



**FACULTAD DE MEDICINA HUMANA Y CIENCIAS DE LA  
SALUD**

**ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**

**TESIS:**

**Actividad antioxidante de los extractos acuosos y  
alcohólicos de *Aloysia triphylla* “cedrón” y *Mellissa  
officinallis* “toronjil”**

**PARA OBTENER EL TÍTULO PROFESIONAL DE:  
QUÍMICO FARMACÉUTICO**

**BACHILLER: RODAS RODAS, Erika Karina**

**ASESOR: Mg. JARAMILLO BRICEÑO, Marilú R.**

**LIMA – PERÚ**

**2017**

Se dedica este a trabajo a:

A Dios, por su protección y por darme la oportunidad de seguir aprendiendo cada día más.

A mis padres, por ser el modelo de mis valores morales y espirituales, por su ayuda incondicional y apoyo durante todos mis estudios.

A mi hija Briseida, por ser mi inspiración para seguir en el camino del estudio y la preparación.

Se agradece por su contribución para el desarrollo  
de esta tesis a:

A la “Universidad Alas Peruanas” y a cada uno de  
sus docentes por transmitir sus conocimientos a  
cada uno de los estudiantes.

Al Director de la Escuela Académica Profesional de  
Farmacia y Bioquímica Dr. Javier Gómez  
Guerreiro, por el apoyo en el desarrollo de la  
presente investigación.

Al Centro de Investigación de Bioquímica y  
Nutrición de la Universidad Nacional Mayor de San  
Marcos por el apoyo en la realización de la parte  
experimental

A la Mg. Marilú R. Jaramillo Briceño, por su  
asesoría y orientación durante la realización del  
trabajo de investigación.

## RESUMEN

El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo determinar la actividad antioxidante de los extractos acuosos y alcohólicos de *Aloysia triphylla* “cedrón” y *Melissa officinallis* “toronjil”. El diseño de esta investigación fue de tipo no experimental, de nivel descriptivo comparativo, la recolección de las muestras se realizó en el año 2016, la muestra de *Aloysia triphylla* “cedrón”. Se recolectó en la provincia de Corongo (3141 msnm), departamento Ancash, y la especie *Melissa officinallis* “toronjil” en la provincia de Huamanga (3109 msnm), departamento de Ayacucho. Se prepararon los extractos acuosos y alcohólicos de ambas especies. Para identificar los metabolitos secundarios se realizó una marcha fitoquímica de ambos extractos dando como resultado la presencia de abundantes flavonoides. Para la determinación de la actividad antioxidante se empleó el método del DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo) expresada como capacidad antioxidante y se utilizó Capacidad Antioxidante Expresada en Trolox (TEAC) como patrón de comparación. Los resultados confirman la actividad antioxidante de los extractos acuosos y alcohólicos de cedrón y toronjil.

**Conclusiones:** el porcentaje de capacidad antioxidante para el extracto alcohólico del cedrón fue de 63.9%, y para el extracto alcohólico de toronjil fue de 69%. El extracto acuoso de toronjil presentó 52.4% de capacidad antioxidante mientras que el extracto acuoso de cedrón presentó un 43%.

**Palabras Clave:** *Aloysia triphylla* “cedrón”, *Melissa officinallis* “toronjil”, Actividad antioxidante, DPPH, capacidad antioxidante equivalente a trolox (TEAC).

## SUMMARY

The objective of this research was to determine the antioxidant activity of the aqueous and alcoholic extracts of *Aloysia triphylla* “cedrón” and *Mellissa officinallis* “toronjil”. The design of this research was non-experimental, comparative descriptive level, the collection of the samples was performed in 2016, the sample of *Aloysia triphylla* “cedrón” was collected in the province of Corongo (3141 masl), Ancash department, and the species *Mellissa officinallis* “toronjil” in the province of Huamanga (3109 masl), department of Ayacucho. Aqueous and alcoholic extracts of both species were prepared. To identify the secondary metabolites, a phytochemical march of both extracts was carried out, resulting in the presence of abundant flavonoids. For the determination of antioxidant activity, the DPPH method (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) expressed as antioxidant capacity was used and Trolox Expressed Antioxidant Capacity (TEAC) was used as a comparison standard. The results confirm the antioxidant activity of the aqueous and alcoholic extracts of lemon verbena and lemon balm.

**Conclusions:** The percentage of antioxidant capacity for the alcoholic extract of cedron was 63.9%, and for the alcoholic extract of lemon balm was 69%. The aqueous extract of lemon balm presented 52.4% antioxidant capacity while the aqueous extract of cedron presented 43%.

**Keywords:** *Aloysia triphylla* “cedrón” , *Mellissa officinallis* “toronjil”, antioxidant activity, DPPH, antioxidant capacity equivalent to trolox (TEAC).

## ÍNDICE

CARÁTULA.....	I
DEDICATORIA.....	II
AGRADECIMIENTOS.....	III
RESUMEN.....	IV
ABSTRACT.....	V
INDICE.....	VI
INDICE DE FIGURAS.....	IX
INDICE DE GRAFICOS.....	X
ANEXOS.....	65
INTRODUCCIÓN.....	12
<b>CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....</b>	<b>14</b>
1.1 Descripción de la Realidad Problemática.....	15
1.2 Formulación del Problema.....	16
1.2.1 Problema Principal.....	16
1.2.2 Problemas Específicos.....	16
1.3 Objetivos de la Investigación.....	16
1.3.1 Objetivo General.....	16
1.3.2 Objetivos Específicos.....	16
1.4 Hipótesis de la Investigación.....	17
1.4.1 Hipótesis General.....	17
1.4.2 Hipótesis Específicos.....	17
1.5 Justificación e Importancia de la Investigación.....	18
1.5.1 Justificación de la investigación.....	18
1.5.2 Importancia de la investigación.....	18

<b>CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO.....</b>	
2.1. Antecedentes de la investigación.....	20
2.1.1. Antecedentes Nacionales.....	20
2.1.2. Antecedentes Internacionales.....	23
2.2. Bases teóricas.....	27
2.2.1 <i>Aloysia triphylla</i> “cedrón”.....	27
2.2.2 <i>Mellissa officinallis</i> “toronjil”.....	31
2.2.3 Antioxidantes.....	35
2.2.4 Actividad antioxidante.....	38
2.2.5 Radicales libres.....	39
2.2.6 Estrés oxidativo.....	40
2.2.7 Especies reactivas.....	41
2.2.8 Flavonoides.....	41
2.2.9 Método del DPPH.....	46
2.3 Definición de términos básicos.....	47
<b>CAPÍTULO III: METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....</b>	<b>49</b>
3.1 Tipo de la Investigación.....	49
3.1.1 Método.....	49
3.1.2 Técnica.....	49
3.1.3 Diseño.....	49
3.2 Población y Muestreo de la Investigación.....	50
3.2.1 Población.....	50
3.2.2 Muestra.....	50
3.3 Variables e Indicadores.....	50
3.4 Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos.....	50
3.4.1 Técnicas.....	50
3.4.2 Instrumentos.....	50

<b>CAPÍTULO IV: PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE</b>	
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>53</b>
4.1 Resultados.....	53
4.2 Análisis e interpretación de Resultados.....	53
<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>56</b>
<b>CONCLUSIONES.....</b>	<b>58</b>
<b>RECOMENDACIONES.....</b>	<b>60</b>
<b>REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>61</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>65</b>

## INDICE DE FIGURAS

<b>FIGURA N° 01.</b> Planta de <i>Aloysia triphylla</i> “cedrón”.....	27
<b>FIGURA N° 02.</b> Metabolitos del aceite esencial del <i>Aloysia triphylla</i> “Cedrón”.....	29
<b>FIGURA N° 03.</b> Planta de <i>Melissa officinallis</i> “toronjil”.....	31
<b>FIGURA N° 04.</b> Compuestos del aceite esencial de <i>Melissa officinallis</i> “toronjil”.....	33
<b>FIGURA N° 05.</b> Estructura básica de los flavonoides y Sistema de numeración.....	42
<b>FIGURA N° 06.</b> Flavonoides estructura básica y tipos.....	43
<b>FIGURA N° 07.</b> Estructura del (1,1-difenil-2- picrilhidrazilo) DPPH antes y despues de la reaccion con el oxidante.....	47
<b>FIGURA N° 08.</b> Reactivos empleados en la investigación.....	70
<b>FIGURA N°09.</b> Resultados de la marcha fotoquímica.....	70

## INDICE DE GRAFICOS

<b>Cuadro N°1</b>	Clasificación taxonómica de <i>Aloysia triphylla</i> “cedrón” .....	28
<b>Cuadro N°2</b>	Clasificación taxonómica de <i>Melissa officinalis</i> “toronji” .....	32
<b>Cuadro N°3</b>	Clasificación de los antioxidantes .....	36
<b>Cuadro N°4</b>	Variables e indicadores.....	50
<b>Cuadro N°5</b>	Marcha fitoquímica del extracto acuoso y alcohólico de <i>Aloysia triphylla</i> “cedrón” .....	53
<b>Cuadro N°6</b>	Marcha fitoquímica del extracto alcohólico de <i>Melissa officinalis</i> “toronji” .....	54
<b>Cuadro N°7</b>	Resultados experimentales de la actividad antioxidante de los Extractos acuosos y alcohólicos de <i>Aloysia triphylla</i> “cedrón” y <i>Melissa officinalis</i> “toronji” .....	55

## LISTA DE ABREVIATURAS

O <sub>2</sub>	: oxígeno molecular
mg	: miligramo
kg	: kilogramo
ml	: mililitros
μl	: microlitros
μg	: microgramos
nm	: nanómetros
ABTS	: 2,2-bis--azino (ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico).
DPPH	: (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo)
TEAC	: Capacidad antioxidante equivalente de Trolox
Fe <sup>+2</sup>	: Hierro
%	: Porcentaje
DNA	: Ácido desoxirribonucleico
UV	: Ultra violeta
°C	: Grados centígrados
Rpm	: Revoluciones por minuto
RL	: Radicales libres
LO	: Lipoxigenasa
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	: Ácido sulfúrico
FeCl <sub>3</sub>	: Cloruro férrico
NaOH	: Hidróxido de sodio
HCl	: Ácido clorhídrico
EDTA	: Etilendiamino tetraacético

## INTRODUCCIÓN

Con el paso de los años los seres humanos hemos tratado de alguna forma evitar envejecer y buscamos alternativas que no evidencien el paso de los años en nuestros cuerpos; ya sea por medio de una alimentación sana y balanceada, actividad física, las cirugías plásticas y el consumo de sustancias ricas en antioxidantes.

El Perú, considerado el tercer país más diverso del planeta, efectúa importantes aportes de especies y variedades para el mundo debido a la diversidad de pisos ecológicos y microclimas que presenta, contando con aproximado de 50 mil especies vegetales (20% de las existentes en la Tierra) de las que 2,000 han sido utilizadas con fines curativos. En la actualidad, esta riqueza de agentes terapéuticos vegetales unida al conocimiento ancestral de su uso etnofarmacológico, constituye un valioso recurso por explotar adecuadamente mediante el desarrollo sostenible en beneficio de la humanidad y, especialmente, de las comunidades nativas que aún conservan estos conocimientos transmitiéndolos de generación en generación.

La especie *Aloysia triphylla* “cedrón” es una planta que se utiliza como infusión se le atribuye propiedades medicinales contra los cólicos, náuseas, indigestión y también actúa como un sedante a distintas concentraciones. Sus hojas son muy aromáticas, también se emplean en la industria alimentaria, cosmética, perfumería y farmacia, la esencia se emplea con frecuencia como corrector de sabor y olor.

La especie *Mellissa officinalis* “toronjil” bajo la forma de infusión se le atribuye propiedades antiestresantes, contra el insomnio y también contra dolores musculares. Los compuestos de interés son los flavonoides y los taninos a parte de los aceites esenciales que presentan que son estudiados con gran interés.

Estudios recientes demuestran que estas especies presentan entre sus propiedades la de ser antioxidante, las mismas que ayudan a prevenir el envejecimiento celular.

El objetivo general del presente trabajo de investigación consiste en la Actividad antioxidante de los extractos acuosos y alcohólicos de *Aloysia triphylla* “Cedrón” obtenidas en la provincia de Corongo (3141 msnm), departamento Ancash. Y la especie *Mellissa officinallis* “toronjil” que fue obtenida en la provincia de Huamanga departamento de Ayacucho a una altitud de (3109 msnm).

El presente trabajo de investigación se realizó en extractos acuosos y alcohólicos con la finalidad de poder determinar en cual extracto se encuentra la mayor cantidad de flavonoides, ya que estas sustancias son las responsables de la actividad antioxidante.

De esta manera se pretende comprobar que los extractos acuosos y alcohólicos de *Aloysia triphylla* “Cedrón” y *Mellissa officinallis* “toronjil” presentan actividad antioxidante.

## CAPÍTULO I

### PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

#### 1.1 Descripción de la Realidad Problemática

Los antioxidantes naturales presentes en los recursos vegetales han cobrado gran interés en las últimas dos décadas puesto que el estrés oxidativo (un desbalance entre las sustancias oxidantes y prooxidantes) están implicados en un gran número de afecciones de la salud. Se ha demostrado que el daño oxidativo causado por los radicales libres está relacionado con una amplia gama de enfermedades y desórdenes incluyendo: fallo cardiaco, inflamaciones, cataratas, daños cerebrales entre otros.

Además, existe la hipótesis de que el daño oxidativo permanente está vinculado al proceso de envejecimiento. Por ello, el suministro de antioxidantes exógenos podría ser una alternativa importante en la prevención y tratamiento de diferentes enfermedades, como son daños cardiacos, envejecimiento, enfermedades degenerativas tales como el alzheimer, etc.

