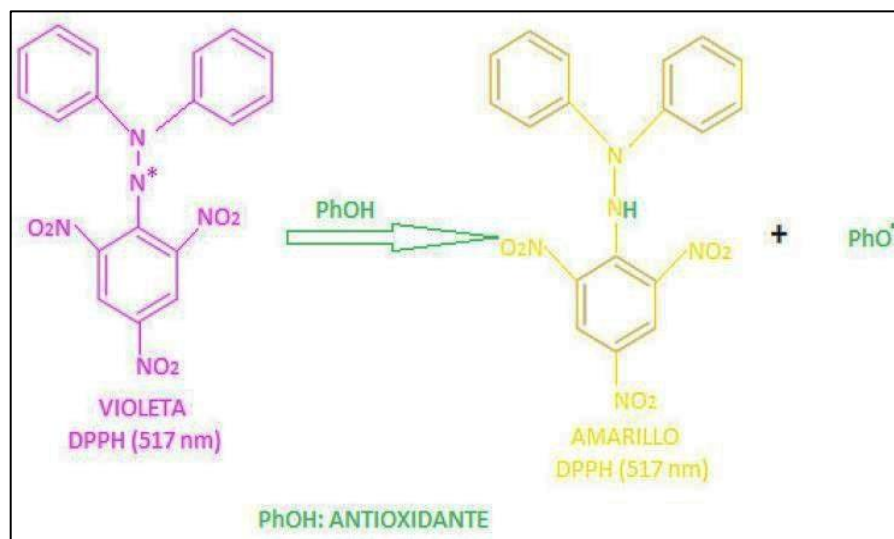


Figura 2. Reacción química del radical DPPH frente al antioxidante
Fuente: Nuñez W. et al

2.3 Marco Conceptual

2.3.1 Polifenoles²¹

Son metabolitos secundarios sintetizados por las plantas y/o frutos

2.3.2 Actividad antioxidante²¹

Es la función antioxidante de los componentes bioactivos en un sistema biológico para anular los radicales libres.

2.3.3 Psoralea glandulosa²²

También llamada colén, es una planta perenne perteneciente a la familia de las fabáceas.

2.3.4 Folin-Ciocalteu²³

Es una mezcla de fosfomolibdato y fosfotungstato, usado para la determinación de antioxidantes fenólicos y polifenólicos.

2.3.5 DPPH²³

Radical 2,2- difenil -1- picrylhydrazyl. Dado que tiene una gran capacidad para concentrar átomos de hidrógeno de fenol, el radical libre que se extrae de forma directa y se emplea en la determinación de la actividad antioxidante.

CAPÍTULO III

HIPOTESIS

3.1 Hipótesis General

Los compuestos fitoquímicos influyen en la actividad antioxidante en los extractos hidroalcohólicos y acuosos de hojas de *Psoralea glandulosa* “colén”.

3.2 Hipótesis específico

- El perfil fitoquímico influye en la capacidad antioxidante de las hojas de *Psoralea glandulosa* “colén”.
- El extracto hidroalcohólico de hojas de *Psoralea glandulosa* “colén” presentan capacidad antioxidante.
- El extracto acuoso de las hojas de *Psoralea glandulosa* “colén” tiene capacidad antioxidante.

3.3 Variables

3.3.1 Variable independiente:

- Hojas de colén (*Psoralea glandulosa*)

3.3.2. Variable dependiente:

- Extracto acuoso de las hojas de colén (*Psoralea glandulosa*)
- Extracto hidroalcohólico de las hojas de colén (*Psoralea glandulosa*)

CAPÍTULO IV

METODOLOGÍA

4.1 Método de investigación

El método científico implica la realización de una serie de procedimientos distintos que la ciencia utiliza para reunir conocimientos. Estos procesos concretos constan de diversos pasos o reglas claramente establecidos que permiten obtener resultados precisos al término de su realización.

El estudio es experimental porque la variable independiente se modificará en un entorno controlado, y los resultados se medirán a lo largo de tres pruebas para cada extracto.

4.2 Tipo de investigación

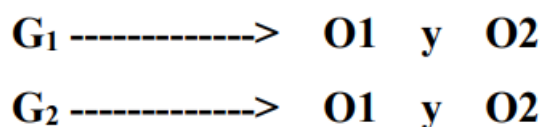
La investigación corresponde al de tipo básica y experimental; básica, ya que estará encaminada a ampliar el conocimiento científico, explorando nuevas teorías y transformar las ya existentes para el desarrollo de la presente investigación y experimental, porque en esta investigación se manipularán las variables además de poder controlar las circunstancias en las que se produce. Se realizará una acción para observar una consecuencia.²⁶

4.3 Nivel de investigación

La investigación es nivel explicativo y descriptivo: Explicativa, porque se buscará explicar la relación causal entre las variables y comparar los componentes fitoquímicos y la capacidad antioxidante de los extractos hidroalcohólico y acuoso de hojas de colén (*Psoralea glandulosa*) y estará encaminada a encontrar la diferencia entre las causas que se presentan, explicando, cuando ocurre un fenómeno y en qué condiciones se da, con el propósito de responder a los resultados que se adquieran en el proceso.²⁶ Descriptivo, porque el estudio buscará la explicación más detallada a una situación o elemento concreto posible o un fenómeno. Para expresar generalizaciones significativas que hagan avanzar el conocimiento, los investigadores mediran las características y observan la configuración y los procesos que dan lugar a los fenómenos. Además, describen y recopilan datos basados en sus hipótesis antes de resumir toda la información que han reunido cuidadosamente.^{25, 26}

4.4 Diseño de la investigación

El estudio es de diseño experimental, en la cual la variable independiente se manipula (**Anexo 4**) para determinar que extracto (acuoso o hidroalcohólico) presenta mayor concentración de antioxidantes. El propósito de esta investigación es evaluar la relación que existe entre dos variables. El enfoque del estudio es cuantitativo, en cuanto al diseño metodológico es una investigación experimental porque se manipulará la variable independiente bajo condiciones controladas.



Donde:

G1: Extractos Hidroalcohólico

G2: Extracto Acuoso

O1: Evaluación fitoquímico

O2: Capacidad antioxidante

4.5 Población y muestra

4.5.1 Población

La población estuvo conformada por hojas de colén (*Psoralea glandulosa*) - Provincia de Concepción Departamento de Junín y serán recolectadas 15 kg de hojas en los meses de febrero y marzo del 2021 a medio día, las cuales serán cubiertas con papel kraft para ser transportadas al laboratorio de la UPLA, donde serán almacenadas en ausencia de luz. Seguidamente se secarán a temperatura ambiente y serán reducidas de tamaño para su posterior extracción.

4.5.2 Muestra

Las muestras recolectadas fueron almacenadas en una bolsa de papel kraft haciendo un total de 5 kg, luego llevadas al laboratorio para ser mezcladas homogéneamente por 10 minutos y continuar.

