

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA

FACULTAD DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES

**DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE CIENCIAS DE LOS
RECURSOS NATURALES RENOVABLES**



**“Determinación de la capacidad antioxidante del
Croton draconoides Muell Arg. (Sangre de
grado) de Pucallpa y Tingo María”**

TESIS

Para optar el Título de :

**INGENIERO EN RECURSOS NATURALES RENOVABLES
MENCIÓN FORESTALES**

Presentado por:

Julliana Lizeth Vásquez Gonzáles

TINGO MARÍA - PERÚ

2008

K50

V32

Vásquez Gonzáles, Julliana L.

“Determinación de la Capacidad Antioxidante del Croton draconoides Muell Arg. (Sangre de Grado) de Pucallpa y Tingo María”. Tingo María, 2008

59 h.; 45 cuadros; 5 fgrs.; 24 ref.; 30 cm.

Tesis (Ing. Recursos Naturales Renovables Mención: Forestales)
Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María (Perú). Facultad de
Recursos Naturales Renovables.

ANTIOXIDANTE / ASTRINGENTE / DPPH / ESPECTROFOTÓMETRO

/ INHIBICIÓN / RADICAL LIBRE / METODOLOGÍA / TINGO MARÍA

RUPA RUPA / LEONCIO PRADO / HUÁNUCO / PERÚ.



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
Tingo María – Perú



FACULTAD DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES

ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS

Los que suscriben, Miembros del Jurado de Tesis, reunidos con fecha 24 de Enero de 2008, a horas 07:10 p.m. en la Sala de Conferencias de la Facultad de Recursos Naturales Renovables, para calificar la tesis titulada:

“DETERMINACION DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LA *Croton dracconoides* Muell Arg. (SANGRE DE GRADO) DE PUCALLPA Y TINGO MARIA”

Presentado por la **Bachiller: JULLIANA LIZETH VASQUEZ GONZALES**, después de haber escuchado la sustentación y las respuestas a las interrogantes formuladas por el Jurado, se declara aprobado con el calificativo de **"BUENO"**.

En consecuencia la sustentante queda apta para optar el **Título de INGENIERO en RECURSOS NATURALES RENOVABLES**, mención **FORESTALES**, que será aprobado por el Consejo de Facultad, tramitándolo al Consejo Universitario para la otorgación del título correspondiente.

Tingo María, 06 de Marzo de 2008

Mcblgo. M.Sc. CESAR LOPEZ LOPEZ
Presidente



Ing. MANUEL BRAVO MORALES
Vocal

Ing. M.Sc. PEDRO VEJARANO JARA
Vocal

Ing. WARREN RÍOS GARCÍA
Asesor

DEDICATORIA

**A Dios por darme la vida y guiarme
en todo el camino de mi formacion.**

**A mis queridos padres Jaime Vásquez,
Rosa Aguilar y Noelia Gonzáles; a mis
hermanas Diana y Katy quienes me brindan
su apoyo y amor en todo momento.**

**A mis demas familiares como mis
abuelos, tías, tíos, primas y primos,
padrinos, que significaron mucho
en mi formación academica y
personal.**

**En memoria de mis recordados familiares
como mi abula Ana Silva y tíos Javier
Salazar y Julio del Castillo, quienes desde
la eternidad guían y protegen mi vida.**

AGRADECIMIENTO

- A la Universidad Nacional Agraria de la Selva, por brindarme la oportunidad de realizarme como profesional.
- A la Facultad de Recursos Naturales Renovables, trabajadores y a todos mis profesores, por su apoyo incondicional durante toda mi formación superior.
- A mis asesores del presente trabajo de investigación, Ing. Warren Rios G. y Ing. Manuel Sandoval Ch. Phd. por su amistad, confianza, apoyo incondicional, económico, y los consejos durante la elaboración y culminación de la investigación.
- Al Centro de Investigación de Plantas Naturales de la Amazonía, por haberme brindado el ambiente de laboratorio para la ejecución de la investigación.
- A la Ing. Vanessa Melchor Sandoval, por su colaboración durante las fases de laboratorio en las diferentes pruebas y análisis para la realización de la investigación.
- A mis queridos amigos Giankarlo Silva, Harry Parra, Edison Vasquez, Juan Muñoz, Dennis Rengifo, Beatriz Sandoval; por su colaboración en la ejecución del trabajo de investigación.
- A todos mis demás amigos y amigas quienes me brindaron su apoyo, amistad y compañerismo en la presente investigación y vida universitaria.

INDICE

	Página
I. INTRODUCCION.....	12
II. REVISION DE LITERATURA.....	15
2.1 Características de la Sangre de Grado.....	15
2.1.1 Generalidades.....	15
2.1.2 Clasificación taxonómica.....	17
2.1.3 Descripción botánica.....	18
2.1.4 Comportamiento fenológico.....	19
2.1.5 Silvicultura.....	20
2.2 Composición química del látex.....	20
2.3 Antioxidantes.....	22
2.4 Estandarización del método de captura de radicales libres Para la evaluación de la actividad antioxidante de extractos vegetales.....	23
2.5 Polifenoles Totales en Vegetales.....	24
III. MATERIALES Y METODOS.....	26
3.1 Descripción del lugar.....	26
3.1.1 Ubicación del laboratorio.....	26
3.1.2 Lugares de muestreo.....	26
3.2 Unidades experimentales.....	27
3.3 Materiales.....	28
3.3.1 Materiales de laboratorio.....	28
3.3.2 Equipos.....	28

3.3.3 Reactivos.....	28
3.4 Metodología.....	29
3.4.1 Evaluación de las muestras.....	29
3.4.2 Hora de recolección de las muestras.....	29
3.4.3 Acopio de las muestras.....	29
3.4.4 Secado de las muestras.....	30
3.4.5 Molienda de las muestras.....	30
3.4.6 Muestras de herbario.....	30
3.5 Método de análisis Fitoquímico.....	30
3.5.1 Capacidad antioxidativa por inhibición por (DPPH).....	30
3.5.2 Determinación de radicales Peróxilos.....	31
3.5.3 Determinación de Polifenoles Totales.....	31
3.6 Etapas de la metodología experimental.....	32
3.6.1 Determinación de antioxidantes DPPH acuoso/ metanólico	32
3.6.2 Determinación de radicales libres acuoso/metanólico...	33
3.6.3 Determinación de Polifenoles Totales acuoso/metanólico	34
3.7 Concentraciones finales para método acuoso y metanólico....	35
3.8 Análisis estadístico.....	36
3.8.1 Modelo aditivo lineal.....	36
3.8.2 Esquema del ANVA.....	37

IV. RESULTADOS.....	38
V. DISCUSIÓN.....	44
VI. CONCLUSIONES.....	50
VII. RECOMENDACIONES.....	52
VIII. ABSTRACT.....	53
IX. REFERENCIAS BOBLOGRÁFICAS.....	54
X. ANEXOS.....	59
XI. GLOSARIO.....	71

INDICE DE CUADROS

CUADRO	Pág.
1. Cuadro de concentraciones Peróxilos.....	34
2. Cuadro de concentraciones DPPH	35
3. Cuadro de concentraciones Polifenoles Totales.....	35
4. Contenido de antioxidantes en las muestras secas de hoja, corteza y látex de <i>Croton draconoides</i> Muell. Arg. en ambos métodos.....	38
5. Contenido de antioxidantes en las muestras secas de hoja, corteza y látex de <i>Croton draconoides</i> Muell. Arg. en ambos métodos.....	39
6. Capacidad Antioxidante – Prueba de Polifenoles Totales.....	40
7. Zona con mayor Capacidad Antioxidante – Prueba de Peróxilos...	41
8. Zona con mayor Capacidad Antioxidante – Prueba de DPPH....	42
9. Zona con mayor Capacidad Antioxidante – Prueba de Polifenoles Totales.....	43
10. ANVA para la variable lugar (A) y partes de la planta (B) $p < 0.05$ - Prueba de Peróxilos acuoso.....	59
11. Prueba Tuckey (A) en (b1).....	59
12. Prueba Tuckey (A) en (b2).....	59
13. Prueba Tuckey (B) en (a1).....	61
14. Prueba Tuckey (B) en (a2).....	61
15. Prueba Tuckey (B) en (a3).....	61

16. Prueba Tuckey (B) en (a4).....	61
17. ANVA para la variable lugar (a) y partes de la planta (b) $p < 0.05$	
– Prueba de DPPH acuoso.....	62
18. Prueba Tuckey (A) en (b1).....	62
19. Prueba Tuckey (A) en (b2).....	62
20. Prueba Tuckey (B) en (a1).....	63
21. Prueba Tuckey (B) en (a2).....	63
22. Prueba Tuckey (B) en (a3).....	63
23. Prueba Tuckey (B) en (a4).....	63
24. ANVA para la variable lugar (a) y partes de la planta (b) $p < 0.05$	
– Prueba de Polifenoles Totales acuoso.....	64
25. Prueba Tuckey (A) en (b2).....	64
26. Prueba Tuckey (A) en (b3).....	64
27. Prueba Tuckey (B) en (a1).....	65
28. ANVA para la variable lugar (a) y partes de la planta (b) $p < 0.05$	
– Prueba de Peróxilos metanólico.....	65
29. Prueba Tuckey (A) en (b1).....	66
30. Prueba Tuckey (B) en (a1).....	66
31. Prueba Tuckey (B) en (a2).....	66
32. Prueba Tuckey (B) en (a3).....	67
33. ANVA para la variable lugar (a) y partes de la planta (b) $p < 0.05$	
– Prueba de DPPH metanólico.....	67
34. Prueba Tuckey (A) en (b1).....	67
35. Prueba Tuckey (B) en (a1).....	68
36. Prueba Tuckey (B) en (a2).....	68

37. Prueba Tuckey (B) en (a3).....	68
38. Prueba Tuckey (B) en (a4).....	68
39. ANVA para la variable lugar (a) y partes de la planta (b) $p < 0.05$	
– Prueba de Polifenoles Totales metanólico.....	69
40. Prueba Tuckey (A) en (b1).....	69
41. Prueba Tuckey (A) en (b2).....	69
42. Prueba Tuckey (A) en (b3).....	70
43. Prueba Tuckey (B) en (a2).....	70
44. Prueba Tuckey (B) en (a3).....	70
45. Prueba Tuckey (B) en (a4).....	70

INDICE DE FIGURAS

FIGURA	Pág.
1. Determinación de antioxidantes por DPPH	32
2. Determinación de Radicales libres	33
3. Determinación de Polifenoles Totales.....	34
4. Lugares de muestreo Pucallpa.....	72
5. Lugares de muestreo Tingo María..	73

RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó en los ambientes del laboratorio del CIPNA – Universidad Nacional Agraria de la Selva – Tingo Maria, Perú. Los objetivos fueron determinar la actividad antioxidante en extractos acuoso y metanólico de hojas, corteza y látex de la *Croton draconoides* Muell Arg. Además se evaluó la ubicación geográfica en la cual la *Croton draconoides* Muell. Arg. presenta mayor capacidad antioxidante.

