

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA**

**FACULTAD DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES**

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



**CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE  
EN EXTRACTOS ACUOSOS E HIDROALCOHOLICOS DE HOJAS Y  
CORTEZA DE *Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urban "topa"**

**Tesis**

**Para obtener el título de:**

**INGENIERO EN RECURSOS NATURALES RENOVABLES  
MENCIÓN FORESTALES**

**ANDY WILLIAMS PERDOMO ANGULO**

**PROMOCIÓN 2009 - II**

**Tingo María – Perú**

**2009**



K50

P45

Perdomo Angulo, Andy W.

Contenido de Polifenoles Totales y Capacidad Antioxidante en Extractos Acuosa y Hidroalcohólica de Hojas y Corteza de *Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urban "topa". Tingo María, 2009.

50 h.; 12 cuadros; 16 fgrs.; 47 ref.; 30 cm.

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

OCHROMA PYRAMIDALE / ANTIOXIDANTE / RADICAL-LIBRE /  
POLIFENOLES / HOJAS - CORTEZA / METODOLOGÍA / TINGO  
MARÍA / RUPA RUPA / LEONCIO PRADO / HUÁNUCO / PERÚ.



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA  
Tingo María – Perú

FACULTAD DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES



### ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS

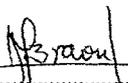
Los que suscriben, Miembros del Jurado de Tesis, reunidos con fecha 07 de enero de 2010, a horas 10:30 a.m. en la Sala de Conferencias de la Facultad de Recursos Naturales Renovables de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, para calificar la tesis titulada:

## “CONTENIDO DE POLIFENOLES TOTALES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN EXTRACTOS ACUOSOS E HIDROALCOHOLICOS DE HOJAS Y CORTEZA DE *Ochroma pyramidale* (Cav. Ex Lam.) Urb.”

Presentado por el Bachiller: **ANDY WILLIAMS PERDOMO ANGULO**, 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, 07 de enero de 2010

  
Ing. MANUEL BRAVO MORALES  
Presidente

  
Ing. LAUREANO ZAVALETA DE LA CRUZ  
Vocal

  
Ing. WARREN RÍOS GARCÍA  
Vocal

AUSENTE  
Ing. M.Sc. TÁNIA GUERRERO VEJARANO  
Asesora



## DEDICATORIA

A Dios, por  
concederme la vida

A mis Padres: Niler  
Perdomo Rodríguez y  
María Martha Angulo  
Bardalez por sus  
sabios consejos en la  
culminación de mi  
carrera profesional.

A mi hermano: Jack  
Smith Perdomo Angulo  
con amor Fraternal.

## **AGRADECIMIENTO**

A la Universidad Nacional Agraria de la Selva, por haberme forjado como profesional.

A todos mis profesores de la Facultad de Recursos Naturales Renovables, quienes contribuyeron en mi formación académica.

A la Ingeniera M.Sc. Tania E. Guerrero Vejarano, Patrocinador del presente trabajo de investigación, por su motivación e incalculable colaboración en el desarrollo de la presente investigación.

A mis abuelos maternos José Angulo Rengifo y Reydelinda Bárdales Rojas, a mi bisabuela Rogelia rojas, por sus ilustres consejos.

A mis abuelos paternos José Perdomo Solsol y Lastenia Rodríguez del águila por brindarme apoyo moral en dicho trabajo.

A mis tíos Ruber Perdomo Rodríguez, Fidencio Perdomo Rodríguez, Sadith Angulo Bardalez y Loydi Angulo Bardalez, Sofia Rodríguez del águila, Bertha Rodríguez del águila, por sus sabios consejos.

Y a todas las personas que de una u otra forma contribuyeron significativamente en la realización y culminación del presente trabajo de investigación.

## ÍNDICE

	Página
I. INTRODUCCIÓN .....	1
Objetivos.....	2
Objetivo general .....	2
Objetivos específicos.....	2
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1. Polifenoles .....	3
2.1.1. Fenoles, ácidos fenólicos y ácidos fenil acéticos.....	3
2.1.2. Ácidos cinámicos, cumarinas, isocumarinas y cromonoles .....	4
2.1.3. Flavonoides (quercetina, kaempferol y miricetina) .....	5
2.1.4. Los polifenoles como antioxidantes.....	5
2.2. Radicales libres y antioxidantes.....	7
2.2.1. Radicales libres .....	7
2.2.1.1. Radicales libres inorgánicos o primarios.....	8
2.2.1.2. Radicales libres orgánicos o secundarios.....	8
2.2.1.3. Intermediarios estables relacionados con los radicales libres del oxígeno.....	8
2.2.2. Antioxidantes.....	9
2.2.2.1. Sistemas de defensa antioxidante .....	10
2.2.2.2. Características de las enzimasantioxidantes.....	11
2.2.3. Modelos <i>In Vitro</i> para evaluar la actividad antioxidante.....	13
2.2.4. Radical 2,2 difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH*).....	14
2.3. Generalidades de la especie en estudio <i>Ochroma Pyramidale</i>	

(Cav.ex Lam.) Urban. ....	16
2.3.1. Descripción botánica .....	16
2.3.2. Clasificación taxonómica .....	16
2.3.3. Usos .....	17
2.4. Investigaciones sobre el género <i>Ochroma</i> .....	17
2.5. Investigaciones realizadas sobre polifenoles y capacidad antioxidante .....	19
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS .....</b>	<b>21</b>
3.1. Lugar de ejecución.....	21
3.2. Recurso vegetal .....	21
3.3. Diseño experimental y factores estudiados.....	21
3.4. Metodología experimental.....	22
3.4.1. Preparación de muestras.....	22
3.4.2. Obtención de los extractos (hojas y corteza).....	22
3.4.2.1. Extractos hidroalcohólicos .....	23
3.4.2.2. Extractos acuosos.....	23
3.4.3. Determinación del contenido total de polifenoles .....	24
3.4.4. Determinación de la capacidad antioxidante .....	25
3.5. Análisis estadístico .....	26
3.5.1. Modelo aditivo lineal .....	26
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>28</b>
4.1. Contenido de polifenoles totales.....	28
4.2. Capacidad antioxidante frente al radical (DPPH*) .....	30
4.3. Contenido de polifenoles, capacidad antioxidante frente al	

radical DPPH respecto al Tipo de droga vegetal.....	33
4.3.1. Contenido de polifenoles respecto al tipo de droga vegetal ...	34
4.3.2. Capacidad antioxidante respecto al tipo de droga vegetal .....	35
4.4. Contenido de polifenoles, capacidad antioxidante frente al radical DPPH respecto al tipo de extracto.....	35
4.4.1. Contenido de polifenoles respecto al tipo de extracto .....	36
4.4.2. Capacidad antioxidante respecto al tipo de extracto .....	37
V. CONCLUSIONES .....	38
VI. RECOMENDACIONES .....	39
VII. ABSTRACT.....	40
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	41
IX. ANEXO .....	50

## ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro N°	Página
1. Clasificación de los antioxidantes según el sitio donde actúan.....	11
2. Clasificación de los antioxidantes según su origen.....	13
3. Factores estudiados y sus correspondientes niveles.....	22
4. Análisis de varianza para los parámetros de <i>Ochroma pyramidale</i> (Cav. ex Lam.) Urban.....	26
5. Contenido de polifenoles totales (mg CATE/g) en extractos hidroalcoholicos y acuosos de hojas y corteza.....	29
6. IC <sub>50</sub> (ug/ml) en extractos hidroalcoholicos y acuosos de hojas y corteza frente al radical DPPH.....	32
7. Prueba de Tukey respecto al tipo de droga vegetal en el contenido de polifenoles totales (mgCATE/g).....	34
8. Prueba de Tukey respecto al tipo de droga vegetal en la capacidad antioxidante IC <sub>50</sub> (µg/ml) frente al radical (DPPH*).....	35
9. Prueba de Tukey respecto al tipo de extracto en el contenido de polifenoles totales (mg CATE/g).....	36
10. Prueba de Tukey respecto al tipo de extracto en la capacidad antioxidante IC <sub>50</sub> (ug/ml) frente al radical (DPPH*).....	37
11. ANVA para el contenido total de polifenoles.....	53
12. ANVA para la capacidad antioxidante frente al radical (DPPH*).....	53

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N°	Página
1. Algunos compuestos polifenólicos presentes en vegetales .....	4
2. Técnicas para evaluar la actividad antioxidante en suplementos dietarios y plantas medicinales .....	14
3. Química de la inhibición del radical libre por una especie antioxidante.....	15
4. Diseño experimental para determinar los polifenoles totales y capacidad antioxidante de <i>Ochroma pyramidale</i> (Cav. ex Lam.) Urban. ...	27
5. Contenido de polifenoles totales (mg CATE/g) en extractos hidroalcohólicos y acuosos de hojas y corteza .....	30
6. IC <sub>50</sub> (ug/ml) en extractos hidroalcohólicos y acuosos de hojas y corteza frente al radical (DPPH*) .....	32
7. Prueba de Tukey respecto al tipo de droga vegetal en el contenido de polifenoles totales .....	34
8. Prueba de Tukey respecto al tipo de droga vegetal en la capacidad antioxidante frente al radical (DPPH*) .....	35
9. Prueba de Tukey respecto al tipo de extracto en el contenido de polifenoles totales .....	37
10. Prueba de Tukey respecto al tipo de solvente en la capacidad antioxidante frente al radical (DPPH*) .....	37
11. Curva patrón de catequina para la cuantificación de polifenoles totales .....	52
12. Hojas y flores de <i>Ochroma pyramidale</i> (Cav. ex Lam.) Urban. ....	54
13. Muestras acondicionadas para el secado .....	54

14. Realizando la molienda de las muestras de hojas y corteza.....	55
15. Efectuando las diluciones.....	55
16. Colocando la muestra en el espectrofotómetro para efectuar la lectura.....	56

## RESUMEN

*Ochroma pyramidale* (Cav. ex. Lam) urban es un árbol medicinal de la Amazonía usada en el tratamiento de la tos seca, diarrea, cólicos, reumatismo y dolores de las articulaciones, así como también para combatir infecciones del pecho, bronquitis y gripe; los extractos de esta planta mostraron actividad en vacas para asistir la expulsión de la placenta después de parto. Sin embargo, varios de estas acciones no han sido demostrados científicamente. Por ese motivo se hizo la investigación en polifenoles totales y capacidad antioxidante. Los polifenoles totales fueron determinados por método de Folin-Ciocalteu y la capacidad antioxidante fue determinado por la inhibición de 1,1 diphenil-2-picrilhidrazilo (DPPH\*). El contenido de polifenoles totales fue  $181,77 \pm 1,52$  mg CATE/g de muestra seca en extracto hidroalcoholico de corteza ( $P < 0,01$ ). El  $IC_{50}$  en la capacidad de secuestro de radicales (DPPH\*) fue  $20,81 \pm 0,08$   $\mu$ g/ml ( $P < 0,01$ ), en extracto hidroalcoholico de corteza. En conclusión nuestros resultados indican que *Ochroma pyramidale* (Cav. ex. Lam) urban, posee un alto contenido de polifenoles totales, así como también buena capacidad antioxidante.

## I. INTRODUCCIÓN

La amazonía peruana tiene una alta diversidad de plantas medicinales, usadas como medicina alternativa para el tratamiento de diversos tipos de enfermedades (cólicos, diarreas, dolores de cabeza, dolores musculares, etc). Dentro de estas tenemos a *Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urban a la cual, se ha estudiado más como especie forestal que como especie medicinal.

Las propiedades medicinales de las plantas se deben a la presencia de sustancias químicas como glicósidos, alcaloides, polifenoles entre otros, en diversas partes de la planta como: Hojas, corteza, etc. En la presente investigación se cuantifico polifenoles debido a que tienen propiedades antioxidantes y son una alternativa para proteger del envejecimiento prematuro, el cáncer y otras enfermedades que cada día se incrementan, disminuyendo el promedio de vida en el mundo.

La capacidad antioxidante de la especie forestal *Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urban no son conocidas, es decir no existen estudios relacionados a su capacidad inhibidora de radicales libres que podría presentar esta planta.

Es por ello que la determinación de la capacidad antioxidante y la identificación cualitativa de metabolitos secundarios presentes, requiere hacer estudios necesarios a través de tecnologías adecuadas, para que de esta manera se tenga el conocimiento y poder validar el uso de esta planta como antioxidante.

