

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
FACULTAD DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA FORESTAL



**TAMIZAJE FITOQUÍMICO Y EVALUACIÓN ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO
ACUOSO A DIFERENTES TEMPERATURAS DE HOJAS Y CORTEZA DE *Miconia
barbeyana* (PALIPERRO)**

Tesis

Para optar el título de:

INGENIERO FORESTAL

PRESENTADO POR:

VIYELKA SONIA YACTAYO ABREGU

Tingo María – Perú

2021



UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
Tingo María – Perú
FACULTAD DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N° 030-2021-FRNR-UNAS

Los que suscriben, Miembros del Jurado de Tesis, reunidos con fecha 20 de agosto de 2021, a horas 6:15 p.m. en la Sala virtual Microsoft Teams de la Escuela Profesional de Ingeniería Forestal para calificar la Tesis titulada:

**“TAMIZAJE FITOQUÍMICO Y EVALUACIÓN ANTIOXIDANTE DEL
EXTRACTO ACUOSO A DIFERENTES TEMPERATURAS DE HOJAS
Y CORTEZA DE *Miconia barbeyana* (PALIPERRO)”**

Presentado por el Bachiller: **YACTAYO ABREGU, Vivelka Sonia**, después de haber escuchado la sustentación y las respuestas a las interrogantes formuladas por el Jurado, se declara **APROBADA** con el calificativo de **“MUY BUENO”**

En consecuencia, el sustentante queda apto para optar el Título Profesional de **INGENIERO FORESTAL**, que será aprobado por el Consejo de Facultad, tramitándolo al Consejo Universitario para el otorgamiento del Título correspondiente.

Tingo María, 30 de Setiembre de 2021

Ing. Mg. RICARDO OCHOA CUYA
PRESIDENTE

Ing. M. Sc. LAUREANO ZAVALA DE LA CRUZ
MIEMBRO

Ing. M. Sc. ROBERT G. PECHO DE LA CRUZ
MIEMBRO



Dra. TANIA ELIZABETH GUERRERO VEJARANO
ASESOR

Ing. Mg. WILFREDO TELLO ZEVALLOS
ASESOR

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
FACULTAD DE RECURSOS NATURALES RENOVABLES
ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA FORESTAL



**TAMIZAJE FITOQUÍMICO Y EVALUACIÓN ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO
ACUOSO A DIFERENTES TEMPERATURAS DE HOJAS Y CORTEZA DE *Miconia
barbeyana* (PALIPERRO)**

Autor	: Viyelka Sonia Yactayo Abregú	
Asesor (es)	: Dra. Tania Elizabeth Guerrero Vejarano Mg. Wilfredo Tello Zevallos	
Programa de investigación	: Ciencias Básicas Forestales	
Línea de investigación	: Química Forestal	
Eje temático	: Fitoquímica	
Lugar de ejecución	: Laboratorio de Fitoquímica y Laboratorio de HPLC	
Duración	: 7 meses	
Financiamiento	: S/. 3.010, 3	

Tingo María – Perú

2021


Ing. M.S. Robert Gilbert Pecho De la Cruz
Miembro Jurado Calificador


Mg. Sc. Ricardo Ochoa Cuya
Presidente


Ing. Laureano Zavaleta De La Cruz
Miembro Jurado Calificador

DEDICATORIA

A nuestro padre celestial por concederme la vida, por darme la fé y fuerzas que necesite cuando me parecía imposible culminar mi investigación.

A mis queridos padres Hebert Yactayo Beas y Liz Abregú Alegre por darme la vida, por ser mi principal motivo para el desarrollo de mi vida profesional sentaron en mi la responsabilidad y deseos de superación todo lo que soy es por ellos y para ellos a los cuales les atribuyo todos mis éxitos en esta vida.

A mi angelito Bryan Junior por ser mi motor y motivo más grande para lograr todo que me propongo, a mi compañero Brayan por haber confiado en mí y darme fuerzas para superarme día a día.

A mis queridas hermanas Marcia y Karla por ser mis mejores amigas y ayudarme en todo lo que necesito siempre.

A mis demás familiares mi querida abuelita Nora, a mis queridos tíos Haydeé, Nora, Frank, Edilberto y a mi primo Fabian gracias familia por su apoyo incondicional significo mucho para mi formación académica y personal.

AGRADECIMIENTO

A mi alma mater la Universidad Nacional Agraria de la Selva por haberme formado profesionalmente.

A mis profesores de la Escuela Profesional de Ingeniería Forestal por sus enseñanzas.

A mis queridos asesores del presente estudio de investigación Dra. Tania Elizabeth Guerrero Vejarano y Mg. Wilfredo Tello Zevallos por su apoyo incondicional, confianza, amistad y enseñanzas que me permitieron aprender mucho más durante la ejecución del trabajo de investigación.

A la Ing. Sisi Pérez Peláez y al Ing. Darlym Reátegui Díaz por su apoyo, por su amistad y siempre estar dispuestos a brindarme sus conocimientos los cuales me sirvieron de mucho en la ejecución de mi investigación.

Al señor Mario Soza Shapiama trabajador de la UNAS por su colaboración en la extracción de la especie en estudio y a todas las personas que de alguna u otra manera colaboraron en la realización del trabajo de investigación muchas gracias.