Se aplicó un Diseño Completo al Azar (D.C.A), con prueba de tuckey con ($p < 0.01$) obteniéndose que la prueba de Peróxilos, del extracto acuoso de hoja y corteza se presentó el mayor contenido de antioxidantes, con $260.407\mu\text{L/ml}$ y $268.5969\mu\text{L/ml}$ respectivamente. En la prueba de DPPH, los extracto de hoja y corteza fueron los que presentaron el mayor contenido de antioxidantes, con $570.375\mu\text{L/ml}$ y $268.5969\mu\text{L/ml}$, y determinándose en la prueba de Polifenoles Totales poca actividad antioxidante para ambos métodos de extracción.

En todas las zonas muestreadas se detecto actividad antioxidante en ambos métodos para las prueba Peróxilos y DPPH; mientras que para la prueba de Polifenoles Totales por el método metanólico solo en las zonas de Bella, Las Palmas y Yarina.

I. INTRODUCCION

La Sangre de Grado, (*Croton draconoidees*) árbol de gran tamaño (entre 10 a 20 metros) que crece a lo largo de los trópicos y las regiones del Amazonas de América del Sur, contiene una resina roja o "sangre", la cual junto con su corteza tienen una larga historia de uso indígena en América del Sur. En nuestro país es usada por los nativos en forma de aplicaciones internas así como externas para la cicatrización de heridas, control de leucorreas, tratamiento de fracturas, etc. Del mismo modo la medicina folclórica brasileña la utilizada en el tratamiento de enfermedades intestinales incluso de úlceras gástricas.

Otros usos indígenas incluyen baños vaginales antes de la menarquia, hemorragias después de la menarquia, desórdenes de la piel, duchas vaginales antisépticas, para heridas y úlceras en la boca, garganta y estómago.

La amazonía peruana tiene una alta diversidad de plantas medicinales, las cuales se desarrollan en ambientes o zonas con diferentes factores ambientales; es por eso que ha visto en énfasis realizar estudios para

ver la influencia que existe de los factores ambientales en el desarrollo de la especie.

Algunos principios activos o propiedades medicinales de la Sangre de grado se deben a la presencia en las hojas, corteza y látex, de sustancias químicas como compuestos fenólicos, polifenoles, taninos, entre otros, y el más importante alcaloide llamado Taspina. Así mismo son una alternativa de solución para el envejecimiento, cáncer y otras enfermedades.

Croton draconoides Muell. Arg., además de sus múltiples usos como medicina natural en toda la amazonía, muchos de sus propiedades medicinales no han sido estudiadas con profundidad. En consecuencia, el estudio de las propiedades medicinales le daría un mayor valor agregado a este recurso al poder utilizar toda la planta, no solo la resina, convirtiéndose en una especie promisoriosa desde el punto de vista medicinal.

El alto valor medicinal de la Sangre de grado ha alcanzado vital importancia en la medicina natural, tal es así que sus efectos están siendo validadas con un interés nacional e internacional. Sin embargo, mucha de la investigación realizada en países en vías de desarrollo no ha sido publicada.

Para demostrar esto, nos trazamos los siguientes objetivos:

- Determinar la actividad antioxidante de extractos acuosos y metanólicos de hoja, corteza y látex de *Croton draconoides* Muell. Arg.
- Determinar la ubicación geográfica en la cual la *Croton draconoides* Muell. Arg. presenta mayor capacidad antioxidante.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Características generales de la Sangre de Grado

2.1.1 Generalidades

La familia Euphorbiaceae a la cual pertenece la sangre de grado, comprende 7 300 sp, con 290 géneros, es casi cosmopolita, generalmente rica en los trópicos MEJIA y RENGIFO (1995).

La sangre del grado se obtiene de varias especies de *Croton draconoides*, *Croton lechleri*, *Croton palanostigma*, y está disponible a lo largo de la Amazonia, con el material de alta calidad en la selva alta de Perú y Ecuador (SANDOVAL, 2001).

Es un árbol que crece cerca de los ríos, riachuelos, al pie de las quebradas y en lugares húmedos. Se encuentra en forma natural en las zonas de África y Sudamérica; en el Perú se localiza en Oxapampa, Tingo Maria, Madre de Dios, zonas del Alto Huallaga, Pachitea, Huánuco y Valle del Pangoa. Comparte el mismo hábitat de muchas especies como palo balsa, catahua, entre otras especies que producen látex de diversos tipos. Alcanza una altura de 12 – 20 m. quedándose ocultos en la parte inferior por la maleza y arbustos, y en la parte superior por los árboles dominantes MEJIA y RENGIFO (1995).

Así mismo se puede decir que en la especie *Croton draconoides* algunos factores influyen en el rendimiento y recolección de látex tales como la radiación solar, la precipitación, diámetro del árbol, follaje, ángulo de corte y la fase lunar (PINEDO, 1997).

Son especies arbóreas que se encuentran en el piso altitudinal de 600 a 800 m.s.n.m su uso puede ser como sombra, cerco, látex, protección, leña, etc. MEJIA y RENGIFO (1995).

Así mismo es una savia color rojo viscoso que se usa extensivamente por las culturas indígenas del Río de Amazonas por sus propiedades curativas notables, la sangre de éste es un término suelto usado para cualquier árbol con savia roja y no siempre representa esta una medicina herbaria amazónica (SANDOVAL, 2001).

Los árboles con edades de 7 a 12 años son suficientes para su aprovechamiento, garantizándose en ella un buen rendimiento de látex con cantidades suficientes de proantocianidina oligomérica (SP-303) y taspina (MEZA, 1999).

2.1.2. Clasificación taxonómica

DIVISION : Magnoliophyta

CLASE : Magnoliopsida

SUB CLASE : Rosidae

ORDEN : Euphorbiales

FAMILIA : Euphorbiaceae

ESPECIE : *Croton draconoides* Muell Arg.

NOMBRES VERNACULARES: Sangre de grado, sangre de drago, Jimi mosho y Shawan karo (shipibo), kasamati (matsigenka), Ginmunaji(piroyine), Masikomboya (amahuaca) Palo de grado, Pocure, Racurana, Sangre de grado (Ecuador), Uksavajikiro, Windku(amarakaeri), Yawar wiki (kichwa) (COCHACHI, 2002).

2.1.3. Descripción botánica

La sangre de grado es un árbol de hojas simples alternas, se caracteriza por poseer las ramas cubiertas de pelos (tomentos), estipulas lanceoladas, alongadas enteras, peciolo largo, con savia de aspecto gomoso, las hojas secas son de color anaranjado – rojizo a marrón claro MEJIA y RENGIFO (1995).

- **Hojas:** Simples, alternas con dos glándulas en la base del limbo, con estipulas laterales caducas abovado – lanceoladas, por los bordes enteros, por el ápice agudo, por la base cordada, por la nervadura pinnatinerva curva, por el peciolo decurrente, por el acumen acuminado, con yemas terminales curvilentas de consistencia papiracea, se observa la presencia de pulvirencia en las hojas. La dimensión aproximada promedio es de 25 a 29 cm de largo, 21 a 24 cm de ancho y peciolo de 3 a 5 cm de largo.
- **Raíz y fuste:** La forma de la raíz es redonda, tiene fuste cilíndrico, y su ramificación es simpodial.
- **Corteza**
 - Corteza externa:** La apariencia es lisa, de color blanquecino, con pequeñas lenticelas horizontales, ritidomas quebradizos.
 - Corteza interna:** De textura fibrosa, olor perceptible, cuya secreción es la resina.

- **Flor:** Es de color blanco amarillento, olor astringente, su diámetro promedio es de 5 mm y una altura de 4 mm la inflorescencia, es en racimos terminales, flores unisexuales, planta monoica.
- **Fruto:** Es de color verde a verde amarillento, olor característico, sabor astringente, posee frutos secos dehiscentes, tipo capsulas, trilocular de 3 mm de largo y 4 a 5 mm de ancho, con una semilla en cada celda.
- **Semilla:** Son pequeñas de color gris parecido al dorso de la garrapata, cuyas dimensiones promedio son de 3 mm de largo y 2 mm de ancho. Estrella (1995), citado por COCHACHI (1997).

2.1.4. Comportamiento fenológico

La floración de la sangre de grado, ocurre entre los meses de Junio y Octubre, durante la época seca. Los frutos son pequeñas cápsulas triloculares agrupadas en espigas, maduran en 2 – 3 meses. La dispersión de las semillas, ocurre por explosión violenta del fruto y tiene lugar entre Octubre y Noviembre, a principios de la época lluviosa. Dicho estudio se realizó con cuatro árboles y las evaluaciones se hicieron durante 7 años (FLORES, 1997).

El estudio fenológico en plantaciones establecidas de “sangre de grado” en la zona de Tingo María se menciona que se aprecia un comportamiento fenológico variable entre los individuos y dentro de los individuos encontrándose, que la floración ocurre en época seca (Mayo a

Agosto) la fructificación se da mayormente entre los meses de la quincena de Agosto y Octubre; la diseminación generalmente a los inicios de las lluvias entre la segunda quincena de Octubre y Noviembre, la defoliación se da en forma parcial lo mismo que coincide con la época seca (PEREZ, 2001).

2.1.5. Silvicultura

La silvicultura de la especie indica, que en varzea (restingas inundables) la plantación debe establecerse inmediatamente después de la vaciente (Junio). En suelos de tierra firme es ventajoso plantar al inicio de la época lluviosa (Noviembre y Diciembre) (BORGES, 1998).

2.2. Composición química del látex

El látex y las hojas de los géneros *Croton* que exudan la Sangre de grado muestran algunos compuestos, tales como: agua (aproximadamente 75%), heterósidos, taninos, ácido benzoico y celulosa, la resina está compuesta por ésteres de alcohol resínico (dracopresinetanol), ácido benzoil acético y residuos vegetales (ALONSO, 1998).

En 1974 se logró aislar el alcaloide taspina, en el cual se han evaluado varias acciones. En 1988 aislaron del látex una protoantocianidina oligomérica, que han denominado SP-303, con el cual también se han realizado trabajos clínicos. En 1994 se publicó un estudio donde se señala que en la sangre de drago existen varios compuestos fenólicos y diterpenos que muestran potente actividad antibacteriana (ALONSO, 1998).

También se reporta que los suelos localizados sobre colinas bajas con pendientes de 15 a 25 % son adecuados para obtener un látex de alta pureza y cantidad de (SP-303); esta especie está en función al incremento en la concentración foliar de Nitrógeno y Calcio y la disminución de Fósforo, son pocos exigentes en la absorción de Potasio (<12%), de Calcio (1.2 a 10%) y la del Manganeso entre (0.2 a 1.2%) (MEZA, 1999).

La savia roja del árbol que se obtiene de la *Croton draconioides* o *Croton lechleri* se usa para tratar las úlceras gastrointestinales, cáncer y para promover la curación de la herida. Se han aislado varios compuestos previamente de la savia de grado, informando que la savia contiene sólo un alcaloide (taspina), que se ha reconocido como el principio activo responsable de sus propiedades antiinflamatorias y curativas de heridas (SANDOVAL, 1999).

La savia tiene una amplia gama de acciones farmacológicas y fisiológicas y se usa para la curación de la herida, controlando la diarrea, úlcera gástrica y como tratamiento para la inflamación intestinal (SANDOVAL, 2001).