## **Objetivos**

### **Objetivo general**

- Determinar el contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante en extractos acuosos e hidroalcoholicos de hojas y corteza de *Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urban "topa".

### **Objetivos específicos**

- Determinar el contenido de polifenoles totales en extractos acuosos y hidroalcoholicos de hojas y corteza de *Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urban "topa".
- Determinar la capacidad antioxidante en extractos acuosos y hidroalcoholicos de hojas y corteza de *Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urban "topa".

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Polifenoles

Son metabolitos secundarios de las plantas, constituyen un amplio grupo de sustancias químicas de numerosas especies de plantas. Su función en las plantas es de actuar como metabolitos esenciales para el crecimiento y reproducción y como agentes protectores frente al ataque de agentes patógenos, incluyendo bacterias, fungí y virus, radiación UV (MUÑOZ *et al.*, 2007); así como metabolitos esenciales para el crecimiento y reproducción de éstas. En la actualidad, se ha encontrado más de 8 000 compuestos diferentes reportándose que los polifenoles son un conjunto heterogéneo de moléculas que comparten la característica de poseer en su estructura varios grupos bencénicos sustituidos por funciones hidroxílicas (HERNANDEZ y PRIETO, 1999; MARTINEZ *et al.*, 2000; VILLANUEVA, 2003). En la (Figura 1), se muestra algunos polifenoles frecuentes en vegetales.

#### 2.1.1. Fenoles, ácidos fenólicos y ácidos fenil acéticos

Dentro de este grupo los fenoles simples como el fenol, creso timol y resorcinol están ampliamente distribuidos entre todos las especies vegetales.

Igualmente, los ácidos fenólicos tales como el gálico, vainillínico, hidroxibenzoico y los aldehídos como la vainillina, también son abundantes en plantas superiores y helechos. Pero existe poca información científica sobre los ácidos fenil acéticos en los vegetales (BELITZ y GROSCH, 1988; MARTINEZ *et al.*, 2000).

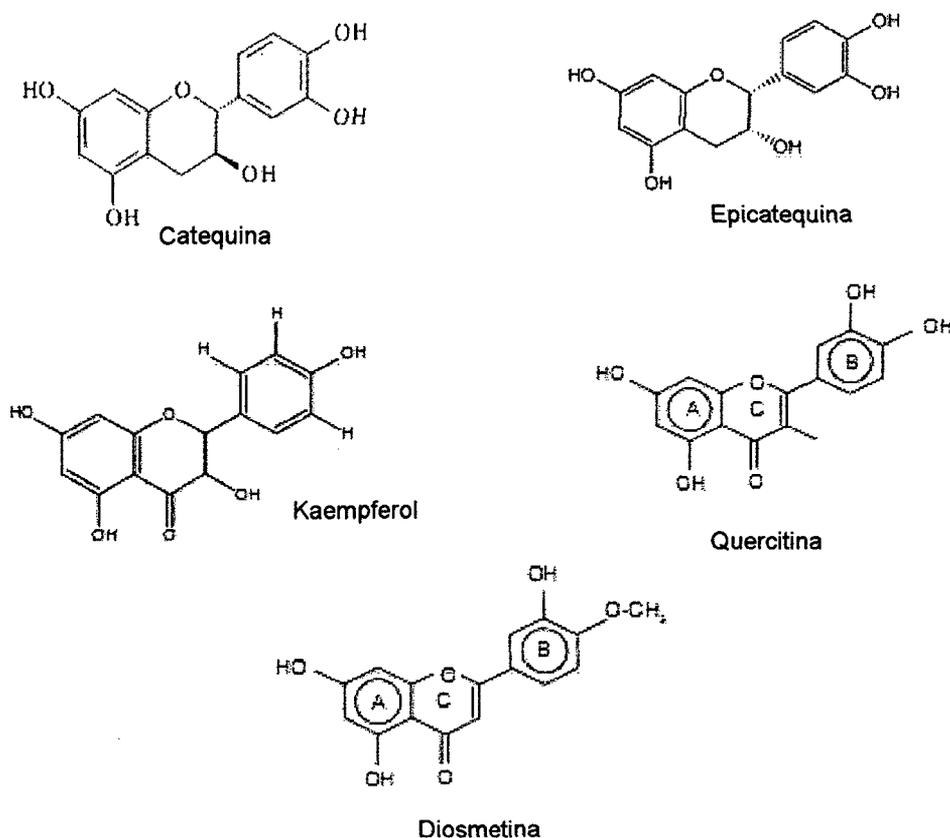


Figura 1. Algunos compuestos polifenolicos presentes en vegetales

### 2.1.2. Ácidos cinámicos, cumarinas, isocumarinas y cromonoles

Los ácidos cinámicos (caféico, ferúlico, p-cumárico y sináptico) se encuentran raramente libres, por lo general está presente en forma de derivados. Así por ejemplo, el ácido caféico se encuentra esterificado con el

ácido químico como ácidos clorogénico, isoclorogénico, neoclorogénico y criptoclorogénico. Las cumarinas e isocumarinas están en forma a partir de las antocianidinas ante incrementos de pH del medio (BELITZ y GROSCH, 1988; MARTINEZ *et al.*, 2000).

### **2.1.3. Flavonoides (quercetina, kaempferol y miricetina)**

Los flavonoides constituyen el grupo más importante dentro de esta clasificación, dividiéndose en varias subclases con más de 5000 compuestos, siendo los más distribuidos en las plantas, son sustancias polifenólicas de bajo peso molecular que comparten el esqueleto común de difenilpiranos C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>: dos anillos bencenos unidos a través de un anillo pirona y pirán heterocíclico, esta estructura presenta una multitud de sustituciones y variaciones en el anillo pirona dando lugar a flavonoles, flavonas, flavanonas, flavanololes, isoflavonoides, catequinas, calconas, dihidrocalconas, etc. (HERTOG *et al.*, 1993; MARTINEZ *et al.*, 2000).

### **2.1.4. Los polifenoles como antioxidantes**

Los polifenoles son poderosos antioxidantes que protegen a las Lipoproteínas de Baja Densidad (LBD) del daño oxidativo, y su acción como antioxidante está relacionada no sólo con su estructura química sino que también con su localización en la partícula. Cada polifenol actúa por uno o más de los mecanismos de acción; al actuar como antioxidantes, los polifenoles

protegen de enfermedades crónicas que hoy son la preocupación de la salud pública mundial. Los compuestos polifenólicos tienen propiedades conocidas en el secuestro de radicales libres, inhibición de hidrólisis y oxidación de enzimas y acción anti-inflamatorio (FRANKEL *et al.*, 1995; RICE-EVANS *et al.*, 1997; POURMORAD *et al.*, 2003).

Los fenoles, especialmente los flavonoides y los antocianos, muestran una gran capacidad para captar radicales libres causantes del estrés oxidativo, atribuyéndoseles a su vez un efecto beneficioso en la prevención de enfermedades tales como: cardiovasculares, circulatorias, cancerígenas y neurológicas. Poseen actividades anti-inflamatoria, antialérgica, antitrombótica, antimicrobiana y antineoplásica (KUSKOSKI *et al.*, 2005).

Los polifenoles son efectivos donadores de hidrógenos, particularmente los flavonoides. Su potencial antioxidante es dependiente del número y de la posición de los grupos hidroxilos y su conjugación, así como de la presencia de electrones donadores en el anillo estructural (KUSKOSKI *et al.*, 2004; ROBLES *et al.*, 2007), debido a la capacidad que posee el grupo aromático de soportar el desapareamiento de electrones por desplazamiento del sistema de electrones- $\pi$  (RAMIREZ-TORTOSA *et al.*, 2001).

En muchos estudios *in vitro* los compuestos fenólicos han demostrado alta actividad antioxidante, incluso mayor que la presentada por vitaminas y carotenoides. Los flavonoides se encuentran entre los

antioxidantes vegetales más potentes, siendo la quercetina el flavonol que combina las características estructurales que confieren poder antioxidante (ROBLES *et al.*, 2007).

## **2.2. Radicales libres y antioxidantes**

### **2.2.1. Radicales libres**

VENEREO (2002); AVELLO y SUWALSKY (2006) manifiestan que, los radicales libres son átomos o grupos de átomos que tienen un electrón desapareado o libre, por lo que son muy reactivos ya que tienden a captar un electrón de moléculas estables con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica. Una vez que el radical libre ha conseguido sustraer el electrón que necesita, la molécula estable que cede se convierte a su vez en un radical libre por quedar con un electrón desapareado, iniciándose así una verdadera reacción en cadena que destruye nuestras células. El exceso de radicales libres provoca diversas enfermedades degenerativas, entre ellas produce el envejecimiento prematuro de la piel por exposición a los rayos solares.

Existe un término que incluye a los radicales libres y a otras especies no radicálicas, pero que pueden participar en reacciones que llevan a la elevación de los agentes prooxidantes y son las especies reactivas del oxígeno (EROS). Los radicales libres del oxígeno se clasifican de la forma siguiente (VENEREO, 2002).

### **2.2.1.1. Radicales libres inorgánicos o primarios**

Se originan por transferencia de electrones sobre el átomo de oxígeno, representan por tanto distintos estados en la reducción de este y se caracterizan por tener una vida media muy corta; estos son el anión superóxido, el radical hidróxilo y el óxido nítrico.

### **2.2.1.2. Radicales libres orgánicos o secundarios**

Se pueden originar por la transferencia de un electrón de un radical primario a un átomo de una molécula orgánica o por la reacción de 2 radicales primarios entre sí, poseen una vida media un tanto más larga que los primarios; los principales átomos de las biomoléculas son: carbono, nitrógeno, oxígeno y azufre.

### **2.2.1.3. Intermediarios estables relacionados con los radicales libres del oxígeno**

Aquí se incluye un grupo de especies químicas que sin ser radicales libres, son generadoras de estas sustancias o resultan de la reducción o metabolismo de ellas, entre las que están el oxígeno singlete, el peróxido de hidrógeno, el ácido hipocloroso, el peroxinitrito, el hidroperóxidos orgánicos.

### 2.2.2. Antioxidantes

Los organismos vivos poseen mecanismos antioxidantes para defenderse de las especies reactivas de oxígeno. En condiciones normales el oxígeno humano produce al respirar, sustancias “contaminantes”, químicamente inestables, llamadas especies reactivas del oxígeno que en su mayoría son radicales libres. El daño oxidativo que estas especies pueden producir en las macromoléculas biológicas como: lípidos, proteínas, carbohidratos y ácidos nucleicos, es de consecuencia crítica para la célula y se asocia a numerosas patologías (VENEREO, 2002; VILLANUEVA, 2003; AVELLO y SUWALSKY, 2006).

La capacidad antioxidante de una mezcla no viene dada solo por la suma de las capacidades antioxidantes de cada uno de sus componentes; también depende del microambiente en que se encuentra el compuesto. Los compuestos interactúan entre sí pudiendo producirse efectos sinérgicos o inhibitorios. Por otra parte, es necesario considerar que los ensayos *in vivo* pueden presentar algunos inconvenientes, como la adaptabilidad en respuesta al aumento del estrés oxidativo (KUSKOSKI *et al.*, 2005).

Existen diversos métodos para evaluar la actividad antioxidante, ya sea *in vitro* o *in vivo*. Una de las estrategias más aplicadas en las medidas *in vitro* de la capacidad antioxidante total de un compuesto, mezcla o alimento, consiste en determinar la actividad del antioxidante frente a sustancias

cromógenas de naturaleza radical; la pérdida de color ocurre de forma proporcional con la concentración. No obstante, las determinaciones de la capacidad antioxidante realizadas *in vitro* nos dan tan sólo una idea aproximada de lo que ocurre en situaciones complejas *in vivo* (KUSKOSKI *et al.*, 2005).

#### **2.2.2.1. Sistemas de defensa antioxidante**

El sistema de defensa antioxidante está constituido por un grupo de sustancias que al estar presente en concentraciones bajas con respecto al sustrato oxidable, retrasan o previenen significativamente la oxidación de este. Los antioxidantes impiden que otras moléculas se unan al oxígeno, al reaccionar-interactuar más rápido con los radicales libres del oxígeno y las especies reactivas del oxígeno que con el resto de las moléculas presentes, en un determinado microambiente – membrana plasmática, citosol, núcleo o líquido extracelular (Cuadro 1). La acción del antioxidante es de sacrificio de su propia integridad molecular para evitar alteraciones de moléculas - lípidos, proteínas, ADN, etc., funcionalmente vitales o más importantes. Su acción la realizan tanto en medios hidrofílicos como hidrofóbicos. Actúan como eliminadoras (Scavengers), con el objetivo de mantener el equilibrio prooxidante/antioxidante a favor de estos últimos (Cuadro 2) (VENEREO, 2002).