4.5.3 Criterios de Inclusión y Exclusión

a. Criterios de inclusión: Hojas de colén (*Psolarea glandulosa*) seleccionadas en correcto estado, si son frescas, están libres de microbios y materias extrañas, no están dañadas, presentan buenas características físicas y se mantienen inalteradas desde el punto de vista

morfológico y fisiológico.

b. Criterios de Exclusión: Hojas de colén (*Psolarea glandulosa*) que presente daño visiblemente evidente, con microbios; con daño a nivel morfológico y fisiológico.

4.6 Técnicas e Instrumentos de recolección de datos

Tomando las consideraciones de Hernández *et al.* (2014). Los instrumentos utilizados para el desarrollo del presente trabajo, consistió en elaborar un registro para los resultados por extracción y sus respectivos pesos, fichas de evaluación cualitativa para metabolitos secundarios de la caracterización fitoquímica y una ficha de evaluación cuantitativa de actividad antioxidante. También, se adjuntó las declaraciones de autoría y de confidencialidad, como también los protocolos otorgados por la Universidad Nacional del Centro del Perú (UNCP).

4.7 Técnicas de procesamiento y análisis de datos

4.7.1 Secado de hojas de colén.

Tras la recolección de hojas de colén, se procedió a llevarlas al laboratorio de la UPLA para el debido rotulado y sellado. Seguidamente se llevó la muestra al laboratorio de la UNCP, a fin de realizar el secado por unos 15 días en forma natural. Luego fue triturado todo lo obtenido y almacenado en un frasco de tapa rosca de color ámbar para su posterior procesamiento.

4.7.2 Preparación de extracto acuoso

Para esta prueba, se pesó 100 g de hoja deshidratadas en polvo triturado y se realizó la infusión, filtró y se concentró en rota vapor para obtener un residuo seco de color verde oscuro. Seguidamente se calculó el rendimiento del extracto acuoso mediante espectrofotometría y su registro.²⁴

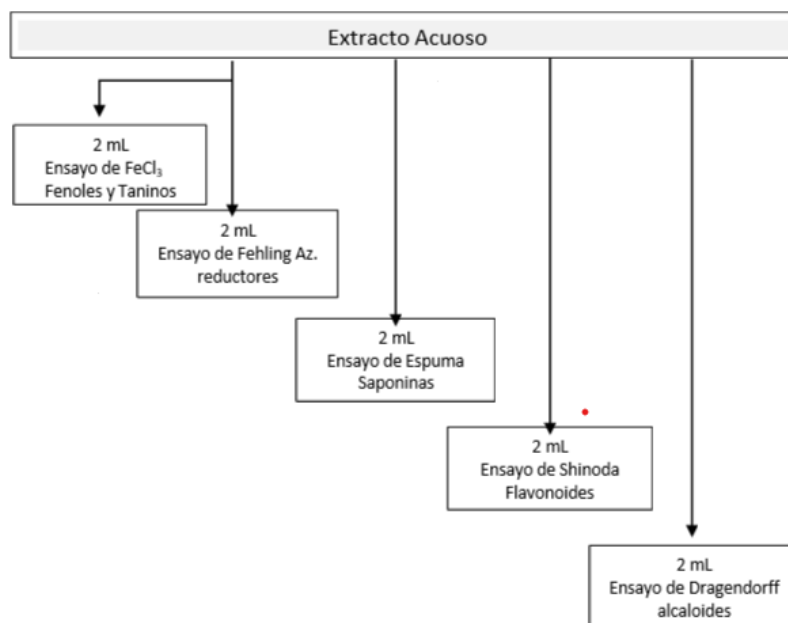


Figura 3. Flujo de perfil fitoquímico del extracto acuoso del colén ²⁴
Fuente: Ayala, J., et al

4.7.3 Preparación del extracto hidroalcohólico

Al igual que el anterior, se pesó 100 g de las hojas secas en polvo y fueron mezcladas con soluciones alcohólicas (etanol) a una concentración de 80% y en una proporción de 1 a 10 respecto al agua. Para ello, se utilizó frascos estériles y se colocó bajo oscuridad con agitación magnética aproximadamente en un tiempo de 30 min. por día, en un periodo de quince días.²⁴

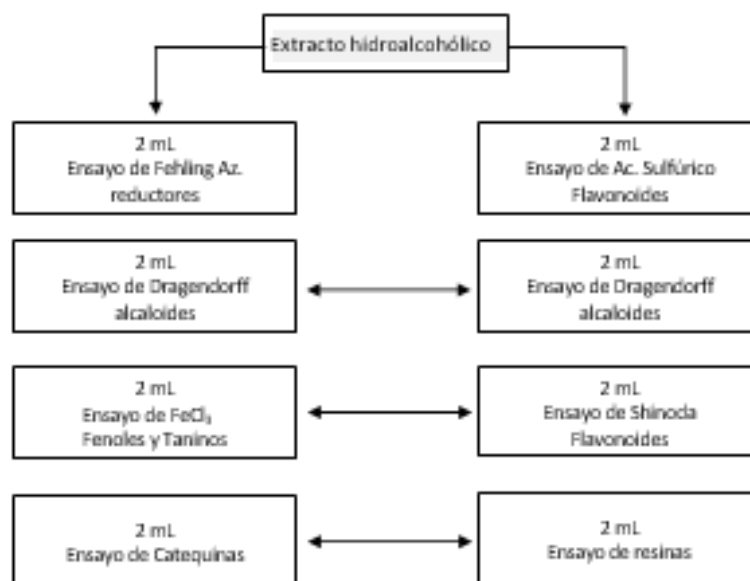


Figura 4. Flujo del perfil fitoquímico en el extracto hidroalcohólico del colén ²⁴
Fuente: Ayala, J., et al

4.7.4 Análisis fitoquímico

Esta prueba se preparó con diferentes reactivos para identificar los componentes fitoquímicos mediante tamizajes con malla de 150 mm y observar la presencia de fenoles, flavonoides y taninos.²⁴

4.7.5 Determinación de la Actividad Antioxidante por DPPH

Usando una pipeta Eppendorf con capacidad de 1000 μ L, se midió 600 μ L de solución DPPH en un microtubo de 1ml. Se midió la densidad óptica al inicio presentando una longitud de onda de 515 nm, posteriormente se vertió 200 μ L de cada uno de los extractos. Seguidamente, se realizarán 1 medición de 3 tiempos por día de ambos extractos en un rango de 10 minutos por 3 días.²⁰

4.7.6 Análisis y procesamiento de datos

A fin de conseguir inferencias y obtener resultados significativos, se utilizó el estadístico ANOVA de un factor para medias grupales en el Rstudio del paquete estadístico R y Rcomander y Shapiro Wilk y prueba T. Al tener la normalidad estadística, pero no homocedasticidad; se procedió con la prueba de suma de rangos a fin de conseguir el *P-valor* y su evaluación poshoc para conseguir diferencia de algún grupo. Finalmente, para la caracterización del perfil fitoquímico, el desarrollo fue cualitativo identificando sus propiedades en tabla con aspas.