2.3. Antioxidantes

Los antioxidantes son compuestos que inhiben o retrasan la oxidación de otras moléculas mediante la inhibición de la propagación de la reacción de oxidación. Los antioxidantes pueden clasificarse en naturales o sintéticos, estando estos últimos en desuso debido a estudios que les atribuyen efectos carcinógenos (ITO *et al.*, 1983). Este hecho ha despertado un creciente interés en el estudio de los antioxidantes naturales entre los que destacan los que se encuentran distintos compuestos fenólicos (VELIOGLU *et al.*, 1998).

Para que un compuesto fenólico sea clasificado como antioxidante debe cumplir dos condiciones básicas. La primera es que cuando se encuentre en una concentración baja con relación al sustrato que va a ser oxidado pueda retrasar, enlentecer o prevenir la autooxidación o la oxidación mediada por un radical libre. La segunda es que el radical formado tras el secuestro sea estable y no pueda actuar en oxidaciones posteriores. Entre los compuestos fenólicos con una reconocida actividad antioxidante destacan los flavonoides, los ácidos fenólicos (hidroxicinámico, hidroxibenzóico, caféico, clorogénico), taninos (elligataninos), chalconas y cumarinas (PRATT, 1992).

Los radicales libres son moléculas desequilibradas, con átomos que tienen un electrón en capacidad de aparearse, por lo que son muy reactivos. Estos radicales recorren nuestro organismo intentando captar un electrón de las moléculas estables, con el fin de lograr su estabilidad electroquímica y con potenciales reacciones en cadenas destructoras de nuestras células.

2.4 Estandarización del método de captura de radicales libres para la evaluación de la actividad antioxidante de extractos vegetales

Los métodos de medición de la actividad antioxidante muestran extrema diversidad; muchos procedimientos usan una acelerada oxidación involucrando un iniciador para manipular una o más variables en el sistema de prueba; tales iniciadores incluyen adición de un metal de transición como catalizador, exposición a la luz para promover oxidación fotosintetizada por oxígeno y fuentes de radicales libres (ANTOLOVICH *et al.*, 2002).

Para la evaluación de la actividad antioxidante se a partir del método planteado por Brand-Williams, preparándose una solución patrón de 2000 ppm del radical libre 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH) en metanol grado analítico, la cual se almacenó a 0° C, en recipiente ámbar recubierto con papel aluminio para mayor protección contra luz. Para efectos de esto se elaboró diariamente una solución de trabajo de DPPH a 20 ppm a partir de la solución patrón, almacenada en recipiente ámbar recubierto con papel aluminio y conservada en baño de hielo (BRAND-WILLIAMS *et al.*, 1995).

La evaluación de la actividad antioxidante a través de fuentes generadoras de radicales libres en el sistema de prueba, asume que la oxidación es inhibida en un alto porcentaje por la captura de estos; por tanto se enfoca en monitorear la capacidad de aditivos y extractos para la captura de radicales o la inhibición de su formación. Este es el principio de los métodos más modernos de ensayo tales como los ensayos de ABTS (ácido 2,2'azinobis-(3-etilbenzotiazolina)-6-sulfónico), DPPH (1,1-difenil-2-picrilhidrazilo) y ficoeritrina (LI, 2003).

2.5. Polifenoles totales en vegetales

Los tejidos vegetales son particularmente activos en la síntesis de metabolitos secundarios o fitoquímicos. Muchos de ellos, cientos en realidad, son reconocidos en forma genérica como polifenoles, entre los que destacan particularmente los derivados de la vía biosintética del ácido shiquímico. Estos polifenoles son antioxidantes activos en sistemas biológicos y probablemente esta capacidad o valor biológico explica su abundancia en tejidos vegetales, en particular en los sometidos a más estrés oxidativo y daño por radicales libres como el derivado de la exposición a la luz solar (LEIGHTON, 2000).

En los últimos años han cobrado gran interés la capacidad antioxidativa que presentan determinados polifenoles, especialmente los flavonoides presentes en diferentes vegetales. Estas sustancias se forman en el reino vegetal a partir de la fenilalanina y la tirosina, combinados con acetato.

Son derivados benzo-a-pirenos. la estructura básica esta formada por un anillo bencénico A unido a un heterocíclico C el cual en el C2 se une a un grupo fenil como sustituyente. En definitiva esta formado con un anillo A y B unido aun anillo heterocíclico C.

La estructura de los compuestos fenólicos, es la que les confiere su capacidad para actuar como captadores de radicales libres. El tipo de compuesto, el grado de metoxilación y el número de grupos hidroxilos son algunos de los parámetros que determinan esta actividad antioxidante. Así, los compuestos con mayor actividad son los flavonoides (RICE-EVANS *et al.*, 1996).

Los radicales libres y las especies reactivas del oxígeno son moléculas señaladoras activas a bajas concentraciones. De acuerdo a este parámetro, bajos los valores del IC₅₀, reflejan una alta eficiencia para inhibir radicales libres (LEBEAU *et al.*, 2000).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Descripción del lugar de estudio

3.1.1. Ubicación del laboratorio

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en los laboratorios del Centro de Investigación de Productos Naturales de la Amazonia (CIPNA) de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.

3.1.2. Lugares de muestreo

- **Tingo María:** La zona de Tingo María se encuentra ubicada en la zona Yungal Tropical, al noroeste del departamento de Huánuco con una latitud Sur de 9° 25' 00", longitud 76° 00' 00", a una altitud de 690 m.s.n.m. presenta un clima cálido y húmedo, temperatura promedio de 18°C a 29 °C con la precipitación promedio anual es de 3 300 mm. con una H° de 80%.

Dentro de esta caracterización se encuentran las zonas de Las Palmas y Bella que tienen una fisiografía plana a ondulada principalmente conformada por valles, su vegetación natural dominante permite la estabilidad, los suelos dominantes en esta región son de dos tipos inceptisoles y ultisoles, con régimen de humedad principal. La provincia es atravesada de sur a norte por el río Huallaga.

Zona de Tingo María

- Las Palmas
- Bella

- **Pucallpa:** La zona de Pucallpa presenta una altitud 154 msnm. presenta los bosques más ricos del mundo, habiendo 20 especies botánicas entre palo de rosa, cacao, marañón, cético, caoba, cedro, tornillo, lupuna, etc. Posee una extensión de 102 410 kms² .Tiene una temperatura promedio de 20 y 32°C (máx. 38°C y mín. 36°C), con una precipitación de 1000 a 3000mm, con un clima calido, húmedo, lluvioso. En esta Región se encuentran las zonas de Yarina y Km. 86 (margen de la carretera ex marginal) su suelo esta formado por suelos pantanosos inundables y rojizos.

Zona de Pucallpa

- Yarina
- Km. 86

3.2. Unidades experimentales

- Estructuras vegetales: hoja, corteza y látex
- Localidades de muestreo Km. 86, Yarina (Pucallpa), Las Palmas, Bella (Tingo Maria).

3.3. Materiales

3.3.1 Materiales de laboratorio

Se usaron los siguientes materiales tales como: Pipetas, punteras, tubitos (borosilcato resistente al calor), cubetas de poliestireno (1 cm. X 1 cm. X 4.5 cm.), vasos de vidrio, micropipetas (1000 μ L, 200 μ L, 100 μ L), matraz, gradillas, etiquetas, papel filtro, papel aluminio.

3.3.2 Equipos

Se usaron los siguientes equipos: Espectofotómetro GENESIS – Termo Electrón Corporation, balanza analítica Digital Precision Cap. Max. 210g., centrifuga MIKRO 22R – HETTICH, vortex GENIE 2 Scientific Industries, cocina CIMATEC SAC. T° 100°C, estufa TOOS – ODHG – 2240A.

3.3.3 Reactivos

- 2,2'azinobis-(3-etilbenzotiazolino-6-acido-sulfonico)
ABTS 0.0148 g. /12 ml. H₂O_{odd}. [2.25] mM
- 2,2-azobis (2amidinoopropano) ABAP 0.0651 g.
de /12 ml. H₂O_{odd}. [2.25] mM
- Carbonato de sódio (PBS) ml. [pH 7.4]
- (+) catequin
- Carbonato de sodio (Na₂CO₃) 20%
- Solución de fenol de Folin-Cicalteu
- 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH) 1 M

3.4 Metodología

3.4.1 Evaluación de las muestras

Las muestras fueron evaluadas teniendo en cuenta un criterio dendrológico basándose en características macroscópicas:

- Forma de hoja
- Tipo de flor

3.4.2 Hora de recolección de las muestras

Se visualizó en campo las características del árbol teniendo en cuenta la altura de 16 a 25 m. y con 30 a 40 cm. de diámetro en una edad promedio de 7 a 12 años de edad para efectuar la tumba, tomando en cuenta la hora de colecta que será entre la 5:00 am hasta las 7:00 am.

3.4.3 Acopio de las muestras

El acopio de las muestras se realizó de tres individuos por localidad; libre de impurezas y cada una de las muestras deberían pesar 5 kg. de hojas y 5 kg. de corteza menos el látex que se considerara la cantidad total extraída.

3.4.4 Secado de las muestras

El secado de las muestras se realizó en separadores de madera en lugares limpios y ventilados expuestos al calor natural bajo sombra y calor artificial en una estufa a una temperatura de 65° – 70° C.

3.4.5 Molienda de las muestras

Una vez secas las muestras estas fueron llevadas al laboratorio para su molienda y para su respectiva codificación.

3.4.6 Muestras de herbario

Se realizó la elaboración de algunas muestras botánicas en buen estado para ser preservadas en el herbario.

3.5 Método de análisis fitoquímico

Las muestras fueron llevadas al laboratorio para su respectivo análisis metanólico y acuoso con sus respectivas pruebas.

3.5.1 Capacidad antioxidativa por inhibición por (DPPH)

El reactivo 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH) es un radical libre estable y se utiliza como indicador para medir la capacidad de captación de cualquier compuesto que posea actividad antioxidante. Se hizo reaccionar 25 μ L de muestra con 975 μ L de DPPH. En este proceso, la reacción desarrolla un cambio de color de violeta a amarillo a medida que disminuye la absorbancia

detectable a 515 nm, según Brand-Williams (1995), citado y modificado por SANDOVAL (2000).

3.5.2 Determinación de radicales peróxidos

En ausencia de antioxidantes, la oxidación es inducida por radicales libres formados por descomposición térmica del compuesto soluble en agua, 2,2' – azobis (2amidinopropano) (ABAP), generando un compuesto de color verde debido a la formación del radical catiónico 2,2'- azinois (3- etilbenzotiazolino-6-ácido sulfónico) (ABTS). Se hizo reaccionar 10 µL de muestra con 990 µL de radical peróxido (color verde). El producto oxidación es monitoreado por espectrofotometría cuya absorción máxima es a 414nm. Prior *et al.*, (2005), citado y modificado por SANDOVAL (2002).

3.5.3 Determinación de los polifenoles totales

La determinación de polifenoles totales se realizó agregando 20 µL de muestra a un contenido de 1580 µL de H₂O, 100 µL de folin, 300 µL de carbonato de sodio al 20%. Se monitoreo las muestras a las 2 horas de incubación a T° ambiente, luego se procedió a realizar las lecturas en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 700 nm. Price y Butler (1977), citado y modificado por (SANDOVAL, 2002).

a). Porcentaje de inhibición

Método descrito por BRAND-WILLIAMS (1995) es la siguiente:

$$\% \text{ Inhibición} = [(\text{Absinicial} - \text{Absfinal}) / \text{Absinicial}] \times 100$$

b). Parámetro de cinética de Inhibición (IC₅₀)

Para la obtención del parámetro IC₅₀, fueron planteado las concentraciones Vs. Los porcentajes de inhibición BRAND-WILLIAMS (1995).