ÍNDICE

	Página
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1. Marco Teórico	3
2.1.1. Descripción botánica de <i>M. barbeyana</i>	3
2.1.2. Metabolitos	4
2.1.3. Extracción sólido – líquido	6
2.1.4. Métodos de extracción	7
2.1.5. Tamizaje fitoquímico.....	8
2.1.6. Antioxidantes	9
2.2. Estado del arte.....	13
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	17
3.1. Lugar de ejecución.....	17
3.1.1. Zona de recolección de materia prima	17
3.2. Material y métodos	17
3.2.1. Materiales y equipos	17
3.2.2. Metodología	19
3.2.3. Asignación cualitativa para el tamizaje fitoquímico	23
3.2.4. Diseño experimental y factores estudiados	24
3.2.5. Análisis Estadístico	25
3.2.6. Modelo aditivo lineal	25
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	27
4.1. Tamizaje fitoquímico de hojas y corteza de <i>M. barbeyana</i>	27
4.2. Cuantificación de polifenoles totales y flavonoides de hojas y corteza de <i>M. barbeyana</i>	30
4.3. Evaluación de la actividad antioxidante de hojas y corteza de <i>M. barbeyana</i> a través de los radicales DPPH*	35

V. CONCLUSIONES.....	38
VI. PROPUESTAS A FUTURO.....	39
VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	40
VIII. ANEXOS Y GLOSARIO.....	48

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla	Página
1. Valoración cualitativa para el tamizaje fitoquímico (Carbajal <i>et al.</i> , 2009).....	23
2. Análisis de varianza para las evaluaciones realizadas m. Barbeyana.....	25
3. Factores estudiados con sus respectivos niveles.....	25
4. Tamizaje fitoquímico de hojas y corteza de <i>M. barbeyana</i>	28
5. Contenido de polifenoles totales expresado en mgEAG/g de muestra seca en extractos acuosos de hojas y corteza de <i>M. barbeyana</i>	31
6. Contenido de polifenoles totales respecto al tipo de droga (mgEAG/g)	32
7. Contenido de polifenoles totales respecto a las temperaturas (mgEAG/g)	32
8. Contenido de flavonoides expresado en mgEC/g muestra seca en extractos acuosos de hojas y corteza de <i>M. barbeyana</i>	33
9. Contenido de flavonoides respecto al tipo de droga (mgEC/g).....	33
10. Contenido de flavonoides respecto a las temperaturas (mgEC/g).....	33
11. Actividad antioxidante por el método DPPH* μ MTEAC/g muestra seca en extractos acuosos de hojas y corteza de <i>M. barbeyana</i>	36
12. Actividad antioxidante respecto al tipo de droga (μ MTEAC/g)	36
13. Actividad antioxidante respecto a las temperaturas (μ MTEAC/1g)	36
14. Concentración y absorbancia de polifenoles	58
15. Pendiente e intersección de la curva patrón.....	58
16. Concentración y absorbancia de flavonoides	59
17. Pendiente e intersección de la curva patrón.....	59
18. Concentración y absorbancia de DPPH*	60
19. Pendiente e intersección de la curva patrón.....	60
20. Análisis de variación para Polifenoles.....	61
21. Análisis de variación para Flavonoides	61
22. Análisis de variación para DPPH*	61

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Extracción de la corteza de <i>M. barbeyana</i>	49
2. Extracción de las hojas de <i>M. barbeyana</i>	49
3. Muestra botánica de la especie <i>M. barbeyana</i> y constancia de determinación botánica.....	50
4. Reconocimiento de flavonoides en hoja de <i>M. barbeyana</i>	50
5. Reconocimiento de flavonoides en corteza de <i>M. barbeyana</i>	51
6. Reconocimiento de saponina en hoja de <i>M. barbeyana</i>	51
7. Reconocimiento de saponina en corteza de <i>M. barbeyana</i>	52
8. Reconocimiento de tanino en hoja de <i>M. barbeyana</i>	52
9. Reconocimiento de tanino en corteza de <i>M. barbeyana</i>	53
10. Reconocimiento de triterpenos en corteza de <i>M. barbeyana</i>	53
11. Reconocimiento de triterpeno en hoja de <i>M. barbeyana</i>	54
12. Reconocimiento de antocianina en hoja de <i>M. barbeyana</i>	54
13. Reconocimiento de antocianina en corteza de <i>M. barbeyana</i>	55
14. Reconocimiento de cumarina en corteza de <i>M. barbeyana</i>	55
15. Reconocimiento de cumarina en hoja de <i>M. barbeyana</i>	56
16. Cuantificación de polifenoles totales de <i>M. barbeyana</i>	56
17. Cuantificación de flavonoides totales de <i>M. barbeyana</i>	57
18. Cuantificación de antioxidante con el reactivo DPPH* de <i>M. barbeyana</i>	57
19. Curva patrón de ácido gálico	58
20. Curva patrón de catequina	59
21. Curva patrón de Trolox.....	60

RESUMEN

La actividad antioxidante es la capacidad que tiene una sustancia para inhibir la degradación oxidativa, de modo que los metabolitos secundarios cumplen una función importante en la protección frente a agentes externos en las especies forestales. *Miconia barbeyana*, es una especie forestal que se encuentra en bosques primarios y secundarios de la Amazonía peruana. El presente estudio tuvo como objetivo realizar el tamizaje fitoquímico, cuantificación de polifenoles totales, flavonoides y determinar la capacidad antioxidante del extracto acuoso de hojas y corteza de *Miconia barbeyana* a diferentes temperaturas. Para analizar la presencia o ausencia de metabolitos secundarios se realizó un análisis cualitativo a través del tamizaje fitoquímico, los polifenoles totales se determinaron por el método Folin-Ciocalteu, los flavonoides por el método colorimétrico y la capacidad antioxidante fue determinado por inhibición de 1,1 diphenil-2-picrilhidrazil (DPPH*) para diferentes temperaturas (95°C, 65°C y 45° C). Respecto al análisis cualitativo de metabolitos secundarios se ha encontrado la presencia de flavonoides, leucoantocianidinas, saponinas, taninos, triterpenos y/o esteroides, antocianinas y cumarinas evaluadas en hojas y corteza; en relación con la cuantificación de polifenoles totales se obtuvo $173,97 \pm 2,38$ mgAGE/g en corteza a una temperatura de 95°C ($P < 0,05$), para los flavonoides se obtuvo $33,08 \pm 0,92$ mg EC/g en corteza a una temperatura de 95°C ($P < 0,05$) y finalmente, el mayor valor en la actividad antioxidante fue $8,89 \pm 0,9$ uMTEAC/g en corteza a una temperatura de 95°C. En conclusión, la especie *Miconia barbeyana* presenta diversos metabolitos secundarios, un alto contenido de polifenoles totales, flavonoides y una buena capacidad antioxidante en la corteza.