4.8 Aspectos éticos de la Investigación

Los aspectos éticos de la presente investigación están basados en los Artículos 27° y 28° del reglamento general de investigación de la Universidad Peruana los Andes.

Las normas que están relacionadas de acuerdo al Artículo 27° con la presente investigación son protección al medio ambiente y el respeto de la biodiversidad, responsabilidad y veracidad.

Así mismo las normas de comportamiento ético con el Artículo 28° que están relacionados con nuestra investigación son:

- Ejecutar investigaciones pertinentes, originales y coherentes con las líneas de investigación Institucional.

- Proceder con rigor científico asegurando la validez, la fiabilidad y credibilidad de sus métodos, fuentes y datos.
- Asumir en todo momento la responsabilidad de la investigación, siendo conscientes de las consecuencias individuales, sociales y académicas que se derivan de la misma
- Tratar con sigilo la información obtenida y no utilizarla para el lucro personal, ilícito o para otros propósitos distintos de los fines de la investigación.
- Cumplir con las normas institucionales, nacionales e internacionales que regulen la investigación, como las que velan por la protección de los sujetos humanos, sujetos animales y la protección del ambiente.
- Publicar los trabajos de investigación en estricto cumplimiento al Reglamento de Propiedad Intelectual de la Universidad Peruana Los Andes y normas referidas a derecho de autor

CAPÍTULO V

RESULTADOS

5.1 Descripción de resultados

5.1.1 Fitoquímicos de las hojas de colén.

En la presente ilustración de la Tabla 1, el perfil fitoquímico de la especie colén (*Psoralea glandulosa*), realizado cualitativamente por colorimetría. Se puede apreciar los resultados de los metabolitos secundarios desarrollados por el ácido shikímico, propias de las plantas con compuestos fenólicos conforme Cartea M. et al. 2011. Resumiéndose que existe una fuerte presencia de fenoles, flavonoides y taninos del extracto acuoso (+++) respecto al extracto hidroalcohólico (+).

Tabla 1. Evaluación cualitativa del perfil fitoquímico de las hojas de colén

Metabolitos Secundarios	Reacción	Extracto Hidroalcohólico	Extracto Acuoso
Fenoles	Tricloruro férrico	-	+++
Flavonoides	Shinoda	+	+++
Taninos	Gelatina	+	+++
Alcaloides	Dragendorff	+	++
Leucoantocianidinas	Rosenheim	-	-
Antraquinonas	Prueba de Bornträger	-	-
Terpenos	Liebermann Burchard	++	+
Carbohidratos	Prueba de Fehling	+	++
Cumarina	Prueba de fluorescencia	+	++
Quinonas	Borntrager	-	-
Saponinas	Espuma	++	+

Fuente: Elaboración propia

Nota: Presencia mínima de metabolitos (+), menor presencia de metabolitos (++), mayor presencia de metabolitos (+++), y ausencia de metabolitos (-).

5.1.2 Extractos hidroalcohólicos y acuoso de las hojas de “colén” (*Psolarea glandulosa*).

En la presente tabla N° 2 y tabla N° 3, se observa “n” total de 9 muestras. Estas se distribuyen en grupos comprendidos en el extracto hidroalcohólico y acuoso. Cada grupo, muestra sus promedios correspondientes expresados en mg/L por 100 g de muestra. Las mismas, que expresan su normalidad a Shapiro-Wilk (posible insuficiencia de muestras) y un T pariado de alta significancia mostrando diferencia porcentual a los extractos mencionados.

La absorbancia de 0.92 mostrada en la tabla N° 2 es obtenida al añadir el DPPH a la muestra del extracto hidroalcohólico.

Tabla 2. Porcentaje de inhibición del extracto hidroalcohólico de las hojas de colén

n	DPPH		% inhibición			Shapiro - Wilk	Prueba T pariada
	Absorbancia	Resultados		□	DS		
1	0.92	0.234	74.57				
2	0.92	0.2266	75.37	74.54	0.85		
3	0.92	0.2422	73.67				
4	0.92	0.2257	75.47				
5	0.92	0.2176	76.35	75.40	0.98	0.606	0.00000174
6	0.92	0.2356	74.39				
7	0.92	0.2367	74.27				
8	0.92	0.2253	75.51	75.41	1.10		
9	0.92	0.2166	76.46				

Fuente: Elaboración propia

Nota: DPPH: 0.92 constante ajustado para mejor observación del % de inhibición.

Tabla 3. Porcentaje de inhibición del extracto acuoso de colén

n	DPPH		% inhibición	□	DS	Shapiro - Wilk	Prueba T paritada P-valor
	Absorbancia	Resultado					
1	0.92	0.1828	79.46				
2	0.92	0.1759	80.24	80.01	0.48		
3	0.92	0.1749	80.35				
4	0.92	0.1908	78.56				
5	0.92	0.1594	82.09	80.28	1.77	0.9179	0.00000174
6	0.92	0.1763	80.19				
7	0.92	0.1669	81.25				
8	0.92	0.167	81.24	80.58	1.14		
9	0.92	0.1846	79.26				

Fuente: Elaboración propia

Nota: DPPH: 0.92 constante ajustado para mejor observación del % de inhibición.

La absorbancia de 0.92 mostrada en la tabla N° 3 es obtenida al añadir el DPPH a la muestra del extracto acuoso.

Por otro lado, en las figuras N°5 y N°6 se puede observar el comportamiento de los datos distribuidos entre los extractos hidroalcohólico y acuoso. Mostrando la elevada significancia en el porcentaje de inhibición del grupo acuoso con un $p= 0.00000174$, (prueba T paritado).