Como consecuencia, las plantas medicinales y los compuestos antioxidantes presentes en ellas han tomado un nuevo auge; en los últimos años, varios programas de investigación y estudios se han desarrollado con el objetivo de mantener viva la tradición herbolaria, para encontrar nuevos compuestos

activos con propiedades antioxidantes que actúen contra diversas enfermedades y para su uso posterior en la medicina moderna. En la actualidad los productos naturales gozan de gran aceptación y reemplazan cada vez más a los productos sintéticos o materiales generados de forma artificial. La producción creciente de investigaciones sobre productos naturales como los aceites esenciales, su composición química, su bioactividad, propiedades, usos y otros temas relacionados con las especies aromáticas, se visualiza en el número de artículos publicados en revistas especializadas, lo que indica un interés e importancia en el tema de los aceites esenciales.

Actualmente en Ecuador se utiliza las hojas de cedrón y toronjil en forma de té filtrante endulzados con estevia. Con la finalidad de promover el consumo de hierbas aromáticas para aliviar ciertas molestias en el organismo.

*Aloysia triphylla* “Cedrón” es autóctona de América del Sur, por lo que su cultivo no presenta problemas de adaptación. Los conquistadores españoles debido a su fragancia la llevaron a Europa. Se ha dispersado a otras latitudes como Eslovenia, Egipto, Marruecos que presentan algunos problemas de adaptación, en estos lugares actualmente se cultiva esta especie debido a un gran interés económico para su industrialización, sobre todo por su contenido de aceites esenciales.<sup>1</sup>

*Mellissa officinallis* “toronjil” es propia del sur de Europa y suroeste de Asia. Las hojas tienen olor a limón. La infusión de la planta se emplea como estimulante estomacal, carminativo, antiespasmódico y como sedante en los insomnios e inquietud nerviosa.

## **1.2 Formulación del Problema**

### **1.2.1 Problema principal**

¿Presentan actividad antioxidante los extractos acuosos y alcohólicos de *Aloysia triphylla* “cedrón” y *Mellissa officinallis* “toronjil”?

### **1.2.2 Problemas secundarios**

**1.2.2.1** ¿presenta actividad antioxidante el extracto acuoso de *Aloysia triphylla* “cedrón”?

**1.2.2.2** ¿presenta actividad antioxidante el extracto alcohólico de *Aloysia triphylla* “cedrón”?

**1.2.2.3** ¿presenta actividad antioxidante el extracto acuoso de *Mellissa officinallis* “toronjil”?

**1.2.2.4** ¿presenta actividad antioxidante el extracto alcohólico de *Mellissa officinallis* “toronjil”?

**1.2.2.5** ¿Cuál de los extractos acuosos presenta mayor actividad antioxidante?

**1.2.2.6** ¿Cuál de los extractos alcohólicos presenta mayor actividad antioxidante?

## **1.3 Objetivos de la Investigación**

### **1.3.1 Objetivo General**

Determinar la actividad antioxidante de los extractos acuosos y alcohólicos de *Aloysia tyriphylla* “Cedrón” y *Mellissa officinalis* “toronjil”.

### **1.3.2 Objetivos específicos**

**1.3.2.1.** Determinar la actividad antioxidante del extracto acuoso de *Aloysia triphylla* “cedrón”.

**1.3.2.2.** Determinar la actividad antioxidante del extracto alcohólico de *Aloysia triphylla* “cedrón”.

**1.3.2.3.** Determinar la actividad antioxidante del extracto acuoso de *Mellissa officinallis* “toronjil”.

**1.3.2.4.** Determinar la actividad antioxidante del extracto alcohólico de *Mellissa officinallis* “toronjil”.

**1.3.2.5.** Determinar cuál de los extractos acuosos presentan mayor actividad antioxidante.

**1.3.2.6.** Determinar cuál de los extractos alcohólicos presentan mayor actividad antioxidante.

## **1.4 Hipótesis de la Investigación**

### **1.4.1 Hipótesis General**

Los extractos acuosos y alcohólicos de *Aloysia tyriphylla* “cedrón” y *Mellissa officinallis* “toronjil” presentan propiedades antioxidantes.

### **1.4.2 Hipótesis Secundarias.**

**1.4.2.1.** El extracto acuoso de *Aloysia triphylla* “cedrón” presenta actividad antioxidante.

**1.4.2.2.** El extracto alcohólico de *Aloysia triphylla* “cedrón” presenta actividad antioxidante.

**1.4.2.3.** El extracto acuoso de *Mellissa officinallis* “toronjil” presenta actividad antioxidante.

**1.4.2.4.** El extracto alcohólico de *Mellissa officinallis* “toronjil” presenta actividad antioxidante.

**1.4.2.5.** El extracto acuoso de *Aloysia triphylla* “cedrón” presenta mayor actividad antioxidante.

**1.4.2.6.** El extracto alcohólico de *Mellissa officinallis* “toronjil” presenta mayor actividad antioxidante.

## **1.5 Justificación e Importancia de la Investigación**

### **1.5.1 Justificación de la investigación**

El propósito del presente trabajo de investigación fue buscar alternativas de origen natural como fuente de compuestos con actividad antioxidante que sean más seguros y menos tóxicos que los antioxidantes sintéticos.

*Aloysia triphylla* “cedrón” y *Mellissa officinallis* “toronjil” poseen varias propiedades medicinales que proporcionan al organismo bienestar y salud. *Aloysia triphylla* “cedrón” se utiliza por sus propiedades carminativas en afecciones del aparato digestivo, también se puede utilizar como sedante ligero y como saborizante en algunos potajes. *Mellissa officinallis* “toronjil”. es un recurso vegetal muy importante ya que es un excelente tranquilizante porque ayuda a combatir la ansiedad. Actualmente se han incrementado las enfermedades crónicas y degenerativas sobre todo por la generación de radicales libres como el peróxido de hidrógeno, radical superóxido, etc, para atenuar los efectos dañinos de estos compuestos se recomienda el consumo de una dieta saludable que contenga metabolitos secundarios como flavonoides, compuestos fenólicos, antocianinas, aceites esenciales, etc. Tomando en cuenta que existen investigaciones internacionales que reportan actividad antioxidante en estas dos especies y se planteó desarrollar la presente investigación.

### **1.5.2 Importancia de la investigación**

Al comprobarse la actividad antioxidante de los extractos acuosos y alcohólicos de *Aloysia triphylla* “cedrón” y *Mellissa officinallis* “toronjil”., podrían convertirse en nuevas fuentes de sustancias químicas de

origen natural con potencial aplicación en diferentes industrias tales como la farmacéutica, alimentaria, textil, cosmética, etc.

Posteriormente se puede organizar cadenas productivas que aseguren el suministro de estas especies, que pasarían a convertirse en plantas cultivadas, como ya ocurre en otros países como Cuba, Colombia, Argentina, pues se tendría una mayor demanda que asegure su consumo.

De esta se contribuiría en mejorar la calidad de vida de los agricultores y de sus familias que se dedicarían al cultivo de estas especies ya que actualmente se exportan a otros países con fines industriales. A si mismo se pretende incentivar el consumo de estas especies en forma de mate o como macerado, ya que previene no solo en envejecimiento celular sino daños neurodegenerativos.

## **CAPÍTULO II**

### **MARCO TEORICO**

#### **2.1 Antecedentes**

##### **2.1.1 Nacionales**

Jessica Thatiuska García Jara realizo un trabajo de investigación en la Universidad Nacional de San Agustín titulado **“Extracción de aceite esencial por fluidos supercríticos y arrastre con vapor de *Aloysia triphylla* (cedrón) en la región Arequipa”<sup>3</sup>. 2017.**

Entre los objetivos planteados fueron evaluar las características fisicoquímicas del aceite esencial de cedrón obtenido, y determinar los constituyentes del aceite esencial de cedrón mediante cromatografía de gases. En el cual realizo una caracterización fisicoquímica y un proceso de secado logrando una humedad de conservación de 11% en promedio para trabajar y dar inicio al proceso de extracción del aceite esencial del cedrón el análisis fisicoquímico de las hojas de cedrón, el resultado fue que en el rendimiento por el tamaño de hojas presentó 25.6% la hoja grande a comparación de las hojas medianas (12.4%) y de inflorescencia (10.6%). Respecto a los análisis presentó la Humedad (10.01%), Proteína (5.2%), Fibra (10.29%). el rendimiento por cada parte de la planta de cedrón dando como resultado que el mayor rendimiento promedio se dio en las hojas alcanzando (37.9%) y un menor rendimiento promedio en la inflorescencia la cual varía según el tiempo de cosecha. Como resultado obtuvo que los

componentes más representativos son el citronellal, neral, geranial y limoneno.

Jesús Pedro Buendía Ochoa realizó un trabajo de experimentación en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos titulado **“Efecto sedante del extracto alcohólico de hojas y flores de *Melissa officinalis* “Toronjil” más *Matricaria chamomilla* “Manzanilla” sobre la ansiedad inducida en ratones albinos”** <sup>4</sup>. 2015.

El objetivo de la investigación fue determinar el efecto sedante de *Melissa officinalis* “toronjil” más *Matricaria chamomilla* “manzanilla” sobre ansiedad inducida en ratones albinos, la metodología que utilizó fueron estudios fitoquímicos de los extractos alcohólicos de *Melissa officinalis* “toronjil” más *Matricaria chamomilla* “manzanilla”. También realizaron la marcha fitoquímica en la cual se determinó la presencia de flavonoides con el reactivo de Shinoda, presentando una intensa coloración rojiza. El estudio fitoquímico cualitativo del extracto alcohólico muestran que de forma individual poseen considerables metabolitos, pero asociadas muestran abundante cantidad de mucilagos, compuestos fenólicos y flavonoides. Al administrarse el extracto alcohólico de hojas y flores de *Melissa officinalis* “toronjil” más *Matricaria chamomilla* “manzanilla” por vía oral, presenta actividad sedante por ansiedad inducida a dosis de 4g/kg. También encontró flavonoides dentro del análisis que realizó al extracto alcohólico de *Melissa officinalis* “toronjil”.

Víctor Hugo Doroteo, Cecilia Terry, Camilo Díaz, Abraham Vaisberg, Rosario Rojas en la Universidad Peruana Cayetano Heredia, realizaron un trabajo de investigación titulado **“Compuestos fenólicos y actividades antioxidante, antielastasa, anticlagenasa y fotoprotectora *in vitro* de *Myrciaria dubia* (camu camu) y *Caesalpinia spinosa* (tara)”**<sup>5</sup>. 2012.

En la cual evaluaron sus actividades antioxidante, antielastasa, anticlagenasa y fotoprotectora *in vitro*. El extracto hidroalcohólico de tara mostró una buena actividad antioxidante en diferentes ensayos *in vitro*

(DPPH, TEAC, radical hidroxilo, radical superóxido); asimismo, inhibe la enzima colagenasa con mayor potencia que el control positivo epigallocatequina galato (EC = 162,78 y 321,41 µg/ml, respectivamente). El extracto hidroalcohólico de camu camu, a pesar de su alto contenido de ácido ascórbico, no mostró actividad antioxidante relevante; pero en cambio, en un cultivo de fibroblastos se determinó que ejerce un buen efecto protector *in vitro* (43,6%) contra la radiación UVB. Se recomienda estudiar la asociación de ambos extractos como base para el desarrollo de un producto antiedad o de un bloqueador solar con mecanismo de acción dual. El DPPH es el método más utilizado y que brinda mejores resultados para actividad antioxidante.

Un estudio realizado en la Universidad Nacional del Callao por el Blgo. Javier Jesús Cárdenas Tenorio titulado “**Validación del efecto sedativo, antiedematizante y toxicidad de *Valeriana officinalis* (Valeriana); *Mellissa officinallis* (Melisa); *Thymus vulgaris* (Tomillo); *Foeniculum vulgare* (Hinojo); *Passiflora incarnata* (Flor de la Pasión o Maracuyá) en ratones**”<sup>6</sup>. 2012.

En este estudio utilizaron ratones albinos a los cuales los separaron por distintos grupos controles algunos les administraron suero fisiológico a otros clorpromazina y a otros extractos de las 5 plantas estudiadas, los resultados que obtuvieron fueron que los de grupo control con a los que se les administro el extracto de las 5 especies no evidencia acción de tipo sedativo, ansiolítica, inhibidor de la inflamación. La Dosis Letal Media (DL50) en las dosis de 1g/Kg a 5g/Kg administradas por vía peritoneal, realizando observaciones durante 3 días. Se estableció entonces que las plantas no son tóxicas a ninguna de las dosis utilizadas. Por lo cual no presentan toxicidad y permite su uso frecuente.

Karina Pardo Aldave realizo un estudio en la Universidad San Martin de Porres titulado “**Acción neurotrópica del extracto hidroalcohólico de *Mellissa officinallis* “toronjil” en el comportamiento del niño ansioso, con y sin experiencia dental**”<sup>7</sup>. 2009.

En dicho trabajo utilizó un extracto hidroalcohólico liofilizado, en el cual realizaron dos maceraciones, a temperatura ambiente y en estufa, de las hojas deshidratadas de *Mellissa officinallis* “cedrón” en una mezcla de 30:70 etanol/agua destilada. Se llevó el extracto hidroalcohólico obtenido a un rotavapor para eliminar el etanol. Se elaboró una dosis de 2,5 mg/kg. Se usó un placebo para el grupo control, el que consistió en agua destilada y colorantes vegetales. Los niños o pacientes que recibieron el extracto demostraron presentar ansiedad baja a comparación de los pacientes que recibieron el placebo presentaron ansiedad alta. Las diferencias en la ansiedad de niños, con y sin experiencia, que recibieron placebo y extracto, frente al tratamiento de profilaxis y sellante fueron estadísticamente significativas

### 2.1.2 Internacionales

Ramírez-Godínez J, Jaimez Ordaz J, Añorve Morgia J, Salazar Pereda V, Castañeda Ovando, González Olivares G y Contreras López E. realizaron un trabajo de investigación en la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Centro de Investigaciones Químicas, titulado. **“Determinación de actividad antioxidante en extractos acuosos de (*Aloysia triphylla*)”**<sup>8</sup>. 2016.