Cuadro 1. Clasificación de los antioxidantes según el sitio donde actúan.

Intracelular	Membrana	Extracelular
Superóxido dismutasa	Vitamina E	Ceruloplasmia
Catalasa	Betacarotenos	Transferinas
Peroxidasa	Ubiquinol-10	Lactoferinas
DT-deafarasa		Albuminas
GSH		Haptogolinas
Proteínas que ligan metales		Vitamina C
Sistemas proteolíticos		Ácido úrico
Vitamina C		Vitamina E

Fuente: VENEREO, 2002

#### **2.2.2.2. Características de las enzimas antioxidantes (VENEREO, 2002)**

- **Catalasa (CAT).** Tiene una amplia distribución en el organismo humano, alta concentración en hígado y riñón, baja concentración en tejido conectivo y epitelios, prácticamente nula en tejido nervioso y se localiza a nivel celular: mitocondrias, peroxisomas, citosol (eritrocitos); presenta 2 funciones fundamentales: catalítica y peroxidativa y forma parte del sistema antioxidante CAT/SOD que actúa en presencia de altas concentraciones de peróxido de hidrógeno.
- **Glutación peroxidasa (GPx).** Es una enzima selenio dependiente, cataliza la reducción de peróxido de hidrógeno alipoperóxido (L-OOH), usa como agente reductor el glutati6n reducido (GSH) y se localiza en: citosol (eritrocitos), lisosomas

(neutrófilos, macrófagos y otras células del sistema inmune). Existen 3 formas de GPx: GPx-c o forma celular: tiene mayor afinidad por el peróxido de hidrógeno que por el lipoperóxido; GPx -p o forma extracelular: presenta afinidad semejante para ambos sustratos; GPx-PH: Tiene afinidad específica para los lipoperóxidos. Las formas GPx-c y GPx-p no son capaces de utilizar los lipoperóxidos.

- **Superóxido dismutasa.** Su distribución es amplia en el organismo, está formada por un grupo de enzimas metaloides: Cu-SOD y Zn-SOD: contienen cobre y cinc en su sitio activo y se encuentran en el citosol y en el espacio inter-membranoso mitocondrial; Mn-SOD: contiene manganeso y se localiza en la matriz mitocondrial; Fe-SOD: contiene hierro y se localiza en el espacio periplasmático de la *E. Coli*. Estas enzimas dismutan el oxígeno para formar peróxido de hidrógeno y su principal función es la protección contra el anión superóxido.

Cuadro 2. Clasificación de los antioxidantes según su origen.

Origen	Acción
1. Exógenos	
Vitamina E	-Neutralizan el oxígeno singlete -Captura radicales libres hidroxilo -Captura O <sub>2</sub> -Neutralizan peróxidos
Vitamina C	-Neutralizan el oxígeno singlete -Captura radicales libres hidroxilo -Captura O <sub>2</sub> -Regenera la forma oxidada de la Vitamina E
Betacarotenos, Flavonoides, Licopenos	-Neutralizan el oxígeno singlete
2. Endógenos	
Enzimáticos	Cofactor
Superóxido dismutasa (SOD)	Cobre, sodio, manganeso
Catalasa (CAT)	Hierro
Glutación peroxidasa (GPx)	Selenio
3. No enzimáticos	
Glutathion	Barreras fisiológicas que enfrenta el oxígeno a su paso desde el aire hasta las células
Coenzima Q	Transportadores de metales
Ácido tiocico	(transferrina y ceruloplasmina)

Fuente: VENEREO, 2002

### 2.2.3. Modelos *In Vitro* para evaluar la actividad antioxidante

El estudio de radicales libres y antioxidantes en la biología, ha producido una revolución médica, que promete una nueva era en la salud y direccionamiento de enfermedades, la acción antioxidante *in vitro* o en alimentos, pueden inhibir continuamente la generación de EROS (Especies reactivas de oxígeno), o por inhibición directa de radicales libres éste puede ser realizado por diversos análisis *in Vitro* (Figura 2), que caracterizan la eficiencia de compuestos bioactivos en plantas y suplementos alimenticios (AUROMA, 2003).

Los métodos de medición de la actividad antioxidante muestran extrema diversidad; muchos procedimientos usan una acelerada oxidación involucrando un iniciador para manipular una o más variables en el sistema de prueba; tales iniciadores incluyen adición de un metal de transición como catalizador, exposición a la luz para promover oxidación fotosensitizada por oxígeno síngle y fuentes de radicales libres (MOSQUERA *et al.*, 2005).

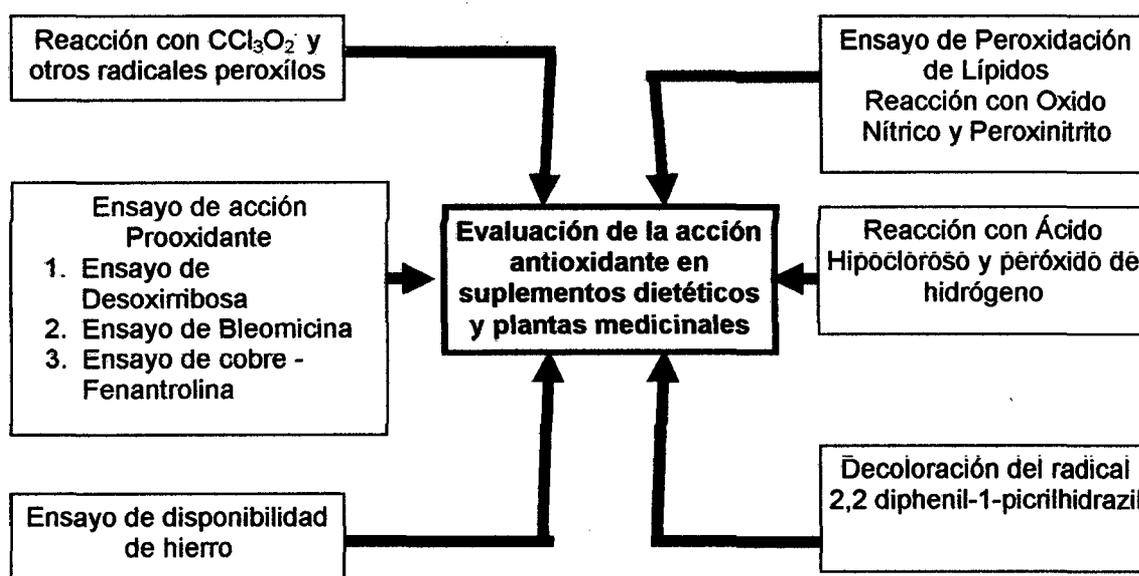


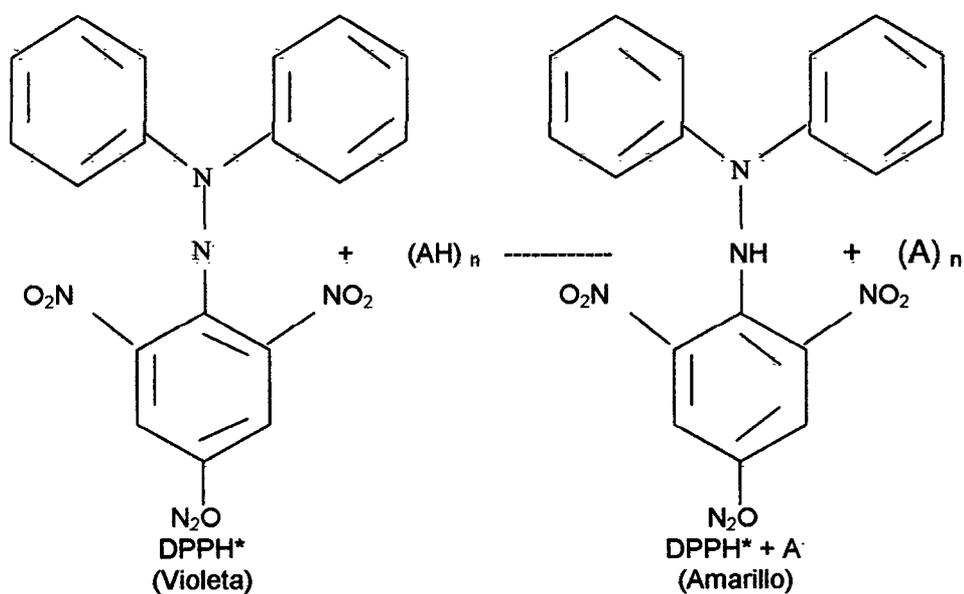
Figura 2. Técnicas para evaluar la actividad antioxidante en suplementos dietarios y plantas medicinales

#### 2.2.4. Radical 2,2 diphenil-1-picrilhidrazil (DPPH\*)

El radical DPPH, es un reactivo que se usa ampliamente para investigar la inhibición de radicales libres por los polifenoles (HIRAMATSU *et al.*, 1997; YILDIRIM *et al.*, 2003), también sufre decoloración (Figura 2) por la cisteina, glutatión, ácido ascórbico, tocoferol, compuestos

polihidroxiaromáticos (hidroquinona, pirogalol, etc.) y aminas aromáticas (p-finilendiamina, p-aminofenol, etc.) (BLOIS, 1958).

El mecanismo de reacción consiste en sustraer un átomo de hidrógeno de un fenol donador para dar difenilpicrilhidrazina y un radical fenoxil (Figura 3), (LEBEAU *et al.*, 2000). La reacción involucra un cambio de color de violeta a amarillo, que fácilmente es monitoreado. (BLOIS, 1958; BRAND – WILLIAMS, 1995).



Donde:

DPPH – H = Radical DPPH reducido

(A H)<sub>n</sub> = Especies de antioxidantes

n = Indica la presencia de 1 o más especies de radicales.

Figura 3. Química de la inhibición del radical libre por una especie antioxidante (ESPIN *et al.*, 2000).

## **2.3. Generalidades de la especie en estudio *Ochroma Pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urban.**

### **2.3.1. Descripción botánica**

Árbol de 10 a 30 m de altura y de 10 a 60 cm de diámetro. Copa amplia con ramas gruesas y extendidas. Tronco recto y cilíndrico, a veces con raíces tablares pequeñas en la base. Corteza exterior oscura o grisácea. Ramitas terminales gruesas y pubescentes. Hojas simples y alternas, lobuladas, con 3 a 5 lóbulos, muy variables en tamaño, generalmente miden de 9 a 40 cm de largo y de 8 a 35 cm de ancho, ovadas, con ápice agudo y base cordada. Láminas foliares verdes en el haz y de color crema o marrón en el envés. Estípulas foliares y persistentes en los ápices de las ramitas. Pecíolos de 5 a 10 cm de largo, pubescentes. Flores blancas o crema amarillentas, grandes y en forma de "embudo". Frutos en cápsulas alargadas de 10 a 25 cm de largo, verdes y con surcos longitudinales, tornándose negros y dehiscentes al madurar. Cuando los frutos abren forman una capa algodonosa que parece la "pata de un conejo" y en la cual se encuentran envueltas las semillas (BARRANCE *et al.*, 2004)

### **2.3.2. Clasificación taxonómica (CRONQUIST, 1981)**

División	: Magnoliophyta
Clase	: Magnoliopsida

Sub clase	: Dilleniidae
Orden	: <u>Malvales</u>
Familia	: BOMBACACEAE
Género	: <i>Ochroma</i>
Especie	: <i>O. pyramidale</i> (Cav. ex Lam.) Urb.
Nombre común	: Topa o palo balsa

### 2.3.3. Usos

Madera liviana, empleada en el aislamiento térmico, fónico y vibratorio, en la construcción de balsas, boyas, embalajes especiales, maquetas de aviones y de autos. Los pelos algodonosos del fruto se utilizan para fabricar colchones, salvavidas y almohadas. El balsa es un árbol de crecimiento rápido empleado para rehabilitar suelos degradados, también como planta ornamental por sus hojas y flores vistosas (BARRANCE *et al.*, 2004).