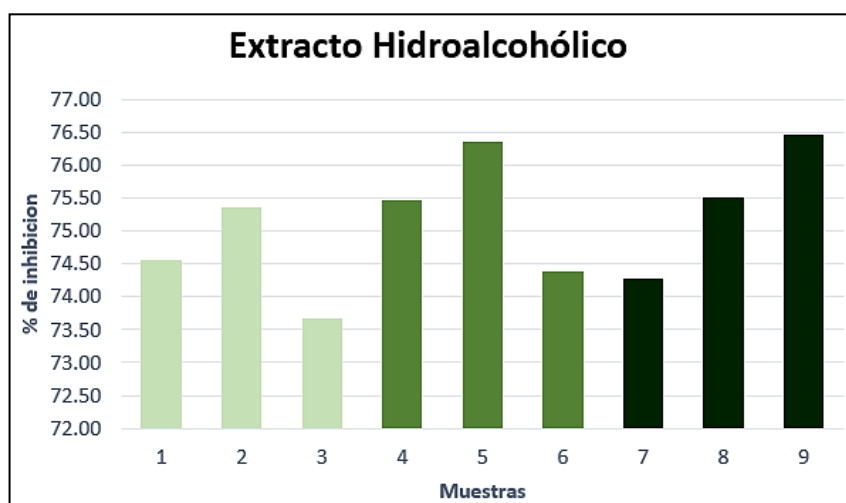


Figura 5. Comportamiento de las 9 muestras del extracto hidroalcohólico
Fuente: Elaboración propia

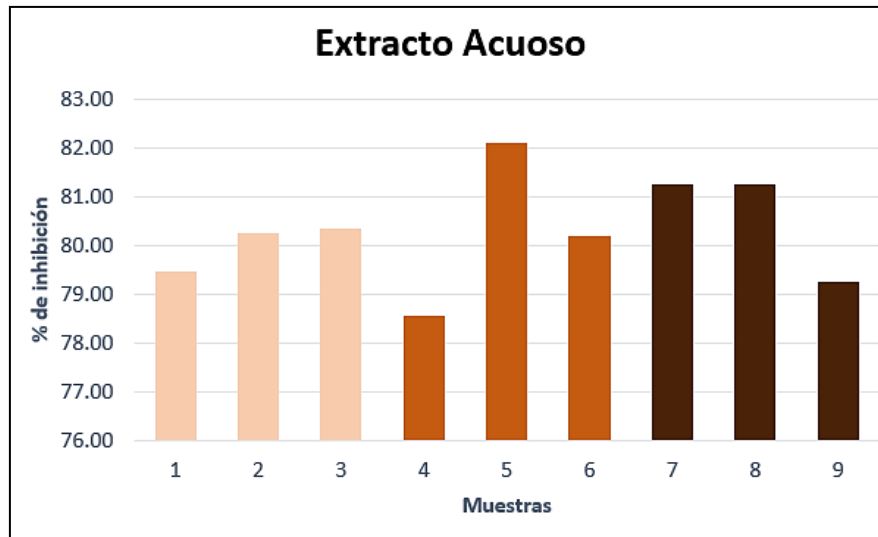


Figura 6. Comportamiento de las 9 muestras del extracto acuoso
Fuente: Elaboración propia

5.2 Contrastación de hipótesis

H0 = Los diferentes extractos de las hojas de colén (*Psoralea glandulosa*) en la zona de Palo Seco del distrito de Concepción, no presentaron diferencias a la capacidad de antioxidantes y caracterización fitoquímica.

H1 = Los diferentes extractos de las hojas de colén (*Psoralea glandulosa*) en la zona de Palo Seco del distrito de Concepción, presentaron diferencias a la capacidad de antioxidantes y caracterización fitoquímicas.

Nivel de significancia: $\alpha = 0.05 = 5\%$ de margen máximo de error

Nivel de confianza: 0.95 o 95%

Regla de decisión: $p > \alpha \rightarrow$ se acepta la hipótesis nula H0

$p < \alpha \rightarrow$ se rechaza la hipótesis nula H0

5.2.1 Verificación de normalidad estadística

Hipótesis nula (falso) H0: $\mu_1 = \mu_2$

Hipótesis alterna (verdadero) Ha: $\mu_1 \neq \mu_2$

a. Test de normalidad para extracto hidroalcohólica.

H0= Normal.

H1= No normal.

Test de normalidad Shapiro-Wilk

p-value alpha

0.606 > 0.05

∴ Se acepta H0 y se rechaza H1. Ésta señala, que con una confianza del 95%, el extracto hidroalcohólico si sigue la normalidad deseada. Pero no la homocedasticidad.

b. Test de normalidad para extracto acuoso.

H0= Normal.

H1= No normal.

Test de normalidad Shapiro-Wilk

p-value alpha

0.9179 < 0.05

∴ Se acepta H0 y se rechaza H1. Ésta señala, que con una confianza del 95%, el extracto hidroalcohólico si sigue la normalidad deseada. Pero no la homocedasticidad.

Se concluye que son estadísticamente iguales debido a que la prueba estadística nos indica que

0.9179 < 0.05.

CAPITULO VI

6.1 Análisis y discusiones de resultados

Los componentes fitoquímicos del extracto hidroalcohólico de las hojas de “colén” están presentes con mayor predominancia en el extracto acuoso. En ellas se caracterizaron principalmente los fenoles (+++), flavonoides (+++) y taninos (+++); así como otros elementos en menor proporción. Tal como lo considera Gutiérrez M. y Alva S.⁷ en su investigación sobre los fitoconstituyentes de las hojas de colén (*Psoralea glandulosa*) y efecto de la infusión sobre la glicemia en *rattus rattus* var. *Albinus* con hiperglicemia experimental, en el que se encontraron los siguientes fitoconstituyentes: 13% son derivados terpénicos (cadenas cíclicas), 11% de flavonoides, 10% de cumarinas, 9% de saponinas, 8% de taninos, 5% de alcaloides y un 3% de antraquinonas.

Así mismo, Zhang X. et al.²⁷ identificó 90 compuestos de la especie *Psoralea corylifolia*, como cumarinas, meroterpenos, flavonas, chalconas, estigmasteroides, lípidos, resinas y aceite volátil entre muchas. Biológicamente, los principales componentes activos son cumarinas, flavonoides, la mayoría de los cuales se encuentran en las hojas de la planta, y gracias a estos componentes fitoquímicos presentan actividades biológicas como antioxidante, antibacteriano, antifúngico, propiedades antitumorales, estrogénicas, antiinflamatorias, osteoblásticas e inmunomoduladores. Estos hallazgos son similares a los identificados para la especie colén (*Psoralea glandulosa*) que presentan los mismos componentes activos determinados en la investigación.

También, los investigadores Carocho, M. y Ferreira, I.²⁸ mencionaron que los componentes fitoquímicos antioxidantes naturales derivados de las plantas generalmente son taninos, ácidos fenólicos, flavonoides, alcaloides, esteroides, catequinas, antocianinas y proantocianina los cuales debido a sus propiedades biológicas actúan como antioxidantes y de esta manera prevenir o retrasar el desarrollo de enfermedades degenerativas no transmisibles.

Los hallazgos cualitativos del extracto hidroalcohólico, son similares a los reportados por Aguilar A.²⁹ quien afirmó que los flavonoides son los metabolitos secundarios en mayor concentración y seguidamente por los fenoles totales. Similar descubrimiento obtuvo Madrid A.³⁰ quien reporta valores cercanos a lo detectado en la investigación de fenoles y flavonoides en extractos de hojas de

Psoralea glandulosa.