El objetivo fue evaluar la actividad antioxidante de extractos acuosos de cedrón a través de un método espectrofotométrico. Las hojas de la planta fueron recolectadas y deshidratadas a temperatura ambiente bajo aireación. Los extractos acuosos de dicha planta fueron obtenidos a diferentes temperaturas (25, 60 y 90°C) y tiempos (5, 10, 15 min) de extracción. La actividad antioxidante de los extractos fue monitoreada durante 6 h. Todos los extractos, obtenidos en las diferentes condiciones de temperatura y tiempo, mostraron un incremento constante en la actividad antioxidante; algunos estudios atribuyen dicha actividad a la presencia de polifenoles y terpenos. A 60°C y 10 min de extracción se observó la mayor actividad antioxidante por lo que la temperatura y el tiempo son factores que determinan la extracción de los compuestos responsables de la actividad antioxidante.

Estudios realizados por científicos de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM) la doctora Eva Aguirre Hernández, y el Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz (INPRF) titulado **“Efecto ansiolítico y sedante de flavonoides de *Tilia Americana* var. *Mexicana*: participación Gabaérgica y serotoninérgica”**<sup>9</sup>. 2014.

En esta investigación descubrieron que las plantas de “toronjil” (*Agastache mexicana*) y la tilia de hoja (*Tilia americana* variación *mexicana*) son efectivas para tratar enfermedades del sistema nervioso central. Demostró el importante papel que juegan los aminoácidos o receptores ácido gamma-aminobutírico (GABA), que funcionan como neurotransmisores, por lo que los compuestos llamados flavonoides han sido reconocidos como una nueva familia de medicamentos psicotrópicos (benzodiacepinas), con la ventaja de no presentar efectos secundarios. Agregaron que dichas especies también sintetizan compuestos de tipo flavonoide, los cuales poseen propiedades antioxidantes y protegen a las células del estrés oxidativo relacionado con patologías asociadas al envejecimiento, como las enfermedades de Alzheimer y enfermedad del Parkinson. La evaluación farmacológica se realizó en modelos animales con la finalidad de determinar la eficacia y el margen de seguridad de los compuestos activos de ambas plantas. Los resultados obtenidos confirmaron sus propiedades medicinales para uso terapéutico, cuando existen daños en el sistema nervioso central.

Johana Andrea Calderón Hernández realizó un trabajo de investigación en la Universidad de Pereira Colombia con el título **“Caracterización fitoquímica, actividad antibacteriana y antioxidante de plantas medicinales utilizadas en Pereira y Santa Rosa de cabal (Risaralda)”**<sup>10</sup>. 2011.

En dicho trabajo analizó los extractos en n-hexano, diclorometano y metanol, de varias especies vegetales entre ellas *Aloysia triphylla* cedrón, *Mellissa officinallis* toronjil, *Petroselinum sativum* perejil, *Urtica dioica* ortiga, *Malva silvestris* malva. La actividad antioxidante de estos compuestos se debe principalmente a sus propiedades redox que pueden desempeñar un papel

importante y neutralizar los radicales libres demostraron actividad antioxidante marcada presente en el extracto metanólico de *Melissa officinallis* “toronjil” el cual mostro porcentajes más altos de actividad antioxidante con valores de 48.9 y 50.

Olga Liliana Díaz Fajardo realizó un trabajo de investigación en la Universidad Industrial de Santander titulado **“Estudio comparativo de la composición química y evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial de *Aloysia triphylla* (L’Her) Britton, cultivada en tres regiones de Colombia”<sup>11</sup>. 2007.**

En este trabajo se realizó el estudio de los metabolitos secundarios volátiles de la especie *Aloysia triphylla* “cedrón” recolectada en tres regiones de Colombia Rio Negro (Antioquia), Rosal (Cundinamarca) y Bolívar (Santander), con el fin de evaluar el efecto del estado de desarrollo y lugar de procedencia de la planta, sobre la composición química del aceite. Adicionalmente estudió la capacidad antioxidante del aceite esencial usando el método de decoloración del catión-radical ácido 2,2'-azino-bis-(3-etiltiazolina-bencenosulfónico-6 ABTS empleando la espectroscopia UV-Visible. Sus resultados muestran que el componente mayoritario de los aceites esenciales evaluados fue el citral 32-41%, el mayor rendimiento % p/p fue para las plantas recolectadas en Bolívar (Santander), la mayor acumulación de metabolitos de interés se logró para las plantas con tres meses de edad antes de la floración. En cuanto a la capacidad de atrapar radicales libres del aceite esencial de *Aloysia triphylla* “cedrón” fue baja en comparación con el patrón utilizado que fue vitamina E.

El centro de investigación biomolecular de la Universidad Industrial de Santander Bucaramanga Colombia Elena E. Stashenko, Beatriz E. Jaramillo & Jairo R. Martínez\* realizaron un estudio titulado **“Comparación de la composición química y de la actividad antioxidante in vitro de los metabolitos secundarios volátiles de plantas de la familia Verbenaceae”<sup>1</sup>. 2003.**

En este estudio, la evaluación de la actividad antioxidante (el efecto protector) de los aceites esenciales de las tres verbenaceas, se llevó a cabo en un sistema lipídico consistente en una emulsión de ácido linoleico, que fue sometida a la peroxidación “forzada”, en la presencia de O<sub>2</sub> y de los iones Fe<sup>+2</sup>. Las sustancias carbonílicas son productos secundarias finales de la peroxidación lipídica; en particular, el hexanal es el aldehído mayoritario, que se forma durante la peroxidación del ácido linoleico y su cantidad puede emplearse como indicador del avance de la oxidación. El efecto protector de las esencias se incrementan con el aumento de su concentración en el sistema, alcanzado valores altos a las concentraciones de 10 o 20gr/L. los tres aceites mostraron el mismo efecto protector a las concentración de 10gr/L., igual o mayor a la vitamina E. y el BHA.

## 2.2 Bases teóricas

### 2.2.1 *Aloysia triphylla* “cedrón”

#### 2.2.1.1 Origen

Nombres comunes: cidrón (Colombia), Cedrón (México), Verbena de las Indias (Europa), Hierba Luisa (España), María luisa (Puerto Rico).

*Aloysia triphylla* “cedrón” es una especie vegetal que crece de forma silvestre en los países andinos, principalmente en Perú, Colombia, Argentina, Chile, Bolivia, Brasil, Paraguay, Uruguay y Ecuador.<sup>12</sup>



**FIGURA N° 01** Planta de *Aloysia triphylla* “cedrón”

#### 2.2.1.2 Distribución

Los conquistadores la introdujeron a Europa en el siglo XVII donde se cultiva en regiones templadas como Eslovenia. Actualmente se cultiva también en Marruecos, Turquía y Egipto por el contenido de aceite esencial.<sup>13</sup>

Se puede observar que esta especie vegetal se adapta muy bien a los climas templados y que en el frío puede perder sus hojas.

#### 2.2.1.3 Descripción

*Aloysia triphylla* “cedrón” es un arbusto muy aromático de la familia de las verbenáceas; que puede medir entre 1,50 y 2,50 metros de altura. Sus tallos son largos, leñosos, redondos o angulosos,

ramificados en la parte superior provistos de finas rayas lineares las hojas lanceoladas de color verde intenso, de peciolo corto y con un aroma penetrante pero agradable, muy similar al de la lima. Las flores bastante pequeñas, son de color blanquecino con cierta tendencia al rosado suave, se puede cultivar en jardines y maceteros,<sup>13</sup>

Se ha observado que los estudios farmacológicos se centran en sus aceites esenciales principalmente en las hojas las mayores concentraciones de aceites esenciales aumenta con iluminación solar alta; y disminuyen en las plantas que crecen bajo la sombra.<sup>13</sup>

#### 2.2.1.4 Taxonomía

Según la certificación botánica realizada por el biólogo-botánico Hamilton W. Beltrán S. (ANEXO 2) y de acuerdo al sistema de clasificación de Cronquist 1981 se ubica en las siguientes categorías:

**Cuadro N° 1 Clasificación taxonómica del Cedrón**

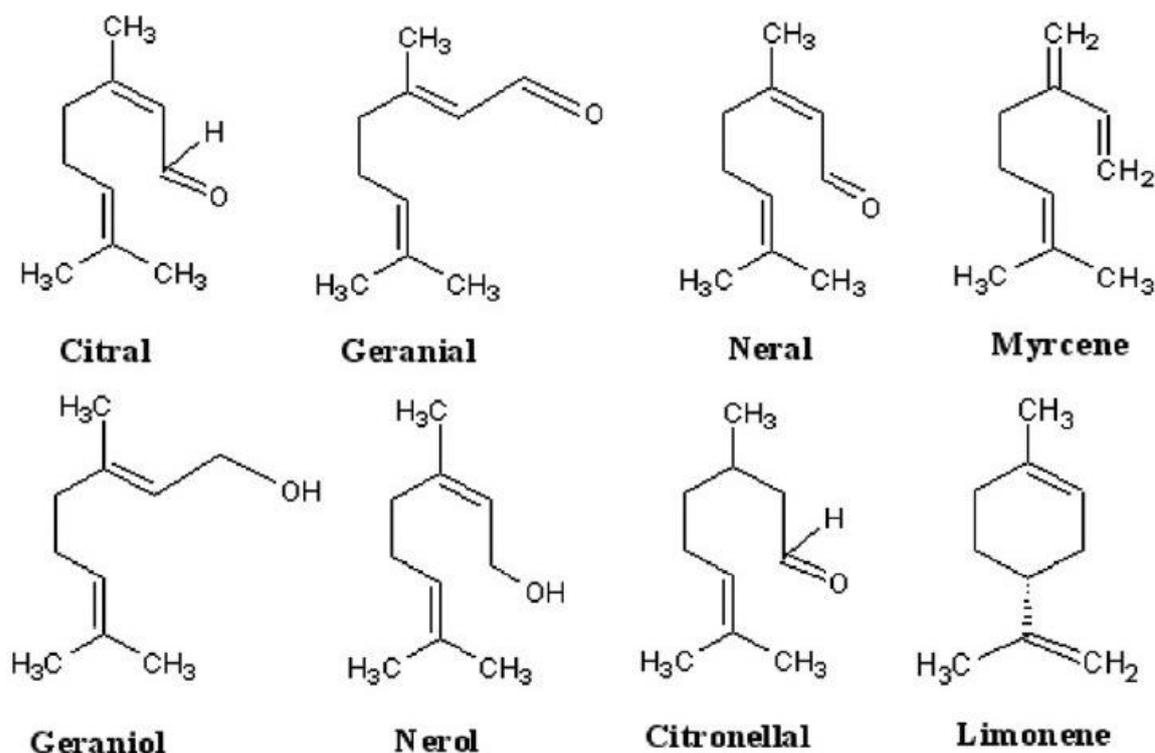
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Asteridae
Orden	Lamiales
Familia	Verbenaceae
Género	<i>Aloysia</i>
Especie	<i>Aloysia triphylla</i>

**Fuente:** Hamilton W. Beltrán S. 2017

### 2.2.1.5 Metabolitos de los extractos acuosos y alcohólicos de *Aloysia triphylla* “cedrón”.

El principal componente de *Aloysia triphylla* “cedrón” es el citral (mezcla de los isómeros geranial y neral). El rendimiento mínimo requerido de aceite esencial en la Farmacopea Francesa X es de 0.4%. Existe también una norma IRAM-SAIPA para su esencia, donde se exige un contenido de compuestos carbonílicos expresados como citral de 20 al 40%.