### 2.4. Investigaciones sobre el género *Ochroma*

PAULA *et al.* (1995) y PAULA (1997) menciona que, *Ochroma lagopus* Swartz., su única historia del uso medicinal de esta planta está en la veterinaria, donde la infusión de su corteza en vacas para asistir a la expulsión de la placenta después de parto. Otra actividad biológica importante de esta planta se ha estudiado y que llega a ser relacionada a la ocurrencia del gran número de los insectos muertos en sus flores.

La diferencia del contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante, realizado por las dos formas de extracción una por maceración con etanol al 50 % y otra por infusión en agua a 95 °C, está influenciada por las propiedades fisicoquímicas de las diferentes estructuras de los polifenoles, la polaridad del solvente usado y el tiempo de extracción (GEANKUPLIS, 1982; SINGH y HELDMAN, 1998; TROMELIN, 2003), la corteza posee mayor cantidad de compuestos fenólicos y a la naturaleza de actuar como parte protectora de factores externos que pueden dañar a la planta (FOO *et al.*, 1997; GHASEMPOUR *et al.*, 1998; GARCÍA, 2004).

Del extracto acetónico de hojas de *Ochroma pyramidale*, fueron aislados lupeol, ácido oleanólico, estigmasterol,  $\beta$ -sitosterol, b-D-glucopiranosido de  $\beta$ -sitosterilo, catequina, epicatequina y 8-C-b-D-glucopiranosil apigenina (vitexina) (VASQUEZ *et al.*, 2001).

KUSKOSQUI *et al.* (2005) y OKAWA *et al.* (2001) reporta que el número de grupos hidroxilo no siempre es importante cuando se compara la capacidad antioxidante sino la posición del grupo hidroxilo puede ser más importante para reducir el radical (DPPH\*). HU y KITTS (2000), reportan que la conjugación extendida y un gran número de grupos hidroxilo en una estructura pueden ser una de las causas de su poder reductor y gran potencial para donar radicales hidrógeno a los radicales libres.

## 2.5. Investigaciones realizadas sobre polifenoles y capacidad antioxidante.

MELCHOR (2002) manifiesta que, la actividad antioxidativa de *Camellia sinensis* (L.) Kuntze. "té verde" expresada como coeficiente de inhibición del 50 % de radicales libres (IC<sub>50</sub>), fue de 47 µg/ml y las condiciones de almacenamiento (60 días) no disminuyó dicha actividad.

DAZA (2004) manifiesta que, la mayor capacidad antioxidativa de *Calycophyllum spruceanum* (Benth.) Hook., reflejada en términos de IC<sub>50</sub>, lo presenta el extracto acetona/agua, de la muestra de hoja recolectada a las 05:00 p.m. con 37,148 ± 5,565 µg/ml, y en la extracción acuosa, la muestra de corteza recolectada a las 07:00 a.m. con 52,352 ± 2,669 µg/ml.

RAMOS *et al.* (2008), evaluó la capacidad antioxidante de nueve extractos de las plantas medicinales siguientes: Canela (*Cinnamomum zeylanicum*), lagarto caspi (*Calophyllum brasiliense*), camu camu (*Myrciaria dubia*), muña (*Minthostachys mollis*), hiporuro (*Alchornea castaneifolia*), yacón (*Smallanthus sonchifolius*), maca (*Lepidium peruvianum* y *Lepidium meyenii*), por el método de la decoloración del radical 2,2-diphenil-1-picrilhidrazil (DPPH\*). La capacidad antioxidante obtenida a las concentraciones de 1ug/mL, 50 ug/mL, 100 ug/mL y 200 ug/mL fueron: canela (Extracto etanólico de la corteza) 97,59 % a una concentración de 1 ug/mL, lagarto caspi (E. metanólico de hojas) 99,76 % a 50 ug/mL, camu camu (E. metanólico del fruto)

98,09 % a 50 ug/mL, muña (E. acuoso de hojas) 92,41 % a 50 ug/mL, hiporuro (E. metanólico de hojas) 75,96 % a 50 ug/mL, Lagarto (E. acuoso de hojas) 110,56 % a 100 ug/mL, maca K (E. acuoso de hipocotilo) 95,55 % a 200 ug/mL y maca amazon (E. metanólico de hipocotilo) 88,21 % a 200 ug/mL.

ESTRELLA (2002) determinó el contenido de polifenoles en *Aloysia tripilla* (L'Hér.) "cedrón" que obtuvo  $2,44 \pm 0,05$  mg AGE/g peso fresco. ESTELO (2003) determinó el contenido de polifenoles en dos especies de "chanca piedra", obteniendo para *Phyllanthus urinaria* L. de  $7,32 \pm 0,05$  mg AGE/g y *P. niruri* L. de  $3,010 \pm 0,05$  mg AGE/g muestra seca.

MURILLO *et al.* (2007) determinó el contenido de polifenoles de *Bauhinia kalbreyeri* Harms, realizado por las dos formas de extracción en hojas y corteza (etanólico con 26,02 mg AGE/g y 8,4 mg AGE/g; agua (decocción) con 23,19 mg AGE/g y 18,47 mg AGE/g respectivamente).

VASQUEZ (2008) determino en la prueba de (DPPH\*), que los estratos de hoja y corteza de *Croton draconoides* Muell. Arg fueron los que presentaron el mayor contenido de antioxidantes con 570.375 ul/mL y 268.5969 ul/mL. Llego a la conclusión que las zonas de Pucallpa y Tingo María poseen un alto poder de capacidad antioxidante.

ESTELO (2003) reporta un  $IC_{50} = 138,831$  y  $1454,284$   $\mu$ g/ml en la "chanca piedra" (*Phyllanthus urinaria* L. y *Phyllanthus niruri* L.) en las dos especies estudiadas.

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Lugar de ejecución**

El presente trabajo de investigación se desarrolló en el laboratorio de Fitoquímica de la Facultad de Recursos Naturales Renovables de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.

#### **3.2. Recurso vegetal**

Las partes vegetativas utilizados fueron las hojas maduras y cortezas del primer tercio de la especie *Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urban. (topa). Las muestras fueron colectadas a las 9:30 am del vivero forestal UNAS.

#### **3.3. Diseño experimental y factores estudiados**

Se utilizó un Diseño Experimental Completamente al Azar (Figura 4) (DCA) con un arreglo factorial de 2A x 2B. En el (Cuadro 3), factores estudiados y sus correspondientes niveles.

Cuadro 3. Factores estudiados y sus correspondientes niveles.

Factores	Símbolo
- Hoja	a <sub>1</sub>
- Corteza	a <sub>2</sub>
- Acuoso	b <sub>1</sub>
- Hidroalcoholico	b <sub>2</sub>

### 3.4. Metodología experimental

#### 3.4.1. Preparación de muestras

Las muestras frescas (hojas y corteza) fueron secadas en una estufa a  $40 \pm 5$  °C, por 8 horas, posteriormente fueron molidas en un molino de cuchillas, con un tamiz de 2 mm y almacenadas en bolsas de papel a temperatura ambiente hasta sus respectivos análisis.

#### 3.4.2. Obtención de los extractos (hojas y corteza)

Los extractos de las muestras molidas fueron obtenidos utilizando dos tipos de solventes, según lo refiere (LOCK, 1994).

#### **3.4.2.1. Extractos hidroalcoholicos**

- Se utilizó etanol al 50 %.
- La extracción se realizó por maceración durante 48 horas en matraces de 200 ml.
- Se agregó en el matraz 5 gr de materia seca con 100 ml de mezcla hidroalcohólica.
- El extracto se separó mediante la centrífuga que trabaja en frío para separar los sólidos y el líquido en un proceso de purificación.
- Luego el sobrenadante se puso en microtubos de 1500  $\mu$ L de capacidad, centrifugados a 10000 rpm / 5 minutos a 4 °C.
- Finalmente se realizó la dilución de manera adecuada a partir del extracto para obtener las siguientes diluciones (1/5, 1/10, 1/20, v/v) para su análisis respectivo.

#### **3.4.2.2. Extractos acuosos**

- Se utilizó agua destilada
- La extracción se realizó por Infusión durante 30 minutos con agua (95 °C), en matraces de capacidad de 200 ml.
- Se agregó en el matraz 5 gr de materia seca con 100 ml de agua destilada.
- El extracto se separó mediante la centrífuga que trabaja en frío para separar los sólidos y el líquido en un proceso de purificación.

- Luego el sobrenadante se puso en microtubos de 1500  $\mu\text{L}$  de capacidad; centrifugados a 10000 rpm / 5 minutos a 4 °C.
- Finalmente se realizó la dilución de manera adecuada partir del extracto para obtener las siguientes diluciones (1/5, 1/10, 1/20, v/v) para su análisis respectivo.

### **3.4.3. Determinación del contenido total de polifenoles**

Se realizó mediante el método de Folin-Ciocalteu (Singleton y Rossi, 1965., citado por SAUCIER y WATERHOUSE, 1999).

Se preparo las siguientes soluciones en un matraz aforado de 25 ml luego se colocó en tubos de 2 cm de diámetro y 15,04 de longitud el compuesto  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 20 % en  $\text{H}_2\text{O}$  dd, (+), catequina en metanol 0,1m, para construir la curva patrón de catequina (Anexo I. Figura 11), se preparó las siguientes soluciones de concentraciones ( 0; 0,3 ; 1; 3; 10; 30 y 100  $\mu\text{M}$  ) a partir de la solución estock, se agregó en tubos de vidrio de 1,3 cm de diámetro y 10 cm de longitud la cantidad de 1,58 ml de  $\text{H}_2\text{O}$  dd, y 20  $\mu\text{L}$  de patrón catequina utilizando micropipetas con tips de 10 – 1000  $\mu\text{L}$ , y se agregó 100  $\mu\text{L}$  de Folin-Ciocalteu y 300  $\mu\text{L}$   $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 20 % y se leyó la absorbancia a 700 nm. Para la lectura de las muestras se diluyó adecuadamente de manera que la absorbancia esté dentro del rango de la curva estándar. Para el caso del blanco se agrego 20  $\mu\text{L}$  de agua destilada desionizada, 100  $\mu\text{L}$  de solución de fenol Folin-Ciocalteu (Sigma chemical Co.) y se agitó ligeramente, se Incubó

por 1 minuto a temperatura de ambiente, se agregó 300  $\mu\text{L}$  de  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  al 20 %, se incubó por 2 horas a temperatura ambiente; finalmente se registró la absorbancia por espectrofotómetro (marca Genesys 6 UV/VIS) a 700 nm, usando cubetas de poliestireno (1 cm x 1 cm x 4,5 cm).

#### 3.4.4. Determinación de la capacidad antioxidante

Para la evaluación de la capacidad antioxidante se utilizó el radical 2,2-diphenil-1-picrilhidrazilo (DPPH\*), reportado por BRAN-WLLIAMS *et al.* (1995).

Se preparó la solución stock (DPPH\*) 1 mM en metanol grado reactivo; se almacenó a 4 °C protegido de la luz con papel metálico; a partir de la solución stock se preparó (DPPH\*) de 100  $\mu\text{M}$  en metanol. La inhibición de radical (DPPH\*) fue determinado por la reacción de 25  $\mu\text{L}$  del extracto con 975  $\mu\text{L}$  de la solución de (DPPH\*) (100  $\mu\text{M}$ ) en una cubeta de poliestireno (1 cm x 1 cm x 4,5 cm) el cual fue registrado la absorbancia a una longitud de onda de 515 nm usando un espectrofotómetro (Genesys 6 UV/VIS) a intervalos de 30 segundos durante 6 minutos. Para la obtención del parámetro  $\text{IC}_{50}$ , fueron ploteados las concentraciones Vs los porcentajes de inhibición. Para el cálculo del porcentaje de inhibición se utilizó la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Inhibición DPPH} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{muestra}}) / A_{\text{control}}] \times 100$$

$A_{\text{control}}$  : absorbancia de la mezcla radical (DPPH\*) inicial

$A_{\text{muestra}}$  : absorbancia de la mezcla de reacción

### 3.5. Análisis estadístico

Los datos se analizaron bajo un Diseño Completamente al Azar con un arreglo factorial de 2A x 2B, las mismas que se muestran en el (Cuadro 4). Para comparar la diferencia entre promedios se utilizara la prueba de Tukey ( $P < 0,01$ ).

Cuadro 4. Análisis de varianza para los parámetros de *Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urban.

