

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
FACULTAD DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE CIENCIAS DE LOS RECURSOS
NATURALES RENOVABLES



CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN SEIS ESPECIES
VEGETALES DE LA SELVA PERUANA

TESIS

Para optar el título de:

INGENIERO EN RECURSOS NATURALES RENOVABLES
MENCION FORESTALES

MUÑOZ SISNIEGAS, JUAN JOSÉ

PROMOCION 2005 - II

Tingo María - Peru

K01

M94

Muñoz Sisniegas, Juan J.

Capacidad Antioxidante en seis Especies Vegetales de la Selva Peruana Tingo María, 2008

69 h.; 96 cuadros; 18 fgrs.; 36 ref.; 30 cm.

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

**ANTIOXIDANTE / DPPH / POLIFENOLES / ESPECIES VEGETALES
METODOLOGÍA / RADICAL LIBRE / TINGO MARÍA / RUPA RUPA
LEONCIO PRADO / HUÁNUCO.**



ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS

Los que suscriben, Miembros del Jurado de Tesis, reunidos con fecha 03 de Junio de 2008, a horas 06:00 p.m. en la Sala de Conferencias de la Facultad de Recursos Naturales Renovables, para calificar la tesis titulada:

CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN SEIS ESPECIES VEGETALES DE LA SELVA PERUANA

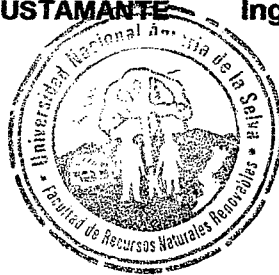
Presentado por el **Bachiller: JUAN JOSE MUÑOZ SISNIEGAS**, después de haber escuchado la sustentación y las respuestas a las interrogantes formuladas por el Jurado, se declara aprobado con el calificativo de "**MUY BUENO**".

En consecuencia el sustentante queda apto 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, 26 de setiembre de 2008

.....
Blgo. M.Sc. EDILBERTO CHUQUILIN BUSTAMANTE
Presidente

.....
Ing. M.Sc. PEDRO VEJARANO JARA
Vocal



.....
Ing. WARREN RIOS GARCIA
Vocal

.....
Blgo. ARMANDO ENEQUE PUICON
Asesor

DEDICATORIA

A DIOS, por brindarme la vida y permitirme salir adelante en los momentos más difíciles de mi vida personal, familiar, y así poder tener la oportunidad de cumplir con mis deseos de superación.

A mis queridos padres:

Perlita y Pepe; gracias por apoyarme, por sus palabras y decirles que hicieron eco y me brindaron el apoyo que necesitaba para cumplir con mis deseos y anhelos de superación.

A mis hermanos:

Con mucho cariño para ustedes y decirles que nada es imposible en esta vida.

A ti Samantha:

Por tus palabras, tu amistad, amor y tenerte a mi lado en los buenos y malos momentos.

A mis familiares:

A mis tíos, tías, primos, primas; que significaron un estímulo para superarme y por sus consejos.

AGRADECIMIENTOS

- A la Universidad Nacional Agraria de la Selva, por permitir forjarme como profesional.
- A la Facultad de Recursos Naturales Renovables, a sus trabajadores y a los profesores que me brindaron sus conocimientos dentro como fuera de las aulas durante mi formación profesional.
- Al Doctor Manuel Sandoval Chacón, por su confianza y la responsabilidad de poder culminar esta investigación.
- A mi asesor, biólogo Armando Eneque Puicón, por su amistad, confianza y dedicación.
- A Vanesa Melchor Sandoval, encargada del Centro de Investigación de Productos Naturales de la Amazonía (CIPNA), por su apoyo en las arduas horas de trabajo dentro del laboratorio.
- A los señores Concepción Ariza y Glelia Ríos por su colaboración en la ejecución de este trabajo.
- A Juan y Dustin, que me apoyaron en la recolección de las muestras.
- A todos mis amigos y amigas que con sus palabras de apoyo lograron motivarme y seguir con más ánimos la culminación de este trabajo.
- A los compañeros de trabajo (Proyecto PRA) que me motivaron para culminar este proyecto y poder seguir avanzando como profesional.
- A las personas que colaboraron de manera desinteresada con el estudio, muchas gracias.

ÍNDICE GENERAL

	Pagina
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
2.1. Generalidades de las especies en estudio.....	4
2.1.1. <i>Inga edulis</i> (Vell) Mart. “Guaba”.....	4
2.1.2. <i>Parkia velutina</i> Benist “pashaco curtidor”.....	5
2.1.3. <i>Senna alata</i> (L.) Roxb. “retama tropical”.....	5
2.1.4. <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer “copaiba”.....	6
2.1.5. <i>Cajanus cajan</i> (L.) Millap. “frijol de palo”.....	7
2.1.6. <i>Erythrina fusca</i> Loureiro “amasisa con espina”.....	8
2.2. Antioxidantes.....	9
2.2.1. Definición.....	9
2.2.2. Principales antioxidantes.....	10
2.2.2.1. Antioxidantes endógenos.....	10
2.2.2.2. Antioxidantes exógenos.....	10
2.2.3. Radicales libres.....	12
2.3. Estudios de la capacidad antioxidantes en plantas.....	14
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	17
3.1. Lugar y fecha de ejecución.....	17
3.2. Material biológico en estudio.....	17
3.3. Materiales.....	18
3.3.1. Materiales de laboratorio.....	18
3.3.2 Equipos.....	18

3.3.3 Reactivos.....	19
3.4. Métodos de análisis.....	19
3.4.1. Análisis de la capacidad antioxidante.....	19
3.4.2. Determinación de polifenoles totales.....	20
3.5. Metodología experimental.....	20
3.5.1. Preparación de las muestras.....	20
3.5.2. Preparación de extractos.....	21
3.5.2.1. Extracto metanólico.....	21
3.5.2.2. Extracto acuoso.....	21
3.5.3. Determinación de la capacidad antioxidante.....	23
3.5.3.1. Inhibición por el radical DPPH.....	23
3.5.3.2. Inhibición por el radical peróxilo.....	24
3.5.3.3. Determinación de polifenoles totales.....	26
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	29
4.1. Evaluación de la capacidad antioxidante.....	29
4.1.1. Inhibición del radical DPPH.....	29
4.1.2. Inhibición del radical peróxilo.....	34
4.2. Evaluación del contenido de polifenoles.....	50
V. CONCLUSIONES.....	59
VI. RECOMENDACIONES.....	61
VII. ABSTRACT.....	62
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	64
IX. ANEXOS.....	69

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Especies vegetales en estudio.....	18
2. Determinación de la actividad antioxidante de las hojas en extracto metanólico.....	30
3. Determinación de la actividad antioxidante de la corteza en extracto metanólico.....	32
4. Determinación de la actividad antioxidante de la hoja en extracto acuoso.....	35
5. Determinación de la actividad antioxidante de la corteza en extracto acuoso.....	36
6. Análisis comparativo de las partes evaluadas (hoja y corteza) de los tratamientos para determinar su actividad antioxidante.....	39
7. Determinación de la actividad antioxidante de la hoja en extracto metanólico.....	42
8. Determinación de la actividad antioxidante de la corteza en extracto metanólico.....	43
9. Determinación de la actividad antioxidante de la hoja en extracto acuoso.....	45
10. Determinación de la actividad antioxidante de la corteza en extracto acuoso.....	46
11. Análisis comparativo de las partes evaluadas (hoja y corteza) de	

los tratamientos para determinar su actividad antioxidante.....	49
12. Determinación del contenido de polifenoles totales de la hoja en extracto metanólico	51
13. Determinación del contenido de polifenoles totales de la corteza en extracto metanólico.....	52
14. Determinación del contenido de polifenoles totales de la hoja en extracto acuoso.....	53
15. Determinación del contenido de polifenoles totales en la corteza en extracto acuoso.....	54
16. Análisis comparativo de las partes evaluadas (hoja y corteza) de los tratamientos para determinar su actividad antioxidante.....	56
17. ANOVA del radical DPPH en extracto metanólico en hojas y corteza.....	70
18. ANOVA del radical DPPH en el extracto acuoso en hojas y corteza.....	70
19. ANOVA del radical peróxido para el extracto metanólico en hojas y corteza.....	70
20. ANOVA del radical peróxilo para el extracto acuoso en hojas y corteza.....	71
21. ANOVA para el contenido de polifenoles totales del extracto metanólico en hojas y corteza.....	71
22. ANOVA del contenido de polifenoles totales en extracto acuoso en hojas y corteza.....	71

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Flujograma para la preparación de las muestras (hoja y corteza)	20
2. Flujograma de preparación del extracto metanólico.....	21
3. Flujograma de preparación del extracto acuoso.....	22
4. Esquema experimental para determinar la capacidad antioxidante y el contenido de polifenoles en los tratamientos evaluados.....	28
5. Capacidad antioxidante (IC ₅₀) en hoja y corteza de los tratamientos evaluados, en extracto metanólico para el radical DPPH.....	34
6. Capacidad antioxidante (IC ₅₀) en hoja y corteza de los tratamientos evaluados, para el extracto acuoso con el radical DPPH	37
7. Capacidad antioxidante (IC ₅₀) en hoja y corteza de los tratamientos evaluados, en extracto metanólico para el radical peróxilo.....	44
8. Capacidad antioxidante (IC ₅₀) en hoja y corteza de los tratamientos evaluados, en extracto acuoso para el radical peróxilo.....	47
9. Reactivos usados en las evaluaciones.....	95
10. Preparación de los extractos acuosos de las muestras.....	95
11. Centrifugado de los extractos acuosos para su evaluación.....	96
12. Lecturas realizadas en el espectrofotómetro.....	96
13. <i>Inga edulis</i> (Vell) Mart. “guaba”.....	97
14. <i>Senna alata</i> (L.) Roxb. “retama tropical”	97

15. <i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer “copaiba”	98
16. <i>Erythrina fusca</i> Loureiro “amasisa con espina”	98
17. <i>Cajanus cajan</i> (L.) Millap. “frijol de palo”	99
18. <i>Parkia velutina</i> Benist “pashaco curtidor”	99

RESUMEN

El trabajo de investigación se realizó en el laboratorio del Centro de Investigación de Productos Naturales de la Amazonía (CIPNA), de la Universidad Nacional Agraria de la Selva (UNAS), Tingo María-Perú. La selva peruana posee una diversidad florística muy amplia, muchas especies son utilizadas en diferentes usos y otras con diversas propiedades aún no validadas científicamente, por lo que en el presente trabajo se planteó evaluar la capacidad antioxidante y el contenido de polifenoles en hoja y corteza de seis especies de leguminosas: (a) *Inga edulis* (Vell) Mart. "guaba", (b) *Senna alata* (L.) Roxb. "retama tropical", (c) *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer. "copaiba", (d) *Erythrina fusca* Loureiro. "amasisa con espina", (e) *Cajanus cajan* (L.) Millap. "frijol de palo", (f) *Parkia velutina* Benist. "pashaco curtidor" en extracto metanólico y acuoso. La actividad antioxidante fue evaluada por la inhibición de los radicales, 2,2-Di(4-tert-octylphenyl)-1-picrylhydrazyl (DPPH) y peróxido; así como determinar el contenido de polifenoles descrito por SANDOVAL (2002).

Los resultados se analizaron mediante un diseño estadístico al azar (D.C.A); con una prueba de Duncan con ($P > 0,01$). El extracto de la hoja de *C. paupera* "copaiba" fue la que presentó mayor capacidad de inhibición de radical DPPH y peróxido con valores de IC_{50} de $50,960 \pm 16,671 \mu\text{g/ml}$, y de $12,898 \pm 1,588 \mu\text{g/ml}$ respectivamente, extraídas con metanol, indicándonos que esta

muestra tiene mayor capacidad de inhibir los radicales libres; mientras que las muestras de *E. fusca* Loureiro. "amasisa con espina", demostraron ser menos eficientes al inhibir el radical DPPH y peróxido. Asimismo, se determinó que la hoja de la especie, *C. paupera* "copaiba", presenta el mayor contenido de polifenoles con $0,1455 \pm 0,0020$ gCat/g de muestra en hojas evaluadas, siendo la corteza de la especie *E. fusca* Loureiro "amasisa con espina" con $0,0002 \pm 0,0001$ gCat/g la muestra con menor contenido de polifenoles extraída con metanol.

I. INTRODUCCIÓN

Las especies reactivas derivadas del oxígeno generado por reacciones de radicales libres están implicadas en importantes procesos metabólicos; estos procesos generan metabolitos los que son responsables de los efectos tóxicos del oxígeno en los seres vivos que pueden derivar en situaciones de estrés oxidativo en procesos fisiológicos y patológicos.

Los recursos vegetales son fuente importante de metabolitos primarios y secundarios con excelente actividad antioxidante que pueden contribuir con los sistemas de defensa antioxidante.

Es por eso, que es importante realizar estudios botánicos, bioquímicos y fitoquímicos, para determinar los principios activos, que hacen posible que una planta tenga una propiedad determinada.

El conocimiento ancestral de los recursos fitoterapéuticos y sus diversos usos en la sociedad deben ser evaluados y reevaluados, con el fin de conocer su potencial medicinal y en particular su poder antioxidante, cuyas propiedades deben ser revalidadas científicamente, con la finalidad de darle un mejor uso, con aplicaciones específicas.

La flora peruana está representada por 17 144 especies (BRAKO y ZARUCCHI, 1993) sin incluir las 1 845 adiciones nuevas para la flora peruana de las cuales se utilizan unas 4 200 especies nativas para 48 usos distintos (BRACK y MENDIOLA, 2000). Asimismo, estos autores señalan que la Amazonía Peruana está representada por 6 237 especies, distribuidas en 1 406 géneros y 182 familias y muchas de estas especies no se han estudiado sus diversas propiedades para un mejor aprovechamiento y explotación del recurso flora. Por lo que la investigación tiene como objetivo determinar la capacidad antioxidante de las especies *Inga edulis* (Vell) Mart. "guaba", *Senna alata* (L.) Roxb. "retama tropical", *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer "copaiba", *Erythrina fusca* Loureiro. "amasisa con espina", *Cajanus cajan* (L.) Millap. "frijol de palo", *Parkia velutina* Benist "pashaco curtidor"; plantas que tienen diferentes usos como recuperar suelos degradados, madera, alimento, pero que aún no se ha investigado su capacidad antioxidante.

Las plantas sintetizan diferentes metabolitos secundarios que cumplen diversas funciones. Estas funciones varían no sólo entre diferentes especies, sino también entre las diferentes partes de una misma planta, por lo que la hipótesis planteada para el trabajo de investigación es demostrar que los extractos acuosos y alcohólicos (metanol) de la hoja y corteza de las especies en estudio mencionadas, presentan actividad antioxidante.

Objetivo general:

- Determinar la actividad antioxidante de la hoja y la corteza en seis especies de leguminosas, *Inga edulis* (Vell) Mart. "guaba", *Senna alata* (L.) Roxb. "retama tropical", *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer "copaiba", *Erythrina fusca* Loureiro. "amasisa con espina", *Cajanus cajan* (L.) Millap. "fríjol de palo", *Parkia velutina* Benist. "pashaco curtidor".

Objetivos específicos:

- Evaluar la capacidad antioxidante de los extractos metanólicos y acuosos en las hojas y corteza de las especies en estudio, por el método del radical DPPH.
- Evaluar la capacidad antioxidante de los extractos metanólicos y acuosos en las hojas y corteza de las especies en estudio, por el método del radical peróxilo.
- Determinar el contenido de polifenoles totales del extracto metanólico y acuoso en hojas y corteza de las especies en estudio.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Generalidades de las especies en estudio

2.1.1. *Inga edulis* (Vell) Mart. “guaba”

CATIE (1998) menciona que la especie *I. edulis* (Vell) Mart., se encuentra en estado silvestre en la amazonía, América central y las Indias Occidentales. Se le encuentra distribuida en toda América del Sur tropical, desde el Océano Pacífico al Atlántico, aunque solamente en la región amazónica existe de manera natural.

Es un árbol que alcanza alturas de 8 a 15 m de altura, tronco bajo, ramificando algunas veces casi desde la base, copa algo rala. Hojas compuestas pinnadas, con 4-6 pares de folíolos subsésiles, elípticos u ovalados, los inferiores siempre más pequeños, base obtusa o redondeada, nervaduras laterales paralelas y presencia de glándulas interpeciolares. Inflorescencias terminales o subterminales agrupadas en las axilas de las hojas. Flores con cáliz verdoso y corola blanquecina, perfumadas, sésiles, agrupadas en el ápice del raquis. El fruto es una vaina cilíndrica indehiscente, de color verde, multisurcado longitudinalmente y de largo variable, pudiendo llegar hasta un metro. Las semillas son negras de 3 cm de longitud, con un

rango entre 1,4 y 4,5 cm, cubiertas por una pulpa (arilo) blanca, suave y azucarada.