En cuanto a otros compuestos identificados en *Aloysia triphylla* “cedrón” destacan los flavonoides como salvigenia, eupafolina, cirsiol, eupatorina, hispidulina, apigenina, diosmetina, 7-O-glucosil-luteolina, y 7-O-diglucuronil-luteolina. Además, el cedrón contiene irioides heterosídicos, como el acidogeniposídico; derivados del acidohidroxicinámico (7%), especialmente verbascosido (5%) y mucilagos, taninos y alcaloides, nonanal y fitoesteroles.<sup>13</sup>



**FIGURA N° 02** Metabolitos del aceite esencial del cedrón.

## **2.2.1.6 Propiedades**

### **2.2.1.6.1 Medicinal**

*Aloysia triphylla* “cedrón” es una hierba muy aromática, rica en aceites esenciales, además de poseer propiedades antiespasmódicas, es un analgésico local, carminativa, antiséptica y es ligeramente sedante. Además, se usa para controlar el vértigo, náuseas, insomnio, flatulencia, dispepsia, desordenes neuronales leves, para apaciguar la congestión nasal y bronquial, alivia la hinchazón de ojos. Es recetada para diferentes tipos de alteraciones nerviosas, especialmente la ansiedad, ya que en muchos casos, se consiguen mejores resultados con infusiones de esta especie vegetal, que con algunos tranquilizantes químicos, que generan efectos secundarios. Es un ingrediente común en repelentes de insectos, ya que su aceite esencial posee propiedades insecticida y bactericida<sup>14</sup>

### **2.2.1.6.2 Herboristería**

Las hojas y tallos del cedrón son ricos en un aceite esencial, cuyo componente principal es el citral, responsable de su aroma, y contiene además limoneno, linalol, cineol, terpineol, y cariofileno, un aldehído sesquiterpénico al que se atribuye acción eupéptica y espasmolítico. Posee una importante cantidad de melatonina, sustancia que se usa como relajante natural y que favorece el sueño nocturno, ayuda al descanso total de la memoria. Los elementos usados en infusión se recogen dos veces al año, a fines de la primavera y comienzos del otoño. Se emplean las hojas tiernas y las sumidades floridas.<sup>14</sup>

### 2.2.1.6.3 Gastronomía

Las hojas secas y picadas se emplean en marinadas, aderezos y salsas para dar un toque de aroma cítrico. Se elabora con ella también un sorbete aromático.<sup>14</sup>

## 2.2.2 *Melissa officinallis* “toronjil”

### 2.2.2.1 Origen del toronjil

*Melissa officinallis* “toronjil” es originaria del sur de Europa, norte de África, este y centro de Asia, donde vive preferentemente en lugares húmedos cercanos a cursos de agua. Difundida por el cultivo, se ha naturalizado en toda Europa.<sup>15</sup>



**FIGURA N° 03:** Planta de *Melissa officinallis* “toronjil”

### 2.2.2.2 Distribución

*Melissa officinallis* “toronjil” originario de Asia, y por su carácter de “Planta exitosa” se fue naturalizando por los países del Mediterráneo. Después fue introducida en más países y continentes como América del norte. Crece de forma silvestre en prados húmedos, claros de bosque, a la vera de los ríos o en setos y campos cultivados. También se puede cultivar en huertos y jardines dentro de las casas sobre suelos ricos en materia orgánica.<sup>16</sup>

### 2.2.2.3 Descripción

*Mellissa officinallis* “toronjil” pertenece a la familia Lamiaceae, es conocida en nuestro país como toronjil y en otros como melissen blat o lemon balm por su olor a limón, es una planta medicinal muy estudiada para la que se describen como principales compuestos los ácidos hydroxycinámicos y los aceites esenciales.

Planta herbácea vivaz de hasta 1 m, bastante ramificada. Hojas pecioladas, opuestas, ovales, rugosas y de borde festoneado. Flores blanco-rosadas reunidas en verticilos axilares con 3-6 flores. Tallos cuadrangulares vellosos, con hojas opuestas de base redondeada o ligeramente acorazonada, rugosas de bordes dentados. Fruto en tetraquenio.<sup>16</sup>

### 2.2.2.4 Taxonomía de la planta

Según la certificación botánica realizada por el biólogo-botánico Hamilton W. Beltrán S. (ANEXO 3) y de acuerdo al sistema de clasificación de Cronquist 1981 se ubica en las siguientes categorías:

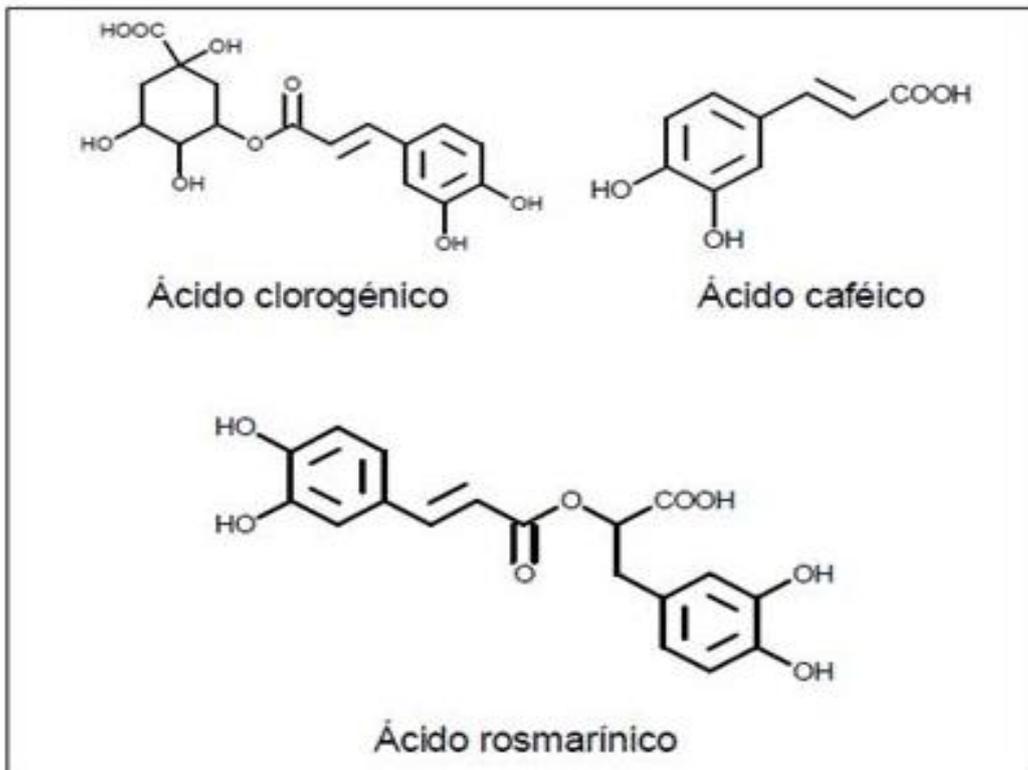
#### Cuadro N° 2 Clasificación taxonómica del Toronjil

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Asteridae
Orden	Lamiales
Familia	Verbenaceae
Género	<i>Mellissa</i>
Especie	<i>Mellissa officinallis</i> L.

**Fuente:** Hamilton W. Beltrán S. 2017

### 2.2.2.5 Composición química del aceite esencial de *Melissa officinallis* “toronjil”.

- **Flavonoides:** catequinas, luteolinas, quercitina, apigenina, camferol.
- **Ácidos:** cafeico, clorogénico, oleanólico, rosmarinico, succínico.
- **Alcoholes:** linalol, citronelal, geraniol, beta-sisosterol.
- **Terpenos:** citral, geranial, nerol, neral, limoneno (brotes).
- **Taninos:** (planta).
- **Aceite esencial:** que contiene citral y citronelal.
- **Aceites esenciales:** citronelal, geranial, neral, limoneno.<sup>17</sup>



**FIGURA N° 04** Compuestos del aceite esencial de *Melissa officinallis* “toronjil”.

### 2.2.2.6 Propiedades medicinales *Mellissa officinallis* “toronjil”

Entre las principales aplicaciones, destacaremos:

#### ➤ **El estrés**

En situaciones de estrés personal, causado por múltiples causas de la vida moderna (trabajo, problemas familiares, situaciones personales adversas, etc.) melisa tiene la propiedad de tranquilizarnos y restaurar el equilibrio personal (Infusión de una cucharada por vaso de agua durante 15 minutos. 3 o 4 vasos al día).<sup>18</sup>

#### ➤ **Problemas de angustia personal**

Cuando nos encontramos angustiados, con una sensación de opresión en la zona abdominal, *Mellissa officinallis* “toronjil” puede ayudarnos a sentirnos más tranquilos. (Infusión de una cucharada por vaso de agua durante 15 minutos. 3 o 4 vasos al día).<sup>18</sup>

#### ➤ **Insomnio**

Además de ser un excelente tranquilizante, tiene propiedades ligeramente narcóticas. Todo ello resulta interesante cuando se tiene dificultades para dormir. (Infusión de una cucharada por vaso de agua durante 15 minutos. Un vaso media hora antes de irse a la cama). Poner tres gotas de esencia en un recipiente de agua con azúcar y tomar media hora antes de ir a dormir.<sup>18</sup>

#### ➤ **Espasmos musculares**

Pueden producirse por esfuerzos físicos o simplemente tener un origen nervioso. En un caso u otro la melisa constituye un buen tónico muscular que fortifica y ayuda a relajar los músculos y evita la aparición de nuevos espasmos.<sup>18</sup>

### 2.2.3 Antioxidante

Es una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de un sustrato oxidable, actuando como donador de electrones (agente reductor). Todos los seres vivos que utilizan el oxígeno para obtener energía, liberan radicales libres, lo cual es incompatible con la vida a menos que existan mecanismos celulares de defensa que los neutralice. A estas defensas se las denomina antioxidantes. Los niveles bajos de los mismos o la inhibición de las enzimas antioxidantes causan estrés oxidativo y pueden dañar o matar las células.<sup>20</sup>

Los antioxidantes tiene la facultad de contrarrestar el efecto negativo de los radicales libres (producidos por el tabaquismo, contaminantes externos, sustancias químicas, determinados compuestos químicos de sustancias nutritivas, agentes atmosféricos externos etc.), reducir la aparición de determinadas enfermedades como el cáncer y patologías cardiovasculares, además se ha visto que son un gran aliado para prevenir el envejecimiento precoz. Cuantos más radicales libres (encargados de la oxidación de nuestro sistema) tengamos más antioxidantes deberemos consumir para contrarrestar el efecto de estos.<sup>20</sup>

El efecto beneficioso de los alimentos de origen vegetal se atribuye principalmente a sustancias con actividad antioxidante, como los compuestos polifenólicos, el ácido ascórbico (vitamina C), los carotenoides y la vitamina E.<sup>20</sup>

#### 2.2.3.1 Clasificación de los antioxidantes

**A.- Endógenos: Enzimas:** catalasa, superóxido dismutasa y la glutatión peroxidasa, Glutatión S- transferasas, tioredoxina-reductasas y sulfoci-metionina-reductasas.

**B.- Exógenos: No enzimáticos:** las vitaminas: vitamina E y C, los betacarotenos, los flavonoides y los licopenos, Fito estrógenos polifenoles, glutatión, ácido úrico, ubiquinol (Co-enzima Q), melatonina.<sup>20</sup>

**Cuadro N° 3 Clasificación de los antioxidantes**

<b>Exógenos</b>	<b>Endógenos</b>	<b>Cofactores</b>
Vitamina E	Glutación	Cobre
Vitamina C	Coenzima Q	Zinc
Betacaroteno	tióctico	Manganeso
Flavonoides	Enzimas: Superóxidodismutasa(SOD) Catalasa Glutación peroxidasa	Hierro
Licopeno		Selenio

### **2.2.3.2 Compuestos polifenólicos como antioxidantes**

Los polifenoles debido a su acción captadora de radicales libres, pueden prevenir del daño oxidativo causado por estos, ya que son buenos donadores de protones o electrones. Esta acción podría ser preventiva del envejecimiento celular y de ciertas enfermedades que cursan con stress oxidativo.

La estructura química de estos con un número variable de grupos hidroxilos determina su capacidad antioxidante estos hidroxilos ceden átomos de hidrogeno neutralizando los radicales. Los compuestos con mayor capacidad antioxidante son los que presentan dos grupos hidroxilo en posición orto en el anillo B.

Los estudios relacionados a su estructura y actividad existe un estudio donde se indica una correlación positiva entre el contenido de protoantocianidinas poliméricas y el porcentaje de inhibición de radicales mientras que en otros métodos de evaluación de actividad antioxidante la correlación es negativa.

Hay dos tipos de mecanismos químicos para la oxidación de los polifenoles:

- Mecanismo de transferencia de un átomo de hidrogeno (HAT).
- Mecanismo de transferencia electrónica (SET).<sup>21</sup>

#### **Actividad Antioxidante basada en mecanismo HAT**

Es un método común para evaluar actividad antioxidante de polifenoles es estudiar los mecanismos de átomos de transferencia de átomos de hidrogeno. La donación de un átomo de hidrogeno por parte de un antioxidante para neutralizar un radical en un único paso, siendo el nuevo compuesto formado mucho más estable que el inicial.

Este método presenta algunos inconvenientes y uno de ellos es que existen otros compuestos que existen a la misma longitud de onda que el radical, como pueden ser los carotenoides, por lo que interferirían en los resultados.<sup>21</sup>

#### **Actividad antioxidante basada en mecanismo SET**

Este método mide la capacidad que tiene un antioxidante para transferir un electrón y reducir un compuesto. Estas reacciones son lentas y dependen en gran medida del pH, por lo que el resultado de estos ensayos se basa en el porcentaje de disminución del radical.

La reacción produce un cambio de color de intensidad proporcional a la actividad reductora, que es monitorizado midiendo la absorbancia a 595 nm. Durante 30min. Para completar la reacción.<sup>21</sup>

### **2.2.3.3 Efectos en la salud**

#### **Prevención de enfermedades**

Anulando los efectos perjudiciales de los radicales libres en las células, con una dieta de frutas y vegetales ricos en polifenoles y

antocininas tienen un bajo riesgo de contraer cáncer, enfermedades cardíacas y algunas neurológicas.<sup>22</sup>

### **Tratamiento de enfermedades**

El cerebro es el único en cuanto a su gran vulnerabilidad a daños oxidativos debido a su alta tasa metabólica y a niveles elevados de lípidos poliinsaturados (blanco de la peroxidación de lípidos). Tratamiento de varias lesiones cerebrales, en estudio para Alzheimer, Parkinson y la Esclerosis múltiple.<sup>22</sup>

### **Ejercicio físico**

Durante el ejercicio, el consumo de oxígeno aumenta, dando lugar a un gran aumento en la producción de oxidantes y los daños se traducen en la fatiga muscular durante y después del ejercicio.<sup>22</sup>

## **2.2.4 Actividad Antioxidante**

El cáncer y las enfermedades cardiovasculares son las principales causas de muertes en la civilización occidental. Numerosas investigaciones epidemiológicas y estudios experimentales han demostrado que el aumento en el consumo de frutas y legumbres ayuda en la prevención de muertes por estas enfermedades. El efecto beneficioso de los alimentos vegetales se atribuye principalmente a sustancias con actividad antioxidante, como los compuestos polifenólicos, el ácido ascórbico (vitamina C), los carotenoides y la vitamina E.