3.6 Etapas de la metodología experimental

Las etapas para la realización del trabajo de investigación fueron:

3.6.1 Determinación de antioxidantes por DPPH acuoso / metanólico

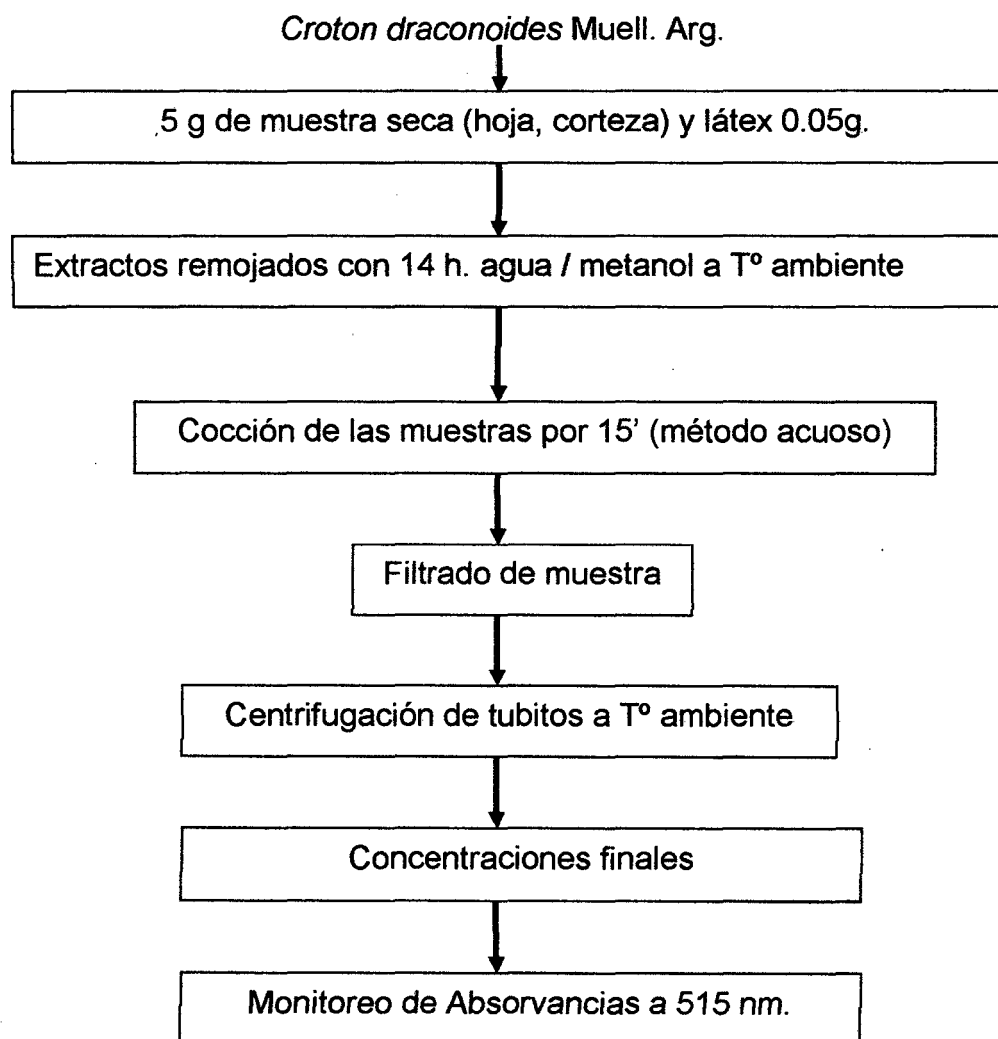


Figura 1. Determinación de antioxidantes por DPPH

3.6.2 Determinación de radicales libres acuoso / metanólico

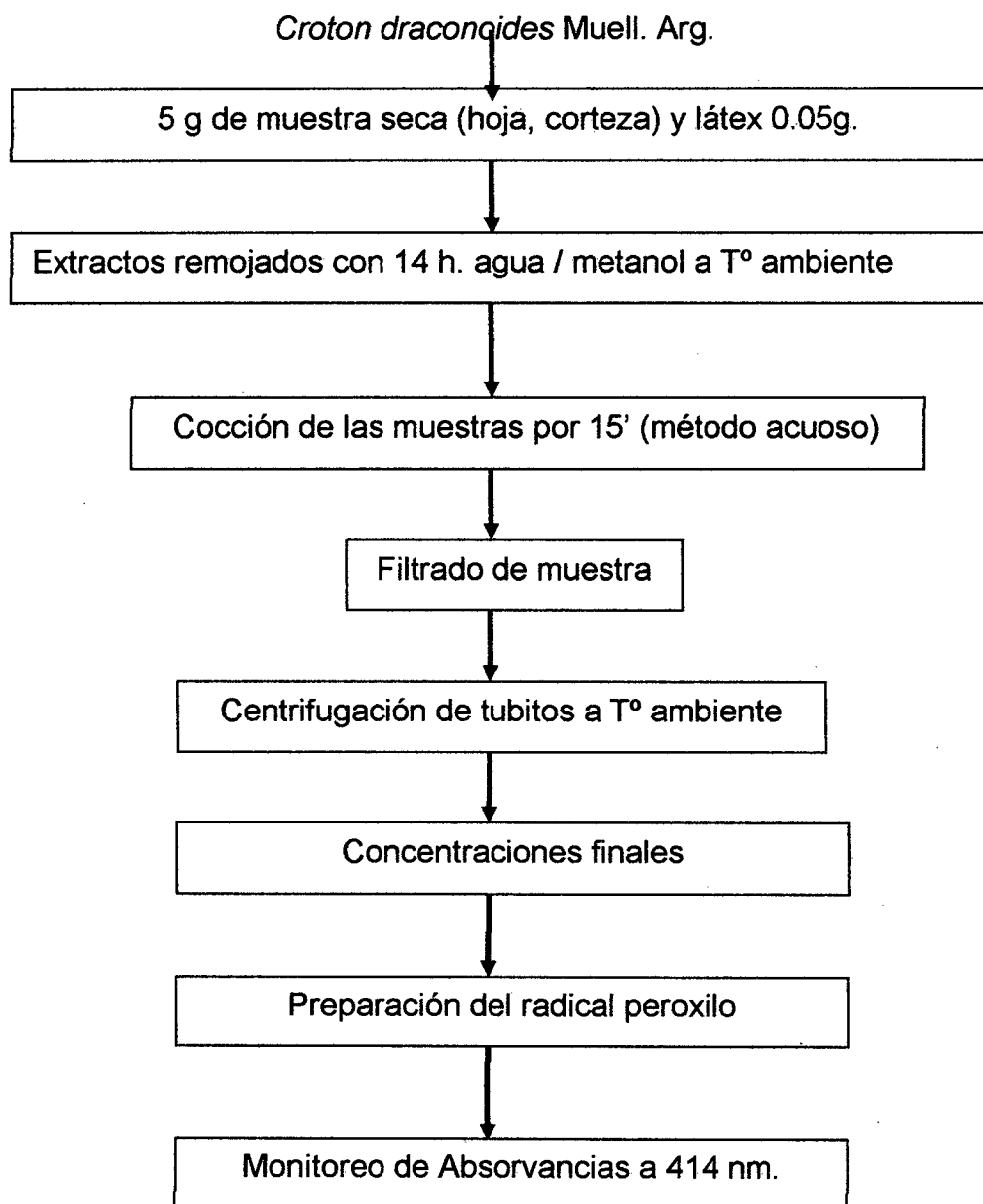


Figura 2. Determinación de radicales libres

3.6.3 Determinación de polifenoles totales acuoso / metanólico

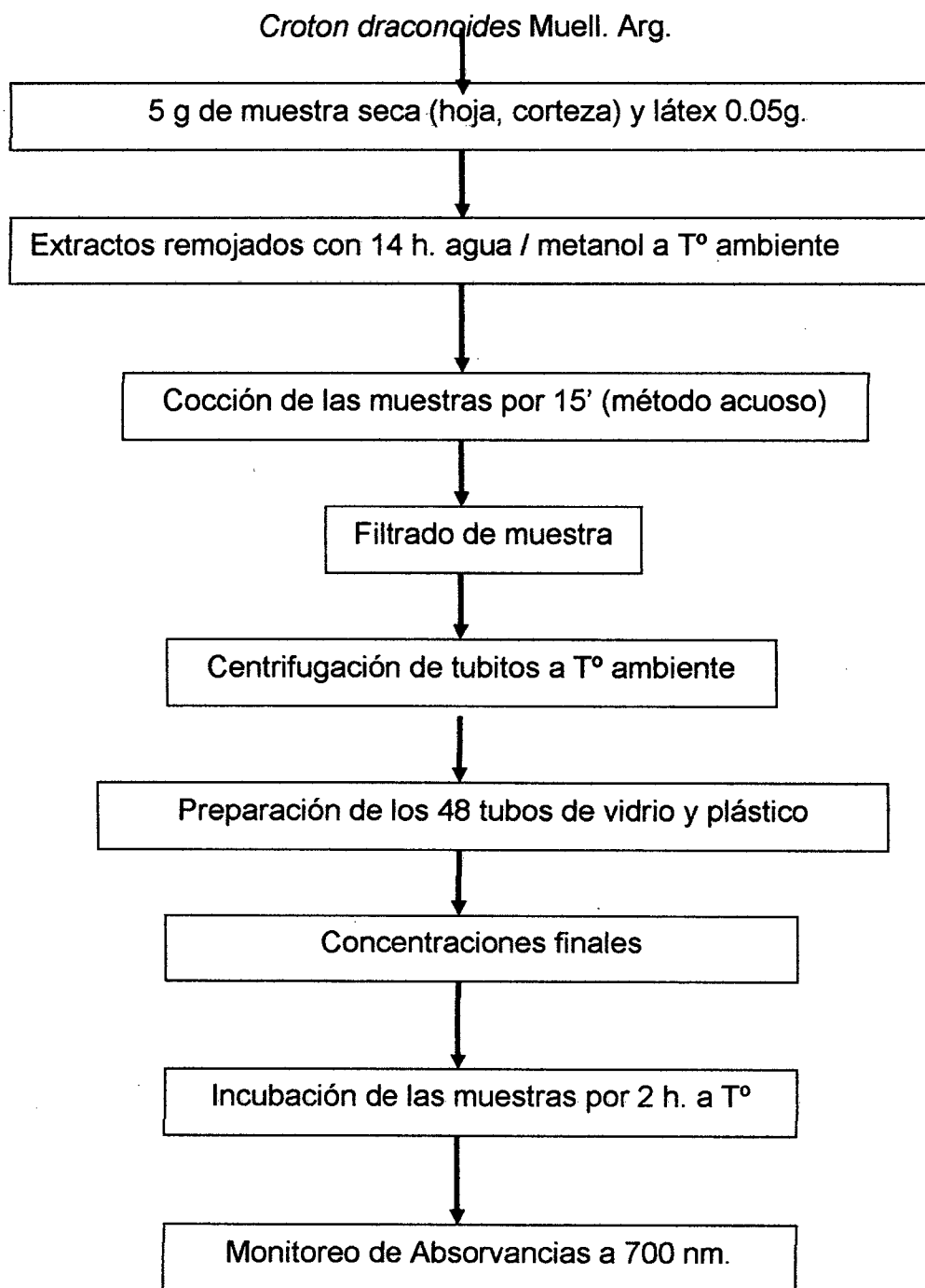


Figura 3. Determinación de polifenoles totales

3.7 Concentraciones finales para método acuoso y metanólico

Cuadro 1. Concentraciones finales para DPPH

MÉTODO METANÓLICO	
Partes de la planta	[] finales ug/ml
Hoja	1500, 150, 50
Corteza	500, 150, 50
Látex	10, 3, 1
MÉTODO ACUOSO	
Partes de la planta	[] finales ug/ml
Hoja	1000, 300, 100
Corteza	1000, 300, 100
Látex	30, 10, 3