2.1.2. *Parkia velutina* Benist “pashaco curtidor”

JIMENES (1999) menciona que la especie *P. velutina* Benist, es un árbol de hasta 50 m de altura y 1.2 m de diámetro, de copa extendida, que en ocasiones cuando el follaje es joven se torna de un color ferrugíneo; el fuste es generalmente cilíndrico, de color grisáceo-blancuzco a pardo-rojizo, se encuentra libre de ramas hasta gran altura, exfoliante en pequeñas placas delgadas, con gambas desarrolladas hasta de 2.5 m de altura, ramas blancuzcas, muy extendidas; crece en bosque muy húmedo siempre verde, por lo general en áreas bien drenadas a veces planas sobre las crestas de los cerros y pendientes moderadas hasta de 30%, con una precipitación mayor a los 4000 mm anuales. En la actualidad su madera tiene escasa utilidad, sin embargo en pocos años será empleada pues la especie alcanza alturas y diámetros bastante aceptables.

Crece en bosque muy húmedo siempre verde, entre los 50-200 m de elevación, por lo general en áreas bien drenadas a veces planas sobre las crestas de los cerros y pendientes moderadas hasta de 30%, con una precipitación mayor a los 4000 mm anuales. En Brasil parece ser una especie común en bosques primarios, que crece hasta los 500 m de elevación.

2.1.3. *Senna alata* (L.) Roxb. “retama tropical”

La especie *S. alata* (L.) Roxb., es un arbusto crece bajo el sol, de hasta un metro de alto, con ramas robustas y el follaje joven pubescente. Las

hojas miden entre 30-100 cm. de longitud, foliolos de 6-12 pares, cortantes-pediculados-compuestos, elípticos, algo inequiláteros, pecíolos robustos sin glándulas. Las flores son amarillas, vistosas en racimos terminales o situados en las axilas superiores. Los frutos son vainas rectas o casi, longitudinalmente de 4 alada y longitudinalmente dehiscente, multitabizada de 10-15 cm. de longitud y aproximadamente 1,5 cm. de ancho, semillas aplanadas, transversas paralelas a los tabiques, pardas con 5 cm de largo. Sus hojas se utilizan en numerosas medicinas dermatológicas ya que actúan de modo eficaz contra distintos tipos de dermatosis. Esto es debido a que las hojas son ricas en ácidos fenólicos, flavonoides y taninos. Es originaria de América tropical, introducida en trópicos del viejo mundo (GUACAMAYA FRANCESA., 2006).

2.1.4. *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer “copaiba”

La especie *C. paupera* (Herzog) Dwyer es una especie esciófita, crece en suelos arcillosos a limosos, fértiles y bien drenados. Árboles que crecen hasta 100 cm de diámetro con alturas totales superiores a los 30 m. Fuste cilíndrico, copa redonda y amplia, ocupa generalmente el estrato superior. Ritidoma en placas irregulares o en escamas; se le reporta en los departamentos de Ucayali, Madre de Dios, hasta los 700 m.s.n.m.

Presenta corteza externa lenticular, en ciertas partes del fuste fisurado fino, de color marrón claro en el fuste superior, en la base de algunos árboles rojizo o grosella al desprenderse el ritidoma o de color concho de vino al raspado. La corteza interna es cremosa a marrón claro, olor agradable, muy

amarga. Textura arenosa fina a vidriosa e internamente fibrosa, exuda aceites en gotas.

Presenta hojas compuestas alternas de 15 a 20 cm de longitud. Foliolos de 8 a 15 alternos, asimétricos, base obtusa, apice acuminado, curvado de 3 a 6 cm de largo y de 1,5 a 2,5 de ancho, finamente reticulados, con puntos translúcidos, glabros.

Tiene una inflorescencia axilar, en racimos de espiga de 10 a 20 cm de longitud, las flores subtendidas por brácteas conspicuas, caducas. Pequeñas, hermafroditas, zigomorfas, de 5 a 7 mm de longitud, sésiles, con corola tubular de color amarillento. Los frutos son legumbres de color negruzco, cubiertas con arilo amarillo anaranjado aceitoso (MADERERA WALLACH., 2004).

2.1.5. *Cajanus cajan* (L.) Millap. “fríjol de palo”

Esta especie es un arbusto perenne que crecen hasta 4 m de alto., el tallo es acostillado cuando joven, leñoso y rollizo con la edad. En la base de las hojas sobre el tallo generalmente se presenta un par de hojillas (llamadas estípulas) angostamente triangulares, de hasta 6 mm de largo; las hojas son alternas, compuestas de 3 hojitas (llamadas foliolos), las 2 laterales asimétricamente elípticas, de hasta 12 cm de largo y hasta 4.5 cm de ancho, la terminal elípticas, ovado-elípticas a angostamente ovadas, de hasta 13 cm de largo y hasta 5.5 cm de ancho, más o menos puntiagudas, angostadas hacia la base, con puntos glandulares sobre su superficie; en la base de cada foliolo se

presenta un par de estipulas muy angostas de hasta 4 mm de largo; los pecíolos de hasta 8 cm de largo.

Tiene inflorescencias numerosas, flores pediceladas de hasta 15 mm de largo. Las flores tienen el cáliz cubierto de pelillos, es un tubo acampanado de hasta 6 mm de largo, que hacia el ápice se divide en 5 lóbulos triangulares de hasta 7 mm de largo; la corola de color amarillo pálido a intenso, de 5 pétalos desiguales, el más externo es el más ancho y vistoso, llamado estandarte (de forma casi circular, de hasta 22 mm de largo y 20 mm de ancho).

Los frutos son legumbres oblongas, de hasta 13 cm de largo y hasta 1.7 cm de ancho (aunque generalmente más pequeños), rectos o algo curvados, comprimidos, deprimidos entre las semillas, claramente puntiagudos, de color pajizo y frecuentemente con rayas moradas, generalmente cubiertos de pelillos, con 2 a 9 semillas (CENTRO DE INVESTIGACION Y PROMOCION DEL CAMPESINADO., 1993).

2.1.6. *Erythrina fusca* Loureiro “eritrina”

ARAUJO (2005) menciona que la especie *E. fusca* Loureiro es un árbol de 15-20 m de altura, de 30 a 50 cm de diámetro en la base; el fuste es de forma recta, el cual puede presentar bifurcaciones que van desde el suelo, generando ramificaciones a lo largo de todo el tallo formando una copa frondosa a baja altura. Esta especie es de corteza rugosa verde grisáceo, con manchas blanquecinas algunas veces presenta protuberancias formadas por

aguijones cónicos, presenta hojas compuestas de 3 hojuelas, con pecíolos de 8-18 cm. 3 flores por nudo en largos racimos terminales. Las flores son de un vistoso color naranja pálido con estambres verdes. Las vainas son de 15-20 cm y 2 cm de ancho, terminadas en punta, con el borde ligeramente ribeteado. Varias semillas marrón oscuro en cada vaina, de unos 12 mm de largo.

En la amazonía peruana habitan en las partes bajas e inundables, en lugares pantanosos; se encuentra en los departamentos de Huánuco, San Martín, Loreto y Ucayali.

2.2. Antioxidantes

2.2.1. Definición

Los antioxidantes son sustancias que a bajas concentraciones reduce, retrasa significativamente o previene la oxidación de un sustrato. Según SIES (1997), define a un antioxidante como una sustancia que en pequeñas cantidades puede inhibir la acción de un pro-oxidante (oxidante) en una reacción de oxidación.

Los antioxidantes inhiben la propagación de radicales libres es por ello que son utilizados para prevenir el deterioro de los alimentos, evitando la rancidez de las grasas y los cambios de color. Los antioxidantes se clasifican como naturales y sintéticos (SIES, 1997).

2.2.2 Principales antioxidantes

Estos agentes pueden dividirse en dos categorías: antioxidantes endógenos (enzimáticos) y antioxidantes exógenos (no enzimáticos) (GONZÁLES *et al.*, 2000).

2.2.2.1 Antioxidantes endógenos

Los antioxidantes endógenos, o antioxidantes enzimáticos, actúan a nivel intracelular. Existen tres sistemas principales de enzimas antioxidativas: 1) Superóxido dismutasa (SOD), 2) Catalasa (CTL) y 3) Glutación peroxidasa (GPX) (GONZÁLES *et al.*, 2000).

2.2.2.2 Antioxidantes exógenos

Los antioxidantes exógenos o no enzimáticos transforman los radicales libres en menos agresivos. Entre ellos tenemos: flavonoides, alfa tocoferol (vitamina E), beta caroteno, vitamina C, glutación, y urato (POLYAKOV *et al.*, 2001).

Los flavonoides son compuestos polifenólicos naturales que están presentes en grandes variedades de vegetales, frutas y bebidas y muchos son considerados como importante fuente de antioxidantes, pueden interactuar directamente con especies reactivas de oxígeno e inhibidores de la lipoperoxidación (GONZÁLES *et al.*, 2000).

Los flavonoides o antioxidantes son compuestos fenólicos que pertenecen a los populares fitoquímicos que son sustancias derivadas de vegetales, con acción potencialmente beneficiosa para la salud y que constituyen el principio activo de muchas plantas medicinales (REILLY *et al.*, 2001). Los flavonoides consisten en un grupo de sustancias polifenólicas de bajo peso molecular que varían en su estructura química, incluye a los flavonoides, quercetín, kaemferol y miricetín (encontrados en cebollas y té), y las catequizas (AHERME y O' BRIEN, 2000).

Otros antioxidantes como el beta caroteno y la vitamina C, también son efectivos secuestradores de radicales libres, protegiendo así contra enfermedades causadas por el estrés oxidativo (POLYAKOV *et al.*, 2001; GONZÁLES *et al.*, 2000; AHERNE y O' BRIEN, 2000).

El contenido de catequina en los tres tipos de té tiene el siguiente orden: té verde > oolong té > té negro, lo que tiene relación directa con la actividad de capturar radicales libres. Esto se debe a su contenido en catequinas (YAMAGUCHI *et al.*, 1998).

Algunas de las catequinas constituyen de 3 – 10 % del peso de té preparado (CAO y CAO, 2000), difieren ligeramente en su estructura química de otros flavonoides, pero comparten con ellos sus propiedades preventivas y son estables a temperatura ambiente.

2.2.3. Radicales libres

Los radicales libres son moléculas que contienen uno o más electrones desapareados, siendo altamente reactivos (LACHANCE *et al.*, 2001). Cualquier molécula o átomo que contiene uno o más electrones desapareados es un radical libre (ANDERSON y PHILLIPS, 2001). Por lo tanto, los radicales libres intentarán arrancar un electrón de otra molécula y en este proceso rompen otras parejas de electrones para conseguir su propio apareamiento, creando así moléculas inestables generándose una reacción en cadena (ANDERSON y PHILLIPS, 2001). Los radicales libres (RL) presentan al menos un electrón desapareado en su orbital más externo (ELEJALDE, 2001).

Los RL son extraordinariamente reactivos, inestables y tienen una vida media muchas veces a una milésima de segundo. Estas especies reactivas son implicadas, en muchas enfermedades incluyendo arterosclerosis, desórdenes del tracto respiratorio, enfermedades neurodegenerativas, inflamaciones y cáncer (ANDERSON y PHILLIPS, 2001; ELEJALDE, 2001).

Las especies reactivas de oxígeno (ROS) incluye radicales oxígeno y no radicales derivados del oxígeno tales como oxígeno singlete (O_2) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2). Los radicales libres y las especies de oxígeno reactivo son producidos constantemente en los seres humanos bajo circunstancias normales. Se considera que la mitocondria es la fuente generadora de ROS más importante. El incremento en la formación de $O_2^{\cdot -}$ y

H₂O₂ se justifica con el hallazgo que en el envejecimiento se modifica un flujo de electrones en la cadena de transporte de éstos (LACHANCE *et al.*, 2001).

Los investigadores postulan que los ROS generados pueden producir daño tanto en la membrana interna de la mitocondria como a los componentes de la cadena de transporte de electrones o al ADN mitocondrial; este proceso en turno incrementa la producción de ROS y causa más daño a la mitocondria e incremento del estrés oxidativo por aumentar la producción de oxidantes (BRODY, 1999).

La célula tiende a generar oxidantes y antioxidantes en una forma independiente; mientras que los oxidantes estimulan la producción endógena de antioxidantes, la administración de antioxidantes suprime varios componentes de las defensas endógenas. De acuerdo con dicha teoría existe interrelación entre la generación de oxidante, la protección antioxidante y la reparación del daño oxidativo (los dos últimos pueden ser inducidos en respuesta al daño). La expectativa de vida puede incrementarse al disminuir el grado de los fenómenos oxidantes (BRODY, 1999)

Los procesos de oxidación producen radicales libres que pueden interferir en los procesos normales y dañar las células corporales causando estrés oxidativo. El estrés oxidativo, se define como el desbalance entre la producción de radicales libres y la cantidad de antioxidantes presentes en el ambiente intracelular. Es la pérdida de equilibrio entre pro oxidación y

antioxidación a favor de los pro oxidantes (ELEJALDE, 2001; INOE *et al.*, 2001).

2.3. Estudios de la capacidad antioxidantes en plantas

A continuación se mencionan una serie de trabajos realizados tanto en el Perú como en el extranjero relacionado a la actividad antioxidante.

LAUS *et al.*, (1997) investigó dieciséis plantas de *Uncaria tomentosa*, por su contenido de alcaloides y la distribución de estos en sus diversas partes, identificando dos tipos de estructuras químicas. Diecisiete alcaloides fueron detectados y observó una variación en el contenido de alcaloides con la estación. KITAJIMA *et al.*, (1999) aisló de la *Uncaria tomentosa* (uña de gato), dos nuevos triterpenos con la estructura del ácido 19-hidroxiursólico. Las estructuras fueron determinadas por análisis espectrofotométricos y conversiones químicas.

Según MELCHOR (2000) la actividad antioxidativa de *Camellia sinensis* (te verde), expresada como coeficiente de inhibición del 50% de radicales libres (IC₅₀), fue en promedio 47 ug/ml y las condiciones de almacenamiento (60 días) no disminuyeron dicha actividad.

GUIJA (2002) menciona que, probablemente la elevada concentración de vitamina C en *Myrciaria dubia* "camu camu" sea la

responsable de la propiedad pro oxidante de esta fruta a las concentraciones usadas.

ESTRELLA (2002) determinó el contenido de polifenoles en *Aloysia tripillia* (cedrón) y obtuvo como resultado 2.44 ± 0.05 mg AGE/g peso fresco.

ESTELO (2003) determinó el contenido de polifenoles en dos especies de "chanca piedra", obteniendo para *Phyllanthus urinaria* $7,32 \pm 0,05$ mg AGE/g y para *P. niruri* $3,010 \pm 0,05$ mg AGE/g, en muestra seca.

DAZA (2004) determinó que la mayor capacidad antioxidativa en *Calycophyllum spruceanum* (Benth.) Hook, reflejada en términos de IC50, se presenta en acetona/agua de la muestra de hoja recolectada a las 05:00 p.m., con 47.148 ± 5.565 $\mu\text{g/mL}$; y en la extracción acuosa, la muestra de corteza recolectada a las 07:00 a.m. presenta 52.352 ± 2.669 $\mu\text{g/mL}$. Así mismo el contenido de polifenoles obtenido varía según las diferentes partes de la planta evaluada (hoja, corteza, raíz y ritidoma).

VASQUEZ (2008) en estudios de la especie *Croton draconoides* Muell. Arg. en hoja, corteza y latex, en diferentes ubicaciones geográficas, determinó que la hoja de *C. draconoides* Muell. Arg. en extracto metanólico mostró mayor capacidad antioxidativa en la prueba de DPPH. Mientras que en la prueba de peróxido la hoja y corteza de *C. draconoides* Muell. Arg. en

extracto acuoso mostró mayor secuestro de radicales libres; así mismo demostró que la corteza y el látex de *C. draconoides* Muell. Arg. en extracto acuoso mostró mayor cantidad de antioxidantes frente a la prueba de polifenoles totales.