Se ha sugerido que estas sustancias aumentan la defensa antioxidante del organismo, contra el “estrés oxidativo”, responsable de diferentes tipos de daños celulares.

Los antioxidantes polifenólicos se encuentran comúnmente en vegetales, pero sus concentraciones son más altas en las frutas.<sup>32</sup> El vino tinto, el arándano (*Vaccinium corymbosum*) y la uva de mesa (*Vitis vinífera*) se han promovido mucho como alimentos que previenen la arterosclerosis y el cáncer, por su alto contenido de compuestos polifenólicos. En las regiones

tropicales no es costumbre consumir vino y no se cultiva la uva ni el arándano, pero existen muchas variedades de frutas que se consumen directamente o como jugo.<sup>19</sup>

### **2.2.5 Radicales Libres**

Los radicales libres son moléculas inestables y muy reactivas caracterizadas por tener uno o más electrones desapareados en su orbital externo y esta condición los torna altamente reactivos, para conseguir la estabilidad modifican a moléculas de su alrededor provocando la aparición de nuevos radicales, por lo que se crea una reacción en cadena que dañará a muchas células y puede ser indefinida si los antioxidantes no intervienen. Cualquier especie (átomo, molécula o ión) que contenga un electrón desapareado en su órbita más externa, y que sea capaz, a su vez de existir en forma independiente (libre). Desde el punto de vista molecular, actúan como potentes agentes oxidantes y son causa de envejecimiento al combinarse con moléculas esenciales, como el DNA y proteínas, a las cuales desactivan. Los radicales libres se forman a partir de moléculas estables por procesos de fisión homolítica y reacciones de transferencia de electrones. Se producen en el organismo continuamente por medio de reacciones bioquímicas de oxidación reducción con oxígeno (redox). La fuente más importante de oxígeno reactivo en condiciones normales en organismos aeróbicos es la pérdida de oxígeno activado de las mitocondrias durante el funcionamiento normal de la respiración oxidativa. En las células aeróbicas existen diversas vías que conducen a la producción de radicales libres derivados del oxígeno. Las fuentes principales son las enzimas (asociadas al ácido araquidónico) ciclooxigenasa, la lipoxigenasa y la citocromo P-450.<sup>23</sup>

Los radicales libres son el resultado de todos los procesos fisiológicos del organismo, como la respiración el metabolismo propio de los alimentos y el ejercicio o bien son generados por factores ambientales tales como la contaminación, el tabaco, la radiación los medicamentos, los aditivos químicos en alimentos procesados y los pesticidas.<sup>24</sup>

### **2.2.5.1 Factores que favorecen su formación**

- Radiación ionizante (ultravioleta, térmica)
- Excesiva disponibilidad de metales de transición
- Efectos adversos de compuestos químicos tóxicos
- Contaminación ambiental
- Exceso de ejercicio
- Humo de cigarrillo
- Exceso de oxígeno o aumento de su concentración.

### **2.2.6 Estrés oxidativo**

El estrés oxidativo es una condición causada por un desequilibrio entre la producción de oxígeno reactivo y la capacidad de un sistema biológico de detoxificar rápidamente los reactivos intermedios o reparar el daño resultante. Todas las formas de vida mantienen un entorno reductor dentro de sus células. Este entorno reductor es preservado por las enzimas que mantienen el estado reducido a través de un constante aporte de energía metabólica. Desbalances en este estado normal redox pueden causar efectos tóxicos a través de la producción de peróxidos y radicales libres que dañan a todos los componentes de la célula, incluyendo las proteínas, los lípidos y el ácido desoxiribonucleico (ADN). En el ser humano, el estrés oxidativo está involucrado en muchas enfermedades, como la aterosclerosis, la enfermedad de Parkinson y la enfermedad de Alzheimer y también puede ser importante en el envejecimiento. Sin embargo, las especies reactivas de oxígeno pueden resultar beneficiosas ya que son utilizadas por el sistema inmunitario como un medio para atacar y matar a los patógenos. Las especies reactivas de oxígeno (ROS). Son utilizadas en la señalización celular.<sup>24</sup>

### **2.2.7 Especies Reactivas**

Un radical libre es un átomo con uno o más electrones no apareados en el último orbital, capaz de reaccionar con múltiples biomoléculas a través de su oxidación. Las especies reactivas de oxígeno (ERO). Son producto del metabolismo celular o fuente exógena (rayos X, contaminación ambiental, humo de tabaco) tienen una participación dual en la célula, ya que pueden adoptar un papel benéfico o perjudicial en los seres vivos.

Estos efectos benéficos se presentan a bajas concentraciones participando en diferentes funciones fisiológicas de la célula; defensa contra agentes infecciosos y sistemas de señalización celular (mitosis).

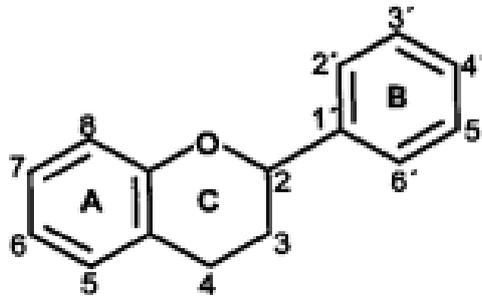
El efecto dañino de los radicales libres en los sistemas biológicos produce especies oxidantes generadas por la deficiencia de antioxidantes e incremento de las especies reactivas de oxígeno. Las especies oxidantes es el resultado de reacciones metabólicas que utilizan  $O_2$  y representa una alteración en el equilibrio pro oxidante antioxidante en los sistemas vivos con capacidad de oxidar biomoléculas e inhiben su estructura y función normal. Hay que resaltar que el equilibrio entre los efectos benéficos y perjudiciales de los radicales libres es un aspecto muy importante para los organismos vivos, el cual se logra mediante mecanismos de regulación redox que protegen a los organismos vivos de las especies oxidantes (EO).<sup>25</sup>

### **2.2.8 Flavonoides**

Los flavonoides son pigmentos naturales presentes en los vegetales y que se encargan de proteger al organismo de agentes oxidantes como los rayos ultravioleta, sustancias químicas presentes en los alimentos, la polución medioambiental. El cuerpo humano no las produce por lo tanto necesariamente se debe ingerir con la dieta o mediante suplementos nutricionales. Constituyen un amplio grupo de compuestos polifenólicos que se encuentran en diversas frutas, vegetales y bebidas como el té, cerveza y especialmente el vino, como oligosacáridos. Son eficientes antioxidantes

capaces de reaccionar con radicales como los radicales peroxilos, el radical hidroxilo, O<sub>2</sub> -formando el radical fenoxi (Rice Evans y cols., 1995-1996).

Poseen propiedades antioxidantes, antiinflamatorias antitromboticas, antialérgicas, antitumorales, antimicrobianas, antiasmáticas e inhibidoras de enzimas como la transcriptasa reversa, proteína quinasa C, tirosina quinasa C. la propiedad de mayor interés son sus efectos antioxidantes.<sup>26</sup>



**FIGURA N° 05** Estructura básica de los flavonoides y sistema de numeración

### 2.2.8.1 Estructura química de los flavonoides

Los flavonoides son compuestos químicos de bajo peso molecular comparten un esqueleto común de difenilpiranos (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>), compuesto por dos anillos de fenilos (A y B) ligados a través de un anillo C de pirano (heterocíclico). Los átomos de carbono en los anillos C y A se numeran del 2 al 8, y los del anillo B desde el 2' al 6'.

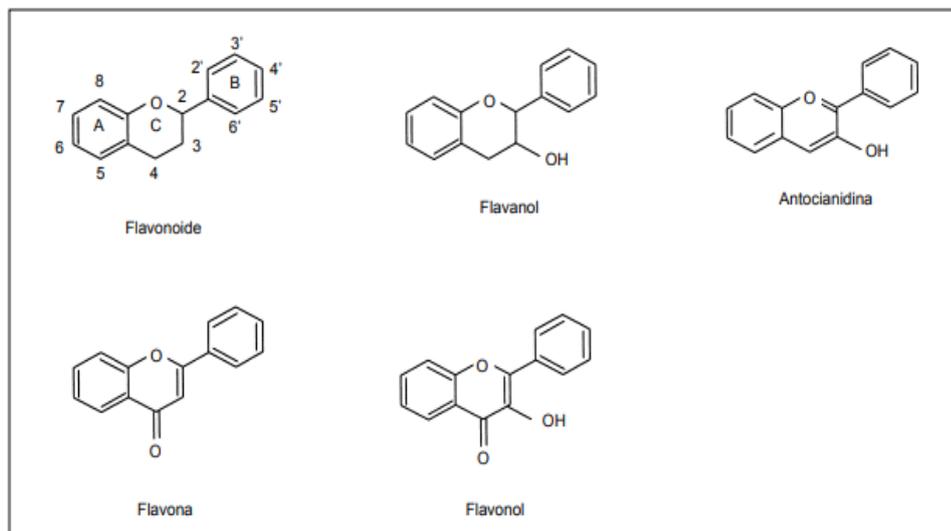
La actividad antioxidante depende de las propiedades redox de sus grupos hidroxifenolicos entre las diferentes partes de la estructura química. Se pueden clasificar en:

- **Flavonas:** la catequina contiene un grupo OH en la posición 3 del anillo C.
- **Flavonoles:** Quercitina que posee un grupo carbonilo en posición 4 y un grupo OH en posición 3 del anillo C.

- **Flavonas:** Diosmetina posee un grupo carbonilo en posición 4 del anillo C y carecen de grupo OH en posición C3.
- **Antocianidinas:** Tienen unido el grupo OH en posición 3 y también posee un doble enlace entre los carbonos 3 y 4 del anillo c.

Tienen tres características importantes para su función:

- La presencia del anillo B de la estructura catecol.
- La presencia de un doble enlace en la posición 2 y 3.
- La presencia de grupos hidroxilo en la posición 3 y 5.<sup>27</sup>



**FIGURA N° 06:** Flavonoides estructura básica y tipos

### 2.2.8.2 Los flavonoides como antioxidantes naturales

Los flavonoides comprenden un abundante grupo de compuestos polifenólicos que se ampliamente distribuidos en numerosas especies vegetales tales como las frutas, así como en el té negro, el café, la cocoa, la cerveza y el vino rojo. Se encuentran desde simples moléculas fenólicas hasta compuestos altamente polimerizados con pesos moleculares mayores de 30000 Da 7.8. Se dividen en 13 subclases con un total de más de 5000 compuestos, pero todos

presentan en común un esqueleto hidrocarbonado del tipo C6-C3-C6 (difencilpropano) que se deriva del ácido shiquímico y de tres restos de acetato. Cada porción de seis carbonos comprende un anillo aromático y la de tres carbonos un heterociclo.

Poseen propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, antitrombóticas, antimicrobianas, antialérgicas, antitumorales y antiasmáticas. También inhiben un amplio espectro de enzimas entre las que se encuentran la transcriptasa reversa, proteína quinasa C, tirosina quinasa C, calmodulina, ornitina decarboxilasa, hexoquinasa, aldosa reductasa, fosfolipasa C, topoisomerasa y oxidasas como la lipoxigenasa y la ciclooxigenasa.

Las propiedades biológicas que tienen mayor interés son sus efectos antioxidantes, los cuales han representado los blancos de un sin número de estudios principalmente de corte clínico al ver que no hay mayor efecto con la vitamina E, vitamina C y betacaroteno, por lo que prefieren utilizar una mezcla de flavonoides y taninos en la mezcla.<sup>28</sup>

### **2.2.8.3 Mecanismos prooxidantes**

Las características estructurales de algunos flavonoides, como las antocianidinas provocan bajos potenciales de oxidación que reduce el Fe<sup>3+</sup> y el Cu<sup>2+</sup> para sufrir una autooxidación o incluso involucrarse en un proceso de reciclaje redox, actuando de esta manera como agentes prooxidantes, lo que explica los efectos mutagénicos y genotóxicos de algunos flavonoides.

Muchos de estos mecanismos incluyen la reducción temporal de Cu(II) a Cu(I), la autooxidación de radical aroxilo generando anión superóxido(O<sub>2</sub><sup>-</sup>) que siguiendo su secuencia general el dañino radical hidroxilo(HO<sup>-</sup>), así como la afección de las funciones de los componentes del sistema de defensa antioxidante nuclear: glutatión y glutatión-s-transferasa.