Fuente de variación	Grados de libertad
Tipo de droga vegetal (A)	$a-1 = 1$
Tipo de extracto (B)	$b-1 = 1$
A * B	$(a-1)*(b-1) = 1$
Error experimental	$a*b(r-1) = 8$
Total	$a*b*r-1 = 11$

#### 3.5.1. Modelo aditivo lineal

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + (A*B)_{ij} + E_{ij}$$

Donde :

$Y_{ijk}$  : Variable respuesta u observación

$\mu$  : Media poblacional

$A_i$  : Efecto del i – ésimo tipo de droga vegetal

$B_j$  : Efecto del j – ésimo tipo de solvente

$(A*B)_{ij}$  : Efecto de la interacción del  $i$ -ésimo nivel del factor tipo de droga vegetal con el  $j$ -ésimo nivel del factor tipo de solvente

$E_{ij}$  : Error experimental

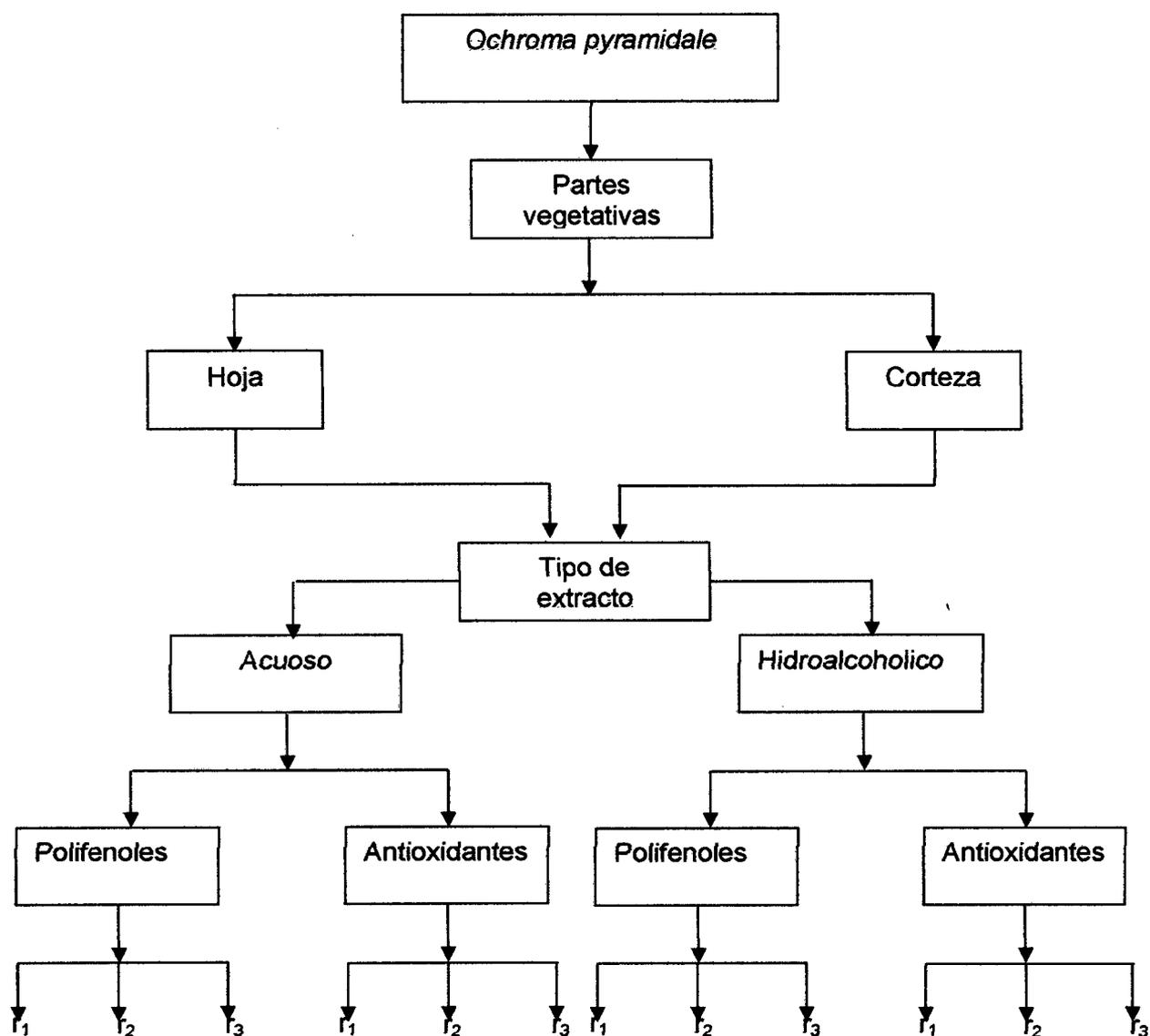


Figura 4. Diseño experimental para determinar los polifenoles totales y capacidad antioxidante de *Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.)

Urban.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Contenido de polifenoles totales

El contenido de polifenoles, varía ampliamente en los dos tipos de alcaloide de la planta evaluada y tipo de extracto.

De acuerdo al análisis de varianza se observa que existe una diferencia altamente significativa entre las interacciones de los dos factores (Anexo II. Cuadro 11), en tal sentido de acuerdo a la prueba de Tukey para lo promedio de polifenoles totales se observa que el mayor contenido de polifenoles totales (Cuadro 5 y Figura 5) presentó las muestras de corteza en extracto hidroalcoholico (etanol al 50 %) siendo  $181,77 \pm 1,52$  mg de catequina equivalente por gramo de muestra seca (mg CATE/g) superando a todas las demás combinaciones ( $P < 0,01$ ) y no existiendo diferencia estadística entre las combinaciones de la corteza en extracto acuoso y las muestras de hoja en extracto hidroalcoholico siendo  $138,89 \pm 2,54$  y  $138,63 \pm 1,32$  mg CATE/g respectivamente.

Comparando con ESTRELLA (2002) determinó el contenido de polifenoles en *Aloysia tripilla* (L'Hér.) "cedrón" que obtuvo

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* L. de 7,32 ± 0,05 mg AGE/g y *P. niruri* L. de 3,010 ± 0,05 mg AGE/g muestra seca. DAZA (2004) determinó el contenido de polifenoles de *Calycophyllum spruceanum* (Benth.) Hook., realizado por las dos formas de extracción (acetona/agua con 2,0814 ± 0,2816 mg AGE/g y agua a 45 °C con 0,3185 ± 0,0176 mg AGE/g). MURILLO *et al.* (2007). Determinó el contenido de polifenoles de *Bauhinia kalbreyeri* Harms, realizado por las dos formas de extracción en hojas y corteza (etanólico con 26,02 mg AGE/g y 8,4 mg AGE/g; agua (decocción) con 23,19 mg AGE/g y 18,47 mg AGE/g respectivamente), con estos resultados y haciendo las comparaciones con el contenido de polifenoles totales de *Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urban, realizado por dos formas de extracción para las muestras de hojas y corteza (Cuadro 5 y Figura 5), podemos manifestar que *Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urban, presenta el mayor contenido de polifenoles que las especies antes indicadas.

Cuadro 5. Contenido de polifenoles totales (mg CATE/g) en extractos hidroalcoolicos y acuosos de hojas y corteza.

Tipo de droga vegetal	Tipo de extracto	Promedios <sup>1</sup>	Tukey ( $P < 0,01$ )
Corteza	Hidroalcoholico	181,77 ± 1,52	a
	Acuoso	138,89 ± 2,54	b
Hoja	Hidroalcoholico	138,63 ± 1,32	b
	Acuoso	70,97 ± 0,94	c

<sup>1</sup>Los valores representan el promedio ± ES. Las letras a-c, representan diferencia estadística entre promedios evaluado mediante DCA, prueba de Tukey ( $P < 0,01$ ).

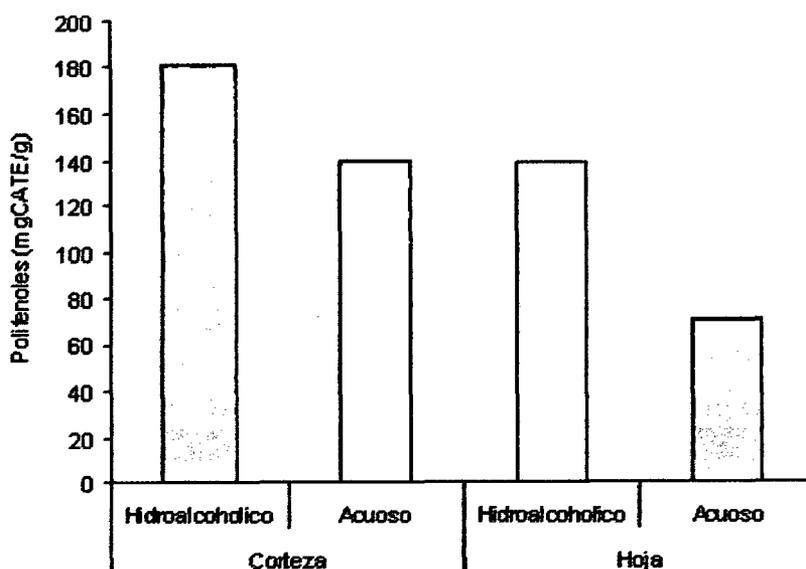


Figura 5. Contenido de polifenoles totales (mg CATE/g) en extractos hidroalcohólicos y acuosos de hojas y corteza.

#### 4.2. Capacidad antioxidante frente al radical (DPPH\*)

La capacidad antioxidante expresado como  $IC_{50}$ , varía ampliamente en las dos partes de la planta evaluada y tipo de extracto; tal es así que de acuerdo al análisis de varianza (ANVA) para la capacidad antioxidante se observa que existe una diferencia estadística altamente significativa entre las interacciones (tratamientos) de el tipo de droga vegetal y tipo de extracto (Anexo II. Cuadro 12).

La prueba de Tukey para los resultados obtenidos se puede observar que la mayor capacidad antioxidante presenta las muestras de

corteza en extracto hidroalcoholico siendo altamente significativa ( $P < 0,01$ )  $20,81 \pm 0,08 \mu\text{g/ml}$ , superando a todas las demás combinaciones y seguido por la combinación corteza extracto acuoso, siendo  $42,09 \pm 0,55 \mu\text{g/ml}$  y presentando la menor capacidad antioxidante fue la combinación correspondiente a las muestras de hoja en extracto acuoso siendo  $114,07 \pm 1,87 \mu\text{g/ml}$  (Cuadro 6 y Figura 6), estos valores mantienen una correlación positiva entre el contenido de polifenoles totales (Cuadro 5 y Figura 5) y la capacidad antioxidante; tal es así que en estudios que (ROBLES *et al.*, 2007) hace en nectarinas, duraznos, ciruelas y cítricos han demostrado que existe una correlación positiva entre la actividad antioxidante y los polifenoles totales.

Los altos valores de  $IC_{50}$  obtenidos mediante las dos formas de extracción y dos tipos de droga vegetal (Cuadro 6 y Figura 6), reflejan una buena capacidad antioxidativa que presenta este recurso, estos valores son superiores a los reportados por, ESTELO (2003) reporta un  $IC_{50} = 138,831$  y  $1454,284 \mu\text{g/ml}$  en la "chanca piedra" (*Phyllanthus urinaria* L. y *Phyllanthus niruri* L.) en las dos especies estudiadas. VASQUEZ (2008) determino en la prueba de (DPPH\*), que los extractos de hoja y corteza de *Croton draconoides* Muell. Arg fueron los que presentaron el mayor contenido de antioxidantes con  $570.375 \text{ ul/mL}$  y  $268.5969 \text{ ul/mL}$ . Llegó a la conclusión que la especie *Croton draconoides* Muell. Arg de Pucallpa y Tingo María poseen un alto poder de capacidad antioxidante. Esto se debe al gran poder de adaptabilidad de la especie tanto en factores climatológicos y fisiológicos.

Cuadro 6. IC<sub>50</sub> (ug/ml) en extractos hidroalcoholicos y acuosos de hojas y corteza frente al radical (DPPH\*).

Tipo de droga vegetal	Tipo de extracto	Promedios <sup>1</sup>	Tukey ( $P < 0,01$ )
Corteza	Hidroalcoholico	20,81±0,08	a
	Acuoso	42,09±0,55	b
Hoja	Hidroalcoholico	72,31±0,31	c
	Acuoso	114,07±1,87	d

<sup>1</sup>Los valores representan el promedio ± ES. Las letras a-d, representan diferencia estadística entre promedios evaluado mediante DCA, prueba de Tukey ( $P < 0,01$ ).