Así mismo, para la prueba de DPPH demostró que todas las zonas poseen un alto poder de capacidad de antioxidantes en ambos métodos; 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; para la prueba de polifenoles totales, en el método metanólico todas las zonas poseen mayor cantidad de polifenoles, excepto en la zona de km. 86.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar y fecha de ejecución

El presente trabajo de investigación se realizó en los laboratorios de Biotecnología del Centro de Investigación de Productos Naturales de la Amazonía (CIPNA), el cual pertenece a la Universidad Nacional Agraria de la Selva (UNAS), en Tingo María, ubicado a 665 m.s.n.m; con una temperatura y humedad relativa de 24°C y 83.5% respectivamente. El estudio se llevó a cabo en el período comprendido entre julio y noviembre de 2006.

3.2. Material biológico en estudio

Las especies vegetales trabajadas como se observa en el Cuadro 1, fueron recolectadas en el mes de junio de 2006 en las localidades de Los Milagros, colectándose las muestras de *Inga edulis* (Vell) Mart. "guaba", *Erythrina fusca* Loureiro "amasisa con espina", *Cajanus cajan* (L.) Millap. "frijol de palo"; Bosque Reservado de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, ubicado en la provincia de Leoncio Prado, departamento de Huánuco, la muestra de *Parkia velutina* Benist "pashaco curtidor" y *Senna alata* (L.) Roxb. "retama tropical", y en la localidad de Nueva Requena, ubicado en la provincia de Coronel Portillo departamento de Ucayali se colectó *Copaifera paupera*

(Herzog) Dwyer "copaiba". Las partes de las especies usadas para evaluar la capacidad antioxidante, fueron las hojas y la corteza para todas las especies.

Cuadro 1. Especies vegetales en estudio

SUB FAMILIA	Nombre común	Especie
Mimosoideae	"guaba"	<i>Inga edulis</i> (Vell) Mart.
	"pashaco curtidor"	<i>Parkia velutina</i> Benist.
Caesalpinoideae	"retama "	<i>Senna alata</i> (L.) Roxb.
	"copaiba"	<i>Copaifera paupera</i> (Herzog) Dwyer.
Papilionoideae	"frijol de palo"	<i>Cajanus cajan</i> (L.) Millap.
	"amasisa con espina"	<i>Erythrina fusca</i> Loureiro.

3.3. Materiales

3.3.1. Materiales de laboratorio

Para la ejecución de la investigación se utilizó cubetas de poliestireno, 1mL (1 cm x 1 cm x 4.5 cm); micropipetas, (1000 μ L, 200 μ L, 100 μ L); pipetas graduadas de 5 y 10 mL; tips: tubos de vidrio (borosilcato, resistentes al calor); termómetro líquido; papel filtro número 40; gradillas de madera y metal; tubos de ensayo; embudo de vidrio; matraces Erlenmeyer de 50 mL; vasos de precipitación de 50 y 100 mL y una cocina eléctrica CIMATEC.

3.3.2. Equipos

Asimismo, se han utilizados los siguientes equipos: Agitador magnético Genie - modelo 2; Balanza analítica Ohaus – modelo Adventure Pro AV114; Baño María GFL – modelo YCW- 010E; Espectrofotómetro de

absorción molecular de Termo Spectronic (Genesys 6) con interfase a una PC; Estufa TOMOS – modelo ODHG – 9240A; Refrigeradora LG – modelo Icebeam Door Cooling; Destilador GFC – modelo 2004; Molino de cuchillas (Marca: Laboratory Hill- Modelo:04); Centrifuga Hettich – modelo MIKRO 22R.

3.3.3. Reactivos

Los reactivos utilizados fueron: Acido ascórbico; agua destilada desionizada (ddh₂o); Carbonato de sodio (Na₂CO₃); 2,2'-azobis (2-methylpropionamide) dihydrochloride (ABAP); 2,2'-azinobis (3-ethylbenzotiazolino-6-acido sulfónico) (ABTS); 2,2-Di(4-tert-octylphenyl)-1-picrylhydrazyl (DPPH); (+)-Catequín; Solución de fenol de folin–Ciocalteu; solución de buffer desionizada ddH₂O; Etanol al 95% y Metanol.

3.4. Métodos de análisis.

3.4.1. Análisis de la capacidad antioxidante

Para evaluar la capacidad antioxidante de las seis especies evaluadas se utilizaron dos pruebas: La primera de ellas, la prueba de DPPH, en la que se usó el reactivo 2,2-Di(4-tert-octylphenyl)-1-picrylhydrazyl (DPPH); por el método descrito por BRAD–WILLIAMS (1995) y para la prueba de peróxilos los radicales fueron generados por 2,2'-azobis (2-methylpropionamide) dihydrochloride (ABAP); usando el método descrito por SANDOVAL (2002).

3.4.2. Determinación de polifenoles totales

La presencia de los polifenoles totales se determinó mediante el reactivo del fenol Folin-Ciocalteu, reportado por SANDOVAL (2002).

3.5. Metodología experimental

3.5.1. Preparación de la muestra

De cada una de las especies en estudio se colectaron las muestras vegetales (hojas y corteza) de cada árbol, se procedió a orearlas bajo sombra para posteriormente secarlas en una estufa a 60 °C por un periodo de 6-7 horas y luego ser molidas, finalmente se envasó y etiquetó las muestras molidas en bolsas plásticas de tal forma que no le afecte la humedad como se indica en la Figura 1.

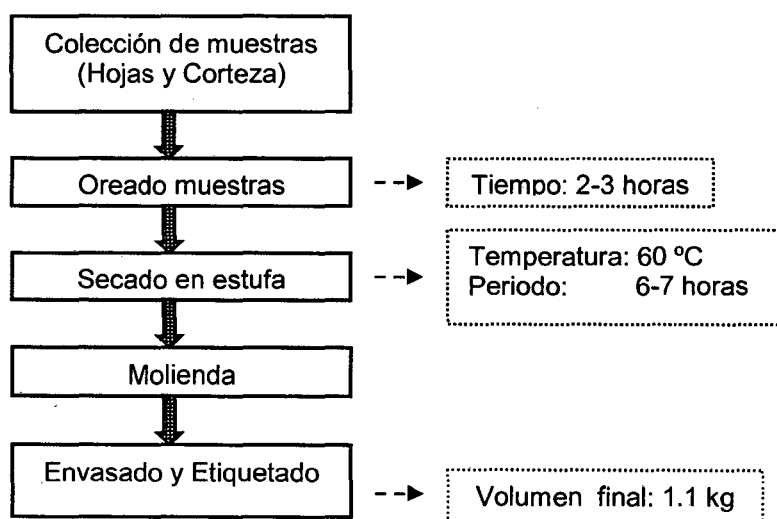


Figura 1. Flujograma de preparación de las muestras (hoja y corteza).

3.5.2. Preparación de extractos

3.5.2.1. Extracto metanólico

Para la preparación de este extracto, se pesó 25 g de cada muestra vegetal (hojas y corteza) de la muestra total molida y se envasó, ésta se maceró en 250 mL de metanol al 95% por un periodo de 24 horas, en este periodo la muestra no se mantuvo en reposo ya que se procedió a agitarlos en forma manual en periodos de dos minutos en intervalos de 2 horas; posteriormente se procedió al filtrado y se almacenó en envases sellados de tal forma que el metanol no se evapore y el extracto final no varíe en su concentración (Figura 2).

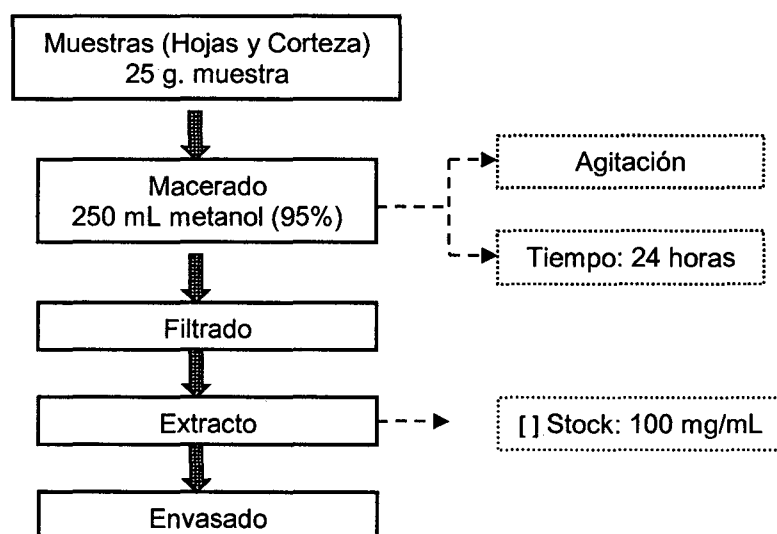


Figura 2. Flujograma de preparación del extracto metanólico.

3.5.2.2. Extracto acuoso

Para la preparación de las muestras vegetales (hoja y corteza) se pesó 25 g de cada muestra molida y envasada, la que se puso en remojo en

250 mL de agua destilada por un período de 10 minutos, posteriormente se le sometió a cocción durante 30 minutos, en este proceso la muestra debe ser constantemente agitada de tal forma que no se evapore el contenido de agua; posteriormente de cumplido el periodo de cocción se procedió a enfriar el extracto obtenido a temperatura ambiente por un periodo aproximado de 30 minutos para proceder al filtrado del extracto; luego se centrifuga el extracto obtenido a 5000 rpm por un intervalo de 10 minutos a una temperatura de 4 °C, este extracto tiene un periodo de latencia no mayor a las 24 horas desde su preparación, de tal forma que mantenga sus propiedades naturales (Figura 3).

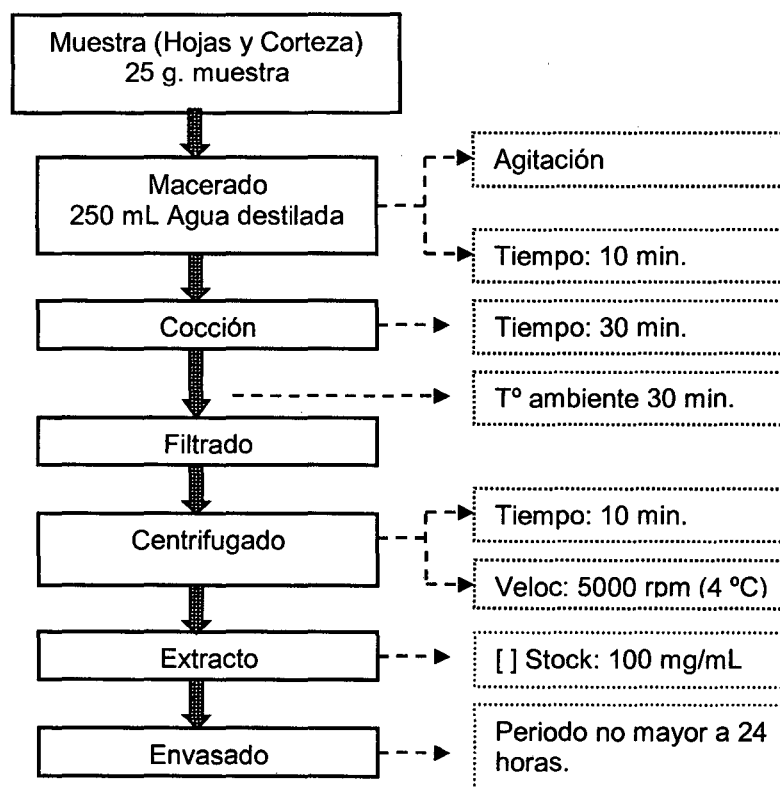


Figura 3. Flujograma de preparación del extracto acuoso.

3.5.3. Determinación de la capacidad antioxidante

3.5.3.1. Inhibición por el radical DPPH

Para determinar la capacidad antioxidante por el método del DPPH, se usó el reactivo 2,2-Di(4-tert-octylphenyl)-1-picrylhydrazyl (DPPH) el que se disolvió en metanol al 95%, este radical libre (DPPH) es estable y se utiliza como indicador para medir la capacidad de secuestro de cualquier compuesto que posea actividad antioxidante. El principio del método DPPH consiste en la sustracción de un átomo de hidrógeno proveniente de un donador (extractos) para generar el compuesto difenilpicrilhidrazine y una especie radical. En este proceso, la reacción desarrolla un cambio de color violeta a amarillo a medida que disminuye la absorbancia; las concentraciones de los extractos usados en las reacciones fueron: 10, 30, 100, 300, 1000 µg/ml. La reacción se generó en una cubeta de poliestireno (1 cm x 1 cm x 4,5 cm), con un volumen de 25 µL de muestra y 975 µL de radical DPPH. Luego inmediatamente se procedió a la lectura correspondiente utilizándose un espectrofotómetro, las lecturas se registraron a 515 nm de absorbancia en intervalos de 30 segundos por espacio de 5 minutos. La capacidad de secuestro de DPPH fue determinado por la siguiente expresión (OKAWA *et al.*, 2001):

$$\% \text{ Inhibición DPPH} = [(Ac - Am)/Ac] \times 100$$

Donde:

Ac: Absorbancia del control, DPPH.

Am: Absorbancia de la muestra en función al tiempo (5 min.).

El porcentaje de inhibición de DPPH, obtenido con cada una de las concentraciones de los extractos vegetales, fue utilizado para determinar el coeficiente de inhibición de DPPH (IC_{50}); El cual nos indica la cantidad de extracto (metanólico, acuoso) en $\mu\text{g/ml}$, requerido para inhibir el 50 % del radical libre DPPH (LEBEAU *et al.*, 2000).

Los resultados de la capacidad de inhibir DPPH (IC_{50}) por efecto de las concentraciones (10, 30, 100, 300, 1000 $\mu\text{g/ml}$) fueron analizados mediante el diseño randomizado (DCA) con tres repeticiones usando la prueba de t y ANOVA. Para niveles donde exista significación estadística se aplicó la prueba de Duncan $P > 0,01$. El mismo diseño estadístico se aplicó para determinar la capacidad antioxidante de los extractos (IC_{50}). El esquema experimental se presenta en la Figura 4.

3.5.3.2. Inhibición por el radical peróxilo

El método para el análisis del radical de peróxilo, se realizó mediante el parámetro de radical-intercepción total del peróxilo (TRAMPA) (Bartosz, Janaszewska, Ertel, y Bartosz, 1998; Van Overveld, Haenen, Rhemrev, Sandoval *Et al.*, 2000; Vermeiden, 2000), que se usa para estudiar los antioxidantes en líquidos biológicos. Los radicales de peróxilo fueron generados por 2,2'-azobis (2-methylpropionamidine) dihydrochloride (ABAP). El experimento se usó para evaluar el índice de peroxidación determinado por la disminución de la absorbancia.

Para efectos del trabajo de experimentación, el método fue aplicado con algunas variantes tales como: El contenido común de la solución es de 2.25 uM, 2,2-azinobis (ácido 3-etilbenzotiazolino-6-acido sulfónico) (ABTS) y 20 mM, 2,2'-azobis(2-amidopropano) hidrocloreto (ABAP), en el almacenador intermediario de PBS (50 mM de fosfato, 0,9% NaCl, pH 7,4) fueron preparados e incubados a 70 °C en baño maría por 20 minutos, cubiertos con papel metálico, luego se dejó enfriar a temperatura de ambiente, la muestra resultante es una solución de color verde con una absorbancia de aproximadamente 0.7-0.8 a 414 nm. La inhibición de los radicales del peróxilo se determinó agregando 10 µL de muestra en 990 µL de la solución de radicales en una cubeta de poliestireno (1 cm x 1 cm x 4,5 cm) el cual es determinado por la decoloración de la solución de radicales ABTS, el cual fue medido cada 30 segundos durante 5 minutos a través del espectrofotómetro.

La capacidad de secuestro del radical peróxilo fue determinado por la siguiente expresión (OKAWA *et al.*, 2001):

$$\% \text{ Inhibición PERÓXILO} = [(A_c - A_m)/A_c] \times 100$$

Donde:

A_c : Absorbancia del control, Peroxilo.

A_m : Absorbancia de la muestra en función al tiempo (5 min).

El porcentaje de inhibición del radical de peróxilo fue obtenido con cada una de las concentraciones de los extractos vegetales que fueron utilizados para determinar el coeficiente de inhibición de radical peróxilo (IC₅₀). Este coeficiente indica la cantidad de extracto vegetal (metanólico y acuoso) en

$\mu\text{g/ml}$, requerido para inhibir el 50 % del radical libre peróxilo (LEBEAU *et al.*, 2000).