Hu C. et al.³¹ confirmaron que la actividad de eliminación de radicales de todos los extractos de hojas alcanzando un 50% de reducción con una CI50 de 1,00 mg / ml a 1,61 mg / ml. Los valores de CI50 y para los extractos los investigadores concluyeron que tienen una correlación directa con la concentración de flavonoides y fenoles que se encuentran en las hojas de colén (*Psoralea glandulosa*).

Sanchez B.³² detectaron actividad antioxidante y mayor contenido de polifenoles en las hojas de colén (*Psoralea glandulosa*), en el extracto metanólico, tras haber realizado un extracto acuoso y un extracto metanólico con hojas y tallos del colén, presentando 821.16 ± 25.17 mM Trolox Eq./1 g muestra seca y 42.43 ± 0.91 mg de catequina.

CONCLUSIONES

1. En la evaluación de características fitoquímicas de la colén (*Psoralea glandulosa*) se apreció presencia de fenoles flavonoides y taninos en el extracto acuoso, así como la actividad antioxidante en comparación al extracto hidroalcohólico
2. En el extracto acuoso se encontró mayor presencia de metabolitos como fenoles, flavonoides y taninos y menor cantidad de alcaloides, carbohidratos, cumarinas, terpenos y saponinas, mientras que el extracto hidroalcohólico presentó en menor cantidad terpenos, saponinas, flavonoides, taninos, alcaloides, carbohidratos y cumarina.
3. La capacidad antioxidante de extracto hidroalcohólico de las hojas de colén (*Psoralea glandulosa*) con la prueba de DPPH (Radical 2,2- difenil -1- picrylhydrazyl) presenta un porcentaje de inhibición de 75.41%.
4. La capacidad antioxidante del extracto acuoso de las hojas de colén (*Psoralea glandulosa*) utilizando la prueba de DPPH (Radical 2,2- difenil -1- picrylhydrazyl) presentó un 80.58% de inhibición.

RECOMENDACIONES

1. Para futuras investigaciones, se sugiere diferenciar las muestras según geolocalización, a fin de observar algunas influencias en los cambios de resultados, por ejemplo, cercanía al río, desarrollo de la planta en tierras eriazas, dentro del cultivo, etc.
2. Realizar estudios utilizando tecnologías de extracción como fluidos supercríticos para aislar los componentes fitoquímicos y evaluar las actividades biológicas del colén (*Psoralea glandulosa*) que se produce en la región central del Perú.
3. Ampliar la investigación en diferentes tipos de extractos de colén (*Psoralea glandulosa*) incluyendo las hojas y el tallo, además se podría considerar la temperatura, ya que ello podría influir en la concentración de la capacidad antioxidante.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. OMS. Medicina tradicional: definiciones [Internet]. WHO. [citado 24 de julio de 2016]. Disponible en: http://www.who.int/topics/traditional_medicine/definitions/es/.
2. Álvarez Quiroz V, Caso Barrera L, Aliphat Fernández M, Galmiche Tejeda A. Plantas medicinales con propiedades frías y calientes en la cultura Zoque de Ayapa, Tabasco, México. *Blacpma* [Internet]. 2017 [citado 12 oct 2020];16(4):434. Disponible en: <https://www.redalyc.org/pdf/856/85651256007.pdf>
3. ZHANG, XIAORUI. Medicina tradicional, Medicamentos Esenciales y Política Farmacéutica (EDM) [en línea]. [Consulta: 17 de 08 de 2015]. Disponible en: http://www.who.int/topics/traditional_medicine/definitions/es/
4. Pérez Azurza E. A. Efecto regenerador del extracto hidroetanólico seco de hojas de *Psoralea glandulosa* (culén) sobre tejido gástrico con úlceras inducidas por etanol en ratas. TESIS. Para optar el Título Profesional de Licenciado en Nutrición. Facultad de Medicina Escuela Profesional de Nutrición. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú. 2018
5. Ramírez Verastegui J. Efecto hipoglicemiante del infuso de planta total de *Psoralea glandulosa* (Cullen) en *rattus var albinus* normoglicemicas. [Tesis doctoral]. Trujillo. Universidad privada Antenor Orrego Facultad de Medicina Humana; 2016.
6. Soto Vásquez M. R. Estudio fitoquímico y cuantificación de flavonoides totales de las hojas de *Piper peltatum* L. y *Piper aduncum* L. procedentes de la región Amazonas. In *Crescendo*. Institucional. 2015; 6(1): 33-43.
7. Gutiérrez Ramos, Miriam; Alva Bazán, Salomón. Fitoconstituyentes de las hojas de *Psoralea glandulosa* y efecto del infuso sobre la Glicemia en *Rattus rattus* var. *albinus* con hiperglicemia experimental. *Rev. Med. Vallejana*. 2006. Vol. 3 N° 2
8. Molero Mori. Angela Edith. Estudio comparativo de plantas gastroprotectoras cultivadas en Perú y China. Tesis. Para optar al título profesional de Químico Farmacéutico y Bioquímico. Facultad de ciencias Farmacéuticas y Bioquímica. Universidad Inca Garcilaso de la Vega. Lima Perú. 2017.
9. Madrid M. A., Espinoza J. L., Mellado A. M., Osorio M. O., Montenegro J. I. y Jara E. C. Evaluation OF The Antioxidant Capacity OF *Psoralea glandulosa* L. (Fabaceae) Extracts. *J. Chil. Chem. Soc.*, 57, N° 3 (2012)

10. Madrid M. A., Espinoza J. L., Mellado A. M., González Z. C., Santander R., Villena J. y Jara C. Study of the Chemical Composition of the Resinous Exudate Isolated from *Psoralea glandulosa* and Evaluation of the Antioxidant Properties of the Terpenoids and the Resin. *Bol Latinoam Caribe Plant Med Aromat* 12(4). 2013: 338 – 345
11. Madrid A., Venera Cardile, César González, Ivan Montenegro, Joan Villena, Silvia Caggia, Adriana Graziano y Alessandra Russo. . *Psoralea glandulosa* as a Potential Source of Anticancer Agents for Melanoma Treatment. *Int. J. Mol. Sci.* 2015, 16, 7944-7959
12. Zhang X., Zhao W., Wang Y., Lu J. and Chen X. The Chemical Constituents and Bioactivities of *Psoralea corylifolia* Linn.: A Review *Department of Pharmacy, The First College of Clinical Medical Science China Three Gorges University, Yichang, Hubei, China. 2016. *The American Journal of Chinese Medicine*, Vol. 44, No. 1, 35–60
13. A. Hoffmann, C. Farga, J. Lastra and E. Veghazi in *The Plantas Medicinales de uso común en Chile*, eds. Fundación Claudio Gay, Santiago, 1992; pp. 79-82.
14. Rozzi S. in *The Las Plantas. Fuente de Salud*, eds. Pía Sociedad de San Pablo, Santiago, 1984; pp. 104.
15. Erazo, R. García, F. and Delle monache, *Rev. Latinoam. Quím.* 21, 62, (1990)
16. Backhouse N., C. Delporte, R. Negrete, P. Salinas, A. Pinto, S. Aravena, B. Cassels, *Int. J. Pharmacog.* 34, 53, (1996)
17. Backhouse N., C. Delporte, R. Negrete, S. Erazo, A. Zuñiga, A. Pinto, and B. Cassels, *J. Ethnopharmacol.* 78, 27, (2001)
18. Guija, P., Inocente, M. , Ponce J., Zarzosa E. Evaluación de la técnica 2,2-Difenil-1-Picrilhidrazilo (DPPH) para determinar capacidad antioxidante. [Internet]. 2015 [citado 2019 Ago 20]. Vol. 15 (1): 57 – 60.
19. Nuñez W., Quispe R., Ramos N., Castro A., Gordillo G. Activities anti-enzymatic and antioxidant in vitro and anti-inflammatory in vivo of hydroalcoholic extract from *Caesalpinia spinosa* "tara". [Internet]. 2016
20. Toledo M. Estudio fitoquímico, evaluación de la actividad antioxidante y antimicrobiana de la corteza de "triumfetta semitriloba" jacq (motecepo) y análisis de parámetros reológicos del mucílago. [Internet]. 2015