Cuadro 2. Concentraciones finales para peróxilos

MÉTODO METANÓLICO	
Partes de la planta	[] finales ug/ml
Hoja	500, 150, 50
Corteza	10, 3, 1
Látex	10, 3, 1
MÉTODO ACUOSO	
Partes de la planta	[] finales ug/ml
Hoja	300, 100, 30
Corteza	300, 100, 30
Látex	30, 10, 3

Cuadro 3. Concentraciones finales para polifenoles totales

MÉTODO METANÓLICO	
Partes de la planta	[] finales ug/ml
Hoja	500, 150, 50
Corteza	10, 3, 1
Látex	10, 3, 1
MÉTODO ACUOSO	
Partes de la planta	[] finales ug/ml
Hoja	300, 100, 30
Corteza	300, 100, 30
Látex	300, 100, 30

Las concentraciones finales para cada prueba a realizarse fueron evaluadas tomando en cuenta a que nivel de concentración estas llegan a formar una recta, según el % de inhibición.

3.8 Análisis estadístico

Se aplicó el diseño estadístico completamente al azar con arreglo factorial, 4 x 3 x 3 con 36 tratamientos.

3.8.1 Modelo aditivo lineal

$$X_{ij} = \mu + A + B + A*B + E_{ij}$$

Donde:

$i = 1, 2, 3, \dots$ tratamientos

$j = 1, 2, 3, \dots$ repeticiones

X_{ij} = variable respuesta

μ = media general

A = efecto del i -ésimo especie forestal

B = efecto del j -ésimo especie forestal

$A*B$ = interacción

E_{ij} = efecto aleatorio

3.7.2 Esquema del ANVA

FUENTE DE VARIACION	GRADO LIBERTAD (G. L)
Tratamientos	(t-1)
Factor A localidades	(a-1)
Factor B especie	(b-1)
Interacción AB	(a-1)(b-1)
Error experimental	ab(n-1)
TOTAL	(abn-1)

IV. RESULTADOS

4.1 Capacidad antioxidante – prueba de peróxilos

Los resultados en la prueba de peróxilos, varía ampliamente en las diversas partes de la planta evaluada, observándose una diferencia significativa entre las muestras evaluadas de hoja, corteza y látex; en los métodos acuosos y metanólico. Mostrando mayor secuestro de radicales en el método acuoso de la corteza y en el método metanólico de la hoja (Cuadro 4).

Cuadro 4. Contenido de antioxidantes en las muestras secas de hoja, corteza y látex de *Croton draconoides* Muell. Arg. en ambos métodos.

LOCALIDAD	MÉTODO ACUOSO			METODO METANÓLICO		
	Hoja	Corteza	Látex	Hoja	Corteza	Látex
a1	*	*				
Km.86	192.89	268.569	-	498.694	-	-
a2	*					
Yarina	260.407	243.602	-	480.069	-	-
a3	*			*		
Las Palmas	96.11	243.227	-	117.073	-	-
a4	*			*		
Bella	65.684	240.946	-	53.431	-	-

Los valores representan el promedio con mayor diferencia estadística. Evaluada mediante DCA, prueba Tukey ($p < 0.01$).

4.2 Capacidad antioxidante – prueba de DPPH

El contenido de la capacidad antioxidante en la prueba de DPPH, varía ampliamente en las diversas partes de la planta evaluada, sometidas a los métodos acuosos y metanólico; observándose una diferencia significativa entre las muestras evaluadas de hoja, corteza y látex como se muestran en el Cuadro 5, donde la hoja y la corteza en el método acuoso mostraron mayor capacidad antioxidante, mientras que el método metanólico la corteza y el látex se mantuvieron ausentes.

Cuadro 5: Contenido de antioxidantes en las muestras secas de hoja, corteza y látex de *Croton draconoides* Muell. Arg. en ambos métodos.

LOCALIDAD	MÉTODO ACUOSO			MÉTODO METANÓLICO		
	Hoja	Corteza	Látex	Hoja	Corteza	Látex
a1	*	*		*		
Km.86	486.820	462.531	-	1358.314	-	-
a2	*	*		*		
Yarina	570.375	599.271	-	1540.402	-	-
a3	*	*		*		
Las Palmas	269.470	531.882	-	1237.439	-	-
a4	*	*		*		
Bella	392.474	436.484	-	1113.660	-	-

Los valores representan el promedio con mayor diferencia estadística. Evaluada mediante DCA, prueba Tukey ($p < 0.01$).

4.3 Capacidad antioxidante – prueba de polifenoles totales

En la prueba de polifenoles la *Croton draconoides* Muell. Arg. presentaron menor contenido de polifenoles en el método metanólico solo el látex presento actividad antioxidante, así mismo en el método acuoso podemos observar que la corteza y el látex poseen la mayor cantidad de polifenoles; mientras que existe una ausencia en la muestra de la hoja (Cuadro 6).

Cuadro 6: Capacidad Antioxidante – prueba de polifenoles totales

LOCALIDAD	MÉTODO ACUOSO			METODO METANÓLICO		
	Hoja	Corteza	Látex	Hoja	Corteza	Látex
a1						*
Km.86	-	0.068	0.245	-	-	0.132
a2			*			
Yarina	-	0.159	0.081	-	-	0.093
a3						*
Las Palmas	-	0.127	0.250	-	-	0.341
a4		*				
Bella	-	0.334	0.227	-	-	0.080

Los valores representan el promedio con mayor diferencia estadística. Evaluada mediante DCA, prueba Tukey ($p < 0.01$).

4.4 Zona con mayor capacidad antioxidante – prueba de peróxilos

Considerando la ubicación geográfica de la *Croton draconoides* Muell. Arg. en la prueba de peróxilos, podemos observar que varía ampliamente en las muestras evaluadas de hoja, corteza y látex; en los métodos acuosos y metanólico, mostrando ausencia de secuestro de radicales libres en el método metanólico en las muestras evaluadas en la zona de Bella (Cuadro 7).

Cuadro 7: Zona con mayor capacidad antioxidante – prueba de peróxilos

LOCALIDAD	MÉTODO ACUOSO			METODO METANÓLICO		
	Hoja	Corteza	Látex	Hoja	Corteza	Látex
a1	*	*	*	*		
Km.86	192.890	243.602	11.292	498.694	1.572	3.412
a2	*	*	*	*		
Yarina	260.407	268.569	10.519	480.069	3.181	4.094
a3	*	*	*	*		
Las Palmas	96.110	240.946	12.027	117.073	2.732	2.722
a4	*	*	*			
Bella	65.684	242.227	9.588	-	-	-

Los valores representan el promedio con mayor diferencia estadística. Evaluada mediante DCA, prueba Tukey ($p < 0.01$).

4.5 Zona con mayor capacidad antioxidante – prueba de DPPH

Evaluando la *Croton draconoides* Muell. Arg. de acuerdo a la ubicación geográfica en la prueba de DPPH, podemos observar que varía ampliamente en las muestras evaluadas de hoja, corteza y látex; en los métodos acuosos y metanólico, presentando menor capacidad antioxidante en el látex de ambos métodos en las zonas de Bella y Las Palmas (Cuadro 8).

Cuadro 8: Zona con mayor capacidad antioxidante – prueba de DPPH

LOCALIDAD	MÉTODO ACUOSO			METODO METANÓLICO		
	Hoja	Corteza	Látex	Hoja	Corteza	Látex
a1	*	*	*	*	*	*
Km.86	486.820	462.531	20.766	1358.314	304.462	8.265
a2	*	*	*	*	*	*
Yarina	570.375	599.271	19.765	1540.402	373.609	8.355
a3	*	*	*	*	*	*
Las Palmas	269.470	531.882	18.457	1237.439	343.971	6.168
a4	*	*	*	*	*	*
Bella	392.474	436.484	18.199	1113.660	365.253	6.880

Los valores representan el promedio con mayor diferencia estadística. Evaluada mediante DCA, prueba Tukey ($p < 0.01$).

4.6 Zona con mayor capacidad antioxidante – prueba de polifenoles totales

De acuerdo a los resultados de ubicación geográfica la prueba de polifenoles totales en la zona de Km.86 se presentó menor contenido de polifenoles para el método acuoso; así mismo se puede observar que en el método metanólico existe mayor cantidad de polifenoles en las zonas de Yarina, Las Palmas y Bella; mientras que existe una ausencia en el resto de las partes evaluadas de la planta (Cuadro 9).

Cuadro 9: Zona con mayor capacidad antioxidante – prueba de polifenoles totales

LOCALIDAD	MÉTODO ACUOSO			METODO METANÓLICO		
	Hoja	Corteza	Látex	Hoja	Corteza	Látex
a1		*				
Km.86	0.074	0.068	0.245	-	-	-
a2						*
Yarina	-	-	-	0.290	0.218	0.093
a3						*
Las Palmas	-	-	-	0.096	0.080	0.341
a4						*
Bella	-	-	-	0.3487	0.4257	0.0803

Los valores representan el promedio con mayor diferencia estadística. Evaluada mediante DCA, prueba Tukey ($p < 0.01$).

V. DISCUSIÓN

5.1 Capacidad antioxidante – prueba de peróxilos

La captura o secuestro de radicales libres para determinar la capacidad antioxidante, varía según las diferentes partes de la planta evaluada (hoja, corteza y látex), (Cuadro 4). Las concentraciones de los extractos acuosos y metanólico varían de 3 $\mu\text{L/ml}$ hasta 1000 $\mu\text{L/ml}$. Así mismo, la inhibición es dependiente de la concentración, debido a que los diferentes extractos presentan diferencia en su porcentaje de inhibición. Los radicales libres y las especies reactivas del oxígeno son moléculas señalizadoras activas a bajas concentraciones. De acuerdo a este parámetro, bajos valores del IC_{50} , reflejan una alta eficiencia para inhibir radicales libres (LEBEAU *et al*; 2000).

La extracción acuosa en esta prueba demostró que la corteza con 268.5969 $\mu\text{L/ml}$ es el mayor porcentaje de inhibición, en la hoja 65.684 $\mu\text{L/ml}$ es el porcentaje mas bajo de inhibición, presentándose una ausencia de datos en el látex. (anexo I). Por otro lado en el método metanólico la hoja mostró un alto porcentaje de inhibición 498.694 $\mu\text{L/ml}$ y una mínima con 53.3431 $\mu\text{L/ml}$, mostrando ausencia en la corteza y el látex (anexo VI y VII).