Lo cual determina el carácter antioxidante o prooxidante de la estabilidad/labilidad redox del compuesto radical formado a partir de flavonoides original. Las acciones prooxidantes solo parecen producirse cuando las dosis de los flavonoides son demasiado altas.<sup>28</sup>

#### **2.2.8.4 Mecanismo antioxidante de los flavonoides.**

La actividad antioxidante de los flavonoides resulta de una combinación de sus propiedades quelatantes de hierro y secuestradoras de radicales libres (RL). Otros autores refieren a la inhibición enzimas, como la lipoxigenasa (LO), la ciclooxigenasa (CO), la mieloperoxidasa (MPO), la NADPH oxidasa y la xantina oxidasa (XO). Evitando la generación de especies reactivas del oxígeno (ERO) in vivo, así como de hidroperóxidos orgánicos. Por otra parte, se ha podido conocer que también inhiben enzimas involucradas indirectamente en los procesos oxidativos, como la fosfolipasa A2 (FLA2 ), al mismo tiempo que estimulan otras con propiedades antioxidantes, la catalasa (CAT) y la superóxido dismutasa (SOD). De esta forma los flavonoides interfieren en las reacciones de propagación de radicales libres y en la formación del radical en sí.<sup>28</sup>

#### **2.2.8.5 Actividad quelante de metales de transición y secuestradoras de radicales libres de los flavonoides. Relación estructura.**

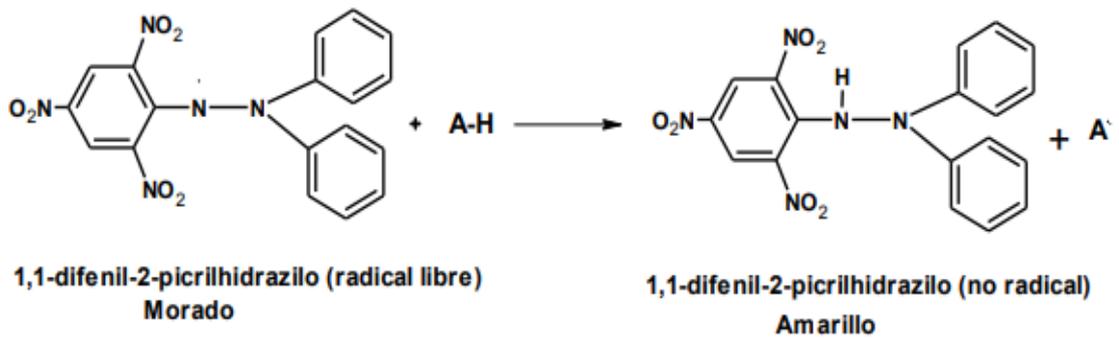
Las especies reactivas oxidantes (ERO) que abarcan el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), el radical anión superóxido ( $O_2^-$ ), el radical hidroxilo ( $OH_3$ ), el radical peroxilo (LOO), el oxígeno singlete ( $lo_2$ ) y el ácido hipocloroso (HOCL) entre otras, reaccionan con las biomoléculas conduciendo al daño celular y tisular, Afortunadamente el organismo cuenta con mecanismos efectivos para protegerse de los efectos nocivos de estas especies químicas. Estos mecanismos se componen de la enzima glutatión peroxidasa (GSPx), pero también de compuestos no enzimáticos como el glutatión hidrosoluble (GSH)

y el ácido ascórbico (vitamina C), así como del  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E) contenido en la membrana, los carotenos y los flavonoides.

Dentro de estos últimos el más estudiado, tanto desde el punto de vista farmacológico como toxicológico, ha sido la quercetina aglicona, perteneciente a la subclase de los flavonoles. Esto probablemente se deba a su amplio predominio en la dieta humana, estimándose su consumo en el intervalo de 4 a 68 mg/d según estudios epidemiológicos en Estados Unidos, Europa y Asia. En las últimas dos décadas, sin embargo, los estudios de la actividad antioxidante se han extendido a otras subclases de flavonoides. En este sentido los flavonoles, flavanonas, flavonas, flavanoles y antocianidinas representan los grupos más abordados.<sup>28</sup>

#### **2.2.9 Método de DPPH (1,1-difenil-2- picrilhidrazilo).**

En este ensayo evalúa la capacidad que tiene un posible antioxidante para neutralizar un radical. El compuesto 1,1-difenil- 2-picrilhidrazilo (DPPH) es un radical estable que presenta una intensa coloración violeta y que absorbe radiación a 517 nm, de forma que su concentración se puede determinar mediante métodos espectrofotométricos. En el ensayo se determina la concentración inicial de 1,1-difenil-2- picrilhidrazilo (DPPH). Y la concentración resultante una vez que se ha añadido el posible antioxidante, de forma que una disminución de la absorción de radiación se traduce en una disminución de la concentración de 1,1-difenil-2- picrilhidrazilo (DPPH). Debido a la cesión de electrones de la especie antioxidante<sup>29</sup>.



**FIGURA N° 07:** Estructura del DPPH antes y despues de la reaccion con el oxidante.

### 2.2.9.1 Formula para determinar capacidad antioxidante

$$\text{Capacidad Antioxidante} = [1 - (A2 - A3) / A1] \times 100$$

% Captación de Radical Libre

Cálculo de la capacidad antioxidante:

A1= Absorbancia del patrón de referencia

A2= Absorbancia de la muestra

A3= Absorbancia del blanco de muestra.

## 2.3 Definición de Términos Básicos

### ➤ Aceites esenciales

Fracciones líquidas volátiles, destilables con agua o en corriente de vapor, que contienen las sustancias responsables del aroma de las plantas y que son importantes en la industria cosmética, alimentaria y farmacéutica.

### ➤ **Agente Oxidante**

Un agente oxidante es un compuesto químico que oxida a otra sustancia en reacciones electroquímicas o de reducción-oxidación.

### ➤ **Compuestos polifenólicos**

Comprenden un amplio rango de sustancias que poseen uno o más anillos aromáticos con un grupo hidroxilo. Entre ellos los flavonoides, isoflavonoides, antraquinonas, antocianidinas y xantonas.<sup>29</sup>

### ➤ **Antocianinas**

Las antocianinas pertenecen a los flavonoides y son glucósidos de las antocianidinas, constituidas por una molécula de antocianidina, que es la aglicona, a la que se le une un azúcar por medio de un enlace glucosídico. Sus funciones son múltiples, desde la de protección de la radiación ultravioleta hasta la de atracción de insectos polinizadores.

### ➤ **Radiación Ionizante**

La radiación ionizante es energía liberada por los átomos en forma de ondas electromagnéticas o partículas. Las personas están expuestas a fuentes naturales de radiación ionizante, como el suelo, el agua o la vegetación, y a fuentes artificiales, tales como los rayos X y algunos dispositivos médicos<sup>22</sup>

### ➤ **ABTS**

Compuesto químico utilizado para observar las cinéticas de reacción de determinadas enzimas. Un uso común de que está en el ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) para detectar la unión de las moléculas entre sí<sup>24</sup>

### ➤ **Alcoholes**

Compuestos químicos formados a partir de los hidrocarburos mediante la sustitución de uno o más grupos hidroxilo por un número igual de átomos de carbono. Se utilizan como productos químicos intermedios y disolventes en la industria de textiles, colorantes, productos químicos, alimentos etc.

## **CAPITULO III**

### **METODOLOGIA DE LA INVESTIGACION**

#### **3.1 Tipo de Investigación**

- Básica. Se buscó información que aporta conocimientos a la investigación.
- Cuantitativa. Se obtiene un resultado expresado en porcentaje de capacidad antioxidante.
- Prospectivo. Los datos se van obteniendo a medida que se avanza en la investigación.

##### **3.1.1 Método**

Inductivo-deductivo porque se analizaron varias investigaciones, se partió de datos generales para obtener datos específicos y conclusiones sobre el tema desarrollado.

Explicativo porque se empleó el método científico y se desarrolló un conjunto de procesos metódicos, sistemáticos, empíricos, controlados y críticos que se aplicaron al estudio para producir nuevos conocimientos.

El presente trabajo de investigación es del tipo descriptivo-prospectivo pues se tomaron en cuenta los hechos a partir de la fecha de estudio.<sup>30</sup>

##### **3.1.2 Técnica**

Observación directa.

##### **3.1.3 Diseño**

**No Experimental:** no modifica la variable

**Transversal:** Se estudiaron las variables en un momento dado del período de investigación.

### 3.2 Población y muestreo de la investigación

#### 3.2.1 Población

Plantas de *Aloysia triphylla* “cedrón” que crecen en el provincia de Corongo (3141 msnm), región Ancash y *Mellissa officinallis* “toronjil” que crecen en la provincia de Huamanga– Ayacucho (3000 msnm).

#### 3.2.2 Muestra

Se utilizó 2 Kg. de cada una de las especies estudiadas hojas de *Aloysia triphylla* “cedrón” y *Mellissa officinallis* “toronjil”.

A partir de los cuales se prepararon los extractos:

200ml de extractos acuosos al 20% y 200ml de extractos alcohólicos al 20% de cada una de las especies investigadas.

### 3.3 Variables e indicadores

Estudio univariado

**Cuadro N°4 Variables e indicadores**

VARIABLE DEPENDIENTE	INDICADORES
<b>Actividad antioxidante de los extractos acuosos y alcohólicos de <i>Aloysia triphylla</i> “cedrón” y <i>Mellissa officinallis</i> “toronjil”</b>	Porcentaje de capacidad antioxidante

### 3.4 Técnicas e instrumentos de recolección de datos

#### 3.4.1 Técnicas

##### 3.4.1.1 Recolección de la muestra

La muestra de *Aloysia triphylla* “cedrón” se recolecto en la provincia de Corongo, departamento Ancash, y la especie *Mellissa officinallis* “toronjil” fue recolectada en la provincia de Huamanga Ayacucho.

#### **3.4.1.2 Limpieza y selección de la muestra**

Se procedió a retirar restos de polvo, tierra y agentes extraños que pueden acompañar al momento de la recolección de ambas especies y separar solo las hojas sanas que nos sean útiles para preparar los extractos.

#### **3.4.1.3 Secado y molienda**

Después que se seleccionó las muestras se procedió al secado de forma natural en sombra evitando que los rayos solares le den directamente en las hojas eso ocurrió en un lapso de 10 días. Luego se procedido a la molienda de forma natural en molino casero.

#### **3.4.1.4 Obtención de los extractos**

Para el extracto acuoso se empleó 200 ml de agua y 40gr de muestra molida para *Aloysia triphylla* “cedrón” y *Mellissa officinallis* “toronjil”.

Para el extracto alcohólico se empleó 200 ml de etanol al 70% y 40 gr de muestra molida igual para *Aloysia triphylla* “cedrón” y *Mellissa officinallis* “toronjil”.

#### **3.4.1.5 Marcha Fitoquímica**

La marcha fitoquímica se realizó para determinar que metabolitos secundarios presentan *Aloysia triphylla* “cedrón” y *Mellissa officinallis* “toronjil” por literatura se sabe que presentan mayor cantidad de flavonoides y debíamos comprobar su presencia ya que estos metabolitos son los responsables de la actividad antioxidante.

Para realizar la marcha fitoquímica se emplearon los reactivos Molish y Antrona al 2% para determinar la presencia de carbohidratos, Fehling para determinar azúcares reductores, Tricloruro férrico para compuestos fenólicos, gelatina para taninos, Shinoda para flavonoides, Bortranger para naftoantraquininas, Dragendorff y Mayer para alcaloides.

#### **3.4.1.6 Determinación de la actividad antioxidante por el método DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo)**

Todas las muestras fueron diluidas con agua bidestilada. Todos los ensayos se realizaron por duplicado en tres determinaciones independientes.

La reacción es seguida midiendo la disminución de la absorbancia a 517 nm. Los resultados se pueden expresar en porcentaje de captación del radical DPPH y capacidad antioxidante equivalentes a trolox (TEAC-DPPH).

#### **3.4.2 Instrumentos de recolección de datos.**

- Ficha de recolección de datos experimentales. Ver ANEXO N° 04
- Ficha de recolección de datos para actividad antioxidante. Ver ANEXO N° 05

**CAPITULO IV**  
**PRESENTACIÓN, ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS**

**4.1 Resultados**

**Cuadro Nº 5: Marcha fitoquímica de los extractos acuoso y alcohólico de *Aloysia triphylla* “cedrón”.**

Metabolitos	Reactivos	Extracto acuoso	Extracto alcohólico
Carbohidratos	Molish	++	+
	Antrona 2%	++	+
Azúcares reductores	Fehling	-	-
	FeCl <sub>3</sub>	++	+
Compuestos Fenólicos	Gelatina	++	+
Taninos	Shinoda	+++	+
Flavonoides	Bortranger	+	-
Naftoantraquinonas	Dragendorff	+	+
Alcaloides	Mayer	+	+

Fuente: Elaboración propia (2016)

Leyenda: Ausencia (-)  
 Escasa cantidad (+)  
 Moderada cantidad (++)  
 Abundante cantidad (+++)

En la marcha fitoquímica realizada al extracto alcohólico al 20% de *Aloysia triphylla* “cedrón” se determinó que contiene carbohidratos, compuestos fenólicos como taninos, trazas de alcaloides, los metabolitos que se encuentran en mayor concentración son los flavonoides.

**Cuadro N° 6: Marcha fitoquímica de los extractos acuoso y alcohólico de *Melissa officinallis* “toronjil”.**

Metabolitos	Reactivos	Extracto acuoso	Extracto alcohólico
Carbohidratos	Molish	++	+
	Antrona 2%	++	+
Azúcares reductores	Fehling	-	-
	FeCl <sub>3</sub>	++	+
Compuestos Fenólicos			
Taninos	Gelatina	++	+
Flavonoides	Shinoda	+++	+
Naftoantraquinonas	Bortranger	+	-
Alcaloides	Dragendorff	+	+
	Mayer	+	+

Fuente: Elaboración propia (2016)

Leyenda:	Ausencia	(-)
	Escasa cantidad	(+)
	Moderada cantidad	(++)
	Abundante cantidad	(+++)

La marcha fitoquímica realizada al extracto alcohólico al 20% de las hojas de *Melissa officinallis* “toronjil” se determinó que también contiene abundante cantidad de flavonoides, en menor cantidad los carbohidratos, azúcares reductores y taninos. Trazas de alcaloides y naftoantraquinonas.

## CUADRO N° 07

### ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS ACUOSOS Y ALCOHOLICOS DE *Aloysia triphylla* “cedrón” y *Melissa officinalis* “toronjil”

Muestra	mg/mL	Absorbancia		% Capacidad antioxidante		TEAC-DPPH( $\mu$ g/mg extracto)	
	Promedio	Promedio	$\pm$ DS	Promedio	$\pm$ DS	Promedio	$\pm$ DS
A	2.0	0.218	0.002	63.9	0.28	1.20	0.01
B	0.3	0.188	0.019	69.0	3.22	6.88	0.71
C	0.6	0.288	0.007	52.4	1.24	5.28	0.14
D	0.5	0.345	0.012	43.0	1.99	7.58	0.27

**Leyenda:** TEAC: Capacidad Antioxidante Expresada en Trolox

A: Extracto alcohólico de *Aloysia triphylla* “cedrón”.