Palabras claves: DPPH*, Flavonoides, Metabolitos secundarios, Polifenoles.

ABSTRACT

The antioxidant activity is the capacity that a substance has to inhibit oxidative degradation; in this, secondary metabolites fulfill an important function in the protection against external agents among forest species. *Miconia barbeyana*, is a forest species that is found in primary and secondary forests of the Peruvian Amazon. The objective of the present study was to carry out a phytochemical screening, quantify the total polyphenols and flavonoids, and to determine the antioxidant capacity of an aqueous extract from the leaves and bark of *Miconia barbeyana*, at different temperatures. In order to analyze the presence or absence of secondary metabolites, a qualitative analysis was done through phytochemical screening where the total polyphenols were determined through the use of the Folin-Ciocalteu method, the flavonoids through the use of the colorimetric method, and the antioxidant capacity was determined for the 1,1 diphenil-2-picrilhidrazil (DPPH*), at different temperatures (95°C, 65°C and 45° C). With respect to the qualitative analysis of secondary metabolites, the presence of flavonoids, leucoanthocyanidins, saponins, tannins, triterpenes and/or steroids, anthocyanins, and coumarins were found for the leaves and bark that were evaluated. For the quantification of the polyphenols, 173.97 ± 2.38 mgAGE/g was found in the bark, at a temperature of 95°C ($P < 0.05$); for the flavonoids, 33.08 ± 0.92 mg EC/g was found in the bark, at a temperature of 95°C ($P < 0.05$); and finally, the greatest value for antioxidant activity was 8.89 ± 0.9 uMTEAC/g for the bark, at a temperature of 95°C. In conclusion, the *Miconia barbeyana* specie presents diverse secondary metabolites, a high total polyphenol and flavonoid content, and a good antioxidant capacity for the bark.

Keywords: DPPH*, Flavonoids, secondary metabolites, polyphenols.

I. INTRODUCCIÓN

La zona tropical del Perú cuenta con una gran diversidad de especies forestales, utilizadas en su mayoría en el sector forestal como materia prima para la obtención de diversos productos, pocas de estas especies forestales son empleadas como medicina alternativa o tradicional para el tratamiento de diferentes tipos de enfermedades debido a los escasos estudios realizados. Existen algunas especies forestales que tiene gran utilidad en la medicina vernacular, sin embargo, estas no han sido validadas a través de un estudio científico, tal es así que la especie *Miconia barbeyana* si bien es cierto posee estudios dendrológicos, anatómicos y de sus propiedades físicas, sin embargo, carece de estudios fitoquímicos que permitan corroborar su potencial medicinal. En la industria maderera es usado el fuste por su valor económico; sin embargo, las hojas y corteza no tiene un aprovechamiento y peor aún un valor económico, es por ello que se plantea el presente trabajo para validar las propiedades medicinales de la corteza y hojas.

Las diferentes propiedades medicinales de las plantas se presentan debido a la existencia de sustancias químicas como glicósidos, alcaloides, polifenoles entre otros presentes en hojas, corteza, etc. Los compuestos fenólicos son los antioxidantes más abundantes en frutas, verduras y algunas plantas. Aparte de sus propiedades para captar especies reactivas de oxígeno y nitrógeno de mucha importancia en la patogénesis de enfermedades, los compuestos fenólicos pueden actuar en numerosas vías de señalización intracelulares como mediadores, lo que los convierte en moléculas muy interesantes. En tal sentido, respecto al conocimiento de las propiedades medicinales de la especie *Miconia barbeyana* es muy escasa la información científica disponible que permita corroborar el contenido de polifenoles y su capacidad antioxidante, además de la identificación de los principales flavonoides que podrían ser los responsables de su capacidad antioxidante, en tal caso nos planteamos la siguiente interrogante ¿Qué metabolitos secundarios y cuál será la capacidad antioxidante de *M. barbeyana* en hojas y corteza a diferentes niveles de temperatura de extracción en la infusión?

Por otro lado, la hipótesis del presente trabajo radica en que la corteza de la especie *M. barbeyana* posee mayor presencia de metabolitos secundarios, mayor contenido de polifenoles totales y flavonoides y asimismo también mayor capacidad antioxidante a una temperatura del solvente de 95°C.

Para evaluar el contenido de polifenoles y capacidad antioxidante se realizó en condiciones *in vitro*. Asimismo, para alcanzar los resultados se plantean los siguientes objetivos:

Objetivo general

- Realizar el tamizaje fitoquímico y evaluar la capacidad antioxidante del extracto acuoso a diferentes temperaturas de hojas y corteza de *M. barbeyana* (Paliperro).

Objetivos específicos

- Realizar el tamizaje fitoquímico de hojas y corteza de *M. barbeyana*.
- Cuantificar los polifenoles totales y flavonoides en el extracto acuoso de hojas y corteza de *M. barbeyana*.
- Evaluar la actividad antioxidante en el extracto acuoso de hojas y corteza de *M. barbeyana*.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Marco Teórico

2.1.1. Descripción botánica de *M. barbeyana*

Posee ramas terminales de sección casi cuadrangulares, de 3 - 5 mm de diámetro. Presenta hojas simples, opuestas y decusadas, de 5 - 16 cm de largo y de 1,3 - 6 cm de ancho; lámina elíptica, con ápice acuminado, la base decurrente, el borde entero; posee 2 nervios exteriores débiles que se juntan en el ápice de la hoja. Su Inflorescencia es compuesta formada por un racimo con ejes laterales ramificables donde se forman otros racimos; presenta flores hermafroditas, con cáliz gamosépalo, con 5 lóbulos y 5 pétalos ovados, de 1 mm de longitud, las anteras obovadas de 1 mm de longitud, pistilo de 4 mm de largo, contiene frutos tipo baya (Talavera y Quichca, 2014).