5.2 Capacidad antioxidante – prueba de DPPH

Respecto a los porcentajes de inhibición en la prueba de DPPH, la actividad antioxidante a través de fuentes generadoras de radicales libres en el sistema de prueba, asume que la oxidación es inhibida en un alto porcentaje por la captura de estos; por tanto se enfoca en monitorear la capacidad de aditivos y extractos para la captura de radicales o la inhibición de su formación (LI, 2003).

La extracción metanólica demostró que la hoja posee un alto porcentaje de inhibición 1540.402 $\mu\text{L/ml}$ y una mínima con 1113.660 $\mu\text{L/ml}$, mostrando ausencia en la corteza y el látex (anexo VIII), esto indica que no existió oxidación de radicales libres. Mientras que en la extracción acuosa se demostró que la corteza con 599.271 $\mu\text{L/ml}$ posee mayor porcentaje de inhibición, mientras que la hoja con 269.470 $\mu\text{L/ml}$ obtuvo el porcentaje más bajo de inhibición, presentándose una ausencia de antioxidantes en el látex (anexo III).

5.3 Capacidad antioxidante – prueba de polifenoles totales

Los porcentajes de inhibición en la prueba de Polifenoles, la estructura de los compuestos fenólicos, es la que les confiere su capacidad para actuar como captadores de radicales libres. El tipo de compuesto, el grado de metoxilación y el número de grupos hidroxilos son algunos de los parámetros que determinan esta actividad antioxidante. Así, los compuestos con mayor actividad son los flavonoides (RICE-EVANS *et al.*, 1996).

El contenido de Polifenoles en la *Croton draconoides* Muell. Arg. varía según los resultados obtenidos, en el método acuoso presentó mayor contenido de polifenoles en la corteza y el látex de las partes evaluadas, con 0.334 $\mu\text{L/ml}$ y 0.250 $\mu\text{L/ml}$; mientras que en la hoja no hubo actividad antioxidante (anexo V).

En la extracción metanólica, la muestra de látex fue la única que mostró mayor contenido de polifenoles con 0.341 $\mu\text{L/ml}$ y una mínima con 0.080 $\mu\text{L/ml}$ (anexo X y XI).

5.4 Zona con mayor capacidad antioxidante – prueba de peróxilos

El secuestro de radicales libres para determinar la capacidad antioxidante en la prueba de peróxilos, varía según las diferentes partes de la planta evaluada (hoja, corteza y látex), tomando en cuenta la ubicación geográfica en la que producen mayor capacidad antioxidante, por eso bajos los valores del IC₅₀, reflejan una alta eficiencia para inhibir radicales libres (LEBEAU *et al.*, 2000).

La *Croton draconoides* Muell. Arg. muestra ausencia de secuestro de radicales libres en el método metanólico en las muestras evaluadas de la zona de Bella (Cuadro 6). Observándose en el método acuoso la corteza en la zona de Yarina con 268.569 $\mu\text{L/ml}$ posee mayor secuestro de radicales, mientras que en la zona de Bella con 9.588 $\mu\text{L/ml}$ mostró menor secuestro de radicales (anexo II). En el método metanólico la zona de Km. 86 en la hoja con 498.694 $\mu\text{L/ml}$ posee mayor secuestro de radicales, así mismo en la misma zona la muestra de corteza con 1.572 $\mu\text{L/ml}$ mostró un escaso secuestro de radicales (anexo VII). Por otro lado en la zona de Bella en el método metanólico no existió secuestro de radicales en ninguna de las partes evaluadas.

5.5 Zona con mayor capacidad antioxidante – prueba de DPPH

En la prueba de DPPH, las partes evaluadas varían según las zonas en las que estas fueron recolectadas, por eso la actividad antioxidante a través de fuentes generadoras de radicales libres en el sistema de prueba, asume que la oxidación es inhibida en un alto porcentaje por la captura de estos; por tanto se enfoca en monitorear la capacidad de aditivos y extractos para la captura de radicales o la inhibición de su formación (LI, 2003).

En la extracción acuosa se demostró que la corteza en la zona de Yarina mostró un alto porcentaje de inhibición 599.271 $\mu\text{L/ml}$ y una mínima en la muestra de látex que pertenece a la localidad de Bella 18.199 $\mu\text{L/ml}$ (anexo IV), esto indica que existió poca oxidación en la muestra de látex con referencia a todas las zonas. Mientras que la extracción metanólica en esta prueba mostró que la hoja con 1540.402 $\mu\text{L/ml}$ posee mayor porcentaje de inhibición en la zona de Yarina, del mismo modo un mínimo porcentaje de inhibición en la muestra de látex con 6.168 $\mu\text{L/ml}$ en la zona de Las Palmas y las demás zonas (anexo IX).

5.6 Zona con mayor capacidad antioxidante – prueba de polifenoles totales

Estos polifenoles son antioxidantes activos en sistemas biológicos y probablemente esta capacidad o valor biológico explica su abundancia en tejidos vegetales, en particular en los sometidos a más estrés oxidativo y daño por radicales libres como el derivado de la exposición a la luz solar (LEIGHTON, 2000).

El contenido de polifenoles en la *Croton draconoides* Muell. Arg. varía según las partes zonas en las que fueron recolectadas y las partes en las que fueron evaluadas, según los resultados obtenidos, en el método acuoso presentó mayor contenido de polifenoles la zona de Km. 86, en las tres partes evaluadas, mientras que las demás zonas se mantuvieron ausentes, existiendo diferencia estadística ($p < 0.01$). (anexo V y VI). En la extracción metanólica, las zonas de Yarina, Las Palmas y Bella presentaron mayor contenido de polifenoles, en las tres partes evaluadas de la planta; presentando el mayor contenido en la zona de Bella con $0.4257 \mu\text{L/ml}$ y el mínimo en la zona de Las Palmas con $0.080 \mu\text{L/ml}$ (anexo XI).

La diferencia del contenido de polifenoles, realizado por las dos formas de extracción (metanol/agua), esta influenciado por las diferentes estructuras, la polaridad del solvente usado y el tiempo de extracción (GEANKUPLIS, 1982; SINGH y HELDMAN, 1998 y TROMELIN, 2003).

VI. CONCLUSION

1. La hoja y corteza de *Croton draconoides* Muell. Arg. en extracto acuoso mostró mayor secuestro de radicales libres frente a la prueba de peróxilos.
2. La hoja de *Croton draconoides* Muell. Arg. en extracto metanólico mostró mayor capacidad antioxidativa en la prueba de DPPH.
3. La corteza y el látex de *Croton draconoides* Muell. Arg. en extracto acuoso mostró mayor cantidad de antioxidantes frente a la prueba de polifenoles totales.
4. La zona con mayor capacidad antioxidativa frente a la prueba de peróxilos mostró que todas las zonas poseen un alto poder de secuestro de radicales, mientras que en el estado metanólico en la zona de Bella es nulo.

5. En La prueba de DPPH se demostró que todas las zonas poseen un alto poder de capacidad de antioxidantes en ambos métodos.

6. En la prueba de polifenoles totales, en el método metanólico todas las zonas poseen mayor cantidad de polifenoles, excepto la zona de Km. 86.

VII. RECOMENDACIÓN

1. Evaluar la actividad antioxidante en extractos atomizados para fines de producción de cápsulas medicinales.
2. Evaluar la actividad antioxidante en materia fresca para determinar la diferencia en la capacidad antioxidante de materia seca.
3. Incentivar a la población al manejo de plantas medicinales para su posterior uso y comercialización racional.

VIII. ABSTRACT

This research was conducted in the laboratory environments CIPNA - Universidad Nacional Agraria de la Selva - Tingo Maria, Peru. The objectives were to determine the antioxidant activity and methanol in aqueous extracts of leaves, bark and latex of *Croton draconoides* Muell Arg. it also assessed the geographic location where the *Croton draconoides* Muell. Arg. introducing greater antioxidant capacity.

Implemented Design Full Random (DCA), with tuckey test ($p < 0.01$) was obtained that proof of Peróxilos, aqueous extract of the leaves and bark were showed the highest content of antioxidants, with 260,407 $\mu\text{L/ml}$ and 268.5969 $\mu\text{L/ml}$ respectively. In the DPPH test, the leaf extract and bark were the ones who showed the highest concentration of antioxidants, with 570,375 $\mu\text{L/ml}$ and 268.5969 $\mu\text{L/ml}$ and determined in the test Total Polyphenols little antioxidant activity for both methods extraction.

In all areas sampled testing antioxidant activity in both methods to the test and Peróxilos and DPPH; while for the method Total Polyphenols methanol only in the areas of Bella, Las Palmas and Yarina.

IX. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALONSO, J. 1998. Tratado de Fitoquímica. Bases Clínicas y Farmacológicas. Edit. Isis Edic. Argentina. 50 p.

ANTOLOVICH, M; PRENZLER, P; PATSALIDES, E. 2002. Métodos para probar actividad antioxidante. La sociedad real de la química 127:183 – 198.

BORGES, B. 1998. El manejo de la sangre de grado. Shaman Pharmaceuticals INC. Lima – Peru. 35 p.

BRAND-WILLIAMS, W; CUVELIER M y BERSET C. 1995. Uso de un método del radical libre a evaluar la actividad antioxidante. Lebensmittel. Wissenschaft. Und Technologie 28. 25-30.

COCHACHI, G. 1997. Tesis "Efecto de diferentes niveles de humus de lombriz en el crecimiento de "sangre de grado" *Croton draconoides* Muell. Arg. En fase de vivero en Tingo María". Universidad Nacional Agraria de la Selva Tingo María – Perú. 84 p.

ESTRELLA, E. 1995. Plantas medicinales amazonicas realidad y perspectiva.
Tratado de Cooperacion Amazónica. Lima – Perú. 302p.

FLORES, Y. 1997. Comportamiento fenologico de 88 especies de la amazonia
peruana. INIA – ICRAF. Lima – Perú. 120p.

GEANKUPLIS, CH. 1982. Proceso de Transporte y Operaciones Unitarias.
Traducido del ingles por Gómez Eroles Antonio, Ing. Químico Phd. Ed.I
Continental. 757p.

ITO, N; FUKUSHIMA, S; HASEGAWA, A y OGISO T. 1983. Carcinogenety del
anisoole hydroxy butylated en ratas de f 334. Jnatl cáncer Inst.; 70: 343 –
347p.

MALAGA, G. 1991. Efecto del clorhidrato de Taspina sobre la curación de
úlceras gástricas inducidas en ratas, Tesis para optar el grado de bachiller
en Ciencias con mención en Biología. Universidad Peruana Cayetano
Heredia.

MEJIA, K y RENGIFO E. 1995. Plantas medicinales de uso popular en el Perú.
Agencia española de cooperación interna .249 pg.