Los resultados de la capacidad de inhibir el radical peróxilo (IC_{50}) por efecto de las concentraciones (10, 30, 100, 300 $\mu\text{g/ml}$), fueron analizados mediante el diseño randomizado (DCA) con tres repeticiones usando la prueba de t para la hoja y corteza evaluadas y ANOVA para la evaluación de las especies en estudio. Para niveles donde exista significación estadística se aplicó la prueba de Duncan $P > 0,01$. El esquema experimental se presenta en la Figura 4.

3.5.3.2. Determinación de polifenoles totales

El contenido de polifenoles totales de los extractos metanólicos y acuosos se determinó utilizando el método del reactivo Folin-Ciocalteu. Se prepararon las soluciones stocks de NaCO_3 al 20% y 1 mM (+)-Catequín en 10 mL de metanol y se prepararon tubos de ensayo en los cuales se agregó 1.58 mL de agua destilada desionizada (ddH_2O) a cada uno de ellos y 20 μL de muestra, control y estándares y se inclinó ligeramente; en los tubos controles se agregó 20 μL de agua destilada desionizada, luego se agregó 100 μL de la solución de fenol Folin-Ciocalteu y se procedió a mezclar nuevamente para luego incubar por 1 minuto a temperatura ambiente; para neutralizar la reacción se agregó 300 μl de NaCO_3 al 20% y se dejó incubar por 2 horas a temperatura ambiente, tiempo en el que hay una completa reacción SANDOVAL (2002).

Para determinar la cantidad de compuestos fenólicos producidos durante la reacción, se agregó 1 mL de muestra control o estándar en una cubeta de poliestireno (1 cm x 1 cm x 4.5 cm) y luego se procede a la lectura de la absorbancia mediante el espectrofotómetro a una longitud de onda de 700 nm, los resultados fueron expresados en contenido de gramos de Catequina/gramos de muestra.

Los resultados del contenido de polifenoles totales por efecto de las concentraciones (10, 30, 100, 300, 1000 µg/ml) fueron analizados mediante el diseño randomizado (DCA) con tres repeticiones usando la prueba de t para las partes (hoja y corteza) de la especies evaluadas y ANOVA para las especies en estudio. Para niveles donde exista significación estadística se aplicó la prueba de Duncan $P > 0,01$; como se ilustra en la Figura 4.

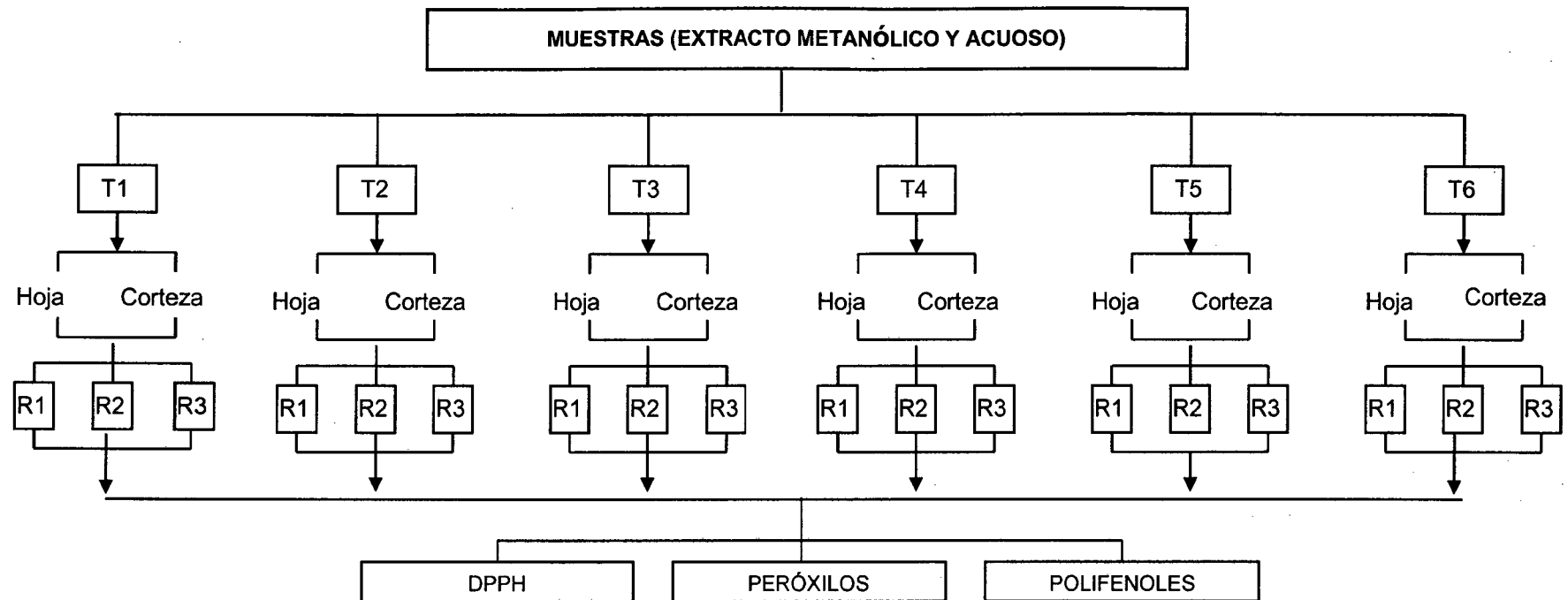


Figura 4. Esquema experimental para determinar la capacidad antioxidante y el contenido de polifenoles en los tratamientos evaluados.

Donde:

T1 = Tratamiento correspondiente a la especie, *Inga edulis* (Vell) Mart. "guaba".

T2 = Tratamiento correspondiente a la especie, *Senna alata* (L.) Roxb. "retama tropical".

T3 = Tratamiento correspondiente a la especie, *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer "copaiba".

T4 = Tratamiento correspondiente a la especie, *Erythrina fusca* Loureiro "amasisa con espina".

T5 = Tratamiento correspondiente a la especie, *Cajanus cajan* (L.) Millap. "frijol de palo".

T6 = Tratamiento correspondiente a la especie, *Parkia velutina* Benist "pashaco curtidor".

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Evaluación de la capacidad antioxidante

4.1.1. Inhibición del radical DPPH

Los resultados para determinar la actividad antioxidante del radical DPPH en el extracto metanólico y acuoso, en hojas y corteza, representados en los cuadros, en los cuales se puede ver y comparar la eficiencia de inhibir radicales, determinándose el IC₅₀; el cual representa la cantidad de extracto en (µg/ml) requerido para inhibir el 50% del radical DPPH, usado en la reacción, en base a la máxima Inhibición lograda en cada reacción.

Los resultados de la capacidad antioxidante en hojas del extracto metanólico se reportaron (Cuadro 2); indican que las muestras con mayor capacidad de inhibir el radical libre DPPH, fueron: (a) el T3 *C. paupera* "copaiba" con $50,960 \pm 16,671$ µg/ml, (b) las muestras de T6 *P. velutina* "pashaco curtidor" con $107,556 \pm 23,784$ µg/ml; y (c) el T1 *I. edulis* "guaba" $136,684 \pm 16,670$ µg/ml, estas muestra presentan una excelente capacidad de inhibir radicales, indicando estadísticamente que no existe diferencia significativa ($P > 0,01$) entre estas muestras; comparado con lo reportado por DAZA (2004), en la muestra de hoja colectada a las 05:00 a.m. de *Calycophyllum spruceanum* (Benth)., con un valor de inhibición del radical

DPPH de $37,148 \pm 5,565 \mu\text{g/ml}$. Mientras que el T5 *C. cajan* "frijol de palo" $465,539 \pm 75,257 \mu\text{g/ml}$ indicó una moderada capacidad de inhibición, el T4 *E. fusca* "amasisa con espina" $1300,076 \pm 98,861 \mu\text{g/ml}$ y el T2 *S. alata* "retama tropical" con un valor $2281,276 \pm 328,110 \mu\text{g/ml}$, nos demuestran su baja capacidad antioxidante para inhibir el 50% del radical DPPH, así mismo estos tres tratamientos estadísticamente demostraron significancia estadística ($P < 0,01$); esta capacidad de inhibición del radical DPPH comparado con la evaluación de hoja de la especie *C. spruceanum* (Benth), nos indica el bajo poder antirradical de estos tres tratamientos.

Cuadro 2. Inhibición del radical DPPH con extracto metanólico de hojas.

Tratamientos	IC ₅₀ , $\mu\text{g/ml}$	Significación ($\alpha = 0,01$)	Máxima Inhibición, %
T3 <i>C. paupera</i> . "copaiba"	$50,960 \pm 16,671$	a	$92,835 \pm 0,534$
T6 <i>P. velutina</i> . "pashaco curtidor"	$107,556 \pm 23,784$	a b	$92,748 \pm 0,213$
T1 <i>I. edulis</i> . "guaba"	$136,684 \pm 16,670$	a b	$91,904 \pm 1,489$
T5 <i>C. cajan</i> . "frijol de palo"	$465,539 \pm 75,257$	b	$88,433 \pm 3,736$
T2 <i>S. alata</i> . "retama tropical"	$1300,076 \pm 98,861$	c	$86,853 \pm 0,556$
T4 <i>E. fusca</i> . "amasisa con espina"	$2281,276 \pm 328,110$	d	$64,410 \pm 7,551$

Letras iguales unidas en columna no existe significación estadística.

La evaluación de la actividad antioxidante de la corteza en extracto metanólico siendo las muestras: (a) T3 *C. paupera*. “copaiba” con $90,119 \pm 18,575$ $\mu\text{g/ml}$, la muestra que presentó mayor capacidad de inhibición del radical; (b) T1 *I. edulis*. “guaba” $150,626 \pm 21,559$ $\mu\text{g/ml}$; y (c) T6 *P. velutina*. “pashaco curtidor” con $368,410 \pm 58,828$ $\mu\text{g/ml}$; estas tres muestras presentaron una buena eficiencia al inhibir el radical DPPH. Si comparamos la capacidad antioxidante de la corteza colectada a las 07:00 a.m. de *C. spruceanum* (Benth). Con un valor de $52,352 \pm 2,669$ $\mu\text{g/ml}$ DAZA (2004), con el T3 corteza *C. paupera*. “copaiba” esta es la que mantiene una similitud en cuanto a la capacidad de secuestro de radicales libres. El tratamiento que presentó una moderada actividad antioxidante fue el T5 *C. cajan*. “frijol de palo” con $773,740 \pm 115,733$ $\mu\text{g/ml}$, mientras que las muestras del T2 *S. alata*. “retama tropical” con $1538,904 \pm 321,030$ $\mu\text{g/ml}$ y el T4 *E. fusca*. “amasisa con espina” con un valor de $8995,299 \pm 305,836$ $\mu\text{g/ml}$, presentan una actividad antioxidante baja; siendo el T4 corteza de *E. fusca*. “amasisa con espina” la que presenta la menor actividad antioxidante al momento de inhibir el radical DPPH (Cuadro 3).

La capacidad antioxidante de las muestras en extracto metanólico de las hojas demostraron tener mejor capacidad de inhibición del radical DPPH en comparación con la corteza, esta relación hoja-corteza en cuanto a la capacidad antioxidante de estas partes evaluadas lo reportó DAZA (2003) para la especie *C. spruceanum* (Benth) siendo la hoja la que presentó mayor capacidad de inhibición de radicales DPPH. Mientras que la muestra del T1

hojas de *C. paupera*. "copaiba" con un valor de $50,960 \pm 16,671 \mu\text{g/ml}$ demostró ser más eficiente que el T1 corteza *C. paupera*. "copaiba" con $90,119 \pm 18,575 \mu\text{g/ml}$, y el T4 de *E. fusca*. "amasisa con espina" con valores de inhibición en hojas de $2281,276 \pm 328,110 \mu\text{g/ml}$ y en la corteza con $8995,299 \pm 305,836 \mu\text{g/ml}$ fueron las muestras con una menor eficiencia para inhibir radicales DPPH.

Cuadro 3. Inhibición del radical DPPH con extracto metanólico de corteza.

Tratamientos	IC ₅₀ , $\mu\text{g/ml}$	Significación ($\alpha = 0,01$)	Máxima Inhibición, %
T3 <i>C. paupera</i> . "copaiba"	$90,119 \pm 18,575$	a	$91,217 \pm 0,341$
T1 <i>I. edulis</i> . "guaba"	$150,626 \pm 21,559$	a	$93,839 \pm 1,655$
T6 <i>P. velutina</i> . "pashaco curtidor"	$368,410 \pm 58,828$	a b	$91,102 \pm 6,096$
T5 <i>C. cajan</i> . "frijol de palo"	$773,740 \pm 115,733$	b	$62,889 \pm 8,032$
T2 <i>S. alata</i> . "retama tropical"	$1538,904 \pm 321,030$	c	$78,303 \pm 6,710$
T4 <i>E. fusca</i> . "amasisa con espina"	$8995,299 \pm 305,836$	d	$54,435 \pm 1,816$

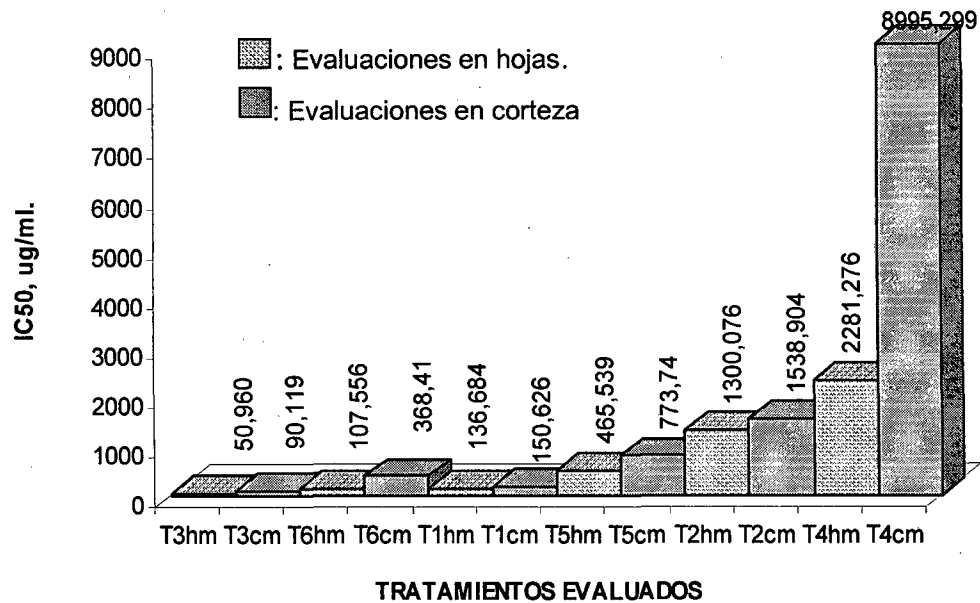
Letras iguales unidas en columna no existe significación estadística.

La actividad antioxidante del extracto metanólico para las hojas y corteza de los tratamiento evaluados indican el rango de secuestro del radical. Para las hojas se obtuvieron los siguientes resultados: T3 hoja de *C. paupera*.

“copaiba” con $50,960 \pm 16,671 \mu\text{g/ml}$ y la hoja del T4 *E. fusca*. “amasisa con espina” con $2281,276 \pm 328 \mu\text{g/ml}$. En el caso de la corteza, el T3 *C. paupera*. “copaiba” con $90,119 \pm 18,575 \mu\text{g/ml}$ y el T4 *E. fusca*. “amasisa con espina” con $8995,299 \pm 305,836 \mu\text{g/ml}$, las muestras que presentaron mayor rango de secuestro del radical. Para las hojas la muestra del T3 hoja de *C. paupera*. “copaiba” fue la de mayor capacidad antioxidante mientras que el T4 corteza de *E. fusca*. “amasisa con espina” presentó baja capacidad antioxidante (Figura 5).

La relación existente entre la capacidad de inhibir radicales libres para las hojas en el extracto metanólico es de 1:20, en otras palabras el T3 *C. paupera*. “copaiba” necesita 1 ($50,960 \mu\text{g/ml}$) para inhibir el 50% de radicales mientras que el T4 *E. fusca*. “amasisa con espina”, necesita 20 veces el valor del T3 hoja de *C. paupera*. “copaiba” para poder inhibir el 50% de los radicales DPPH. La misma relación se aplica en el caso de la capacidad antioxidante; de la corteza mientras que la relación es de 1:100, lo cual indica que el T3 corteza de *C. paupera*. “copaiba” es 100 veces más eficiente para inhibir radicales que el T4 corteza de *E. fusca*. “amasisa con espina”.