Gascón (2002) manifiesta que, el paliperro es un árbol que llega a medir hasta 15 m de altura y un grosor aproximado de 30 cm, el tallo es recto y cuenta con escasas ramificaciones, su corteza externa es lisa y de color verdosa, contiene ramas terminales cuadrangulares de 1 - 2 cm de sección glabras de color marrón grisáceo. Con hojas simples y opuestas, raramente pubescentes; láminas elípticas, con media aproximada entre 10 a 18 cm de largo y en el ancho un aproximado de 4 a 6 cm, los márgenes están sobre la cara inferior en la base, y la cima termina en punta, nervios sub basal. Presenta una inflorescencia racemosa con un diámetro y longitud de 4 cm y 6 cm respectivamente, este árbol cuenta con flores unisexuales en gran cantidad cuyo tamaño en longitud aproximado es de 6 mm, las semillas presentan una forma piramidal/ovoide que en su mayoría son de textura lisa y el color de los frutos es morado. De acuerdo con los registros el período en que empiezan a florecer es en septiembre y el período para las frutas es máximo en los dos meses siguientes.

2.1.1.1. Distribución

Es una especie forestal cuya distribución es amplia en el continente americano. Su localización en Perú se da en los bosques primarios y secundarios de la Amazonía, en altitudes que oscilan entre los 500 y 2500 m.s.n.m. principalmente en regiones como Amazonas, Cusco, Huánuco, Pasco y San Martín (Ayala, 2003).

2.1.1.2. Descripción taxonómica

Mostacero *et al.* (2002) detalla taxonómicamente a la especie en estudio de la siguiente manera:

Clase	: Magnoliopsida
Orden	: Myrtales
Familia	: Melastomataceae
Género	: <i>Miconia</i>
Especie	: <i>barbeyana</i>
Nombre científico	: <i>Miconia barbeyana</i> Cogniaux
Nombre vulgar	: Paliperro, palo gusano, paloma micuna, tiri tiri.

2.1.2. Metabolitos

2.1.2.1. Generalidades

Los seres vivos tienen un rasgo primordial el cual es el metabolismo activo. Las células contienen un conjunto de reacciones químicas que es conocido como metabolismo. Su división en células vegetales es primario y secundario (Quispillo, 2013).

El metabolismo primario es el grupo unido de fases metabólicas que cumplen la función fundamental dentro del vegetal, con funciones esenciales tales como el traslado de solutos, la transformación de sustancias inorgánicas en orgánicas(fotosíntesis) y la respiración. Los componentes que se encuentran inmersos en el proceso metabólico primario tienen una disposición total dentro de los vegetales, estos son los aminoácidos, nucleótidos, lípidos, carbohidratos y clorofila. Caso contrario del proceso metabólico secundario que generan componentes no universales, debido a que para algunas plantas no son de utilidad (Avalos y Pérez, 2009).

Los productos naturales o metabolitos secundarios son los contenedores de gran parte de las moléculas que se encuentran en los vegetales, estos son mezclas químicas con una complejidad relativa en su estructura, posee restricciones en su distribución y tiene

determinados principios vegetales, que los metabolitos primarios; estos se encuentran en todas las especies vegetales dentro de amplios grupos filogenéticos y son producidos casi por la misma ruta metabólica (García, 2016).

Un átomo biológico sin importar su origen se considera un resultado natural, esta definición es relativamente dirigida a los metabolitos secundarios, son diminutas moléculas producto de un cuerpo y que su necesidad no es relevante en el mismo (Guerrero, 2014).

2.1.2.2. Principales metabolitos secundarios

- a. Alcaloides:** Se sintetizan a partir de aminoácidos, tienen por característica ser amargos. Su actividad biológica es muy amplia no obstante el papel dentro de los vegetales no es muy claro, estos se localizan generalmente en los tejidos periféricos de corteza, raíces, hojas, frutos y semillas (Gómez, 2010).
- b. Esteroles:** Se hallan presentes en forma natural y en reducidas cantidades en diferentes variedades de frutas, verduras, semillas, cereales, legumbres y otras fuentes similares. Es de suma importancia debido a que es capaz de reducir el colesterol al bajar el proceso de absorción intestinal del mismo (Meco *et al.*, 2016).
- c. Flavonoides:** Todos los vegetales tienen un colorante poco o más menos universal son conocidos como los flavonoides, que se pueden disolver en el agua y que son los encargados de dar color a las hojas, las flores y los frutos, también tienen gran cantidad de actividades cardiovasculares, por lo que son los componentes más activos en el grupo. De modo que, los beneficios obtenidos en la salud cardiovascular mediante dietas a base de frutas y verduras son adjudicados a todos los flavonoides, en especial a los flavonoles (Duarte y Pérez, 2015).
- d. Quinonas:** Son responsables del cambio de color (marrón) en las frutas al sufrir golpes o daños. Tienen una elevada función reactiva con la que forman un compuesto con los aminoácidos hidrofílicos de las proteínas, esto lo lleva a cabo en la mayoría de los casos desactivando e invalidando la función de la

proteína, por lo que su capacidad antimicrobiana es amplia dentro del grupo (Tapia, 2014).

- e. **Fenoles:** Estos se basan en un anillo fenólico sustituido y son considerados como los componentes elementales. Tienen cualidades antisépticas por lo que muestran una función fisiológicamente marcada (Tapia, 2014).
- f. **Saponinas:** Son heterósidos por naturaleza, se disuelven en agua y su característica principal es espumoso al mover repetidamente la solución acuosa. Poseen cualidades diuréticas, digestivas, antiinflamatorias, expectorantes y otras. Predominan subyacentes en las plantas (Gómez, 2010).
- g. **Cumarinas:** Se encuentran distribuidas en todo el reino vegetal, proceden del metabolismo de la fenilalanina tienen propiedades antiinflamatorias, antitrombóticas y vasodilatadoras (Tapia, 2014).