- LEBEAU, J; FURMAN, C; BERNIER, J; DURIE, P; TEISSIER, E; COTELLE, N.
2000. Antioxidant Properties of Di-tert-butylhydroxylated Flavonoids. *Free Radical Biology y Medicine*. 29(9): 900-912.
- LEIGHTON, F. 2000. Polifenoles Vegetales, Ciencia y Bienestar. *Biol. Res.* [online]. 2000, vol.33, no.2 p.6-6. [En línea]: (<http://www.scielo.cl/scielo.php-S0716-ISSN 0716-9760> citado 14 Junio 2007).
- LI, C; YUE, W; y CHENG, C. 2003. El anti-bacteriano y las actividades del barrido del radical libre de DPPH del extracto del etanol de propolis recogieron en Taiwán. *Diario del alimento y del análisis* 11 (4) de las drogas: 277-282.
- PEREZ, I. 2001. Tesis Comportamiento Fenológico por Efecto de Poda en Diferentes Fases Lunares "Universidad Nacional Agraria de la Selva" Tingo Maria – Perú. 68p.
- PRATT, E. 1992. Antioxidante natural de una planta. Huang, TA, Ho, Li de C.T.and, C.Y. Eds., serie 507 del simposio de ACS. Los compuestos fenólicos en alimento y si afectan en la prevención de los antioxidantes y del cáncer de la salud II. Sociedad química americana, Washintong, C.C. 54 - 68

- PRATT, E. y HUDSON F. 1990. Antioxidante natural no explotado comercialmente. En: Ciencias de Hunson B.J.F.de Elsevier Appliede. Alimentos Antixodant. Londres, 171 - 199
- PINEDO P; RENGIFO S; CERRUTOS T. 1997. Plantas Medicinales de la Amazonia Peruana (IIAP)/CAF/FIDA. Edición Ana Maria Lauro. ISBN Iquitos-Perú. Pág.209-210.
- RICE-EVANS, 1996. El papel antioxidante de los alimentos de origen vegetal vitaminas y polifenoles. Facultad de medicina. Universidad de Valencia. [Enlínea]:(<http://www.nutricion.org/publicaciones/Funcionales/vegetales,vitaminas,polifenoles.pdf>. 09 de Agosto 2007).
- SANDOVAL, M. 1999. El tratamiento de úlceras gástricas y diarrea con la medicina herbaria amazónica sangre de grado. Universidad de Calgary, Calgary, Alberta, Canadá; Universidad Nacional Agraria del la Selva, Tingo María, Perú; y Rainforest Phytoceuticals, Delmar, Nueva York. 15 pg.
- SANDOVAL, M; OKUHAMA N; ANGELES F; MELCHOR V; CONDEZO L; LAO J; MILLER M, 2002. Antioxidant activity of the cruciferous vegetable maca (*Lepidium meyenii*) Food Chem. 79:207 – 213.

SINGH, R y HELDMAN, D. 1998. Introducción a la Ingeniería de Alimentos. Ed. Acribia, S.A. Impreso en España. 544p.

TROMELIN, A y GUICHARD, E. 2003. El uso de catalizadores en 3D - QSAR estudio de la Interacción entre sabor y Compuestos β - Lactoglobulina. J. Agric. Food Chem. 51:1977 - 1983.

VELIOGLU S, MAZZA G, GAO L y OOMAH D. 1998. Actividad antioxidante y fenoles totales en frutas, verduras y productos seleccionados del grano. Alimento químico. 46 (10): 4113 - 4117

X. ANEXO

ANEXO I
METODOS ACUOSO

Prueba de Peróxidos - Acuoso

Cuadro 10, Análisis de variancia para la variable lugar (A) y partes de la planta (B) $p < 0.05$.

FUENTES DE VARIACION	G.L	S.C	C.M	F. CAL	F. TAB	SIGNIFICACION
TRATAMIENTO	11	417919.574	37992.689	609.38	2,22 3,09	**
A	3	30415.873	10138.624	162.62	3,01 4,72	**
B	2	344384.576	172192.288	2761.85	3,40 5,61	**
A X B	6	43119.125	7186.521	115.27	2,51 3,67	**
ERROR EXPERIMENTAL	24	1496.322	62.347			
TOTAL	35	419415.896				

Prueba de Comparación Múltiple de Tuckey ($p < 0.01$)

Cuadro 11. Prueba Tuckey (A) en (b1)

LOCALIDADES EN B ¹ (HOJA)	PROMEDIOS	SIGNIFICACIÓN $\alpha = 0,01$
a2 b1	260.407	a
a1 b1	192.890	b
a3 b1	96.110	c
a4 b1	65.684	d

Cuadro 12. Prueba Tuckey (A) en (b2)

LOCALIDADES EN B ² (CORTEZA)	PROMEDIOS	SIGNIFICACIÓN $\alpha = 0,01$
a2 b2	268.569	a
a1 b2	243.602	b
a3 b2	242.227	b
a4 b2	240.946	b

ANEXO II

Cuadro 13. Prueba Tuckey (B) en (a1)

PARTES DE LA PLANTA EN A1 (KM 86)	PROMEDIOS	SIGNIFICACIÓN $\alpha = 0,01$
b2 a1	243.602	a
b1 a1	192.890	b
b3 a1	11.292	c

Cuadro 14. Prueba Tuckey (b) en (a2)

PARTES DE LA PLANTA EN A2 (YARINA)	PROMEDIOS	SIGNIFICACIÓN $\alpha = 0,01$
b2 a2	268.569	a
b1 a2	260.407	b
b3 a2	10.519	c

Cuadro 15. Prueba Tuckey (b) en (a3)

PARTES DE LA PLANTA EN A3 (LAS PALMAS)	PROMEDIOS	SIGNIFICACIÓN $\alpha = 0,01$
b2 a3	240.946	a
b1 a3	96.110	b
b3 a3	12.027	c

Cuadro 16. Prueba Tuckey (b) en (a4)

PARTES DE LA PLANTA EN A4 (BELLA)	PROMEDIOS	SIGNIFICACIÓN $\alpha = 0,01$
b2 a4	242.227	a
b1 a4	65.684	b
b3 a4	9.588	c

ANEXO III

Prueba de DPPH - Acuoso

Cuadro 17, Análisis de variancia para la variable lugar (a) y partes de la planta (b) $p < 0.05$

FUENTES DE VARIACION	G.L	S.C	C.M	F. CAL	F. TAB	SIGNIFICACION
						N
TRATAMIENTO	11	1850314.32	168210.39	248.84	2,22 3,09	**
A	3	85073.827	28357.942	41.95	3,01 4,72	**
B	2	1651720.51	825860.25	1221.7	3,40 5,61	**
A X B	6	113519.978	18919.996	27.99	2,51 3,67	**
ERROR EXPERIMENTAL	24	16223.4377	675.977			
TOTAL	35	1866537.76	0			

Prueba de Comparación Múltiple de Tuckey (P<0.01)

Cuadro 18. Prueba Tuckey (A) en (b1)

LOCALIDADES EN B1 (HOJA)	PROMEDIOS	SIGNIFICACIÓN $\alpha = 0,01$
a2 b1	570.375	a
a1 b1	486.820	b
a4 b1	392.474	c
a3 b1	269.470	d

Cuadro 19. Prueba Tuckey (A) en (b2)

LOCALIDADES EN B2 (CORTEZA)	PROMEDIOS	SIGNIFICACIÓN $\alpha = 0,01$
a2 b2	599.271	a
a3 b2	531.882	b
a1 b2	462.531	c
a4 b2	436.484	d

ANEXO IV

Cuadro 20. Prueba Tuckey (B) en (a1)

PARTES DE LA PLANTA EN A1 (KM 86)	PROMEDIOS	SIGNIFICACIÓN $\alpha = 0,01$
b1 a1	486.820	a
b2 a1	462.531	b
b3 a1	20.766	c

Cuadro 21. Prueba Tuckey (B) en (a2)

PARTES DE LA PLANTA EN A2 (YARINA)	PROMEDIOS	SIGNIFICACIÓN $\alpha = 0,01$
b2 a2	599.271	a
b1 a2	570.375	b
b3 a2	19.765	c

Cuadro 22. Prueba Tuckey (B) en (a3)

PARTES DE LA PLANTA EN A3 (LAS PALMAS)	PROMEDIOS	SIGNIFICACIÓN $\alpha = 0,01$
b2 a3	531.882	a
b1 a3	269.470	b
b3 a3	18.457	c

Cuadro 23. Prueba Tuckey (B) en (a4)

PARTES DE LA PLANTA EN A4 (BELLA)	PROMEDIOS	SIGNIFICACIÓN $\alpha = 0,01$
b2 a4	436.484	a
b1 a4	392.474	b
b3 a4	18.199	c

ANEXO V

Prueba de Polifenoles totales - Acuoso

Cuadro 24, Análisis de variancia para la variable lugar (a) y partes de la planta (b) $p < 0.05$

FUENTES DE VARIACION	G.L	S.C	C.M	F. CAL	F. TAB	SIGNIFICACION
TRATAMIENTO	11	0.220	0.020	6.01	2,22 3,09	**
A	3	0.081	0.027	8.13	3,01 4,72	**
B	2	0.011	0.005	1.59	3,40 5,61	NS
A X B	6	0.128	0.021	6.42	2,51 3,67	**
ERROR EXPERIMENTAL	24	0.080	0.003			
TOTAL	35	0.300				

Prueba de Comparación Múltiple de Tuckey (P<0.01)

Cuadro 25. Prueba Tuckey (A) en (b2)

LOCALIDADES EN B2 (CORTEZA)	PROMEDIOS	SIGNIFICACIÓN $\alpha = 0,01$
a4 b2	0.334	a
a2 b2	0.159	b
a3 b2	0.127	b
a1 b2	0.068	c

Cuadro 26. Prueba Tuckey (A) en (b3)

LOCALIDADES EN B3 (LATEX)	PROMEDIOS	SIGNIFICACIÓN $\alpha = 0,01$
a3 b3	0.250	a
a1 b3	0.245	a
a4 b3	0.227	a
a2 b3	0.081	b

ANEXO VI

Cuadro 27. Prueba Tuckey (B) en (a1)

PARTES DE LA PLANTA EN A1 (KM 86)	PROMEDIOS	SIGNIFICACIÓN $\alpha = 0,01$
b3 a1	0.245	a
b1 a1	0.074	b
b2 a1	0.068	b

METODO METANOLICO

Prueba de Peróxilos - Metanólico

Cuadro 28, Análisis de variancia para la variable lugar (a) y partes de la planta (b) $p < 0.05$

FUENTES DE VARIACION	G.L	S.C	C.M	F. CAL	F. TAB	N	SIGNIFICACIO
TRATAMIENTO	11	1143132.55	103921.14	82.250098	2,22		**
A	3	165533.916	55177.972	43.671514	3,01		**
B	2	646566.159	323283.08	255.86771	4,72		**
A X B	6	331032.479	55172.08	43.666851	3,40		**
ERROR EXPERIMENTA L	24	30323.4578	1263.4774	2	3,67		
TOTAL	35	1173456.01	4				

ANEXO VII

Prueba de Comparación Múltiple de Tuckey (P<0.01)

Cuadro 29. Prueba Tuckey (A) en (b1)

LOCALIDADES EN B1 (HOJA)	PROMEDIOS	SIGNIFICACIÓN $\alpha = 0,01$
a1 b1	498.694	a
a2 b1	480.069	a
a3 b1	117.073	b
a4 b1	53.431	c

Cuadro 30. Prueba Tuckey (B) en (a1)