Así mismo, la relación entre hojas y corteza de los tratamientos con mayor capacidad antioxidante indica una relación de 1:2, siendo la hoja del extracto metanólico del T3 *C. paupera*. “copaiba” la que posee una mayor capacidad de inhibir radicales DPPH, comparado con la corteza en el mismo tratamiento.



T1,2.....hm: Evaluación de las hojas en extracto metanólico.

T1,2.....cm: Evaluación de la corteza en extracto metanólico.

Figura 5. Capacidad antioxidante (IC₅₀) en hoja y corteza de los tratamientos evaluados, en extracto metanólico para el radical DPPH.

Los resultados obtenidos del extracto acuoso en hojas determinaron que los tratamientos evaluados, no presentaron significancia estadística entre las muestras, del T3 *C. paupera*. "copaiba" con $131,568 \pm 19,996 \mu\text{g/ml}$, T1 *I. edulis*. "guaba" con $185,915 \pm 17,416 \mu\text{g/ml}$, T6 *P. velutina*. "pashaco curtidor" con $257,361 \pm 24,482 \mu\text{g/ml}$ y el T5 *C. cajan*. "frijol de palo" con $471,878 \pm 20,871 \mu\text{g/ml}$; siendo el T3 hoja de *C. paupera*. "copaiba" la muestra que presento mayor actividad inhibitoria del radical DPPH, mientras que los tratamientos T2 *S. alata*. "retama tropical" con $833,548 \pm 95,921 \mu\text{g/ml}$ y el T4 *E. fusca*. "amasisa con espina" con $1606,29 \pm 314,951 \mu\text{g/ml}$, presentan un menor capacidad de inhibición del radical DPPH (Cuadro 4).

Cuadro 4. Inhibición del radical DPPH con extracto acuoso de hojas.

Tratamientos	IC ₅₀ , µg/ml	Significación (α = 0,01)	Máxima Inhibición, %
T3 <i>C. paupera</i> "copaiba"	131,568 ± 19,996	a	90,830 ± 0,741
T1 <i>I. edulis</i> "guaba"	185,915 ± 17,416	a	89,161 ± 0,630
T6 <i>P. velutina</i> "pashaco curtidor"	257,361 ± 24,482	a	93,404 ± 1,787
T5 <i>C. cajan.</i> "frijol de palo"	471,878 ± 101,606	a	90,328 ± 1,460
T2 <i>S. alata.</i> "retama tropical"	833,548 ± 95,921	b	74,385 ± 4,237
T4 <i>E. fusca.</i> "amasisa con espina"	1606,29 ± 314,951	c	84,667 ± 2,161

Letras iguales unidas en columna no existe significación estadística.

La eficiencia de la corteza del T3 *C. paupera*. "copaiba" con 198,319 ± 25,497 µg/ml, T1 *I. edulis*. "guaba" 307,393 ± 18,580 µg/ml y el T6 *P. velutina*. "pashaco curtidor" 745,464 ± 160,834 µg/ml, mostraron mayor capacidad para inhibir el 50% del radical DPPH. La muestra que tuvo mejores resultados para capturar radicales fue el de la corteza del T3 copaiba; mientras que la muestras del T5 *C. cajan*. "frijol de palo" con 1723,351 ± 75,669 µg/ml y el T2 *S. alata*. "retama tropical" con un valor de 1751,83 ± 183,940 no presentaron significancia estadística y un moderado poder antioxidante; mientras que el tratamiento que presentó significancia estadística respecto a todos las muestras evaluadas y con un bajo potencial para inhibir el 50% de los

radicales DPPH, fue la corteza de la muestra del T4 *E. fusca*. “amasisa con espina” con $8716,947 \pm 200,238$ $\mu\text{g/ml}$ (Cuadro 5).

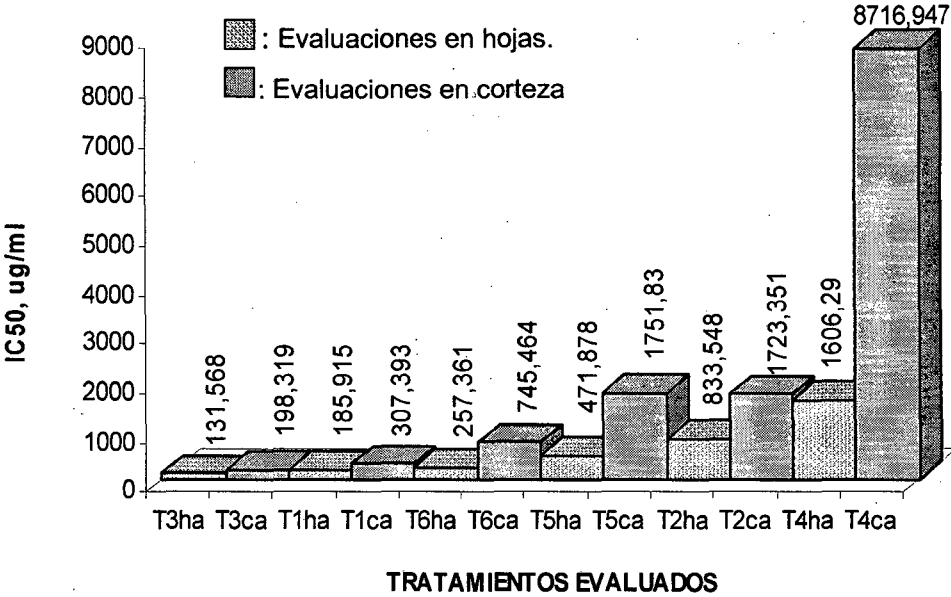
Cuadro 5. Inhibición del radical DPPH con extracto acuoso de corteza.

Tratamientos	IC ₅₀ , $\mu\text{g/ml}$	Significación ($\alpha = 0,01$)	Máxima Inhibición, %
T3 <i>C. paupera</i> “copaiba”	$198,319 \pm 25,497$	a	$88,433 \pm 1,160$
T1 <i>I. edulis</i> “guaba”	$307,393 \pm 158,103$	a	$90,691 \pm 1,188$
T6 <i>P. velutina</i> “pashaco curtidor”	$745,464 \pm 160,834$	a	$64,476 \pm 11,762$
T5 <i>C. cajan.</i> “frijol de palo”	$1723,351 \pm 484,624$	b	$82,926 \pm 5,742$
T2 <i>S. alata.</i> “retama tropical”	$1751,83 \pm 183,940$	b	$71,224 \pm 10,142$
T4 <i>E. fusca.</i> “amasisa con espina”	$8716,947 \pm 200,238$	c	$52,648 \pm 0,926$

Letras iguales unidas en columna no existe significación estadística.

Los resultados muestran las diferencias para inhibir el 50% del radical DPPH entre la hoja y la corteza de las muestras evaluadas; en donde las hojas presentan mayor capacidad de inhibición que la corteza y una distribución homogénea hoja-corteza en cuanto a la inhibición de radicales para cada tratamiento evaluado, así mismo el T3 hoja de *C. paupera*. “copaiba” con $131,568 \pm 19,996$ $\mu\text{g/ml}$ presentó una buena capacidad de inhibir radicales mientras que la corteza del mismo tratamiento presentó $198,319 \pm 25,497$

µg/ml, mostrando una relación de 1:1,5 del potencial para capturar radicales DPPH. Así mismo, la muestra que presentó un bajo poder para la captura de radicales fue el T4 *E. fusca*. "amasisa con espina" con valores para las muestras de hoja de $1606,29 \pm 314,951$ µg/ml y corteza de $8716,947 \pm 200,238$ µg/ml, con una relación de 1:5 del potencial para inhibir el 50% del radical DPPH (Figura 6).



T1,2.....ha: Evaluación de las hojas en extracto acuoso.
T1,2.....ca: Evaluación de la corteza en extracto acuoso.

Figura 6. Capacidad antioxidante (IC₅₀) en hoja y corteza de los tratamientos evaluados, para el extracto acuoso con el radical DPPH.

En los resultados obtenidos de las evaluaciones de los extractos metanólicos y acuosos para la hoja y corteza, los cuales demostraron:

Para el extracto metanólico no existe significancia estadística ($P > 0,01$) entre las partes evaluadas (hoja y corteza) de los tratamientos T1 *I. edulis*. “guaba”, T2 *S. alata*. “retama tropical”, T3 *C. paupera*. “copaiba” y T5 *C. cajan*. “frijol de palo”; mientras que el T4 *E. fusca*. “amasisa con espina” y T6 *P. velutina*. “pashaco curtidor” mostraron significancia ($P < 0,01$) entre la hoja y corteza, como se ilustra en Cuadro 6, en el cual se puede observar las variaciones entre las partes evaluadas (hoja y corteza) de los tratamientos.

Mientras que para el extracto acuoso evaluado, los T1 *I. edulis*. “guaba”, T2 *S. alata*. “retama tropical”, T3 *C. paupera*. “copaiba” no fue significativo para la hoja y corteza evaluada estadísticamente para ($P > 0,01$); mientras que las muestras de los T4 *E. fusca*. “amasisa con espina”, T5 *C. cajan*. “frijol de palo” y T6 *P. velutina*. “pashaco curtidor” mostraron significación estadística entre las partes evaluadas para ($P < 0,01$) (Cuadro 6).

Cuadro 6. Análisis comparativo de las partes evaluadas (hoja y corteza) de los tratamientos para determinar su actividad antioxidante

Especie	Componente	Promedios	
		Metanólico	Acuoso
T1 <i>I. edulis</i> .	Hojas	136,684	185,915
		a	a
"guaba"	Corteza	150,626	307,393
		a	a
T2 <i>S. alata</i> .	Hojas	1300,076	833,548
		a	a
"retama tropical"	Corteza	1538,904	1723,351
		a	a
T3 <i>C. paupera</i> .	Hojas	50,96	131,568
		a	a
"copaiba"	Corteza	90,119	198,319
		a	a
T4 <i>E. fusca</i> .	Hojas	2281,276	1606,29
		a	a
"amasisa con espina"	Corteza	8995,299	8716,947
		b	b
T5 <i>C. cajan</i> .	Hojas	465,539	471,878
		a	a
"fríjol de palo"	Corteza	773,74	1751,83
		a	b
T6 <i>P. velutina</i> .	Hojas	107,556	257,361
		a	a
"pashaco curtidor"	Corteza	368,41	745,464
		b	b

Letras iguales unidas en columna no existe significación estadística.

Los valores obtenidos del coeficiente de inhibición (IC₅₀), tanto para el extracto metanólico como para el acuoso en las hojas y corteza, mostraron una óptima capacidad antioxidativa de la muestra del T3 hoja de *C. paupera*. "copaiba" con 50,96 µg/ml en la extracción con metanol; mientras que para la

muestra extraída con agua también fue el T3 hoja de *C. paupera*. “copaiba” con 131,568 µg/ml el que tuvo mayor capacidad de inhibir el radical DPPH.

Así mismo, los valores de inhibición del radical DPPH para las muestras en extracto metanólico y acuoso, permiten afirmar que el extracto metanólico presentó el valor más alto de inhibición del radical y esto principalmente a la capacidad de extraer los diferentes metabolitos presentes en las hojas y cortezas de las muestras evaluadas.

De los tratamientos evaluados las hojas de las muestras de los diferentes tratamientos evaluados, presentaron una mayor capacidad de inhibir los radicales DPPH comparado con las muestras de corteza, si bien el análisis estadístico mostró que no todos los tratamientos presentaron diferencias estadística ($P > 0,01$), entre las partes evaluadas (hoja y corteza).

En adición, los valores de IC_{50} del T3 hoja de *C. paupera*. “copaiba” con un valor de $50,960 \pm 16,671$ µg/ml en extracto metanólico son muy similares a los obtenidos en estudios de la actividad antioxidativa para *Camellia sinensis* “te verde” con 47,47 µg/ml (MELCHOR, 2000) y también reportado por (SANDOVAL *et al.*, 2002) para diferentes tipos de te verde provenientes de Japón y China.

Así mismo (DAZA, 2004), obtuvo valores de IC_{50} para *Callycophyllum spruceanum* “Capiroña” en extracto de acetona/agua, $52,352 \pm$

2,669 µg/ml, frente al radical DPPH, esto nos demuestra que el T3 *C. paupera* (Herzog), presenta un eficiente poder antioxidante del radical DPPH.

4.1.2. Inhibición del radical peróxido

Para determinar la eficiencia y capacidad antioxidante de los tratamientos frente al radical Peróxido, tanto en los extracto metanólico y acuoso en hojas y corteza respectivamente, se presentan los siguientes cuadros en los que se puede apreciar y comparar la eficiencia de inhibir radicales, a través de la determinación del IC₅₀, y así definir la cantidad necesaria de una muestra para inhibir el radical peróxido en un 50% usado en la reacción, en base a la máxima Inhibición lograda en cada reacción.

Los resultados de la evaluación del extracto metanólico en hojas, determinaron la eficiencia de inhibir el radical peróxido de las muestras, siendo las muestras con los valores más altos de inhibición: (a) T3 *Copaifera paupera*. "copaiba", con un valor de $12,898 \pm 1,588$ µg/ml, (b) T6 *Parkia velutina*. "pashaco curtidor" con $19,865 \pm 6,364$ µg/ml y (c) T1 *Inga edulis*. "guaba" con $38,534 \pm 8,041$ µg/ml; estas muestras de los tratamientos evaluados son más eficaces, comparado con las muestras de los T5 *Cajanus cajan*. "frijol de palo" con $67,395 \pm 9,167$ µg/ml, el T2 *Senna alata*. "retama tropical" con $118,761 \pm 28,470$ µg/ml y el T4 *Erythrina fusca*. "amasisa con espina" con $183,932 \pm 19,863$ µg/ml siendo este ultimo tratamiento el que presenta la más baja capacidad de secuestrar radicales peróxido (Cuadro 7).

Cuadro 7. Inhibición del radical peróxido con extracto metanólico de hojas.

Tratamientos	IC ₅₀ , µg/ml	Significación (α = 0,01)	Máxima Inhibición, %
T3 <i>C. paupera</i> . "copaiba"	12,898 ± 1,588	a	87,419 ± 1,143
T6 <i>P. velutina</i> . "pashaco curtidor"	19,865 ± 6,364	a	92,217 ± 1,465
T1 <i>I. edulis</i> . "guaba"	38,534 ± 8,041	a b	93,486 ± 3,182
T5 <i>C. cajan</i> . "frijol de palo"	67,395 ± 9,167	b	88,371 ± 1,270
T2 <i>S. alata</i> . "retama tropical"	118,761 ± 28,47	c	88,726 ± 1,888
T4 <i>E. fusca</i> . "amasisa con espina"	183,932 ± 19,863	d	69,766 ± 2,568

Letras iguales unidas en columna no existe significación estadística.

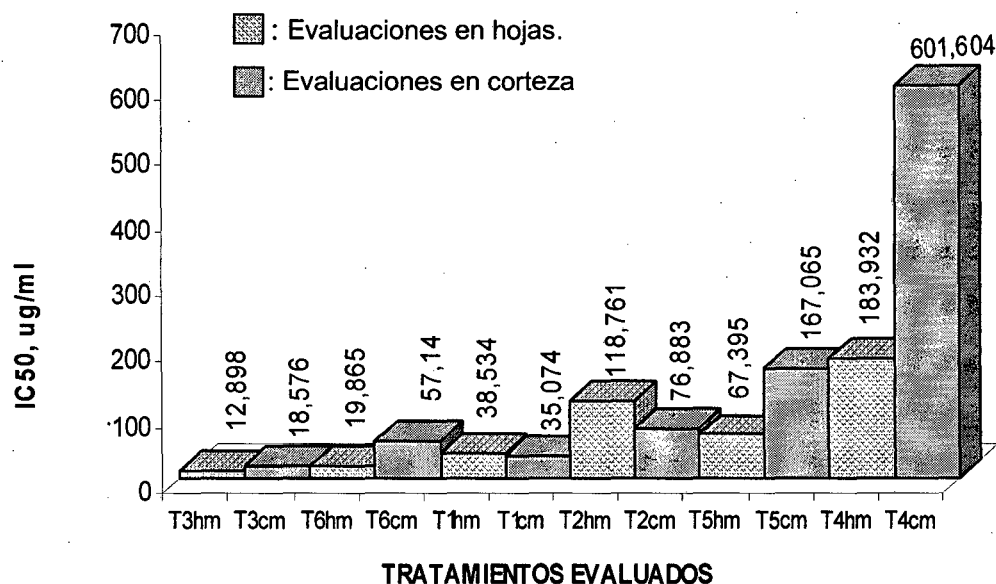
El extracto metanólico de la corteza del T3 *C. paupera*. "copaiba" con $18,576 \pm 3,656$ µg/ml, T1 *I. edulis*. "guaba" con $35,074 \pm 6,079$ µg/ml, T6 *P. velutina*. "pashaco curtidor" con $57,14 \pm 8,206$ µg/ml y el T2 *S. alata*. "retama tropical" con $76,883 \pm 7,770$ µg/ml; no presentaron diferencia significativa entre estas; mientras que para las muestras de los T5 *C. cajan*. "frijol de palo" con $167,065 \pm 16,115$ µg/ml y el T4 *E. fusca*. "amasisa con espina" con $601,604 \pm 87,806$ µg/ml, existe significancia estadística. Así mismo, demuestra la excelente capacidad antioxidante de la muestra del T3 *C. paupera*. "copaiba", mientras que el T4 *E. fusca*. "amasisa con espina" demostró una baja capacidad de inhibir el radical peróxido (Cuadro 8).