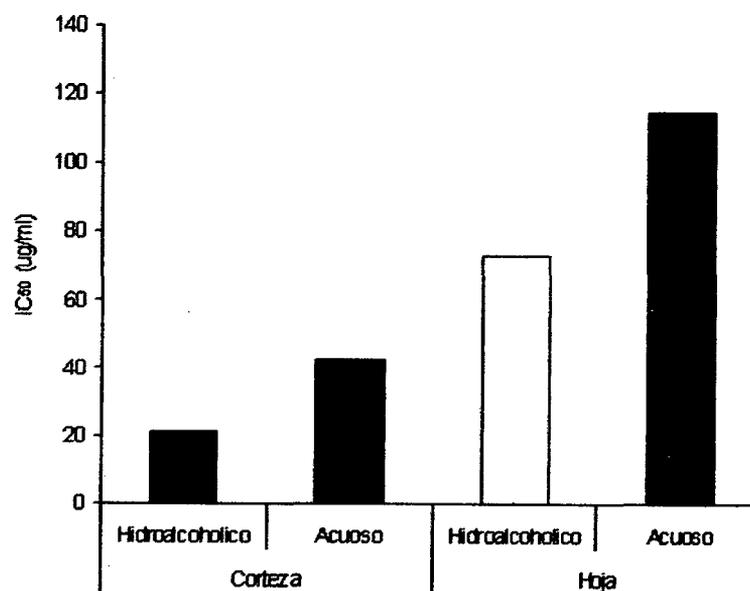


Figura 6. IC<sub>50</sub> (ug/ml) en extractos hidroalcoholicos y acuosos de hojas y corteza frente al radical (DPPH\*).

#### **4.3. Contenido de polifenoles, capacidad antioxidante frente al radical DPPH respecto al tipo de droga vegetal**

El tipo de droga vegetal tuvo un influencia altamente significativa ( $P<0,01$ ) en el contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante frente al radical DPPH (ANEXO II. Cuadros 11 y 12).

La prueba de Tukey para el tipo de droga vegetal muestra que en el contenido de polifenoles totales la corteza ( $160,33 \pm 9,68$  mg CATE/g) es superior a las hojas (Cuadro 7 y Figura 7), en cuanto a la capacidad antioxidante expresados como  $IC_{50}$  presentó un mayor valor la corteza respecto a la hoja en el secuestro de radicales libres DPPH con un valor de  $31,45 \pm 4,76$  ug/ml ( $P<0,01$ ), como se muestra en el (Cuadro 8 y Figura 8), esto posiblemente debido a que la corteza posee mayor cantidad de compuestos fenólicos y a la naturaleza de actuar como parte protectora de factores externos que pueden dañar a la planta (FOO *et al.*, 1997; GHASEMPOUR *et al.*, 1998; GARCÍA, 2004).

El que la corteza presente mayor contenido de polifenoles (Cuadro 7 y Figura 7), capacidad antioxidante frente al radical DPPH (Cuadro 8 y Figura 8), probablemente se deba a que posee mayor cantidad de compuestos fenólicos, disponibilidad y habilidad del grupo hidroxilo en su composición química. KUSKOSQUI *et al.* (2005) y OKAWA *et al.* (2001) reporta que el número de grupos hidroxilo no siempre es importante cuando se compara la

capacidad antioxidante sino la posición del grupo hidroxilo puede ser más importante para reducir el radical (DPPH<sup>\*</sup>). La efectividad de su capacidad antioxidante va a depender de su estabilidad en los diferentes sistemas, así como también del número y localización de grupos hidroxilo (ROBLES *et al.*, 2007). HU y KITTS (2000), reportan que la conjugación extendida y un gran número de grupos hidroxilo en una estructura pueden ser una de las causas de su poder reductor y gran potencial para donar radicales hidrógeno a los radicales libres.

#### 4.3.1. Contenido de polifenoles respecto al tipo de droga vegetal

Cuadro 7. Prueba de Tukey respecto al tipo de droga vegetal en el contenido de polifenoles totales (mg CATE/g).

Tipo de droga vegetal	Promedios <sup>1</sup>	Tukey ( $P < 0,01$ )
Corteza	160,33±9,68	a
Hoja	104,80±15,15	b

<sup>1</sup>Los valores representan el promedio ± ES. Las letras a-b, representan diferencia estadística entre promedios evaluado mediante DCA, prueba de Tukey ( $P < 0,01$ ).

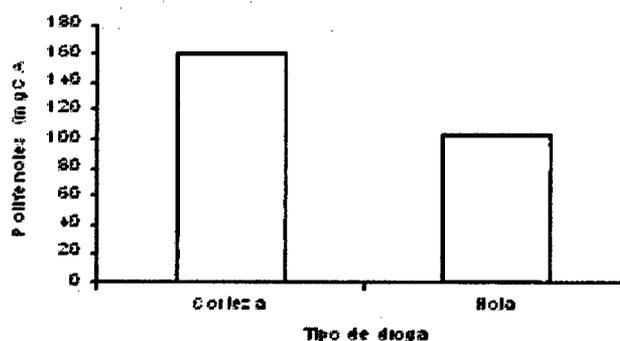


Figura 7. Prueba de Tukey respecto al tipo de droga vegetal en el contenido de polifenoles totales.

#### 4.3.2. Capacidad antioxidante respecto al tipo de droga vegetal

Cuadro 8. Prueba de Tukey respecto al tipo de droga vegetal en la capacidad antioxidante  $IC_{50}$  ( $\mu\text{g/ml}$ ) frente al radical (DPPH\*).

Tipo de droga	Promedios <sup>1</sup>	Tukey ( $P < 0,01$ )
Corteza	31,45 $\pm$ 4,76	a
Hoja	93,19 $\pm$ 9,38	b

<sup>1</sup>Los valores representan el promedio  $\pm$  ES. Las letras a-b, representan diferencia estadística entre promedios evaluado mediante DCA, prueba de Tukey ( $P < 0,01$ ).

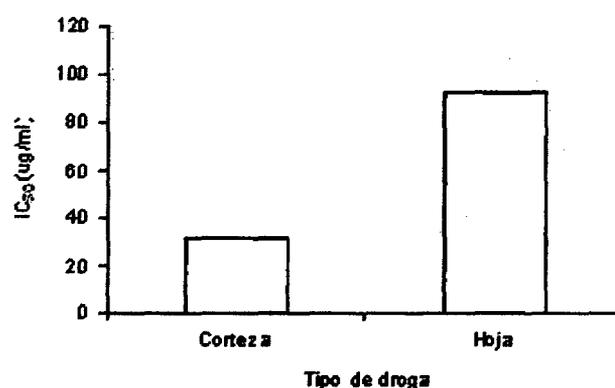


Figura 8. Prueba de Tukey respecto al tipo de droga vegetal en la capacidad antioxidante frente al radical (DPPH\*).

#### 4.4. Contenido de polifenoles, capacidad antioxidante frente al radical DPPH respecto al tipo de extracto

El tipo de extracto utilizado para la determinación del contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante frente al radical (DPPH\*) tuvo una influencia altamente significativa ( $P < 0,01$ ) (ANEXO II. Cuadros 11 y 12).

La prueba de Tukey ( $P < 0,01$ ) para el tipo de extracto muestra que en el contenido de polifenoles totales el extracto hidroalcoholico es superior al extracto acuoso con un valor de  $160,20 \pm 9,69$  mgCATE/g (Cuadro 9 y Figura 9), pero respecto a la capacidad antioxidante expresados en función del  $IC_{50}$  se determinó que el mejor tipo de solvente en la extracción fue el etanol al 50 % (hidroalcoholico) frente al radical (DPPH\*) con un valor de  $46,56 \pm 11,51$  ug/ml como se muestra en la (Cuadro 10 y Figura 10). La diferencia del contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante, realizado por las dos formas de extracción una por maceración con etanol al 50 % y otra por infusión en agua a 95 °C, está influenciada por las propiedades fisicoquímicas de las diferentes estructuras de los polifenoles, la polaridad del solvente usado y el tiempo de extracción (GEANKUPLIS, 1982; SINGH y HELDMAN, 1998; TROMELIN, 2003).

#### 4.4.1. Contenido de polifenoles respecto al tipo de extracto

Cuadro 9. Prueba de Tukey respecto al tipo de extracto en el contenido de polifenoles totales (mg CATE/g).

Tipo de extracto	Promedios <sup>1</sup>	Tukey ( $P < 0,01$ )
Hidroalcoholico	$160,20 \pm 9,69$	a
Acuoso	$104,93 \pm 15,24$	b

<sup>1</sup>Los valores representan el promedio  $\pm$  ES. Las letras a-b, representan diferencia estadística entre promedios evaluado mediante DCA, prueba de Tukey ( $P < 0,01$ ).

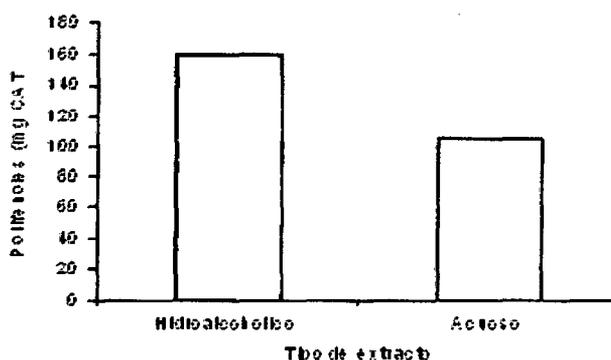


Figura 9. Prueba de Tukey respecto al tipo de extracto en el contenido de polifenoles totales.

#### 4.4.2. Capacidad antioxidante respecto al tipo de extracto

Cuadro 10. Prueba de Tukey respecto al tipo de extracto en la capacidad antioxidante  $IC_{50}$  ( $\mu\text{g/ml}$ ) frente al radical (DPPH\*).

Tipo de extracto	Promedios <sup>1</sup>	Tukey ( $P < 0,01$ )
Hidroalcohólico	$46,56 \pm 11,51$	a
Acuoso	$78,08 \pm 16,11$	b

<sup>1</sup>Los valores representan el promedio  $\pm$  ES. Las letras a-b, representan diferencia estadística entre promedios evaluado mediante DCA, prueba de Tukey ( $P < 0,01$ ).

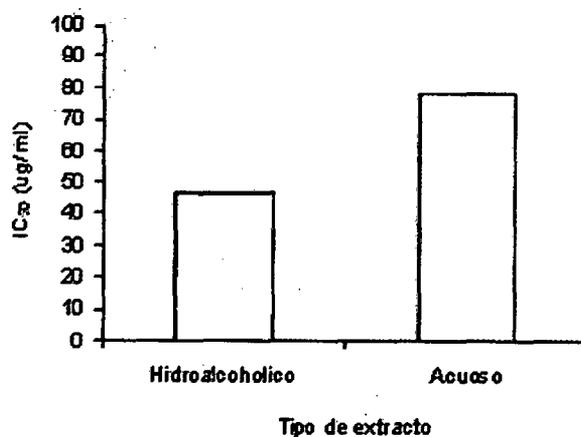


Figura 10. Prueba de Tukey respecto al tipo de extracto en la capacidad antioxidante frente al radical (DPPH\*).

## V. CONCLUSIONES

1. El mayor contenido de polifenoles totales presentó las muestras de corteza en extracto hidroalcoholico siendo  $181,77 \pm 1,52$  mg CATE/g de muestras seca. El mayor valor en el contenido de polifenoles totales respecto al tipo de alcaloide vegetal y tipo de solvente fue la corteza y extracto hidroalcoholico con valores de  $160,33 \pm 9,68$  y  $160,20 \pm 9,69$  mg CATE/g respectivamente.
2. La mayor capacidad antioxidante ( $IC_{50}$ ) presentó las muestras de corteza en solvente hidro alcohólico con un valor de  $20,81 \pm 0,08$   $\mu\text{g/ml}$  frente al radical (DPPH\*). El mayor valor de  $31,45 \pm 4,76$ ; y tipo de extracto fue el de extracto hidro alcohólico con un valor de  $46,56$   $\mu\text{g/ml}$  con respecto al radical (DPPH\*).