21. Ayala, J., Vega, V., Rosas, C., Palafox, H., Villa, J., Wasim, M., Dávila, J., González, D. Agro-industrial potential of exotic fruit byproducts as a source of food additives. *Food Research International* [Internet]. 2011 [citado 2017 Ago 20]. Vol. 44 (7): 1866 – 1874.
22. Carbajal Azcona. *Manual de Nutrición y Dietética*. Universidad Complutense de Madrid [Internet]. 2013 [citado 2017 Ago 13].
23. Becerra J., M. Bittner, V. Hernández, C. Brintrup, M. Silva, *BLACPMA* 9, 212, (2010)
24. Lock de Ugaz O. *Manual de fitoterapia. Análisis fitoquímico y metabolitos 70 secundarios*. Lima, PE. 2017. <http://www.bvsde.paho.org/texcom/manualesMEC/fitoterapia/cap4.pdf>
25. Campbell, D.T. y Stanley, J.C. *Diseños experimentales y cuasiexperimentales de investigación*. Buenos Aires (1973): Editorial Amorrortu.
26. Hernández R, Fernández C, Baptista P. *Metodología de la Investigación*. 5 a ed. México: McGraw S.A; 2010. p. 1 – 23.
27. Zhang Xuenong, Wenwen Zhao, Ying Wang, Jinjian Lu and Xiuping Che. The Chemical Constituents and Bioactivities of *Psoralea corylifolia* Linn.: A Review. *The American Journal of Chinese Medicine*, 2016. Vol. 44, No. 1, 35–60
28. Carochi, M. & Ferreira, I. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association*, (2013). 51, 15–25 pp.
29. Aguilar A. Efecto cicatrizante de fenoles y flavonoides del extracto hidroalcohólico de las hojas de *Desmodium molliculum* (HBK) DC “manayupa”. [Tesis]. Universidad Nacional De San Cristóbal Del Huamanga. Perú 2018. Disponible en: http://repositorio.unsch.edu.pe/bitstream/handle/UNSCH/2715/TESIS%20Far490_Agu.pdf?sequence=1&isAllowed=y
30. Madrid A., ESPINOZA L., MELLADO M., OSORIO M., MONTENEGRO I., JARA C. Evaluation of the antioxidant capacity of *Psoralea glandulosa* L. (Fabaceae) Extracts. *J. Chil. Chem. Soc.*, 57, N° 3 (2012).
31. Hu C., Y. Yuan, D. Kitts, *Food Chem. Toxicol.* 45, 2219 (2007)
32. Sanchez B. Capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales presentes en hojas y tallos de *Psoralea glandulosa* (Culen). [Tesis]. Universidad Católica Los Ángeles De

Chimbote. Perú 2018. Disponible en:
<https://repositorio.uladech.edu.pe/handle/20.500.13032/15787>

ANEXOS

ANEXO 1
MATRIZ DE CONSISTENCIA

PROBLEMA	OBJETIVOS	JUSTIFICACION	HIPOTESIS	VARIABLES	INDICADORES	METODO
<p>GENERAL ¿Cuál son las características fitoquímicas y capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico y acuoso de hojas de colén (Psoralea glandulosa)?</p> <p>ESPECIFICOS ¿Cuál son las características fitoquímicas del extracto hidroalcohólico y acuoso de hojas de colén (Psoralea glandulosa)?</p> <p>¿Cuál es la capacidad antioxidante del extracto hidroalcohólico de hojas de colén (Psoralea glandulosa)?</p> <p>¿Cuál es la capacidad antioxidante del extracto acuoso de hojas de colén (Psoralea glandulosa)?</p>	<p>GENERAL Determinar las características fitoquímicas y actividad antioxidante del extracto hidroalcohólico y acuoso de hojas de colén (Psoralea glandulosa)”. ESPECIFICOS a) Determinar las características fitoquímicas de los extractos hidroalcohólico y acuoso de las hojas de colén (Psoralea glandulosa)”. b) Determinar la capacidad antioxidante de extracto hidroalcohólico de las hojas de colén (Psoralea glandulosa). c) Determinar la capacidad antioxidante del extracto acuoso de las hojas de colén (Psoralea glandulosa).</p>	<p>SOCIAL: Consideramos que el presente trabajo de investigación, abrirá la puerta del conocimiento, al reconocer los principales elementos responsables del alivio a los males digestivos y poner al alcance de la comunidad andina. Se sabe que las hojas de colén (<i>Psoralea glandulosa</i>) posee más de 150 elementos fitoquímicos, pero en el campo laboratorial a falta de insumos y otras complementarias, solo se alcanza conocer hasta 12 elementos fitoquímicos. Motivo a que el presente trabajo tiene la finalidad de conocer cualitativamente, del cuál de los elementos fitoquímicos tentativamente estén relacionados a calmar las dolencias digestivas al que nuestros habitantes dan como efectivas.</p>	<p>GENERAL Los diferentes extractos de la hoja de colen Psoralea glandulosa del distrito de ingenio, presentaron diferencias a la capacidad antioxidante y caracterización fitoquímica</p> <p>ESPECIFICO Hi= El perfil fitoquímico influye en la capacidad antioxidante de las hojas de Psoralea glandulosa “colén”. Hi= El extracto hidroalcohólico de hojas de Psoralea glandulosa “colén” presentan capacidad antioxidante. Hi= El extracto acuoso de las hojas de Psoralea glandulosa “Colen” tiene capacidad antioxidante.</p>	<p>VARIABLE INDEPENDIENTE. Hojas de colén (<i>Psoralea glandulosa</i>)</p> <p>VARIABLE DEPENDIENTE: Extracto acuoso de las hojas de colén (<i>Psoralea glandulosa</i>) Extracto hidroalcohólico de las hojas de colén (<i>Psoralea glandulosa</i>)</p>	<p>100 gr de hojas de colén secas</p> <p>µL/100g</p> <p>Decoloración del reactivo DPPH</p>	<p>Extracción acuosa</p> <p>Extracción hidroalcohólica</p> <p>Espectrofotometría UV/Visible. Modelo UV-1601</p>