Cuadro 8. Inhibición del radical peróxilo con extracto metanólico de corteza.

Tratamientos	IC ₅₀ , µg/ml	Significación (α = 0,01)	Máxima Inhibición, %
T3 <i>C. paupera</i> . "copaiba"	18,576 ± 3,656	a	91,475 ± 1,447
T6 <i>P. velutina</i> . "pashaco curtidor"	35,074 ± 6,079	a	88,598 ± 3,091
T1 <i>I. edulis</i> . "guaba"	57,14 ± 8,206	a	96,479 ± 1,191
T2 <i>S. alata</i> . "retama tropical"	76,883 ± 7,770	a b	90,488 ± 3,371
T5 <i>C. cajan</i> . "frijol de palo"	167,065 ± 16,115	b	79,391 ± 6,714
T4 <i>E. fusca</i> . "amasisa con espina"	601,604 ± 87,806	c	68,515 ± 3,419

Letras iguales unidas en columna no existe significación estadística.

Las muestra preparadas en metanol presentaron mayor capacidad para inhibir el radical peróxilo; siendo el T1 hoja y corteza de *C. paupera* "copaiba" y el T6 hoja *P. velutina* "pashaco curtidor" las de mejores resultados; así mismo las muestras que tuvieron menor eficiencia fueron el T4 *E. fusca*. "amasisa con espina" en hojas y corteza respectivamente. La relación de inhibición entre la muestra con mayor valor de inhibición y la de menor es de 1:50; lo cual nos indica que el T4 corteza de *E. fusca*. "amasisa con espina" es 49 veces menos eficiente (601,604 ± 87,806 µg/ml) que el T3 hoja de *C. paupera*. "copaiba" (12,898 ± 1,588 µg/ml) (Figura 7).



T1,2.....hm Evaluación de las hojas en extracto acuoso

T1,2.....cm Evaluación de la corteza en extracto acuoso

Figura 7. Capacidad antioxidante (IC₅₀) en hoja y corteza de los tratamientos evaluados, en extracto metanólico para el radical peróxido.

La eficiente capacidad para inhibir el radical peróxido en hojas de las muestras del T3 *C. paupera*. "copaiba", con $18,231 \pm 3,991 \mu\text{g/ml}$, seguido de el T1 *I. edulis*. "guaba" con $47,662 \pm 4,700 \mu\text{g/ml}$, T5 *C. cajan*. "frijol de palo" con $61,436 \pm 22,664 \mu\text{g/ml}$ y el T2 *S. alata*. "retama tropical" con $86,517 \pm 9,981 \mu\text{g/ml}$, los cuales presentan una buena capacidad de inhibir radical peróxido y no existe significancia estadística entre los valores del IC₅₀ de estos tratamientos, así mismo las muestras de el T6 *P. velutina*. "pashaco curtidor" con $122,608 \pm 58,561 \mu\text{g/ml}$ y la muestra del T4 *E. fusca*. "amasisa con espina" con $143,167 \pm 5,535 \mu\text{g/ml}$, indicaron una baja capacidad antioxidante presentando significancia estadística ($P < 0,01$) con respecto a los otros tratamientos evaluados (Cuadro 9).

Cuadro 9. Inhibición del radical peróxilo con extracto acuoso de hojas.

Tratamientos	IC ₅₀ , µg/ml	Significación (α = 0,01)	Máxima Inhibición, %
T3 <i>C. paupera</i> "copaiba"	18,231 ± 3,991	a	96,389 ± 0,428
T1 <i>I. edulis</i> "guaba"	47,662 ± 4,700	a	94,975 ± 0,729
T5 <i>C. cajan.</i> "frijol de palo"	61,436 ± 22,664	a b	92,213 ± 1,179
T2 <i>S. alata.</i> "retama tropical"	86,517 ± 9,981	a b c	90,229 ± 1,833
T6 <i>P. velutina</i> "pashaco curtidor"	122,608 ± 58,561	b c	95,521 ± 1,077
T4 <i>E. fusca.</i> "amasisa con espina"	143,167 ± 5,535	c	87,785 ± 1,882

Letras iguales unidas en columna no existe significación estadística.

Las evaluaciones a la corteza en extracto acuoso nos indican que las muestras con mayor valor de inhibición IC₅₀ fueron el T3 *C. paupera* "copaiba" con 48,053 ± 9,131 µg/ml, T1 *I. edulis*. "guaba" con 49,972 ± 1,315 µg/ml, el T6 *P. velutina*. "pashaco curtidor" con 52,008 ± 11,008 µg/ml, el T2 *S. alata*. "retama tropical" con 100,616 ± 57,714 µg/ml y el T5 *C. cajan*. "frijol de palo" 151,337 ± 25,283 µg/ml, donde la evaluación estadística indicó que no hay significancia (P > 0,01) entre estos tratamientos, pero para la muestra del T4 *E. fusca* "amasisa con espina" con 324,583 ± 83,510 µg/ml, presento significación estadística para (P < 0,01) con los tratamientos y la relación entre la muestra con mayor efectividad para inhibir radicales fue el T3 corteza de *C.*

paupera. “copaiba” con una relación de 1:7 con el T4 *E. fusca*. “amasisa con espina” el cual presentó menor eficiencia, demostrando la efectividad del T1 *C. paupera*. “copaiba” (Cuadro 10).

Cuadro 10. Inhibición del radical peróxilo con extracto acuoso de corteza.

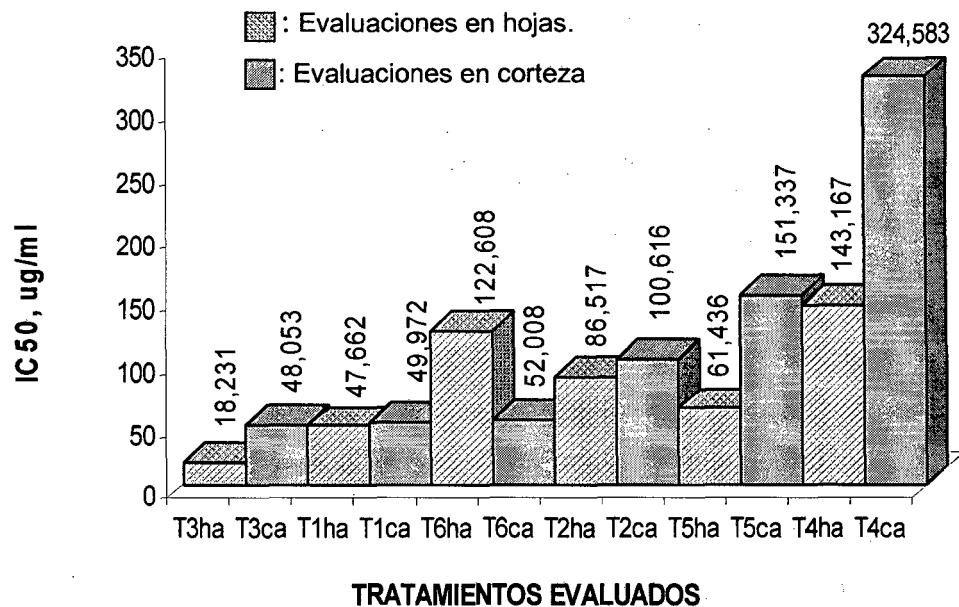
Tratamientos	IC ₅₀ , µg/ml	Significación (α = 0,01)	Máxima Inhibición, %
T3 <i>C. paupera</i> . “copaiba”	48,053 ± 9,131	a	95,605 ± 0,090
T1 <i>I. edulis</i> . “guaba”	49,972 ± 1,315	a	96,050 ± 0,421
T6 <i>P. velutina</i> . “pashaco curtidor”	52,008 ± 11,008	a	94,942 ± 0,130
T2 <i>S. alata</i> . “retama tropical”	100,616 ± 57,714	a	87,087 ± 6,843
T5 <i>C. cajan</i> . “frijol de palo”	151,337 ± 25,283	a	70,507 ± 3,310
T4 <i>E. fusca</i> . “amasisa con espina”	324,583 ± 83,510	b	86,943 ± 1,095

Letras iguales unidas en columna no existe significación estadística.

La actividad antioxidante del extracto acuoso de los tratamientos frente al radical peróxilo, cuyos resultados, indican que el T3 hoja de *C. paupera*. “copaiba” presento mayor capacidad de inhibir al radical en hoja y corteza, mientras que el T4 corteza de *E. fusca*. “amasisa con espina” presentó el valor más bajo de inhibición en las diferentes partes evaluadas. La relación entre la capacidad de inhibición del radical peróxilo de las muestras del T3 hoja de *C. paupera*. “copaiba” y el T4 corteza de *E. fusca*. “amasisa con espina” fue

de 1:18 dejando demostrada la eficiencia del T3 hoja de *C. paupera*. "copaiba" frente a las muestras evaluadas para inhibir el radical peróxilo (Figura 8).

Así mismo se puede ver la eficiencia de la hoja comparado con la corteza para inhibir el radical peróxilo en los diferentes tratamientos evaluados, excepto en el T6 *P. velutina*. "pashaco curtidor" en el cual la corteza presenta mayor eficiencia comparado con la hoja para inhibir el radical.



TRATAMIENTOS EVALUADOS
T1,2.....ha Evaluación de las hojas en extracto acuoso
T1,2.....ca Evaluación de la corteza en extracto acuoso

Figura 8. Capacidad antioxidante (IC₅₀) en hoja y corteza de los tratamientos evaluados, en extracto acuoso para el radical peróxilo.

El promedio de la capacidad antioxidante de las muestras en extracto metanólico y acuoso expresado en IC₅₀, de las muestras para las hojas y cortezas de los tratamientos evaluados en los diferentes tipos de extracto (Cuadro 11) indicando que:

En el extracto metanólico los T4 *E. fusca* Loureiro. “amasisa con espina”, T5 *C. cajan*. “frijol de palo”, T6 *P. velutina*. “pashaco curtidor”, mostraron diferencia entre las partes evaluadas mostrando significancia estadística para ($P < 0,01$); mientras que las muestras de los; T1 *I. edulis*. “guaba”, T2 *S. alata*. “retama tropical”, T3 *C. paupera*. “copaiba” no presentan significación estadística en su capacidad de inhibir radicales peróxido en la hoja y corteza evaluada.

Para el caso de las muestras en el extracto acuoso para las partes evaluadas (hoja y corteza) de los tratamientos, el T3 *C. paupera*. “copaiba” indico diferencia entre la hoja y corteza por lo tanto tiene significación estadística para un nivel de ($P < 0,01$), con un valores para la hoja de 18,231 $\mu\text{g/ml}$ y para la corteza de 48,053 $\mu\text{g/ml}$.

Las muestra que presentaron mayor capacidad inhibitoria frente al radical peróxido en extracto metanólico, fue el T3 hoja de *C. paupera*. “copaiba” con 12,898 $\mu\text{g/ml}$, mientras que para el extracto acuoso fue el mismo T3 hoja de *C. paupera*. “copaiba” con 18,231 $\mu\text{g/ml}$ estos valores comparados con la capacidad inhibitoria de la “maca” 430 $\mu\text{g/ml}$ (SANDOVAL, 2002); nos

demuestra la excelente capacidad inhibitoria del T3 en hoja y corteza de ambos extractos (acuoso, metanólico) de *C. paupera*. “copaiba” frente al radical peróxilo. Así mismo el T4 corteza de *E. fusca*. “amasisa con espina” con un valor de 601,604 µg/ml para el extracto metanólico y para el extracto acuoso con 324,583 µg/ml fue el de menor capacidad inhibitoria del radical peróxilo.

Cuadro 11. Análisis comparativo de las partes evaluadas (hoja y corteza) de los tratamientos para determinar su actividad antioxidante.

Tratamientos	Componente	Tipo de extracto	
		Metanólico	Acuoso
T1 <i>I. Edulis</i> .	Hoja	35,074 a	47,662 a
“guaba”	Corteza	38,534 a	49,972 a
T2 <i>S. alata</i> .	Hoja	76,883 a	86,517 a
“retama tropical”	Corteza	118,761 a	100,616 a
T3 <i>C. paupera</i> .	Hoja	12,898 a	18,231 a
“copaiba”	Corteza	18,576 a	48,053 b
T4 <i>E. fusca</i> .	Hoja	183,932 a	143,167 a
“amasisa con espina”	Corteza	601,604 b	324,583 a
T5 <i>C. cajan</i> .	Hoja	67,395 a	61,436 a
“frijol de palo”	Corteza	167,065 b	151,337 a
T6 <i>P. velutina</i> .	Hoja	19,865 a	52,008 a
“pashaco curtidor”	Corteza	57,14 b	122,608 a

Letras iguales unidas en columna no existe significación estadística.

Como se ha detallado en los anteriores cuadros, el T3 hoja de *C. paupera*. "copaiba", presento un eficiente poder antirradical con 12,898 $\mu\text{g/ml}$ en extracto metanólico, encontrándose similares resultados para el extracto acuoso en las hojas de *C. paupera*. "copaiba" con 18,231 $\mu\text{g/ml}$, demostrando la eficiencia frente a los otros tratamientos evaluados al momento de inhibir el radical peróxilo; mientras que el T4 hoja y corteza de *E. fusca*. "amasisa con espina" en extracto metanólico y acuoso presentaron un bajo poder de inhibición del radical.

En las evaluaciones se demostró que las hojas presentan mayor eficiencia en los extractos metanólico y acuoso en los diferentes tratamientos evaluados.

4.2. Evaluación del contenido de polifenoles

Los resultados de determinar el contenido de polifenoles nos permitieron demostrar el excelente contenido de polifenoles de las muestras y su efecto al momento de inhibir radicales DPPH y peróxilo.

Se demostró para el extracto metanólico en las hojas de los tratamientos, el contenido de polifenoles de las muestras expresado en gCat/g de muestra; resultando la muestra del T3 *C. paupera*. "copaiba" con $0,1455 \pm 0,0020$ gCat/g de muestra, ser la muestra con mayor contenido de polifenoles; así mismo la muestras del T3 *C. paupera*. "copaiba", T1 *I. edulis*. "guaba", T6 *P. velutina*. "pashaco curtidor" y T4 *E. fusca*. "amasisa con espina", mostraron

diferencia en cuanto al contenido de polifenoles totales expresado en gCat/g en las muestras las cuales indicaron significancia estadística entre estas muestras para ($P < 0,01$), mientras que las muestras de los T5 *C. cajan*. “frijol de palo” y el T2 *S. alata*. “retama tropical”, no mostraron diferencia significativa para ($P > 0,01$). Así mismo el T4 hoja de *E. fusca*. “amasisa con espina” presento el menor contenido de polifenoles en comparación con los tratamientos evaluados (Cuadro 12).

Cuadro 12. Contenido de polifenoles totales en la hoja del extracto metanólico.

Especies	Tratamientos	g Cat /g Muestra	Significación ($\alpha = 0,01$)
<i>C. paupera</i> . “copaiba”	T3	0,1455 \pm 0,0020	a
<i>I. edulis</i> . “guaba”	T1	0,0579 \pm 0,0018	b
<i>P. velutina</i> . “pashaco curtidor”	T6	0,0470 \pm 0,0061	c
<i>C. cajan</i> . “frijol de palo”	T5	0,0215 \pm 0,0036	d
<i>S. alata</i> . “retama tropical”	T2	0,0211 \pm 0,0020	d
<i>E. fusca</i> “amasisa con espina”	T4	0,0080 \pm 0,0008	e

Letras iguales unidas en columna no existe significación estadística.