2.1.3. Extracción sólido – líquido

2.1.3.1. Definición

Al ser una operación unitaria esto consiste en diluir uno o más componente que son parte de un cuerpo mediante un disolvente ideal en el que no se puede disolver la parte del cuerpo conocido como inerte (Welty *et al.*, 1991).

Se encuentra concurrente usualmente en la totalidad de los procesos tecnológicos relacionados con la industria química y farmacéutica; entre los procesos de mayor práctica se encuentran la maceración, percolación y la lixiviación (Tapia, 2014).

2.1.3.2. Factores que afectan la velocidad de extracción

Ullauri (2010) indica que, existen varios factores que influyen sobre la velocidad de extracción en fase solido-líquido siendo los más importantes:

- a. **Tamaño de las partículas.** Es evidente que entre más reducido sea, también se reduce la extensión de los poros y se amplía la superficie intersticial. Por lo que la transferencia aumenta de velocidad. Sin embargo, si el tamaño de las partículas es demasiado pequeño pueden provocar que estas se compriman lo que provocaría una dificultad en la extracción.
- b. **Tipo de disolvente.** La recomendación es que se tiene que ser lo más preciso en lo posible a la vez que la densidad sea baja. La extracción de los principios activos de las plantas es realizada mayormente con etanol. Por lo que considerando esto se tiene al agua como el mejor disolvente debido a alto nivel de extracción.
- c. **Temperatura.** Influye de manera positiva en la solubilidad del sólido en el líquido incrementando así la velocidad de extracción, pero se debe tener cuidado para el caso de solutos orgánicos pues se puede dañar su estructura molecular.
- d. **Agitación.** Su importancia es relevante debido a que permite el incremento en la expansión de la masa en el líquido, incrementando así el traspaso de la masa. En las partículas finas impide la sedimentación y permite la utilidad del espacio de contacto entre medios provocando elevar la efectividad.
- e. **pH.** Interviene en la solubilidad de diversos compuestos dado que permite la solubilidad de sales. La obtención de alcaloides constituye un ejemplo de la influencia de pH en el proceso de extracción.

2.1.4. Métodos de extracción

Quispillo (2013) manifiesta que, los principales métodos de extracción utilizados son:

- a. **Maceración.** Consiste en sumergir la muestra en agua a temperatura ambiente durante varias horas (generalmente, de 8 a 12 horas), luego de ello se filtra. Esta forma de extracción se conoce también como maceración en frío. También se puede aplicar calor durante el proceso de maceración para

aumentar la velocidad de extracción teniendo en cuenta siempre que la temperatura puede dañar los componentes de interés.

- b. Infusión.** Colocar la muestra dentro de un recipiente cuyo sello sea impenetrable, con la finalidad de conservar los principios activos, para posteriormente añadir agua bullendo, luego dejar en estado de quietud por un período de 5 a 15 minutos, seguidamente destilar.
- c. Decocción.** En un recipiente sellado con agua en temperatura de hervor se agrega la muestra, dejando por un período de 5 a 20 minutos; el sellado del recipiente es importante ya que se busca evitar gasificación del agua. Esto se usa para las cascaras, las raíces y los tallos duros.
- d. Percolación o lixiviación.** Al hacer uso de este método cualquier solvente pasaría a través de una columna de soluto en polvo, llevando consigo principios activos en el proceso.

2.1.5. Tamizaje fitoquímico

Es una etapa de importancia dentro de la investigación fitoquímica, porque con ello se puede conocer de forma cualitativa los grupos químicos primordiales que hay en una planta y con ello, direccionar la extracción y/o fraccionamiento de extractos con la finalidad de separar los grupos más relevantes (Piña *et al.*, 2016).

El tamizaje fitoquímico utiliza diferentes ensayos para determinar grupos químicos de metabolitos secundarios siendo algunos de ellos como el ensayo de Mayer y el ensayo de Wagner, los cuales permiten identificar alcaloides, además el ensayo de Baljet, permite reconocer en un extracto la existencia de compuestos con agrupamiento lactónico, en específico de coumarinas. Para la identificación de quinonas se emplea el ensayo de Borntrager, así mismo el ensayo de Liebermann – Burchard permite reconocer la presencia de triterpenos y/o esteroides, debido a que ambos tipos de productos poseen un núcleo de androstano. El ensayo de Shinoda, permite determinar la presencia de flavonoides en un extracto vegetal. Por otra parte, el ensayo de antocianidinas permite reconocer en los extractos la presencia en estas estructuras de secuencia C6-C3-C6 del grupo de los flavonoides. Por último, el ensayo de

espuma permite observar la presencia de saponinas, tanto del tipo esteroideal como triterpénicas (Pereira *et al.*, 2009).

2.1.6. Antioxidantes

2.1.6.1. Definición

Un antioxidante viene a ser una molécula que tiene la capacidad de retrasar o impedir la oxidación, concediendo de uno a más electrones con la finalidad de estabilizar los componentes biológicos desapareados que son el efecto causado por el ataque de radicales libres (Kobus *et al.*, 2014).

2.1.6.2. Características de los antioxidantes

Son moléculas que pueden oxidarse rápidamente, dado que intervienen en la prevención o detención de una cadena de propagación oxidativa, por lo que se disminuye dentro del organismo humano el mal oxidativo. Al haber un medio aerobio, los cuerpos en su defensa hacen uso de técnicas antioxidantes esto al grado orgánico y bioquímico; a nivel orgánico el encargado de mantener los niveles del oxígeno dentro de los tejidos es el sistema microvascular. Caso contrario a nivel bioquímico la variación en las defensas está entre si son o no enzimáticas (Aldana y Guayasamín, 2014).