## VI. RECOMENDACIONES

1. Evaluar la actividad antioxidante de *Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urban, usando otros tipos de radicales, como son: peróxido de hidrógeno, radical hidroxilo, desoxirribosa, peroxilo, etc.
2. Establecer modelos in vivo para evaluar la actividad antioxidante de la corteza de *Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urban.
3. Continuar este tipo de trabajo en otras especies forestales propias de la zona y que tengan uso tradicional por los pobladores.
4. Incentivar a la población al manejo silvicultural de la especie *Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urban para su posterior uso y comercialización racional.

## VII. ABSTRACT

*Ochroma pyramidale* (Cav.ex.Lam ) Urban medicinal plant of the Peruvian amazonia used for the treatment of the dry cough, diarrhea, colics, rheumatism and pains of the articulations, as well as to attract the chest infections, bronchitis and flu. The extracts of this plant showed activities in cows to help the expulsion of the placenta after the childbirth. Nevertheless, several of these actions have not been demonstrated scientifically. The intention of this study was to evaluate the contents of total polyphenols, antioxidant capacity in the aqueous and hidroalcoholics extracts of leaves and barks. The total polyphenols were determined by method of Follin.Ciocalteu and the antioxidat capacity was determined by inhibition of 1,1 diphenyl-2-picrilhidrazil (DPPH\*). The content of total polyphenols was  $181,77 \pm 1,52$  mg CATE/g of dry sample in hidroalcoholic of bark ( $P < 0,01$ ). El  $IC_{50}$  in the capacity of kidnapping of radicals DPPH was  $20,81 \pm 0,08$   $\mu$ g/ml( $P < 0,01$ ), in hidroalcoholic extract of bark. In conclusion our results indicate that *Ochroma pyramidale* (cav.ex.Lam) Urban possesses a high contents of totals polyphenols, as well as also good antioxidant capacity.

**Keywords:** Antioxidant, free radical, *Ochroma pyramidale*, Polyphenols.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AVELLO, M., SUWALSKY, M. 2006. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea* 494. ISSN 0716-1840:161-172 p.

BLOIS, M. 1958. Antioxidant Determination by the Use of a Stable Free Radical, *Nature*. 181 (4617): 1199 -1200 p.

BRAND-WILLIAMS, W., CUVELIER, M. E., BERSET, C. 1995. Use of a Free Radicals Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Academy Press Limited*, 28: 25 – 30 p.

BARRANCE, A., DETLEFSEN, G., HANDS, M., MESÉN, F., BEER, J., FINEGAN, B., HELLIN, J., MONTERO, M., BOSHIER, D. H., GALLOWAY, G., HUGHES, C., RIVAS, C., CHAMBERLAIN, J., GÓMEZ, M., IBRAHIM, M., SOMARRIBA, E., CORDERO, J., GORDON, J., LEAKEY, R., STEWART, J., PENNINGTON, T. 2004. Árboles de Centroamérica. [En línea]: Herbaria, ([http://herbaria.plants.ox.ac.uk/adc//downloads/capitulos\\_especies\\_y\\_a\\_nexos/Ochroma\\_pyramidale.pdf](http://herbaria.plants.ox.ac.uk/adc//downloads/capitulos_especies_y_a_nexos/Ochroma_pyramidale.pdf), 18 Mar. 2009)

BELITZ., GROSCH. 1988. Química de los Alimentos. Ed. Acribia. Zaragoza, España 105 p.

COLLANTES, E., XING, L., MILLER, P., WELSH, W., PROFETA, S. 1999. Comparative Molecular Freedom Analysis as a Tool To Evaluate Mode of Action of Chemical Hybridization Agents. J. Agric. Food Chem. 47: 5245 – 5251 p.

DAZA, E. 2004. Polifenoles Totales y Capacidad Antioxidante en *Calycophyllum spruceanum* (Bent.)Hook. F. ex Schum “capirona”. Tesis Ing. en Recursos Naturales Renovables, Mención Forestales. Tingo María, Perú. Universidad Nacional Agraria de la Selva, 71 p.

ESPIN, J., SOLER-RIVAS, C., WICHERS, H., GARCÍA-VIGUERA, C. 2000. Anthocyanin Based Colorants: A New Source of Antiradical Activity for Foodstuff. J. Agric. Food Chem. 48: 1588 – 1592 p.

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. 63 p.

ESTRELLA, S. 2002. Actividad Antioxidante del Extracto acuoso del Cedron (*Aloysia triphylla*) en diferentes modelos IN VITRO. Tesis Ing.

Industrias Alimentarias. Tingo Maria, Perú. Universidad Nacional Agraria de la Selva. 78 p.

FOO, L. Y., LU, Y., M<sup>C</sup>NABB, W.C., WAGHORN, G., ULYATT, M. J. 1997. Proanthocyanidins from *Lotus pedunculatus*. *J. Phytochemistry*. 45:1689-1676 p.

FRANKEL, E. N., WATERHOUSE, A. L., TEISSEDE, P. L. 1995. Principal Phenolic Phytochemicals in Selected California Wines and Their Antioxidant Activity in Inhibiting Oxidation of Human Low-Density Lipoproteins. *J. Agric Food Chem*. 43:890-894 p.

GARCÍA, D. E. 2004. Los metabolitos secundarios de las especies vegetales. *Pastos y Forrajes*, 27(1): 1-12 p.

GEANKUPLIS, C. 1982. *Proceso de Transporte y Operaciones Unitarias*. Traducido del Inglés por Gómez Eroles Antonio, Ing. Químico PhD. Edit. Continental. 757 p.

GHASEMPOUR, H.R., ANDERSON, E.M., GIANELLO, R.D., GAFF, D.F. 1998. Growth inhibitor effects on protoplasmic drought tolerance and protein synthesis in leaf cells of the resurrection grass *Sporobolus stapfianus*. In: *Plant growth regulation*. Kluwer Academic Publishers, Netherlands. 179 p.

- GIL, M. I., TOMÁS-BARBERÁN, F. A., HESS-PIERCE, B., KADER, A. A. 2002. Antioxidant capacities, phenolics compounds, carotenoids, and vitamin C contents of nectarine, peach, and plum cultivars from California. *J. Agric. Food Chem.* 50: 4976-4982 p.
- GORINSTEIN, S., LEONTOWICZ, H., LEONTOWICZ, M., KRZEMINSKI R, GRALAK, M., MARTÍN-BELLOSO, O., DELGADO, L. E., HARUENKIT, R., KATRICH, E., PARK, Y.S., JUNG, S.T., TRAKHTENBERG, S. 2004. Fresh Israeli Jaffa blond (Shamouti) orange and Israeli Jaffa red star ruby (Sunrise) grapefruits juices affect plasm lipid metabolism and antioxidant capacity in rats fed added cholesterol. *J. Agric. Food Chem.* 52: 4853-4859 p.
- HERNANDEZ, M., PRIETO, E. 1999. Plantas que contienen polifenoles. antioxidantes dentro del estilo de vida. *Rev. Cubana Invest. Biomed.* 18(1):12-14 p.
- HERTOG, M.; HOLLMAN, P., VAN DI PUTTE, B. 1993. Content of Potentially anticarcinogenic flavonoids of tea infusions. Wines a fruit juices. *J. Agric. and Food. Chemistry.* 41: 1242-1246 p.
- HIRAMATSU, M., YUSHIKAWA, T., INUVE, M. 1997. *Food and Free Radical.* Plenum Press. New York and London. 165 p.

- HU, C., KITTS, D. 2000. Studies on the antioxidant activity of echinaceae root extract. *J. Agrig. Food Chem.* 48: 1466-1472 p.
- KUSKOSKI, E. M., ASUERO, A. G., GARCIA, M. C., TRONCOSO, A. M., FETT, R. 2004. Actividad Antioxidante de pigmentos antociánicos. *Rev. Bras. Ciênc. Tecnol. Alim.* 24(4): 691-693 p.
- KUSKOSKI, E. M., ASUERO, A. G., TRONCOSO, A. M., MANCINI-FILHO, F., FETT, R. 2005. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Rev. Bras. Ciênc. Tecnol. Alim.* 25(4): 691-693 p.
- LEBEAU, J., FURMAN, C., BERNIER, J., DURIE, P., TEISSIER, E., COTELLE, N. 2000. Antioxidant Properties of Di-tert-Butylhydroxylated Flavonoids. *Free Radical Biology & Medicine.* 29(9): 900 – 912 p.
- LOCK, O. 1994. Investigación fitoquímica: Métodos en el estudio de productos naturales. Pontífice Universidad Católica del Perú. Lima-Perú. 300 p.
- MARTINEZ, V., PERIAGO, M. J., ROS, G. 2000. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *Archivos latinoamericanos de nutrición (ALAN).* 50(1): 5-18 p.

- MELCHOR, V. 2002. Procesamiento tecnológico para la obtención de té verde (*Camelia sinensis*): Determinación de la Actividad Antioxidante y Cuantificación de Flavonoles por HPLC. Tesis Ing. Industrias Alimentarias. Tingo María, Perú. Universidad Nacional Agraria de la Selva, 66 p.
- MOSQUERA, O. M., NIÑO, J., CORREA, Y. M., BUITRAGO, D. C. 2005. Estandarización del método de captura de radicales libres para la evaluación de la actividad antioxidante de extractos vegetales. *Scientia et Technica*. 12(27):231-234 p.
- MUÑOZ, A. M., RAMOS, F., ALVARADO, C., CASTAÑEDA, B. 2007. Evaluación de la capacidad antioxidante y contenido de compuestos fenólicos en recursos vegetales promisorios. *Rev. Soc. Quím. Perú*. 73(3): 142-149 p.
- MURILLO, E., LOMBO, O., TIQUE, M., MÉNDEZ, M. 2007. Potencial Antioxidante de *Bauhinia kalbreyeri* Harms. (FABACEAE). *Información Tecnológica*, 18(6): 65 – 74 p.
- OKAWA, M., KINJO, J., HOHARA, T., ONO, M. 2001. DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) radical scavenging activity of flavonoids obtained from some medicinal plants. *J. Biol. Pharm. Bull.* 24:1202-1205 p.

- PAULA, V., BARBOSA, L., DEMUNER, A., CAMPOS, L., PINHEIRO, A. 1997. Entomotoxicity of the nectar from *Ochroma lagopus* Swartz (Bombacaceae). *Ciência e Cultura*. 49(4): 274-277 p.
- PAULA, V. 1995. Estudo Químico e da Interação Inseto-Planta em *Ochroma lagopus* Swartz. Viçosa, 1995. Tese (Mestrado) - Departamento de Química, Universidade Federal de Vicosa. 134 p.
- PAULA, V., BARBOSA, L., HOWARTH, O., DEMUNER, A., CASS, Q., VIEIRA, I. 1995. Lignans from *Ochroma lagopus* Swartz. *Tetrahedron*. 51(45):12453-62 p.
- POURMORAD, F. S., HOSSEINIMEHR, J., SHAHABIMAJD, N. 2003. Antioxidant activity, phenol and flavonoid contents of some selected Iranian medicinal plants, *J. Biotechnology*. 5:1142-1145 p.
- RAMIREZ-TORTOSA, C., ANDERSEN, O. M., GARDNER, P. T., MORRICE, P. C., WOOD, S. G., DUTHIE, S. J., COLLINS, A. R., DUTHIE, G. G. 2001. Anthocyanin-rich extract decreases indices of lipid peroxidation and DNA damage in vitamin E depleted rats. *Free Rad. Biol. Med.* 31(9): 1033-1037 p.
- RAMOS, E. F. 2002. Diseño y Evaluación de la Capacidad Antioxidante In Vitro de una Bebida en base a té verde (*Camellia sinensis*) y hierva

luisa (*Cymbopogon citratos*). Tesis Ing. Industrias Alimentarias. Universidad Nacional Agraria de la Selva. Tingo María, Perú. 121 p.

RAMOS, E., CASTAÑEDA, B., IBÁÑEZ, L. A. 2008. Evaluación de la capacidad antioxidante de plantas medicinales peruanas nativas e introducidas. *Rev. Acad. Perú Salud.* 15(1):42 – 46 p.

ROBLES, M., GORINSTEIN, S., MARTÍN, O., ASTIAZARÁN, H., GONZÁLEZ, G., CRUZ, R. 2007. Frutos tropicales mínimamente procesados: potencial antioxidante y su impacto en la salud. *Interciencia.* 32(4): 227-232 p.

RICE-EVANS, C.A., MILLER, N.J., PAGANGA, G. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *J. Trends in Plant Science.* 2:152-159 p.