Las muestras de corteza en extracto metanólico que presentaron mayor contenido de polifenoles fueron el T3 corteza de *C. paupera*. “copaiba” con 0,0463 \pm 0,0043 gCat/g de muestra, seguida del T1 *I. edulis*. “guaba” con 0,0321 \pm 0,0021 gCat/g los cuales no mostraron significancia y luego el T2 *S. alata*. “retama tropical” mostró un contenido de 0,0272 \pm 0,0036 gCat/g

indicando significación estadística para estos tratamientos ($P < 0,01$); mientras que el T6 *P. velutina*. “pashaco curtidor” y el T5 *C. cajan*. “frijol de palo” no mostraron significancia, el T4 corteza de *E. fusca*. “amasisa con espina” con un contenido de $0,0002 \pm 0,0001$ gCat/g fue la muestra que presentó un menor contenido de polifenoles y significancia estadística con los tratamientos (Cuadro 13).

Cuadro 13. Contenido de polifenoles totales en la corteza del extracto metanólico.

Especies	Tratamientos	g Cat./g Muestra	Significación ($\alpha=0,01$)
<i>C. paupera</i> . “copaiba”	T3	$0,0463 \pm 0,0043$	a
<i>I. edulis</i> . “guaba”	T1	$0,0321 \pm 0,0021$	a b
<i>S. alata</i> . “retama tropical”	T2	$0,0272 \pm 0,0036$	b
<i>P. velutina</i> . “pashaco curtidor”	T6	$0,0117 \pm 0,0019$	c
<i>C. cajan</i> .. “frijol de palo”	T5	$0,0064 \pm 0,0009$	c
<i>E. fusca</i> “amasisa con espina”	T4	$0,0002 \pm 0,0001$	d

Letras iguales unidas en columna no existe significación estadística.

Los resultados del contenido de polifenoles en las muestras de hoja en los tratamientos evaluados para el extracto acuoso nos indica que la muestra del T3 hoja de *C. paupera*. “copaiba” presento $0,0900 \pm 0,0047$ gCat/g de muestra evaluada siendo la de mayor contenido de polifenoles comparado

con las muestras evaluadas del T1 *I. edulis*. “guaba”, T6 pashaco curtidor, T2 *S. alata* L. “retama tropical”, T5 *C. cajan* L. “frijol de palo”, T4 *E. fusca*. “amasisa con espina”. Así mismo, el análisis estadístico demostró significancia ($P < 0,01$); con la muestra de menor contenido de polifenoles, el T4 *E. fusca*. “amasisa con espina” con $0,0092 \pm 0,0009$ gCat/g de muestra, estableciéndose que la relación entre el tratamiento con mayor contenido de polifenoles T3 hoja de *C. paupera*. “copaiba” y el que obtuvo el contenido menor T4 hoja de *E. fusca*. “amasisa con espina” es de 1 (0,0900): 9 (0,0002) gCat/g por muestra evaluada (Cuadro 14).

Cuadro 14. Contenido de polifenoles totales en la hoja del extracto acuoso.

Especies	Tratamientos	g Cat./g	Significación
		Muestra	($\alpha = 0,01$)
<i>C. paupera</i> . “copaiba”	T3	$0,090 \pm 0,0047$	a
<i>I. edulis</i> . “guaba”	T1	$0,0413 \pm 0,0014$	b
<i>P. velutina</i> . “pashaco curtidor”	T6	$0,0226 \pm 0,0032$	c
<i>S. alata</i> . “retama tropical”	T2	$0,0184 \pm 0,0015$	c d
<i>C. cajan</i> . “frijol de palo”	T5	$0,0145 \pm 0,0011$	d e
<i>E. fusca</i> “amasisa con espina”	T4	$0,0092 \pm 0,0009$	e

Letras iguales unidas en columna no existe significación estadística.

La cantidad de $0,0428 \pm 0,0048$ gCat/g para la muestra del T3 corteza de *C. paupera*. “copaiba” en extracto acuoso (Cuadro 15), esta muestra presentó el mayor contenido de polifenoles, así mismo presentó significancia

para ($P < 0,01$) respecto a los otros tratamientos; dentro de las muestras evaluadas el T5 corteza de *C. cajan*. “frijol de palo” presentó un bajo contenido de polifenoles con $0,0034 \pm 0,0007$ gCat./g de muestra; así mismo no presento significancia estadística con el T4 corteza de *E. fusca*. “amasisa con espina” para ($P > 0,01$).

La relación entre los tratamientos con mayor contenido de polifenoles en la corteza del T3 *C. paupera*. “copaiba” y la de menor contenido en la muestra del T5 corteza de *C. cajan*. “frijol de palo”, están en una relación de 1 (0,0428):12 (0,0034) gCat./g de muestra.

Cuadro 15. Contenido de polifenoles totales en la corteza del extracto acuoso.

Especies	Tratamientos	g Cat./g	Significacion
		Muestra	($\alpha = 0,01$)
<i>C. paupera</i> . “copaiba”	T3	$0,0428 \pm 0,0048$	a
<i>S. alata</i> . “retama tropical”	T2	$0,0220 \pm 0,0023$	b
<i>I. edulis</i> . “guaba”	T1	$0,0172 \pm 0,0012$	b c
<i>P. velutina</i> . “pashaco curtidor”	T6	$0,0128 \pm 0,0033$	c
<i>E. fusca</i> . “amasisa con espina”	T4	$0,0060 \pm 0,0007$	d
<i>C. cajan</i> . “frijol de palo”	T5	$0,0034 \pm 0,0007$	d

Letras iguales unidas en columna no existe significación estadística.

Las muestras del extracto metanólico, el T2 *S. alata*. “retama tropical” en hoja y corteza no presentaron significancia estadística para ($P > 0,01$), mientras que los otros cinco tratamientos presentaron significación estadística entre las partes evaluadas (hoja y la corteza). Mientras que para las muestras del extracto acuoso en hoja y corteza del T2 *S. alata*. “retama tropical” y el T6 *P. velutina*. “pashaco curtidor” no presentaron significación estadística entre las partes evaluadas para ($P > 0,01$); mientras que las muestras del T1 *I. edulis*. “guaba”, T3 *C. paupera*. “copaiba”, T4 *E. fusca*. “amasisa con espina” y el T5 *C. cajan* L. “frijol de palo” presentaron significancia para la hoja y corteza evaluada (Cuadro 16).

Del mismo cuadro se puede ver que en el extracto metanólico, la hoja y corteza del T3 *C. paupera*. “copaiba”, fue la de mayor contenido de polifenoles; mientras que el T4 *E. fusca*. “amasisa con espina” presentó un bajo contenido de polifenoles en hoja y corteza respectivamente, en comparación con los tratamientos. Mientras que para el extracto acuoso el T3 hoja y corteza de *C. paupera*. “copaiba” presentó el mayor contenido de polifenoles, mientras que el menor contenido de polifenoles en hojas lo obtuvo el T6 *P. velutina*. “pashaco curtidor” y para la corteza fue el T5 *C. cajan*. “frijol de palo” el que presentó el menor contenido de polifenoles.

Se determinó que las hojas presentan mayor contenido de polifenoles comparado con la corteza en los tratamientos evaluados tanto en extracto metanólico como en el extracto acuoso, siendo el extracto metanólico

el que obtuvo mayor extracción de polifenoles de las hoja y corteza comparado con el extracto acuoso.

Cuadro 16. Análisis comparativo de las partes evaluadas (hoja y corteza) de los tratamientos para determinar su actividad antioxidante.

Especies	Componente	Promedios	
		Metanólico	Acuoso
T1 <i>I. edulis</i>	Hojas	0,058 a	0,0413 a
"guaba"	Corteza	0,0321 b	0,0172 b
T2 <i>S. alata.</i>	Hojas	0,0272 a	0,022 a
"retama tropical"	Corteza	0,0211 a	0,0183 a
T3 <i>C. paupera</i>	Hojas	0,1455 a	0,0901 a
"copaiba"	Corteza	0,0463 b	0,0428 b
T4 <i>E. fusca.</i>	Hojas	0,008 a	0,0092 a
"amasisa con espina"	Corteza	0,0002 b	0,006 b
T5 <i>C. cajan.</i>	Hojas	0,0215 a	0,0145 a
"frijol de palo"	Corteza	0,0064 b	0,0035 b
T6 <i>P. velutina</i>	Hojas	0,047 a	0,0226 a
"pashaco curtidor"	Corteza	0,0117 b	0,0128 a

Letras iguales unidas en columna no existe significación estadística.

De las diferentes evaluaciones para determinar la capacidad antioxidante y el contenido de polifenoles descrito en los diferentes cuadros, se

observa que en la actualidad existe un crecimiento en cuanto a los conocimientos de la especies reactivas del oxígeno y del nitrógeno (ROS/RNS), así como de los antioxidantes presentes en la biología de las plantas; lo cual esta generando interés en los productos naturales que puedan contribuir a la protección de la célula o a mejorar las condiciones de salud (HARDY, 2000). Las especies reactivas del oxígeno y nitrógeno (ROS/RNS), más conocidas son superóxido, peróxilo, oxidrilo y peróxido de nitrato, los cuales están implicados en la etiología de enfermedades degenerativas incluyendo enfermedades cardiovasculares, diabetes, cáncer, desordenes degenerativos y envejecimiento, (ALLEN y TRESINI, 2000). Hay pocos estudios que evalúan los mecanismos para determinar los efectos benéficos de estas seis leguminosas evaluadas. Aquí demostramos que los tratamientos evaluados degradaron de radicales libres DPPH y peróxilo, en el cual el contenido de los polifenoles de los tratamientos lo cual explique la diferencia observada (ERBA *et al.*, 1999; SANDOVAL *et al.*, 2002).

Según los resultados obtenidos en este estudio para la capacidad antioxidante y contenido total de polifenoles del extracto metanólico y acuoso en hoja y corteza, se demostró que el extracto metanólico es más eficiente para extraer el mayor contenido de compuestos bioactivos (polifenoles totales), así como también se demostró que por lo general estos son la causa principal de se actividad antioxidante y hay una relación directa entre compuestos activos-capacidad antioxidante.

Por otro lado, los valores de IC₅₀ para el T3 *C. paupera*. "copaiba", T1 *I. edulis*. "guaba", T6 *P. velutina*. "pashaco curtidor" para las hojas y corteza, en los extractos metanólico y acuoso, nos indican que estas tres especies evaluadas presentan una alta capacidad antioxidante, lo cual se debe al contenido de polifenoles a pesar de que el T6 pashaco curtidor demostró para la corteza que su capacidad antioxidante no se debe a su contenido de polifenoles; esta aparente contradicción podría explicarse teniendo en cuenta que si bien se reportado que los polifenoles son uno de los principales componentes bioactivos responsables de la actividad antioxidante de las especies vegetales, no son los únicos metabolitos responsables de este efecto biológico y de otros, reportándose también que otros componentes como alcaloides, glucósidos, etc., juegan también un rol importante en estos (ARENAS, 2001).

V. CONCLUSIONES

1. La capacidad antioxidante en las especies evaluadas se presentaron en orden decreciente de acuerdo a la mayor capacidad de secuestro de radicales libres como se observa: *Copaifera paupera*, *Parkia velutina*, *Inga edulis*, *Cajanus cajan*, *Senna alata*, *Erythrina fusca*.
2. La muestra con mayor capacidad para inhibir el radical DPPH fue la hoja de *Copaifera paupera*. "copaiba" obteniendo valores de $50,960 \pm 16,671$ $\mu\text{g/ml}$ para el extracto metanólico y de $131,568 \pm 19,996$ $\mu\text{g/ml}$ en el extracto acuoso y la muestra con menor capacidad de secuestro de radicales fue el T4 *E. fusca* "amasisa con espina".
3. La mejor respuesta para inhibir el radical peróxilo, presentó la hoja de *C. paupera*. "copaiba" con $12,898 \pm 1,588$ $\mu\text{g/ml}$ para el extracto metanólico y acuoso con $18,231 \pm 3,991$ $\mu\text{g/ml}$ respectivamente y la muestra con menor capacidad de secuestro de radicales fue el T4 *E. fusca*. "amasisa con espina".
4. Los datos obtenidos demuestran el contenido de polifenoles totales en las hojas de *C. paupera*. "copaiba" en extracto metanólico con $0,1455 \pm$

0,0020 gCat./g y de $0,0900 \pm 0,0047$ gCat./g de muestra en extracto acuoso, esto queda reflejado en su excelente capacidad de inhibición de radicales de esta muestra.

5. La evaluación de las partes de la planta (hoja y corteza), demostraron que la hoja presentó mayor capacidad inhibitoria de los radicales DPPH y peróxilo, así mismo también presentó mayor contenido de polifenoles, lo cual nos permite ver la excelente correlación lineal entre el contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante de los tratamientos evaluados tanto para las hojas y corteza en los extracto metanólico y acuoso de los tratamientos.

VI. RECOMENDACIONES

1. El presente trabajo abre las puertas para estudios más detallados sobre estas especies y su poder antioxidante, para ser considerado como una alternativa dentro de la fitoterapia y/ o en la farmacología.
2. Realizar un estudio más detallado del contenido de polifenoles y de la actividad antioxidante en pruebas in vivo (seres vivos) de tal forma que se pueda definir su verdadera aplicación para la salud humana.
3. Desarrollar investigaciones de formulación que permitan complementar el valor antioxidativo de la hoja de la copaiba (*Copaifera reticulata*) como otras especies forestales de la amazonia y una futura incorporación al mercado, usándose posiblemente como bolsitas filtrantes.
4. Continuar con trabajos de este tipo de tal forma que permita evaluar la riqueza forestal y sus características no solo maderables o su capacidad de recuperar suelos, sino darle un valor agregado, aprovechando toda la planta.

VII. ABSTRACT

This research work was performed in the laboratory of the Centre for Natural Products Research in the Amazon (CIPNA) of the Universidad Nacional Agraria de la Selva (UNAS), Tingo María-Perú. The Peruvian jungle has a very broad floristic diversity, many species are used in different uses and with various other properties not yet scientifically validated, so that this work is raising evaluate the antioxidant capacity and content of polyphenols leaf and bark six species of leguminous: (a) *Inga edulis* (Vell) Mart. "guaba", (b) *Senna alata* (L.) Roxb. "retama tropical", (c) *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer. "copaiba", (d) *Erythrina fusca* Loureiro. "amasisa con espina", (e) *Cajanus cajan* (L.) Millap. "frijol de palo", (f) *Parkia velutina* Benist. "pashaco curtidor", The antioxidant activity was evaluated by inhibiting radicals, 2,2-Di(4-tert-octylphenyl)-1-picrylhydrazyl (DPPH) and peróxilo well as determining the content of polyphenols by the method described by SANDOVAL (2002).

The results were analyzed in a statistical design at random (DCA), with a Test with Duncan ($P > 0.01$). As the leaf extract of *C. paupera* "copaiba" which showed a larger capacity inhibition DPPH radical and peróxilo with IC_{50} values of $50,960 \pm 16,671 \mu\text{g/ml}$ and $12,898 \pm 1,588 \mu\text{g/ml}$ respectively extracted with methanol, indicating that this sample has the greatest ability to

inhibit free radicals. While samples *E. fusca* Loureiro. "amasisa con espina" which proved to be less efficient to inhibit the radical DPPH and peroxilo. Also, it was determined that the blade of the species *C. paupera* "copaiba", presents the highest concentration of polyphenols with $0,1455 \pm 0,0020$ gCat/g sample sheets evaluated, while the bark of the species *E. fusca* Loureiro "amasisa con espina" with $0,0002 \pm 0,0001$ gCat/g sample being content with a smaller sample of polyphenols extracted with methanol.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALLEN, R. G. y TRESINI, M. 2000. Oxidative stress and gene regulation. *Free Radical Biology Medicine*, 28: 463–499.
- AHERME, S y O' BRIEN, M. 2000. Mechanism of protection by flavanols, quercetin and rutin, against tert – butylhydroperoxide – and menadione induced DNA single strand breaks in caco – 2 cells. *J. free Rad. Boil. E Med.* 29 (6): 507 – 514.
- AHMAD, N; FEYES, D.K; NIEMINEM, A.L; AGARWAL, R; MUKHTAR, H. 1997. Green tea Constituent epigallocatechin-3-gallate and induction of apoptosis and cell cycle arrest in human carcinoma cells. *J. Nat. Cancer Inst.* 89 (24): 1881 – 1886.
- ANDERSON, D. y PHILLIPS, B. 2001. Comparative in Vitro and vivo effects of Antioxidants. *Food. Chem. Toxicol.* 37:1015 – 1025 p.
- ARAUJO, V. 2005. Estudio Taxonómico e Histológico de Seis Especies del Género *Erythrina l.* (fabaceae). Tesis para optar el grado academico de Magíster en Botanica Tropical. Lima, Perú. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 48 p.
- ARENAS, C. 2001. Comparación de la propiedades anti-proliferativas *in Vitro* de extractos metanólicos y acuosos de las hojas de dos variedades de ortiga (*Urtica leptophylla* HBK y *Urtica echinata* Bentham).