PARTES DE LA PLANTA EN A1 (KM 86)	PROMEDIOS	SIGNIFICACIÓN $\alpha = 0,01$
b1 a1	498.694	a
b3 a1	3.412	b
b2 a1	1.572	b

Cuadro 31. Prueba Tuckey (B) en (a2)

PARTES DE LA PLANTA EN A2 (YARINA)	PROMEDIOS	SIGNIFICACIÓN $\alpha = 0,01$
b1 a2	480.069	a
b3 a2	4.094	b
b2 a2	3.181	b

ANEXO VIII

Cuadro 32. Prueba Tuckey (B) en (a3)

PARTES DE LA PLANTA EN A3 (LAS PALMAS)	PROMEDIOS	SIGNIFICACIÓN $\alpha = 0,01$
b1 a3	117.073	a
b2 a3	2.732	b
b3 a3	2.722	b

Prueba de DPPH - Metanólico

Cuadro 33. Análisis de variancia para la variable lugar (a) y partes de la planta (b) $p < 0.05$

FUENTES DE VARIACION	G.L	S.C	C.M	F. CAL	F. TAB	SIGNIFICACION
TRATAMIENTO	11	11309255.9	1028114.1	513.682112	2,22 3,09	**
A	3	104371.51	34790.503	17.3825628	3,01 4,72	**
B	2	11003037.3	5501518.6	2748.7528	3,40 5,61	**
A X B	6	201847.143	33641.190	16.8083255	2,51 3,67	**
ERROR EXPERIMENTAL	24	48035.039	2001.45996			
TOTAL	35	11357291.01				

Prueba de Comparación Múltiple de Tuckey ($P < 0.01$)

Cuadro 34. Prueba Tuckey (A) en (b1)

LOCALIDADES EN B1 (HOJA)	PROMEDIOS	SIGNIFICACIÓN $\alpha = 0,01$
a2 b1	1540.402	a
a1 b1	1358.314	b
a3 b1	1237.439	c
a4 b1	1113.660	d

ANEXO IX

Cuadro 35. Prueba Tuckey (B) en (a1)

PARTES DE LA PLANTA EN A1 (KM 86)	PROMEDIOS	SIGNIFICACIÓN $\alpha = 0,01$
b1 a1	1358.314	a
b2 a1	304.462	b
b3 a1	8.265	c

Cuadro 36. Prueba Tuckey (B) en (a2)

PARTES DE LA PLANTA EN A2 (YARINA)	PROMEDIOS	SIGNIFICACIÓN $\alpha = 0,01$
b1 a2	1540.402	a
b2 a2	373.609	b
b3 a2	8.355	c

Cuadro 37. Prueba Tuckey (B) en (a3)

PARTES DE LA PLANTA EN A3 (LAS PALMAS)	PROMEDIOS	SIGNIFICACIÓN $\alpha = 0,01$
b1 a3	1237.439	a
b2 a3	343.971	b
b3 a3	6.168	c

Cuadro 38. Prueba Tuckey (B) en (a4)

PARTES DE LA PLANTA EN A4 (BELLA)	PROMEDIOS	SIGNIFICACIÓN $\alpha = 0,01$
b1 a4	1113.660	a
b2 a4	365.253	b
b3 a4	6.880	c

ANEXO X

Prueba de Polifenoles Totales - Metanólico

Cuadro 39, Análisis de variancia para la variable lugar (a) y partes de la planta (b) $p < 0.05$

FUENTES DE VARIACION	G.L	S.C	C.M	F. CAL	F. TAB	SIGNIFICACION
					2,22	
TRATAMIENTO	11	0.516	0.047	10.37	3,09	**
A	3	0.130	0.043	9.60	3,01	**
B	2	0.019	0.010	2.12	4,72	NS
A X B	6	0.367	0.061	13.50	3,40	**
ERROR EXPERIMENTAL	24	0.109	0.005		5,61	
TOTAL	35	0.625			2,51	
					3,67	

Prueba de Comparación Múltiple de Tuckey (P<0.01)

Cuadro 40. Prueba Tuckey (A) en (b1)

LOCALIDADES EN B1 (HOJA)	PROMEDIOS	SIGNIFICACIÓN $\alpha = 0,01$
a4 b1	0.3487	a
a2 b1	0.2897	a
a1 b1	0.1203	b
a3 b1	0.0960	b

Cuadro 41. Prueba Tuckey (A) en (b2)

LOCALIDADES EN B2 (CORTEZA)	PROMEDIOS	SIGNIFICACIÓN $\alpha = 0,01$
a4 b2	0.426	a
a2 b2	0.218	a
a1 b2	0.103	b
a3 b2	0.080	b

ANEXO XI

Cuadro 42. Prueba Tuckey (A) en (b3)

LOCALIDADES EN B3 (LATEX)	PROMEDIOS	SIGNIFICACIÓN $\alpha = 0,01$
a3 b3	0.341	a
a1 b3	0.132	a
a2 b3	0.093	b
a4 b3	0.080	b

Cuadro 43. Prueba Tuckey (B) en (a2)

PARTES DE LA PLANTA EN A2 (YARINA)	PROMEDIOS	SIGNIFICACIÓN $\alpha = 0,01$
b1 a2	0.290	a
b2 a2	0.218	a
b3 a2	0.093	b

Cuadro 44. Prueba Tuckey (B) en (a3)

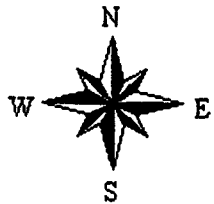
PARTES DE LA PLANTA EN A3 (LAS PALMAS)	PROMEDIOS	SIGNIFICACIÓN $\alpha = 0,01$
b3 a3		
b1 a3	0.096	b
b2 a3	0.080	b

Cuadro 45. Prueba Tuckey (B) en (a4)

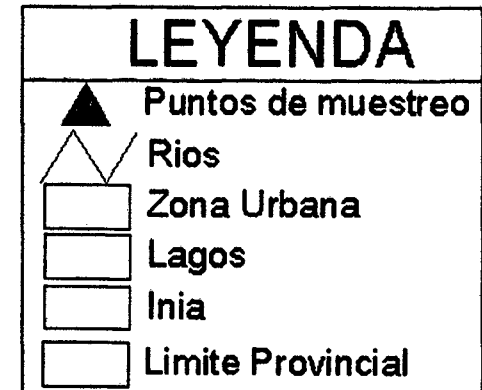
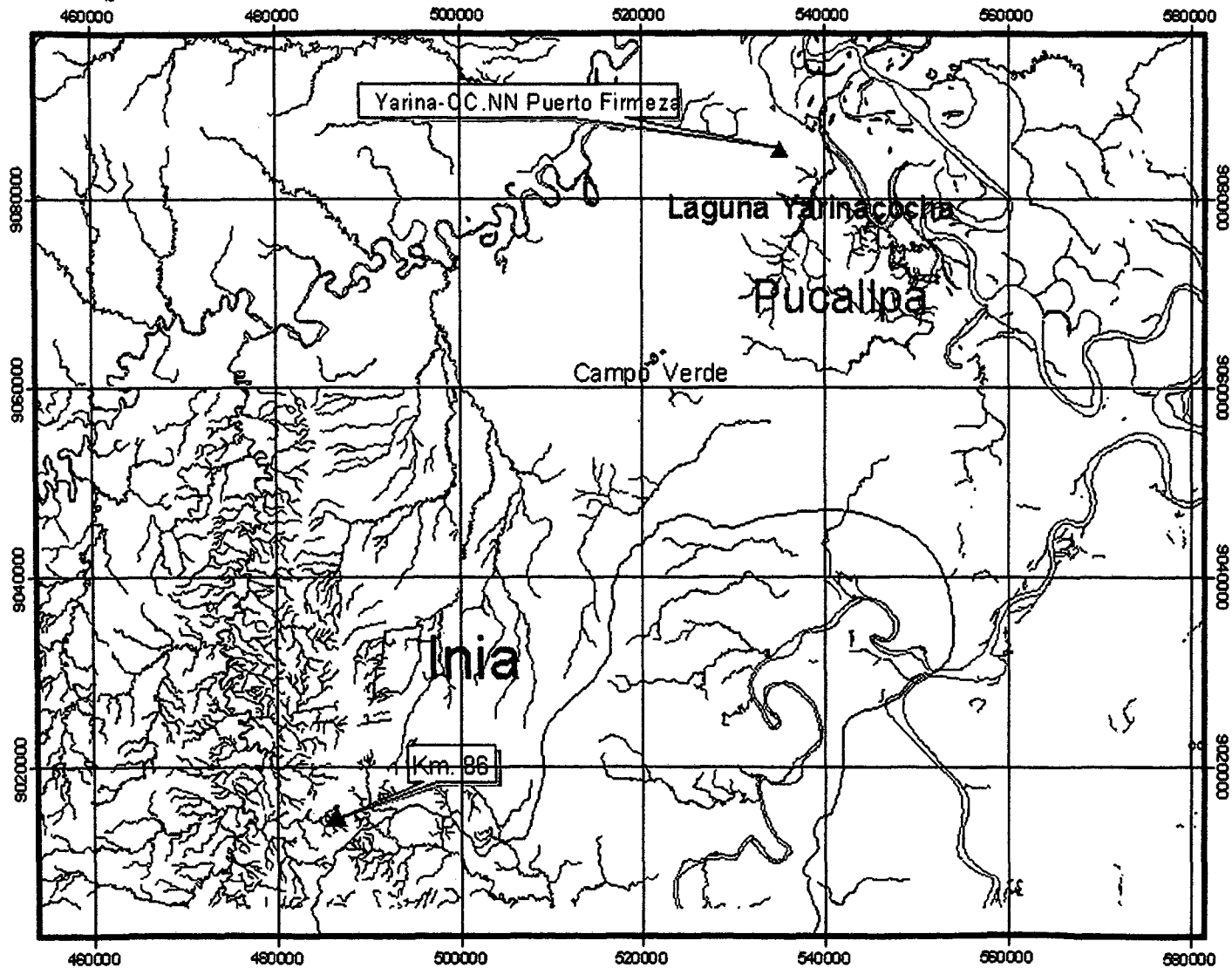
PARTES DE LA PLANTA EN A4 (BELLA)	PROMEDIOS	SIGNIFICACIÓN $\alpha = 0,01$
b2 a4	0.4257	a
b1 a4	0.3487	a
b3 a4	0.0803	b

XI. GLOSARIO

1. **Antioxidante:** Que evita o protege de la oxidación.
2. **Astringente:** Es cualquiera de las sustancias que con su aplicación externa local (tópica), retraen los tejidos y pueden producir una acción cicatrizante, antiinflamatoria y antihemorrágica.
3. **DPPH:** Radical 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo
4. **Espectrofotómetro:** Instrumento para desdoblar un haz heterogéneo de radiación electromagnética en sus distintos componentes y dar una indicación de la transferencia de energía entre cada uno de ellos y una sustancia en estudio.
5. **Inhibición:** Proceso mediante el cual se impide la manifestación de una comportamiento.
6. **Radical libre:** Es cualquier molécula que contiene uno o mas electrones desapareados.
7. **[]:** Indica la concentración de las soluciones a evaluar.



LUGARES DE RECOLECCIÓN



0.02 0 0.02 0.04 Miles