2.1.6.3. Radicales libres

Son átomos o moléculas con uno o más electrones no apareados en el último orbital, capaces de reaccionar con múltiples biomoléculas a través de su oxidación. Dentro de este concepto, las formas reducidas del O₂ se denominan especies reactivas del oxígeno (ERO); en las que se incluyen los radicales libres y el peróxido de hidrógeno (H₂O₂). Las ERO son producto del metabolismo celular y de fuentes exógenas como los rayos X, el humo de tabaco, la contaminación ambiental; las especies reactivas de oxígeno tienen una participación dual en la célula, puesto que pueden adoptar un papel benéfico o perjudicial en los sistemas vivos (Sánchez y Méndez, 2013).

Independientemente de su procedencia, los radicales libres son potencialmente peligrosos para los seres vivos, ya que afectan biomoléculas como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos pudiendo incluso llegar a causar muerte celular; como réplica al daño provocado, el organismo lo que hace es defenderse debilitando dicha oxidación mediante la acción de moléculas antioxidantes; sin embargo, si la oxidación no es detenida el proceso se llama estrés oxidativo (EO) (Aldana y Guayasamín, 2014).

El estrés oxidativo es el producto de reacciones metabólicas que hacen uso del oxígeno y aparenta una variación en la estabilidad prooxidante/antioxidante de los seres vivos que tienen la propiedad de oxidar biomoléculas como proteínas, lípidos, ADN e impiden su textura y su actividad normal (Sánchez y Méndez, 2013).

Una fuente de producción de los radicales libres en el mundo biológico viene hacer la respiración celular. El oxígeno molecular o triplete, es responsable de mantener la vida de todos los organismos, puede llegar a ser altamente tóxico debido a los fundamentos de la toxicología moderna como la activación metabólica, donde se manifiesta que el nivel de toxicidad de un elemento no depende de si misma, no obstante su toxicidad tiene la probabilidad de ser elevada a causa de son transformados metabólicamente en mediadores sumamente reactivos cuya reacción es posible debido a los componentes celulares (Londoño, 2011).

2.1.6.4. Bondades de los antioxidantes naturales

Poseen actividades fisiológicas de mucha importancia como: actividad anticarcinogénica, antiúlceras, antiviral, antibacteriana, antimutagénica, antialérgica, antifúngica, e inhibidora del incremento de la presión arterial; todas derivadas del estrés oxidativo de las células, del mismo modo son vasodilatadores, estimuladores de la respuesta inmune, antialérgicos, efectos estrogénicos, antiinflamatorios, inhibidores de enzimas prooxidantes, como ciclooxigenasa, xantina oxidasa y lipoxigenasa (Vintimilla, 2013).

2.1.6.5. Antioxidantes no enzimáticos

- a. Polifenoles:** Juntamente con las vitaminas se consideran importantes antioxidantes en la dieta, ya que se están presentes en diferentes especies y partes de las plantas; se clasifican en diferentes tipos de grupos

funcionales, como: fenoles ácidos, fenoles simples, ácidos hidroxibenzóicos, quinonas, cumarinas, lignanos y ligninas. Estos cumplen una serie de funciones metabólicas en las plantas: en la reproducción, en el crecimiento, en la protección contra patógenos externos, la radiación UV, el estrés y los depredadores. Los polifenoles son responsables del color y de las características sensoriales de plantas y alimentos (Peñarrieta, *et al.*, 2014). Una dieta rica en frutas y vegetales con un alto contenido de polifenoles está asociada a tener una menor incidencia de enfermedades cardiovasculares, cáncer, infarto, y entre otras enfermedades crónicas (Londoño, 2011).

- b. Flavonoides:** Son compuestos fenólicos, presenta una estructura con dos anillos bencénicos, se clasifican en diferentes grupos como: flavonas, flavonoles, flavanonas, antocianidinas, catequinas, epicatequinas, auronas e isoflavonoides. Los flavonoides demostraron tener una fuerte actividad antioxidante en sistemas *in vitro*, gracias a su bajo potencial de oxidación lo que les otorga una buena capacidad para estabilizar radicales libres donando electrones o átomos de hidrógeno (Bors y Saran, 1987).
- c. Vitamina E:** El componente más abundante de la vitamina E es el α -tocoferol, este componente representa la mayor posibilidad de prevención de la peroxidación de membrana por estabilización de radicales peroxilo. Posee un grupo hidroxilo fenólico el cual es responsable de su actividad estabilizadora frente a los radicales libres (Sánchez y Méndez, 2013)
- d. Vitamina C (ácido ascórbico):** Es un antioxidante que actúa en medios acuosos, como el fluido ocular, el líquido pleural y el espacio intersticial. Actúa en combinación con otros antioxidantes primarios entre ellos la vitamina E y los carotenoides, también en conjunto con las enzimas antioxidantes. La vitamina “C” colabora junto con la Vitamina E regenerando el α -tocoferol desde el radical α -tocoferilo en membranas y lipoproteínas (Griffiths y Lunec, 2001).

- e. **Carotenoides:** Son moléculas que se disuelven en el agua como también son los encargados de dar color a los alimentos vegetales con atributos de suma importancia y beneficioso a la salud; su método primordial para estabilizar radicales libres se define debido a que es capaz de normalizar el oxígeno singlete mediante el cual se puede convertir a su anterior estado a una estructura con menor reacción (triplete) a costa de una activación intramolecular (Palazón *et al.*, 2018).

2.1.6.6. Métodos para medir la actividad antioxidante

Para realizar la medición de una actividad antioxidantes se debe tener consideraciones ya que no son posibles medir de forma directa, pero se puede determinar a través de los resultados obtenidos del combinado antioxidante en una fase de oxidación bajo control. Para poder determinar las facultades del antioxidante ante sustancias cromógenas se tienen una variedad de técnicas espectrofotométricas las cuales en la actualidad han sido para su uso, estas facultades obtenidas muestran que existe un desgaste del color en proporción con la concentración (Vintimilla, 2013).