- BARTOSZ, G., JANASZEWSKA, A., ERTEL, D., & BARTOSZ, M. (1998). Simple determination of peroxy radical-trapping capacity. *Biochemical and Molecular Biology International*, 46, 519–528.
- BRACK, A. Y MENDIOLA, A. 2002. *Ecología del Perú*. Edit, Bruño. Lima-Perú.
- BRAKO, L; ZARUCCHI, J.1993. *Catálogo de las Angiospermas y Gimnospermas del Perú*. Missouri Botanical Garden Monographs in Systematic Botany. Sarasota, USA. V.45 1288p.
- BRODY, T. 1999. *Nutrition biochemistry 2ª Ed.* Academia Press, New York, USA. 458 – 459.
- CAO, Y; CAO, R. 2000. Angiogenesis inhibited by drinking tea. *Nature*. 398:381.
- CATIE. 1998. *Nota técnica sobre manejo de semillas forestales*. Costa Rica.
- CENTRO DE INVESTIGACION Y PROMOCION DEL CAMPESINADO. 1993. "Estudio morfológico y taxonómico para la región Grau". Lima Perú.
- DAZA, E. 2004. Polifenoles totales y capacidad antioxidante en *Calycophyllum spruceanum* (Benth.) Hook. F. ex Schum "capirona". Tesis Ing. en Recursos Naturales Renovables mención Forestal. Tingo Maria; Perú. Universidad Nacional Agraria de la Selva. 71p.
- ELEJALDE, J. L. 2001. Oxidación entre la vida y la enfermedad. *Ann. Med. Interna*. 18 (1): 1 – 4.
- ESTELO, C. 2003. Capacidad Antioxidante y Polifenoles Totales en dos Especies de Chanca piedra (*Phyllanthus niruri* L y *Phyllanthus urinaria* L). Tesis Ing. en recursos Naturales Renovables. Tingo Maria, Perú. Universidad Nacional Agraria de la Selva.

- ESTRELLA, E. 1995. Plantas Medicinales Amazónicas: Realidad y Perspectivas Tratado de Cooperación Amazónica. 263 p.
- ERBA, D., RISO, P., COLOMBO, A., & TESTOLIN, G. 1999. Supplementation of jurkat with green tea extract decreases oxidative damage due to iron reatment. *Journal of Nutrition*, 129, 2130–2134.
- GUIJA, H. 2002. Curso: Antioxidantes en recursos fitoterapéuticos. Lima, Perú.
- GONZALES, M; BETANCOURT, M y ORTIZ, R. 2000. Daño oxidativo y antioxidante. *Bioquímica*. 25 (1): 3 – 9.
- GUACAMAYA FRANCESA. “Plantas medicinales” [En línea]: (http://www.podernatural.com/Plantas_%20Medicinales/Plantas_G/p_guacamaya.htm. 06 de Agosto 2006).
- HARDY, G. 2000. Nutraceuticals and Functional Foods: Introduction and meaning. *Nutrition*, 16, 688–697.
- INOE, M; TAJIMA, K; MIZUTANI, M; IWATA, H; IWASE, T; MIURA, S; HIROSE, K; HAMAJIMA, N y TOMINAGA, S. 2001. Regular consumption of green tea and the risk of breast cancer recurrence: Research Program at Aichi Cancer Center (HERPACC) Japan. *Cancer Let.* 167: 175 – 182.
- JIMÉMEZ, Q. 1999. Árboles maderables en peligro de extinción en Costa Rica. II edición. Instituto Nacional de Biodiversidad. 163 p. [En línea] (<http://darnis.inbio.ac.cr/FMPro?-DB=UBIpub.fp3&-lay=WebAll&-Format=/ubi/detail.html&-Op=bw&id=2170&-Find>).
- KITAJIMA, M., HASHIMOTO, K., YOKOYA, M., TAKAYAMA, H. y AIMI, N. 2000. Two New 19-Hydroxyursolic Acid-type Triterpenes from Peruvian

- Uña de Gato' (*Uncaria tomentosa*). *Tetrahedron*, Volume 56, Issue 4, 21. Pag. 547-552.
- LACHANCE, P; NAKAT, Z y JEONG, W. S. 2001. Antioxidants: An Integrative Approach. *Nutr.* 17: 835 – 838.
- LAUS, G., BRÖSSNER, D. y KEPLINGER, K. 1997. Alkaloids of peruvian *Uncaria tomentosa*. *Phytochemistry*, Volume 45, Issue 4, Pag. 855-860.
- MADERERA WALLACH S.A. 2004. Boletín informativo "Maderas Selectas Calidad y Servicio". Pucallpa, Peru 2004.
- MELCHOR, V. 2000. Tesis "Procesamiento Tecnológico para la obtención de té verde (*Camellia sinensis*): Determinación de su actividad antioxidante y cuantificación de flavonoides por HPLC".
- OKAWA, T; ONO, M; 2001. DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) Radical Scavenging Activity of Flavonoids Obtained from Some Medicinal Plants. *Bial .Pharm.Bull.*24(10):12002-1205
- POLYAKOV, N; LESHINA, T; KONOVALOVA, T y KISPERT, L. 2001. Carotenoids as scavengers of free radicals in fenton reaction. Antioxidants or pro-oxidants. *J. Free. Rad. Biol. e Med.* 31 (3): 398 – 404.
- REILLY, J; MALLETT, A; MCANLIS, G; YOUNG, I; HALLIWELL, B; SANDERS, T y WISSEMAN, H; 2001. Consumption of flavonoids in onions and black tea lack of effect on F₂ – isoprostanes and autoantibodies to oxidized LDL in healthy humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 73: 1040 – 1044.

SANDOVAL, M; OKUHAMA, N; ANGELES, F; MELCHOR, V; CONDEZO, L; LAO, J y MILLER, M. 2002. Antioxidant activity of the cruciferous vegetable maca (*Lepidium meyenii*) Food Chem. 79:207 – 213.

SIES, H, 1997. Antioxidants in disease mechanisms and therapy. Vol. 38. USA. Academia Press Inc. 293.

VASQUEZ, J. 2008. Tesis “Determinación de la capacidad antioxidante del *Croton draconoides* Muell Arg. (Sangre de grado) de Pucallpa y Tingo María”.

YAMAGUCHI, T; TAKAMUR, H; MATOBA, T y TERAQ, J. 1998. HPLC Method for Evaluation of Free Radical – Scavenging activity of foods by using 1,1 Diphenyl - 2 – Picrylhydrazyl Biosci. Biotechnol. Biochem. 62 (6): 1201 – 1204.

IX. ANEXOS

ANEXO 1. Análisis estadístico de las seis especies en estudio en extracto metanólico y acuoso.

Cuadro 17. ANOVA del radical DPPH en extracto metanólico en hojas y corteza.

F. de variación	G.L	Cuadrados medios	
		Metanólico hojas	Metanólico corteza
Tratamientos	5	2401019,525 AS	36227578,714 AS
E. Experimental	12	20675,535	35710,205
TOTAL	17		
	C.V	21,167	8,515

AS: Significación estadística al 1% de probabilidad.

Cuadro 18. ANOVA del radical DPPH en extracto acuoso en hojas y corteza.

F. de variación	G.L	Cuadrados medios	
		Acuoso hojas	Acuoso corteza
Tratamientos	5	953838,304 AS	31555889,216 AS
E. Experimental	12	20003,568	60050,605
TOTAL	17		
	C.V	21,706	10,813

AS: Significación estadística al 1% de probabilidad.

Cuadro 19. ANOVA del radical peróxilo en extracto metanólico en hojas y corteza.

F. de variación	G.L	Cuadrados medios	
		Metanólico hojas	Metanólico corteza
Tratamientos	5	13231,843 AS	148894,378 AS
E. Experimental	12	232,806	1357,940
TOTAL	17		
	C.V	22,285	22,247

AS: Significación estadística al 1% de probabilidad.

Cuadro 20. ANOVA del radical peróxido en extracto acuoso en hojas y corteza.

F. de variación	G.L	Cuadrados medios	
		Acuoso hojas	Acuoso corteza
Tratamientos	5	6632,272 AS	34744,812 AS
E. Experimental	12	685,210	1858,388
TOTAL	17		
	C.V	30,567	38,620

AS: Significación estadística al 1% de probabilidad.

Cuadro 21. ANOVA del contenido de polifenoles totales en extracto metanólico en hojas y corteza.

F. de variación	G.L	Cuadrados medios	
		Metanólico hojas	Metanólico corteza
Tratamientos	5	0,0076 AS	0,0009 AS
E. Experimental	12	0,0000	0,0000
TOTAL	17		
	C.V	7,633	13,468

AS: Significación estadística al 1% de probabilidad.

Cuadro 22. ANOVA del contenido de polifenoles totales en extracto acuoso en hojas y corteza.

F. de variación	G.L	Cuadrados medios	
		Acuoso hojas	Acuoso corteza
Tratamientos	5	0,0027 AS	0,0006 AS
E. Experimental	12	0,0000	0,0000
TOTAL	17		
	C.V	8,211	16,545

AS: Significación estadística al 1% de probabilidad.

ANEXO 8. Figuras de los trabajos realizados al momento de ejecutar el estudio.



Figura 9. Reactivos usados en las evaluaciones.



Figura 10. Preparación de los extractos acuosos de las muestras.



Figura 11. Centrifugado de los extractos acuosos para su evaluación.

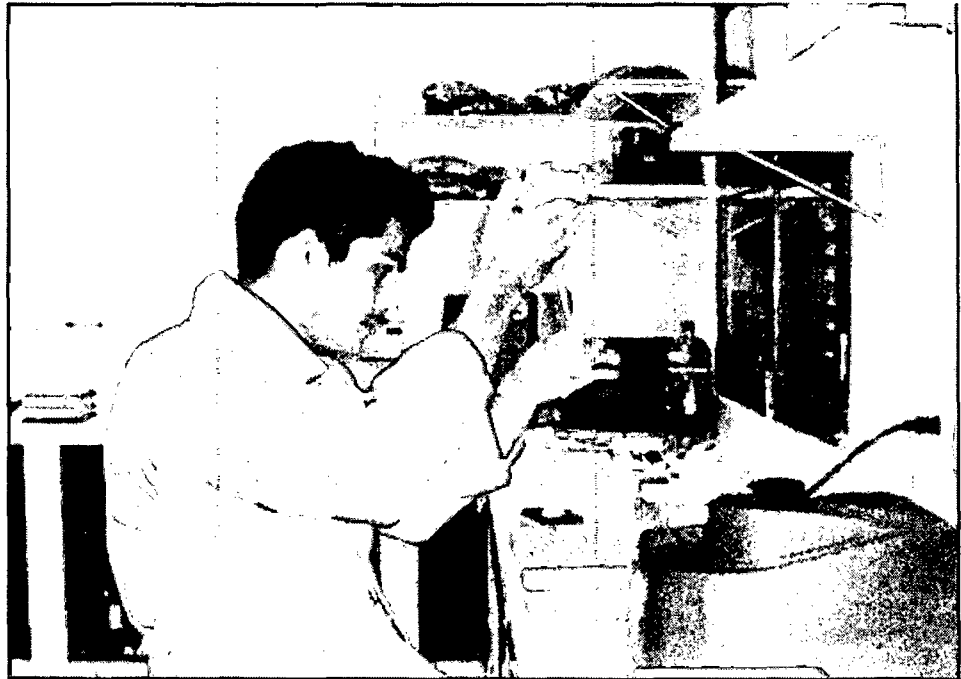


Figura 12. Lecturas realizadas en el espectrofotometro.

ANEXO 9. Figuras de las especies en estudio



Figura 13. *Inga edulis* (Vell) Mart. "guaba".



Figura 14. *Senna alata* (L.) Roxb. "retama tropical".



Figura 15. *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer "copaiba".



Figura 16. *Erythrina fusca* Loureiro "amasisa con espina".

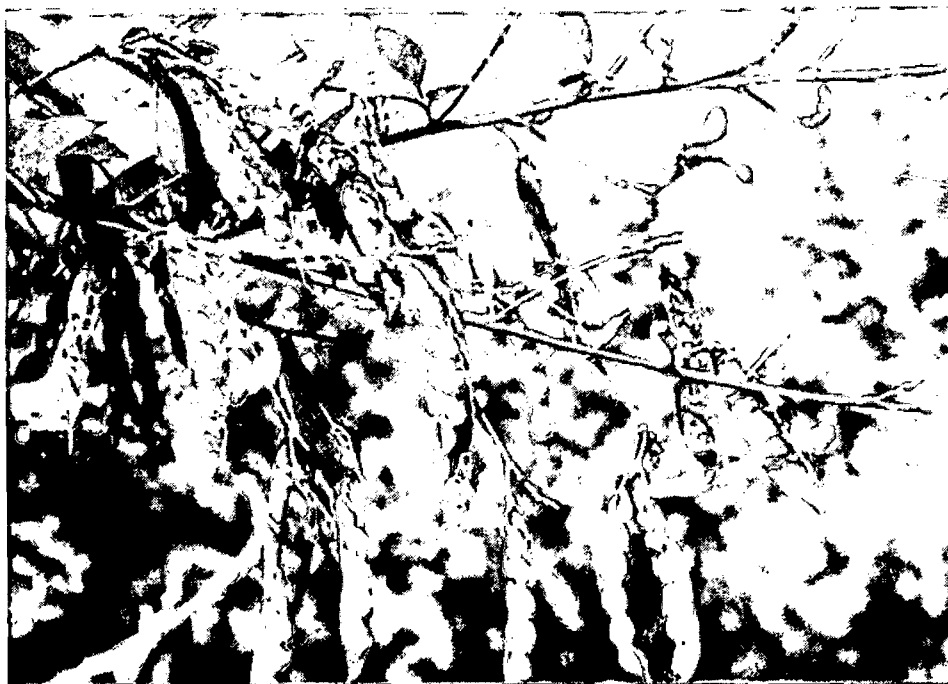


Figura17. *Cajanus cajan* (L.) Millap. "frijol de palo".

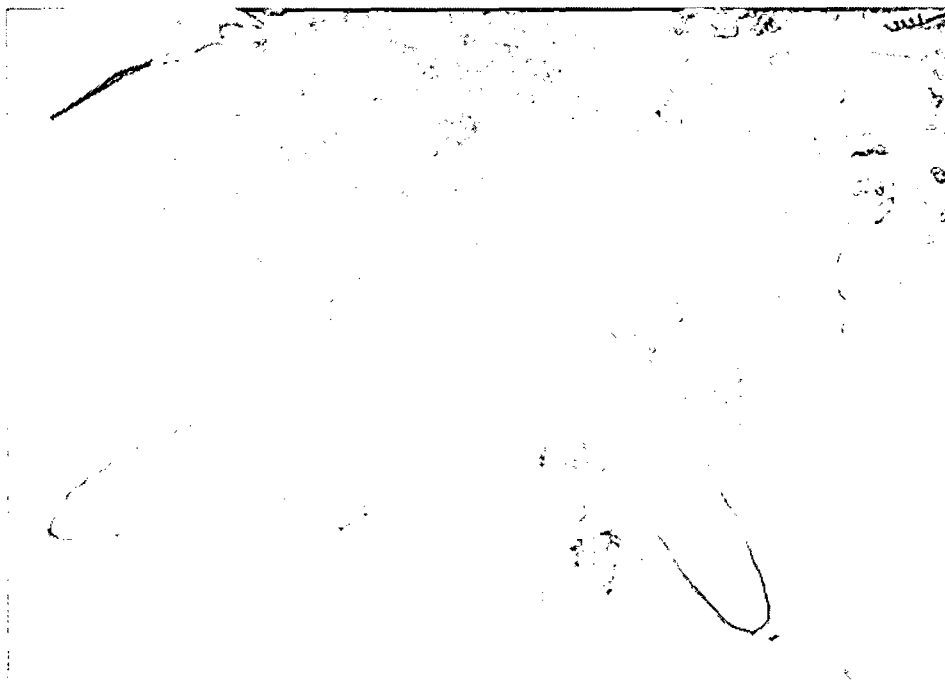


Figura 18. *Parkia velutina* Benist "pashaco curtidor".