B: Extracto alcohólico de *Melissa officinalis* “toronjil”.

C: Extracto acuoso de *Melissa officinalis* “toronjil”.

D: Extracto acuoso de *Aloysia triphylla* “cedrón”.

**Fuente:** Elaboración propia

#### 4.2 Interpretación de resultados

En el caso del TEAC-DPPH, los mayores valores significan mejor capacidad antioxidante equivalente expresada en trolox. En los resultados mostrados el que finalmente refleja la capacidad antioxidantes el TEAC-DPPH, se observa que el extracto de cedrón en medio acuoso tiene la mayor capacidad antioxidante seguido del extracto del toronjil en medio etanólico.

Los resultados de la actividad antioxidante es inversamente proporcionales al del porcentaje de actividad antioxidante.

## DISCUSIÓN

Las sustancias responsables de la actividad antioxidante tanto en los extractos acuosos y alcohólicos de *Aloysia triphylla* “cedrón” y *Mellissa officinallis* “toronjil” se debe a la presencia de flavonoides y también se sabe por diferentes referencias bibliográficas que estas son las sustancias responsables de la actividad antioxidante y por lo tanto de producir un efecto benéfico en los sistemas biológicos.

Los resultados obtenidos en el presente estudio sobre actividad antioxidante de los extractos acuosos y alcohólicos de *Aloysia triphylla* “cedrón” y *Mellissa officinallis* “toronjil” coinciden con lo reportado por Jessica Thatiuska García Jara realizo un trabajo de investigación en la Universidad Nacional de San Agustín titulado **“Extracción de aceite esencial por fluidos supercríticos y arrastre con vapor de cedrón *Aloysia triphylla* “cedrón” en la región Arequipa”** en cuyo trabajo reporta la presencia de ciertos componentes en el aceite esencial de cedrón los cuales se encuentran en los flavonoides.

Jesús Pedro Buendía Ochoa en la Universidad Nacional Mayor de San Marcos en su tesis de post grado **“Efecto sedante del extracto alcohólico de hojas y flores de *Melissa officinalis* “Toronjil” más *Matricaria chamomilla* “Manzanilla” sobre la ansiedad inducida en ratones albinos”** y Javier Jesús Cárdenas Tenorio titulado **“Validación del efecto sedativo, antiedematizante y toxicidad de *Valeriana officinalis* (Valeriana); *Melissa officinalis* (Toronjil); *Thymus vulgaris* (Tomillo); *Foeniculum vulgare* (Hinojo); *Passiflora incarnata* (Flor de la Pasión o Maracuyá) en ratones”** Demuestran que el extracto de toronjil ayuda a calmar problemas de ansiedad a ciertas concentraciones como se reporta en la literatura sobre sus beneficios de *Mellissa officinallis* “toronjil” y también en el análisis que realizaron a la misma especie vegetal encontraron compuestos flavonoides lo cual reafirma la presencia de estos metabolitos en el presente trabajo.

Víctor Hugo Doroteo, Cecilia Terry, Camilo Díaz, Abraham Vaisberg, Rosario Rojas de la Universidad Peruana Cayetano Heredia, en su trabajo **“Compuestos fenólicos y actividades antioxidante, antielastasa, anticolagenasa y**

**fotoprotectora *in vitro* de *Myrciaria dubia* (camu camu) y *Caesalpinia spinosa* (tara)**". Utilizaron el método DPPH para determinar actividad antioxidante en camu camu y tara ya que es un método seguro y se puede emplear en otras especies que presente la actividad antioxidante.

En el presente trabajo de investigación comprobamos que los extractos alcohólicos de *Aloysia triphylla* "cedrón" y *Melissa officinallis* "toronjil" presentan mayor porcentaje de capacidad antioxidante lo que coincide con el estudio realizado por J. Calderón que reporto que los extractos de n-hexano de las mismas especies vegetales presentaban mayor actividad antioxidante, esto se debe probablemente a la mayor solubilidad de los flavonoides en los solventes utilizados: alcohol y n-hexano.

## CONCLUSIONES

1. Se determinó que los extractos acuosos y alcohólicos de *Aloysia triphylla* “cedrón” y *Mellissa officinallis* “toronjil” si presentan actividad antioxidante.
2. Se determinó que el extracto acuoso de *Aloysia triphylla* “cedrón” presento 43% de capacidad antioxidante determinado con el método del DPPH y 1.2 de capacidad antioxidante expresada en Trolox, esto se debe a la presencia de compuestos polifenolicos, taninos y flavonoides.
3. Se determinó que el extracto alcohólico de *Aloysia triphylla* “cedrón” presento 63.9% de capacidad antioxidante determinado con el método del DPPH y 7.58 de capacidad antioxidante expresada en Trolox, se debería al contenido de compuestos polifenolicos, taninos y flavonoides.
4. Se determinó que el extracto acuoso de *Mellissa officinallis* “toronjil” presento 52.4% de capacidad antioxidante determinado con el método del DPPH y 5.285 de capacidad antioxidante expresada en Trolox, se debería al contenido de compuestos polifenolicos, taninos y flavonoides.
5. Se determinó que el extracto alcohólico de *Mellissa officinallis* “toronjil” presento 69% de capacidad antioxidante determinado con el método del DPPH y 6.88 de capacidad antioxidante equivalente en Trolox, se debería al contenido de compuestos polifenolicos, taninos y flavonoides.
6. El extracto acuoso de *Aloysia tyriphylla* “cedron” presento 43% de capacidad antioxidante y teac-dpph 7.58 es el que presenta mayor actividad antioxidante comparado al extracto acuoso de *Mellissa officinallis* “toronjil”. Los resultados son inversamente proporcional. A mayor capacidad antioxidante menor es la actividad antioxidante.

7. El extracto alcohólico de *Melissa officinallis* "toronjil" es el que presenta mayor actividad antioxidante comparado al extracto alcohólico de *Aloysia tyriphylla* "cedrón". Presenta un 69% capacidad antioxidante y teac-dpph 6.88.

## RECOMENDACIONES

1. Tener cuidado en el proceso de recolección de la muestra, la cual, se debe realizar en otoño o primavera, para evitar que disminuya la concentración de sus principios activos y poder preservar los metabolitos secundarios para su análisis.
2. La desecación de las plantas (hojas de *Aloysia triphylla* “cedrón” y *Melissa officinallis* “toronjil”) se debe realizar en condiciones controladas para evitar la alteración de los metabolitos secundarios. El proceso debe ser rápido, con temperaturas moderadas.
3. El DPPH (1,1-difenil-2-picril-hidrazilo). Es un compuesto químico muy sensible y se debe mantener las condiciones correctas de almacenamiento y manipulación para el análisis que se vaya a realizar y también es recomendable que se realicen como mínimo tres lecturas de las muestras con el reactivo Ya que una sola lectura puede darnos falsos positivos.
4. Continuar el trabajo de investigación de actividad antioxidante en otras especies de la familia verbenáceas. Sobre todo con las que contengan compuestos polifenólicos, taninos y flavonoides ya que estos metabolitos son los responsables de los efectos benéficos en el organismo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Stashenko, e.e.; Jaramillo, b.e. y Martínez, j.r. comparación de la composición química y de la actividad antioxidante in vitro de los metabolitos secundarios volátiles de plantas de la familia verbenácea. rev. academia colombiana de ciencias. 2003. vol. 27 n° 105.
2. José Mostacero León, Freddy Mejía Coico, óscar Gamarra Torres. taxonomía de las fanerógamas útiles del Perú edición 2002.
3. Jessica Thatiuska García Jara “extracción de aceite esencial por fluidos supercríticos y arrastre con vapor de cedrón (*Aloysia triphylla*) en la región Arequipa.  
<http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/unsa/3413/IAgajaj.pdf?sequence=1>. (ultimo acceso 15 mayo 2017).
4. Jesús Pedro Buendía Ochoa tesis doctoral. Efecto sedante del extracto alcohólico de hojas y flores de *Melissa officinalis* “toronjil” más *matricaria chamomilla* “manzanilla” sobre la ansiedad inducida en ratones albinos.
5. Víctor Hugo Doroteo, Cecilia Terry, Camilo Díaz, Abraham Vaisberg, Rosario Rojas en la Universidad Peruana Cayetano Heredia, realizaron un trabajo de investigación titulado **compuestos fenólicos y actividades antioxidante, antielastasa, anticologenasa y fotoprotectora in vitro de *myrciaria dubia* (camú camú) y *caesalpinia spinosa* (tara)**. rev soc quím Perú. 78 (4) 2012.
6. Javier Jesús Cárdenas Tenorio validación del efecto sedativo, antiedematizante y toxicidad de *Valeriana officinalis* (valeriana); *Melissa officinalis* (melisa); *Thymus vulgaris* (tomillo); *Foeniculum vulgare* (hinojo); *Passiflora incarnata* (flor de la pasión o maracuyá) en ratones.  
[http://www.unac.edu.pe/documentos/organizacion/vri/cdcitra/informes\\_finales\\_investigacion/2012/setiembre/javier%20jes%20das%20cardenas%20tenorio%20-%20fcs.pdf](http://www.unac.edu.pe/documentos/organizacion/vri/cdcitra/informes_finales_investigacion/2012/setiembre/javier%20jes%20das%20cardenas%20tenorio%20-%20fcs.pdf) (último acceso 19 de agosto de 2016).
7. Karina Pardo Aldave acción neurotrópica del extracto hidroalcohólico de *Melissa officinalis* (toronjil) en el comportamiento del niño ansioso, con y sin experiencia dental.  
<http://www.usmp.edu.pe/odonto/servicio/2009/kiru2009v6n2/kiru2009v6n2art1.pdf> (último acceso 19 de agosto de 2016).

8. Ramírez Godínez J, Jaime Zordaz J, Añorve Morgia J, Salazar Pereda V, Castañeda Ovando, González Olivares G y Contreras López de la Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Centro de Investigaciones Químicas, México. Determinación de Actividad Antioxidante en extractos acuosos de cedrón (*Aloysia triphylla*). vol. 1, no. 1 (2016) 824-829 <http://www.fcb.uanl.mx/IDCyTA/files/volume1/1/9/143.pdf>.
9. Eva Aguirre Hernández, y el Instituto Nacional de Psiquiatría Ramón de la Fuente Muñiz (INPRF) titulado **“Efecto ansiolítico y sedante de flavonoides de *Tilia Americana* var. *Mexicana*: participación GABAérgica y serotoninérgica.** <http://www.fcb.uanl.mx/idcyta/files/volume1/1/9/143.pdf>. (Último acceso 10 octubre de 2016).
10. Johana Andrea Calderón Hernández “caracterización fitoquímica, actividad antibacteriana y antioxidante de plantas medicinales utilizadas en Pereira y Santa Rosa de Cabal (Risaralda)” <http://repositorio.utp.edu.co/dspace/bitstream/handle/11059/2265/54764c146.pdf> (último acceso 19 de agosto de 2016).
11. Olga Liliana Díaz fajardo “estudio comparativo de la composición química y evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial de *Aloysia triphylla* (l’her) britton, cultivada en tres regiones de Colombia” <http://repositorio.uis.edu.co/jspui/bitstream/123456789/559/2/125182.pdf> (último acceso 23 de agosto de 2016).
12. Pomilio, a.; Seldes, a.; Burton, g. introducción al estudio de los productos naturales. monografías oea. washington, d.c, 1985, 54 (30); 1985.
13. Cordero, Luis. enumeración botánica de las principales plantas, así útiles como nocivas, indígenas o aclimatadas, que se dan en las provincias del Azuay y cañar de la república del Ecuador. Madrid, Afrodísio aguado, s. a., pp. 12-15, 23, 134, 136, 162-164; 1950.
14. Recetario de hierbas y plantas medicinales. ediciones euromexico s.a de cv. edición especial para lexis editores, lima Peru. edición año 2000 isbn: 968-7854-06-5.
15. Antonio back Egg diccionario enciclopédico plantas útiles del Perú. cusco cbc, 1999. 556 p. 24 lams. col...il – (ecología y desarrollo 6005).