- a. **Método DPPH -2,2-difenil-1-picril hidrazilo.** Reside en la medición de la capacidad de un antioxidante para estabilizar el radical DPPH*; el radical es estable y es de color violeta la cual se decolora progresivamente, por efecto de sustancias antioxidantes presentes en la reacción, el cual se puede determinar espectrofotométricamente a 517 nm. El DPPH* se puede obtener directamente, en comparación con el método ABTS, este se genera tras una reacción química, electroquímica o enzimática (Vintimilla, 2013). Entre las ventajas que presenta este método están su bajo requerimiento instrumental y su simplicidad.
- b. **Método ABTS:** Para llevar a cabo la estabilidad del radical catión coloreado ABTS^{•+}, se respalda en el potencial de un antioxidante, esto se forma debido a que el ABTS (2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6- ácido sulfónico)) sufre un proceso de oxidación. Se usa los equivalentes de Trolox (TEAC) para mostrar los resultados. Al usar este método se tiene una serie de ventajas entre

las cuales tenemos los valores resultantes del TEAC de la vasta gama de alimentos obtenidos esto ayuda a realizar diversas comparaciones; del mismo modo tiene la facultad para ser usado en un vasto espacio del pH y fuerza iónica, como también el ABTS•+ muestra una capacidad de disolución en medios tanto acuoso como orgánico por lo ayuda en la valoración y/o estimación de antioxidantes hidrofílicos y lipofílicos (Londoño, 2011).

2.2. Estado del arte

Existe una variedad de estudios en diversas especies vegetales, así como también algunos estudios realizados para el género “Miconia”, en tal sentido se cita algunos trabajos de investigación realizados en el campo de fitoquímica.

Plazas (2018) efectuó en su estudio un tamizaje químico en extractos etanólicos a tres especies del género Miconia (*Miconia summa*, *Miconia elaeoides* y *Miconia sp.*) a las cuales identifico en sus hojas la presencia de metabolitos secundarios como: flavonoides, quinonas, cumarinas, cardiotónicos, saponinas, taninos, terpenos/esteroides y derivados del ácido cumárico y presencia negativa de alcaloides.

Prado (2009) realizó una marcha fitoquímica de extractos de corteza de *Calycophyllum spruceanum* (capirona) en la que detectó la presencia de compuestos lactónicos, antraquinonas, flavonoides, azúcares reductores, azúcares libres, iridoides, taninos condensados y saponinas, resultando sin embargo negativa la presencia de alcaloides.

Beltrán *et al.* (2013) investigaron a 39 plantas estudiadas en donde determinaron en los diferentes extractos etanólicos en hojas, cortezas, semillas, frutos una alta diversidad de metabolitos secundarios, entre ellos destacan los flavonoides, saponinas, triterpenos/esteroides, quinonas, alcaloides, taninos, glicósidos cardiotónicos y cumarinas.

Piña *et al.* (2016) ejecutaron un estudio a cerca de la caracterización fitoquímica de hojas y corteza de *Spondias mombin* (jobo) comprobando que en los extractos obtenidos (Maceración, Ultrasonido y Percolación) a partir de las hojas se identificaron a los siguientes metabolitos secundarios como los fenoles, taninos, coumarinas, saponinas, flavonoides, alcaloides, quinonas, triterpenos, esteroides y azúcares reductores y los extractos obtenidos a

partir de corteza podemos identificar fenoles, taninos, coumarinas, saponinas, flavonoides, alcaloides, y azúcares reductores.

En un estudio Soto y Rosales (2016) analizaron el efecto del solvente en la extracción de compuestos fenólicos y su capacidad antioxidante en diferentes concentraciones de etanol (20%, 50% y 80%) y la relación corteza/solvente de extractos de corteza de *Pinus durangensis* (pino de durango) y *Quercus sideroxyla* (encino colorado), donde encontraron valores de concentración máxima de polifenoles con etanol 80% -1/10 de en ambas especies fueron en *P. durangensis* (PdE80-1/10) $712,36 \pm 13,4$ mgEAG/g muestra seca y en *Q. sideroxyla* (QsE80-1/10) de $592,97 \pm 10,6$ mgEAG/g muestra seca en las demás concentraciones de etanol fueron bajos los resultados, para flavonoides obtuvo mayor contenido en *P. durangensis* (PdE20-1/10) en corteza siendo $614,68 \pm 8,1$ mgEC/g muestra seca mientras que en *Q. sideroxyla* (QsE80-1/10), fue menor $385,95 \pm 22,2$ mgEC/g muestra seca temperatura ambiente (25°C).

Por otro lado, Pérez *et al.* (2014) determinaron el contenido de polifenoles y flavonoides totales en hojas de *Psidium guajava* (guayabo) con una mezcla de metanol/agua (80:20% v/v) los resultados indicaron mayor contenido de polifenoles con $90,71 \pm 0,03$ mgEAG/g muestra seca y para flavonoides fueron $28,45 \pm 8,08$ mg CATE/g muestra seca en hojas jóvenes y en hojas maduras para polifenoles obtuvieron $46,63 \pm 0,01$ mgEAG/g muestra seca y en flavonoides $17,05 \pm 4,29$ mgCATE/ g muestra seca.

Tapia *et al.* (2014) llevaron a cabo su investigación acerca de la cuantificación del contenido de fenoles totales y actividad antioxidante en extractos acuosos y metanólicos (agua en ebullición, agua destilada a 25 °C y metanol), a diferentes temperaturas (92°C y 25°C) por el método DPPH* en *Litsea glaucescens* (laurel silvestre) la identificación química de los extractos acuosos (agua en ebullición) en hojas demostró mayor concentración que aquellos extraídos con metanol presentando así los siguientes resultados a una temperatura de 92°C con el solvente agua presento una concentración mayor de polifenoles totales, siendo $414,3 \pm 7,1$ mgEAG/g muestra seca, mientras que en agua a una temperatura de 25°C fue menor siendo $157,1 \pm 0,7$ mgEAG/g muestra seca y en lo que respecta a la extracción con metanol obtuvo en hoja $142,3 \pm 0,7$ mgEAG/g muestra seco de igual manera en lo que respecta a su actividad antioxidante por el método DPPH* a una T° de 92°C fue de $541,0 \pm 38,2$ µMTEAC/g muestra seca y en 25°C fue de $449,50 \pm 36,7$ µMTEAC/g muestra seca y en metanol presentó $556,2 \pm 7,9$ µMTEAC/g muestra seca.