SAUCIER, C., WATERHOUSE, A. 1999. Synergetic Activity of Catechin and Other Antioxidants. *J. Agric. Food Chem.* 47:4491-4494 p.

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

- TROMELIN, A., GUICHARD, E. 2003. Use of Catalyst in a 3D – QSAR study of the Interactions between Flavor Compounds and  $\beta$  – Lacto globulin. J. Agric. Food Chem. 51: 1977 – 1983 p.
- VAN ACKER, S., GROOT, M., VAN den BERG, D., TORMP, M., DONNE – OP, G., VAN den VIJGH, W., BAST, A. 1996. A Quantum Chemical Explanation of the Antioxidant Activity of Flavonoids. Chem. Res. Toxicol. 9: 1305 – 1312 p.
- VÁZQUEZ, E., ESTEBAN, M., COGORDÁN, J., DELGADO, G. 2001. Triterpenes, Phenols, and Other Constituents from the leaves of *Ochroma pyramidale* (Balsa Wood, Bombacaceae). Preferred Conformations of 8-C-b-D-Glucopyranosyl-apigenin (vitexin). Journal of the Mexican Chemical Society, 45, Núm. 4. 254-258 p.
- VÁZQUEZ, J. 2008. Determinación de la capacidad antioxidante de *Croton draconoides* Muell. Arg. en Pucallpa y Tingo María. Tesis Ing. en Recursos Naturales Renovables. Tingo María, Perú. Universidad Nacional Agraria de la Selva. 73 p.
- VENEREO, J. 2002. Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. Rev. Cubana Med. Milit. 31(2):126-133 p.

## **IX. ANEXO**

## Anexo I

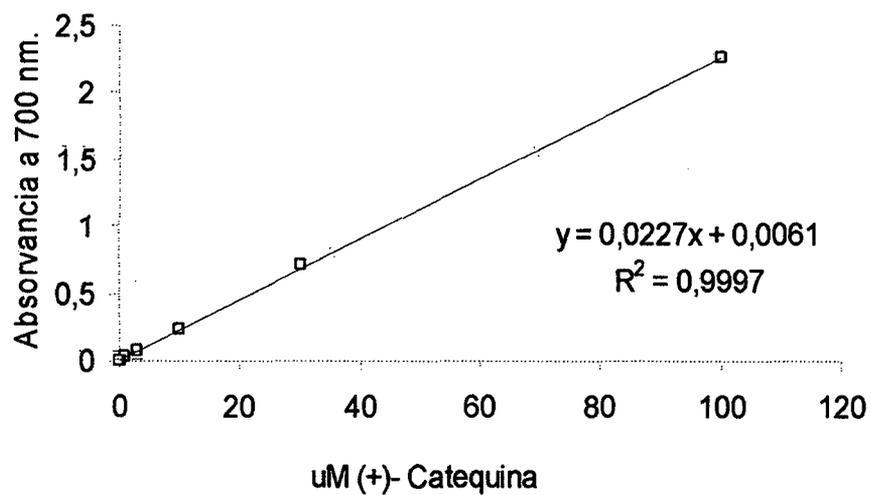


Figura 11. Curva patrón de catequina para la cuantificación de polifenoles totales.

## Anexo II

Cuadro 11. ANVA para el contenido total de polifenoles.

Fuentes de Variación	GL.	CM.	FC.	SIG.
Tipo de droga vegetal (A)	1	9250,85	1084,23	**
Tipo de extracto (B)	1	9165,87	1074,27	**
A * B	1	460,61	53,98	**
Error experimental	8	8,53		
Total	11			

\*\* : Altamente significativo

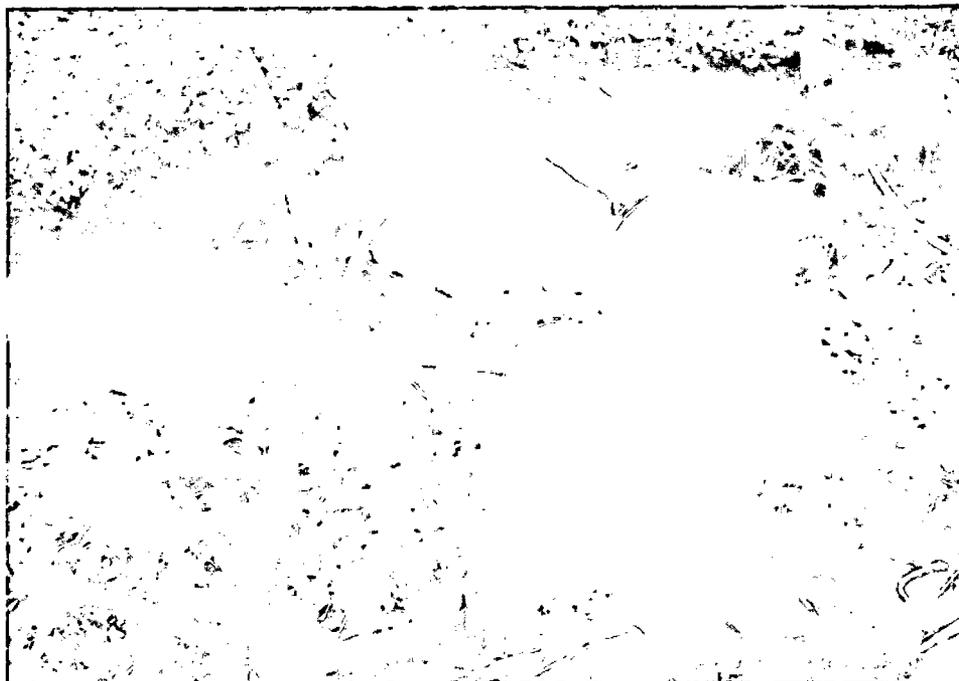
CV. : 2,20 %

Cuadro 12. ANVA para la capacidad antioxidante frente al radical DPPH\*.

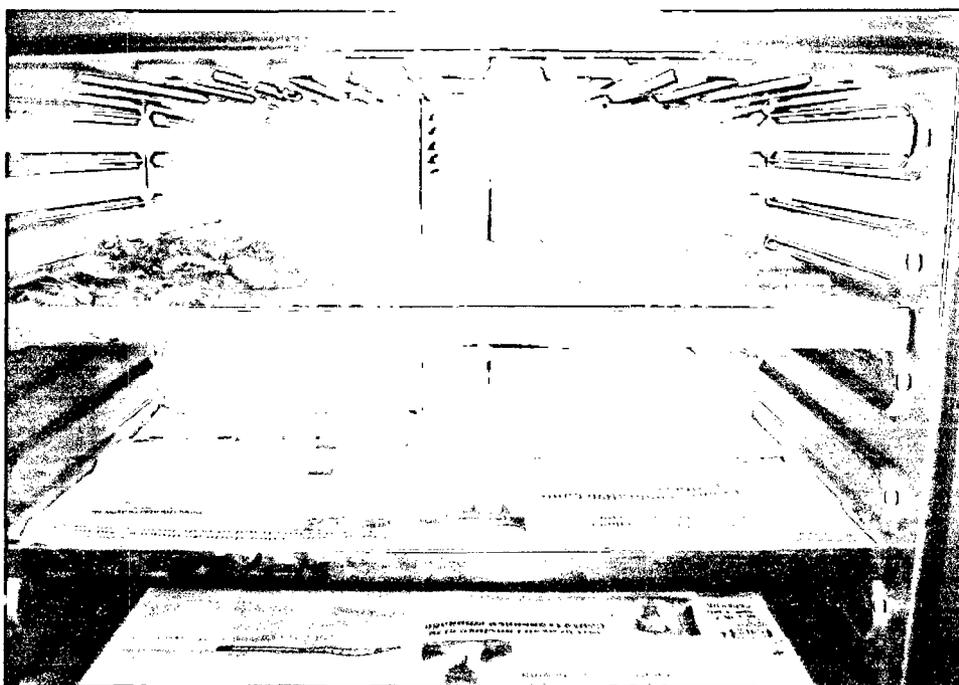
Fuentes de Variación	GL.	CM.	FC.	SIG.
Tipo de droga vegetal (A)	1	11435,792	3918,477	**
Tipo de extracto (B)	1	2980,184	1021,161	**
A * B	1	314,604	107,799	**
Error experimental	8	2,918		
Total	11			

\*\* : Altamente significativo

CV. : 2,74 %

**Anexo III**

**Figura 12.** Hojas y flores de *Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urban.



**Figura 13.** Muestras de corteza acondicionadas para el secado.

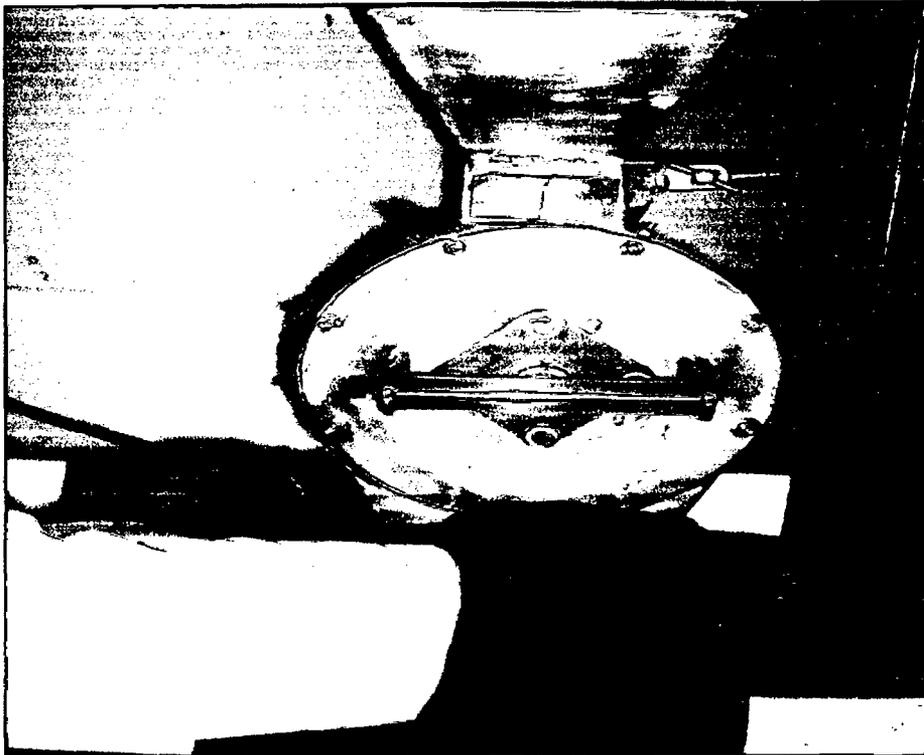


Figura 14. Realizando la molienda de las muestras de hojas y corteza.



Figura 15. Efectuando las diluciones.



Figura 16. Colocando la muestra en el espectrofotómetro para efectuar la lectura.

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA  
FACULTAD DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES



CERTIFICADO

El que suscribe Profesor de Dendrología Tropical de la Facultad de Recursos Naturales Renovables – UNAS.

CERTIFICA:

Que, la muestra dendrológica que me mostró el señor Andy W. Perdomo Angulo, pertenece a : *Ochroma pyramidale* (Cav., ex Lam) Urban.  
Se expide el presente certificado para los fines pertinentes.

Tingo María, 20 de Noviembre del 2009.

A handwritten signature in black ink, appearing to read "Warren Rios García".

Ing. Warren Rios García  
Profesor de DENDROLOGIA – UNAS.

# MAPA DE UBICACIÓN DE LA ESPECIE Y AREA DE ESTUDIO



Ochroma  
pyramidale

Área de estudio

### LEYENDA

- Vertecl
- AREA EN ESTUDIO
- ⊕ ESPECIE
- UNAS
- Quebradas
- Perimetro
- BRUNAS

Puntos	Este	Norte
ESPECIE	390301	8970770
AREA EN ESTUDIO	390195	8970798

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA  
 FACULTAD DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES  
 MENCION FORESTALES

MAPA: UBICACION DE LA ESPECIE Y AREA DE ESTUDIO

Bach: ANDY WILLIAMS PERDOMO ANQULO

REGION: HUANUCO      FECHA: 05.12.2009      ESCALA: 1:10.000  
 DISTRITO: RUPA RUPA      ZONA: 18 L  
 PROVINCIA: LEONCIO PRADO