16. Angeles Martin Mosquero. sobre *Melissa officinalis* L. subsp. *officinalis* en Andalucía occidental *acta botánica malacitana* 26. 2001. [http://www.biolveg.uma.es/abm/volumenes/vol26/26\\_martinmosquero2.pdf](http://www.biolveg.uma.es/abm/volumenes/vol26/26_martinmosquero2.pdf) (último acceso 29 de agosto de 2015).
17. Villar del Fresno, Ángel m. *farmacognosia general*. editorial síntesis s.a. impreso en España – Madrid; 1999.
18. Propiedades de la *Melissa* o toronjil disponible en. <http://www.botanical-online.com/medicinalsmelisa.htm> (último acceso 06 de setiembre de 2016).
19. *Revista Científica.*, el envejecimiento y el estrés oxidativo., revista cubana de investigaciones biomédicas., no. 3., vol. 21., habana - cuba., 2002., pp. 1-10. <http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=s086403002002000300006> (último acceso 06 de setiembre de 2016).
20. Murillo e., principales antioxidantes de los alimentos. memoria del seminario taller vitaminas antioxidantes y salud, Panamá, julio 2002.
21. María Luisa Mateos Martín, facultad de química departamento de química analítica relación estructura/actividad de protoantocianidinas procedentes de fuentes naturales de origen vegetal. [http://digital.csic.es/bitstream/10261/99216/1/estructura\\_actividad\\_proantocianidinas\\_Mateos.pdf](http://digital.csic.es/bitstream/10261/99216/1/estructura_actividad_proantocianidinas_Mateos.pdf). (último acceso 06 de setiembre de 2016).
22. [http://www.biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06\\_2882.pdf](http://www.biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2882.pdf). (último acceso 06 de setiembre de 2016).
23. **Los flavonoides como antioxidantes naturales** Gilberto Pérez Trueba I\* & Gregorio Martínez Sánchez 2 ' centro de investigaciones biomédicas. instituto de ciencias básicas preclínicas "victoria de girón". avenida 146 no 3102. playa 11600. la habana. cuba. centro de estudios para las investigaciones y las evaluaciones biológicas. instituto de farmacia y alimentos. universidad de la Habana. San Lázaro y I, ciudad Habana 4, cuba. [http://www.latamjpharm.org/trabajos/20/4/lajop\\_20\\_4\\_3\\_1\\_p9hxufpev7.pdf](http://www.latamjpharm.org/trabajos/20/4/lajop_20_4_3_1_p9hxufpev7.pdf) (último acceso 06 de setiembre de 2016).
24. Mireya Velázquez Paniagua, Bertha Prieto Gómez, Facultad de Medicina Universidad Nacional Autónoma de México y Roció Contreras Pérez Centro Interdisciplinario de Ciencias de la Salud. Instituto Politécnico Nacional. Ciencias 75 Julio – Setiembre 2004.

- <http://www.ejournal.unam.mx/cns/no75/CNS07505.pdf>. (último acceso 12 de setiembre de 2016).
25. <https://www.soarme.com/archivos/1324143195.pdfm> (último acceso 16 de octubre de 2016).
  26. Juan Camilo Abad Dávila, Diana Patricia Cabezas Velasco estudio de la actividad antioxidante y antimicrobiana del aceite esencial de las hojas de *piper pubinervulum* c. dc proveniente de macas, Ecuador. Quito, enero del 2014.
  27. S. Martínez Flórez, J. González Gallego, J. M. Culebras y M J. Tuñón nutr. hosp. (2002) xvii (6) 271-278 issn 0212-1611 coden nuhoeq s.v.r. 318 Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes.
  28. Jesús Pala Paul. contribución al conocimiento de los aceites esenciales del género “eryngium” I, en la península ibérica. universidad complutense de Madrid. <http://biblioteca.ucm.es/tesis/bio/ucm-t26240.pdf> (último acceso 16 de octubre de 2015).
  29. Mario Alberto Navarro Beltrán potencial de los aceites esenciales de toronjil (*Melissa officinalis*), orégano (*Origanum vulgare l*) y bleo (*Pereskia bleo*), para ser utilizados como saborizantes en aceites comestibles de mesa. Universidad de Cartagena Facultad de Ingeniería programa de ingeniería de alimentos Cartagena d. t y c.
  30. José Tamayo Calderón. estrategias para diseñar y desarrollar proyectos de investigación en ciencias de la salud.
  31. Della, María. el gran libro de las hierbas. España, editorial planeta, s. a. pg. 145; 2003.
  32. Díaz, o. estudio comparativo de la composición química y evaluación de la actividad antioxidante del aceite esencial de *Aloysia triphylla*, cultivada en tres regiones de Colombia. tesis de la Universidad industrial de Santander. Bucaramanga – Colombia; 2007
  33. Diccionario Mosby Pocket de medicina, enfermería y ciencias de la salud. 4ta edición. impreso en Madrid - España; 2006.
  34. diccionario de la lengua española. editorial grupo océano s.a. impreso en Barcelona - España. 1997.

## ANEXO N° 01

### MATRIZ DE CONSISTENCIA

**Título del Proyecto de Tesis:** Actividad antioxidante de los extractos acuosos y alcohólicos de *Aloysia triphylla* “cedron” y *Melissa officinallis* “toronjil”

**Presentado por:** Erika Karina Rodas Rodas

PROBLEMA GENERAL	OBJETIVO GENERAL	HIPÓTESIS PRINCIPAL	TIPO Y NIVEL DE INVESTIGACION	METODO Y DISEÑO DE INVESTIGACION	VARIABLES	POBLACION Y MUESTRA
<p>¿Presentan actividad antioxidante los extractos acuosos y alcohólicos de <i>Aloysia triphylla</i> “cedrón” y <i>Melissa officinallis</i> “toronjil”?</p> <p><b>1.2.2 Problemas secundarios</b></p> <p><b>1.2.2.1</b> ¿presenta actividad antioxidante el extracto acuoso de <i>Aloysia triphylla</i> “cedrón”?</p> <p><b>1.2.2.2</b> ¿presenta actividad antioxidante el extracto alcohólico de <i>Aloysia triphylla</i> “cedrón”?</p> <p><b>1.2.2.3</b> ¿presenta actividad antioxidante el extracto acuoso de <i>Melissa officinallis</i> “toronjil”?</p> <p><b>1.2.2.4</b> ¿presenta actividad antioxidante el extracto alcohólico de <i>Melissa officinallis</i> “toronjil”?</p> <p><b>1.2.2.5</b> ¿Cuál de los extractos acuosos presenta mayor actividad antioxidante?</p> <p><b>1.2.2.6</b> ¿Cuál de los extractos alcohólicos presenta mayor actividad antioxidante?</p>	<p>Determinar la actividad antioxidante de los extractos acuosos y alcohólicos de <i>Aloysia triphylla</i> “cedron” y <i>Melissa officinallis</i> “toronjil”.</p> <p><b>1.5.3 Objetivos específicos</b></p> <p><b>1.3.2.1.</b> Determinar la actividad antioxidante del extracto acuoso de <i>Aloysia triphylla</i> “cedrón”.</p> <p><b>1.3.2.2.</b> Determinar la actividad antioxidante del extracto alcohólico de <i>Aloysia triphylla</i> “cedrón”.</p> <p><b>1.3.2.3.</b> Determinar la actividad antioxidante del extracto acuoso de <i>Melissa officinallis</i> “toronjil”.</p> <p><b>1.3.2.4.</b> Determinar la actividad antioxidante del extracto alcohólico de <i>Melissa officinallis</i> “toronjil”.</p> <p><b>1.3.2.5.</b> Determinar cuál de los extractos acuosos presentan actividad antioxidante.</p> <p><b>1.3.2.6.</b> Determinar cuál de los extractos alcohólicos presentan actividad antioxidante.</p>	<p>Los extractos acuosos y alcohólicos de <i>Aloysia tyriphylla</i> “cedrón” y <i>Melissa officinallis</i> “toronjil” presentan propiedades antioxidantes.</p> <p><b>1.5.4 Hipótesis Secundarias.</b></p> <p><b>1.4.2.1.</b> El extracto acuoso de <i>Aloysia triphylla</i> “cedrón” presenta actividad antioxidante.</p> <p><b>1.4.2.2.</b> El extracto alcohólico de <i>Aloysia triphylla</i> “cedrón” presenta actividad antioxidante.</p> <p><b>1.4.2.3.</b> El extracto acuoso de <i>Melissa officinallis</i> “toronjil” presenta actividad antioxidante.</p> <p><b>1.4.2.4.</b> El extracto alcohólico de <i>Melissa officinallis</i> “toronjil” presenta actividad antioxidante.</p> <p><b>1.4.2.5.</b> El extracto acuoso de <i>Aloysia triphylla</i> “cedrón” presenta mayor actividad antioxidante.</p> <p><b>1.4.2.6.</b> El extracto alcohólico de <i>Aloysia triphylla</i> “cedrón” presenta mayor actividad antioxidante..</p>	<p><b>Tipo de Investigación:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Básica</li> <li>• Cuantitativo</li> <li>• Prospectivo</li> </ul> <p><b>Nivel de Investigación:</b></p> <p>Descriptivo</p> <p>Comparativo</p>	<p><b>Método de Investigación:</b></p> <p>Inductivo-deductivo</p> <p><b>Diseño de Investigación:</b></p> <p>No Experimental</p> <p>Transversal</p>	<p><b>Variable</b></p> <p>Actividad antioxidante</p> <p><b>Indicadores:</b></p> <p>Porcentaje de capacidad antioxidante</p>	<p><b>Población:</b></p> <p>Plantas de <i>Aloysia tyriphylla</i> “cedrón” que crece en la provincia de Corongo (3141 msnm), departamento Ancash y <i>Melissa officinallis</i> “toronjil” que crecen en la provincia de Huamanga departamento de Ayacucho (3109 msnm)</p> <p><b>Muestra:</b> Hojas de <i>Aloysia tyriphylla</i> “cedron” y <i>Melissa officinallis</i> “toronjil”</p>

## ANEXO N° 02

### CERTIFICACIÓN BOTÁNICA DE *Aloysia triphylla* “cedrón”

Hamilton W. Beltrán S.  
Consultor Botánico  
Calle Natalio Sánchez 251- Jesús María  
hamiltonbeltran@yahoo.com

#### CERTIFICACION BOTANICA

El Biólogo colegiado y autorizado por el Inrena según RD. N° 334-2013-MINAGRI-DGFFS/DGEFFS, con Registro N° 37, certifica que la muestra botánica conocida como “CEDRON” proporcionada por Bach. ERIKA KARINA RODAS RODAS, Tesista de la Universidad Alas Peruanas, ha sido estudiada científicamente y determinada como *Aloysia triphylla* y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

Reino: PLANTAE  
División: Magnoliophyta  
Clase: Magnoliopsida  
Subclase: Asteridae  
Orden: Lamiales  
Familia: Verbenaceae  
Género: *Aloysia*  
Especie: *Aloysia triphylla* (L'Hér.) Britton

Se expide la presente certificación a solicitud de la interesada para los fines que estime conveniente.

Lima, 20 octubre 2015

  
Blgo. Hamilton Beltrán  
Hamilton Wilmer Beltrán Santiago  
Biólogo - Botánico  
CBE 2719

## ANEXO N° 03

### CERTIFICACIÓN BOTÁNICA DE *Melissa officinalis* "toronjil"

Hamilton W. Beltrán S.  
Consultor Botánico  
Calle Natalio Sánchez 251- Jesús María  
hamiltonbeltran@yahoo.com

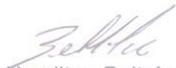
#### CERTIFICACION BOTANICA

El Biólogo colegiado y autorizado por el Inrena según RD. N° 334-2013-MINAGRI-DGFFS/DGEFFS, con Registro N° 37, certifica que la muestra botánica conocida como "TORONJIL" proporcionada por Bach. ERIKA KARINA RODAS RODAS, Tesista de la Universidad Alas Peruanas, ha sido estudiada científicamente y determinada como *Melissa officinalis* y de acuerdo al Sistema de Clasificación de Cronquist 1981, se ubica en las siguientes categorías:

Reino: PLANTAE  
División: Magnoliophyta  
Clase: Magnoliopsida  
Subclase: Asteridae  
Orden: Lamiales  
Familia: Verbenaceae  
Género: *Melissa*  
Especie: *Melissa officinalis* L.

Se expide la presente certificación a solicitud de la interesada para los fines que estime conveniente.

Lima, 20 octubre 2015

Blgo.   
Hamilton Beltrán

Hamilton Wilmer Beltrán Santiago  
Biólogo - Botánico  
CBE 2719

**ANEXO N° 04**  
**FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS EXPERIMENTALES**

<b>Muestra + Reactivo</b>	<b>Extracto acuoso</b>	<b>Extracto alcohólico</b>
<b>Molish</b>		
<b>Antrona 2%</b>		
<b>Fehling</b>		
<b>Tricloruro Férrico</b>		
<b>Gelatina</b>		
<b>Shinoda</b>		
<b>Bortranger</b>		
<b>Dragendorff</b>		
<b>Mayer</b>		

**ANEXO N° 05****FICHA DE RECOLECCIÓN DE DATOS PARA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE**

Muestra	Mg/MI	Absorbancia	% capacidad antioxidante	TEAC – DPPH ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ extracto)
	Promedio	Promedio $\pm$ DS	Promedio $\pm$ DS	Promedio $\pm$ DS
A				
B				
C				
D				

## ANEXO N° 06

FIGURA N° 08

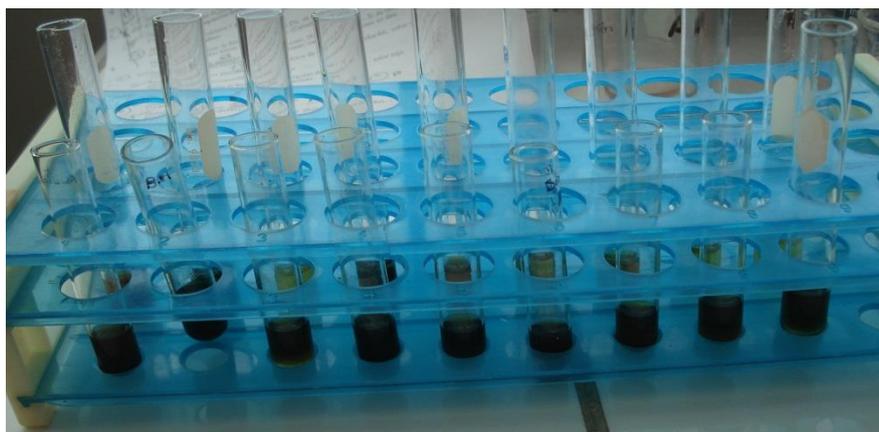
### Reactivos empleados en la investigación



Fuente: Datos obtenidos del trabajo de investigación

FIGURA N° 09

### Resultados de la marcha fotoquímica



Fuente: Datos obtenidos del trabajo de investigación.