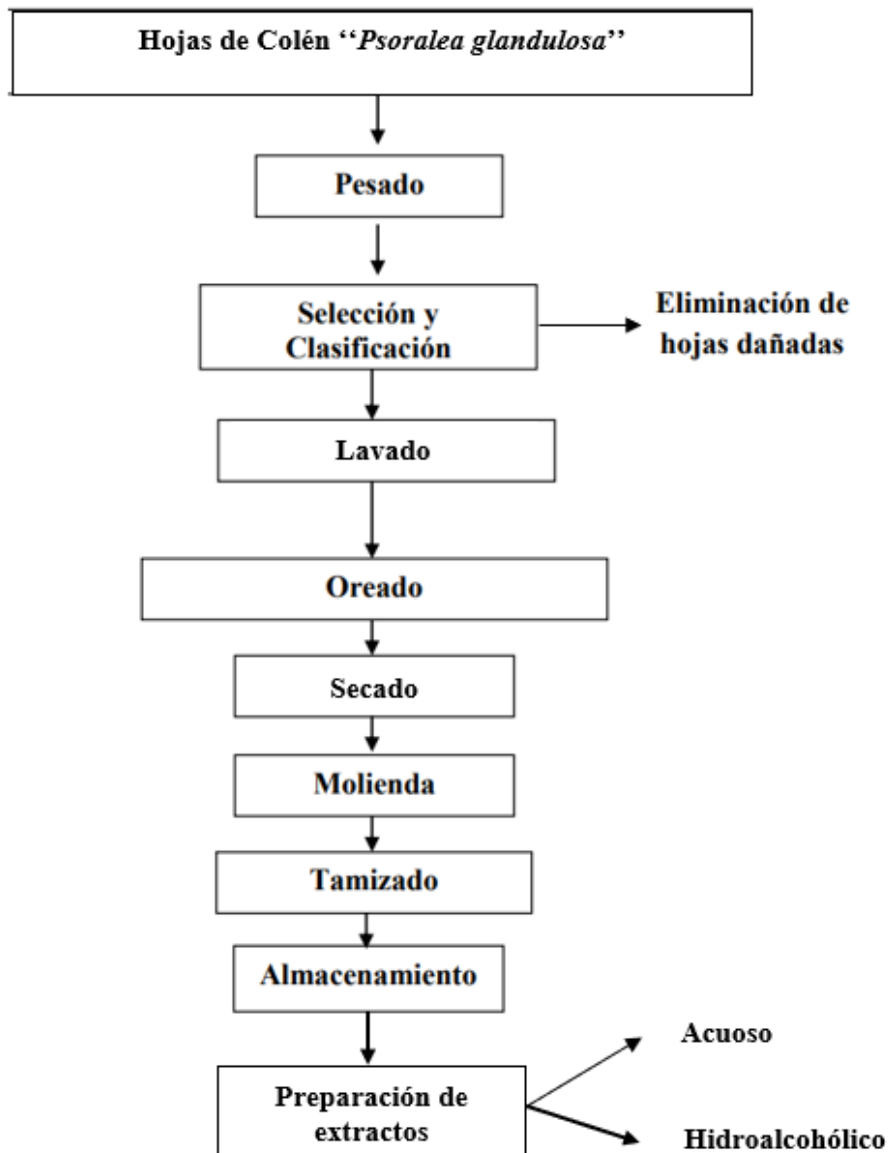
ANEXO 2
MATRIZ DE OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLES	DEFINICION CONCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	DIMENSIONES	INDICADOR	ESCALA
<p>a) Independiente Hojas de colén <i>(Psoralea glandulosa)</i></p> <p>B) Dependiente Extracto acuoso de las hojas de colén <i>(Psoralea glandulosa)</i></p> <p>Extracto hidroalcohólico de las hojas de colén <i>(Psoralea glandulosa)</i></p>	<p>Los extractos de las hojas de colén se extraen químicamente y en forma natural con apoyo de instrumentos especializados y artesanales.</p> <p>Capacidad paradisolver sustancias apolares, donde interacciona las moléculas con el etanol y reporta un resultado. Los antioxidantes se caracterizan por ser muy heterogéneos, hidrosolubles y liposoluble.</p>	<p>Extraer los principios activos fitoquímicos contenidos en hojas de colén utilizando como líquido extractivo al agua y etanol.</p> <p>Determinar los metabolitos secundarios de las hojas por espectrofotometría</p>	<p>Hojas/agua</p> <p>Hojas/etanol</p>	<p>gr/100g de extracto de hojas de colén.</p> <p>g/100g de extracto de hojas de colén</p> <p>colorimetría</p>	<p>Ordinal</p>

ANEXO 3
REGISTRO DE PESADO EN GRAMOS

Muestras	Características de la <i>Psoralea glandulosa</i> "colén"		
Fecha	PRODUCTO	PESO DEL PRODUCTO	OBSERVACIONES
	Colén triturado para extracto Hidroalcohólico	10 pesadas de 100 gr.	Olor ligeramente oxidado
	Colén triturado para extracto Acuoso	10 pesadas de 100 gr.	Olor ligeramente oxidado

ANEXO 4
PROCESO DE PREPARACIÓN EN HOJAS DE COLÉN " *PSORALEA GLANDULOSA* "



ANEXO 5

FICHA DE EVALUACIÓN CUANTITATIVA DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE LAS HOJAS DE *PSORALEA GLANDULOSA* 'COLÉN'

	Determinación espectrofotométrica de la actividad antioxidante de los extractos de hojas de <i>Psoralea glandulosa</i> "colén"			
	Extracto Hidroalcohólico		Extracto Acuoso	
	DPPH	%Inhibición	DPPH	%Inhibición
1	0.92	74.57	0.92	79.46
2	0.92	75.37	0.92	80.24
3	0.92	73.67	0.92	80.35
4	0.92	75.47	0.92	78.56
5	0.92	76.35	0.92	82.09
6	0.92	74.39	0.92	80.19
7	0.92	74.27	0.92	81.25
8	0.92	75.51	0.92	81.24
9	0.92	76.46	0.92	79.26

ANEXO 6
PROTOCOLO PARA LA EXTRACCIÓN DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE.
CORTESÍA DEL LABORATORIO UNCP

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CENTRO DEL PERU
LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD
AREA: FISICOQUIMICA

Determinación de la Actividad antioxidante (Ensayos por DPPH)

Se empleó el método de DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) según lo descrito por (Zamora, 2016) con algunas modificaciones.

1. Solución de DPPH: Se preparó 100 mL de solución metanólica al 90% donde se agregó 0,005 g del radical DPPH. (1×10^{-5} mg/L)
2. Se tomo 0,1mL de extracto (cada extracto a una concentración de 10mg/mL) y se añade 3,9 mL de solución metanólica de DPPH en 3 tubos de ensayos con taparrosca
3. Luego la mezcla se agitó y se deja reacción en oscuridad durante 16 minutos.
4. Se preparo la muestra blanco en tubo de prueba con taparrosca con 0.1 mL de agua ultra pura y 3.5 ml de solución metanólica de DPPH. Se dejó reaccionar por 30 minen lugar oscuro a temperatura ambiente, posteriormente se midió la absorbancia a una longitud de onda de 515 nm en un espectrofotómetro.
5. Para expresar el porcentaje de inhibición se empleó la ecuación siguiente:

$$\% \text{ Inhibición} = \left(1 - \frac{ABm}{ABc} \right) \times 100$$

Donde ABm es la absorbancia de la muestra


ABc es la absorbancia del blanco o control

**ANEXO 7
DECLARACIÓN DE AUTORÍA**

COMPROMISO DE AUTORÍA

En la fecha, yo Narida Savina Quispe Quispe, identificado con DNI N° 44854876 Domiciliado en AV. Manuel Prado s/N Santo Domingo estudiante o docente de la Facultad o Posgrado de Farmacología y Bioquímica de la Universidad Peruana Los Andes, me COMPROMETO a asumir las consecuencias administrativas y/o penales que hubiera lugar si en la elaboración de mi investigación titulada Caracterización Fitoquímica y Capacidad antioxidante de Extracto Hidroalcohólico y Acuoso de Hoja de Colón Psoralea glandulosa se haya considerado datos falsos, falsificación, plagio, auto plagio, etc. y declaro bajo juramento que el trabajo de investigación es de mi autoría y los datos presentados son reales y he respetado las normas internacionales de citas y referencias de las fuentes consultadas.

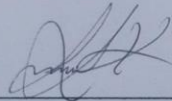
Huancayo, 13 de MAYO 2021

Narida S. Quispe Quispe 
Apellidos y Nombres
DNI N° 44854876

COMPROMISO DE AUTORÍA

En la fecha, yo Cordova Julcarima, Lizbeth Mayela, identificado con DNI N° 70038940 Domiciliado en Prolongación 13 de Noviembre #994 - Hyc, estudiante o docente de la Facultad o Posgrado de Farmacología y Biología de la Universidad Peruana Los Andes, me COMPROMETO a asumir las consecuencias administrativas y/o penales que hubiera lugar si en la elaboración de mi investigación titulada Caracterización Fitofarmacológica y Capacidad antioxidante de extracto hidroalcohólico y acuoso de hojas de Colea (psoralea glandulosa) ...se haya considerado datos falsos, falsificación, plagio, auto plagio, etc. y declaro bajo juramento que el trabajo de investigación es de mi autoría y los datos presentados son reales y he respetado las normas internacionales de citas y referencias de las fuentes consultadas.

Huancayo, 13 de Mayo 2021



Apellidos y Nombres: Cordova Julcarima, Lizbeth Mayela
DNI N°: 70038940

ANEXO 8
DECLARACIÓN DE CONFIDENCIALIDAD

UNIVERSIDAD PERUANA LOS ANDES FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
DIRECCIÓN DE LA UNIDAD DE INVESTIGACIÓN

Declaración de confidencialidad N° 1

Yo Quispe Quispe, Nerida Sevina, identificado (a) con DNI N° 44854876 estudiante/docente/egresado la escuela profesional de Farmacia y Bioquímica, (vengo/habiendo) implementando/implementado el proyecto de investigación titulado “Caracterización fitoquímica y capacidad antioxidante de extracto hidroalcohólico y acuoso de hojas de Psoralea glandulosa “colén”, en ese contexto declaro bajo juramento que los datos que se generen como producto de la investigación serán usados únicamente con fines de investigación de acuerdo a lo especificado en los artículos 27 y 28 del Reglamento General de Investigación y en los artículos 4 y 5 del Código de Ética para la investigación Científica de la Universidad Peruana Los Andes , salvo con autorización expresa y documentada de alguno de ellos.

Huancayo, 13 de mayo 2021.



Nérida S. QUISPE Q

UNIVERSIDAD PERUANA LOS ANDES FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
DIRECCIÓN DE LA UNIDAD DE INVESTIGACIÓN

Declaración de confidencialidad N° 2

Yo Cordova Julcarima, Lizbeth Mayela, identificado (a) con DNI N° 70038940 estudiante/docente/egresado la escuela profesional de Farmacia y Bioquímica, (vengo/habiendo) implementando/implementado el proyecto de investigación titulado “Caracterización fitoquímica y capacidad antioxidante de extracto hidroalcohólico y acuoso de hojas de Psoralea glandulosa “colén”, en ese contexto declaro bajo juramento que los datos que se generen como producto de la investigación serán usados únicamente con fines de investigación de acuerdo a lo especificado en los artículos 27 y 28 del Reglamento General de Investigación y en los artículos 4 y 5 del Código de Ética para la investigación Científica de la Universidad Peruana Los Andes , salvo con autorización expresa y documentada de alguno de ellos.

Huancayo, 13 de mayo 2021



Lizbeth M. CORDOVA JULCARIMA

ANEXO 9
PREPARACIÓN DE HOJAS PARA SECADO



ANEXO 10
SECADO DE HOJAS DE COLÉN EN 15 DÍAS



ANEXO 11
ALMACENAMIENTO DE LA MUESTRA DE COLÉN TRAS SER MOLIDO



ANEXO 12
PREPARACIÓN DE EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO Y ACUOSO



ANEXO 13
Muestras de extracto hidroalcohólico y acuoso



ANEXO 14

PERMISO INSTITUCIONAL



EL DECANO DE LA FACULTAD DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS Y EL JEFE DE CONTROL DE CALIDAD DEL LABORATORIO DE CONTROL DE CALIDAD DE LA UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CENTRO DEL PERÚ OTORGAN LA PRESENTE:

CONSTANCIA:

A la Señorita *QUISPE QUISPE, Nérida Sevina*, quien solicitó los servicios de análisis de muestras de *hojas de colen (Psoralea glandulosa)*: componentes fitoquímicos y capacidad antioxidante en el Laboratorio de Control de Calidad de la Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional del Centro del Perú, según los requerimientos: análisis fisicoquímico y fitoquímico y validación de resultados analíticos.

La presente se le expide a solicitud de la interesada para los fines que crea por conveniente.

Huancayo, 02 abril del 2021.

Dr. Flixer Antonio Rosales Páez
HUANCAYO