Diedrich *et al.* (2020) realizaron la extracción de compuestos bioactivos de corteza de *Croton lechleri* (Sangre de Grado) a dos temperaturas de extracción (35° y 70°C), en la obtención de polifenoles los resultados fueron a una T° de 70°C con etanol $46,6 \pm 0,1$ mg EAG/g muestra seca y en agua 70°C fue $40,4 \pm 0,1$ mgEAG/g muestra seca y a una temperatura de 35°C obtuvieron menores resultados siendo para etanol $8,6 \pm 0,0$ mgEAG/g muestra seca y para agua $35,6 \pm 0,2$ mg EAG/g muestra seca y por último en los que concierne a la evaluación de la capacidad antioxidante por el método DPPH* los resultados fueron a una T° de 35°C en etanol $49,25 \pm 0,6$ μ MTEAC/g muestra seca y en agua $193,88 \pm 1,08$ μ M TEAC/g muestra seca y a una T° de 70°C para etanol fue de $283,11 \pm 0,29$ μ MTEAC/g muestra seca y en agua $152,65 \pm 2,21$ μ MTEAC/g muestra seca.

Perdomo (2009) evaluó el contenido de polifenoles totales y capacidad antioxidante en extractos acuosos e hidroalcohólicos de hojas y corteza de *Ochroma pyramidale* (topa) para polifenoles en corteza con extracto hidroalcohólicos obtuvo $181,77 \pm 1,52$ mg cate/g muestra seca y en extracto acuoso $138,89 \pm 2,54$ mgCATE/g muestra seca y en hoja en extracto hidroalcohólico obtuvo $138,63 \pm 1,32$ mgCATE/g muestra seca y en acuoso $70,97 \pm 0,94$ mgCATE/g muestra seca presentando mayor contenido de polifenoles en corteza en extracto hidroalcohólico.

Daza (2004) llevo a cabo la cuantificación de polifenoles totales y capacidad antioxidante en *Calycophyllum spruceanum* “capirona” en hojas, corteza, raíz y ritidoma en una mezcla acetona/agua (70/30) y en agua a 45°C. siendo la hoja recolectada a las 07:00a.m. quien presentó el mayor contenido de polifenoles con $2,081 \pm 0,281$ mgEAG/g muestra seca en extracción acetona/agua y en corteza el mayor contenido de polifenoles presento a las 12:00 pm. con $1,677 \pm 0,295$ mgEAG/g y con los que fueron extraídos con agua a 45°C respectivamente obtuvieron mayores resultados en hojas a las 7:00am $0,318 \pm 0,017$ mgEAG/g muestra seca y en corteza a las 5:00pm siendo $0,285 \pm 0,010$ mgEAG/g muestra seca.

Marín *et al.* (2016), realizaron su estudio fitoquímico y evaluación de la actividad antioxidante de *Esenbeckia littoralis* (Loro grande) con extractos etanólicos para hojas, corteza y madera de dicha especie en donde fueron fraccionados por reparto empleando solventes de polaridad creciente los cuales fueron: Benzina de petróleo (BDP), Cloroformo (CHCl₃), Acetato de etilo (AcOEt), n-Butanol (BuOH) y etanol obteniendo como resultado en el contenido de

fenoles totales mayor extracción en corteza en el solvente acetato de etilo (AcOEt) con 131,83 mg de ácido gálico/g de extracto y en hojas también con el solvente acetato de etilo (AcOEt) 87,90 mg de ácido gálico/g de extracto y en capacidad antioxidante por DPPH* obtuvo mayores resultados en etanol con 25,15 μ MTEAC/g en corteza los valores de hojas no fueron calculados.

Mesa *et al.* (2015) llevaron a cabo el estudio a cerca de la actividad antioxidante de extractos de diferente polaridad de en hojas de *Ageratum conyzoides* (caangay) encontrando la mayor extracción de compuestos polifenólicos con el extracto de ACExtD (diclorometano) fue $42,23 \pm 1,97$ mgEAG/g y en menor cantidad con el extracto de ACExtAE (aceite esencial y agua) con $9,21 \pm 0,29$ mgEAG/g.

Deng *et al.* (2015) evaluaron polifenoles, actividades antioxidantes y antimicrobianas de extractos de hojas y corteza de *Solidago canadensis* (vara de oro) utilizando diferentes métodos de extracción obteniendo mayor contenido con el método HPE (asistida por alta presión hidrostática) en hoja siendo $2,247 \pm 0,069$ (mgEAG/g) y en corteza $0,720 \pm 0,044$ (mg EAG/g) con el método UE (extracción asistida por ultrasonido) por último en corteza para la evaluación de flavonoides obtuvo como resultado $2,45 \pm 0,12$ mgRE/ g muestra seca en hojas con el método HPE (asistida por alta presión hidrostática) y para corteza $0,37 \pm 0,01$ mgRE/ g muestra seca utilizando el método UE (extracción asistida por ultrasonido).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Lugar de ejecución

El estudio se desarrolló en el Laboratorio de Fitoquímica Forestal y en el Laboratorio de HPLC (Cromatografía Líquida de alta resolución) de la Universidad Nacional Agraria de la Selva en Tingo María, ubicado a 660 msnm, presenta 9° 17'08 de latitud Sur y 75° 59'52 de longitud Oeste con una temperatura promedio anual de 24 °C en el distrito de Rupa Rupa, provincia de Leoncio Prado, región Huánuco.

3.1.1. Zona de recolección de materia prima

Los recursos vegetales empleados fueron las hojas y cortezas de *M. barbeyana*, las cuales fueron colectadas a las 8:00am del Bosque Reservado de la Universidad Nacional Agraria de la Selva (Figura 1 y 2, Anexo 1).

El Bosque Reservado de la UNAS presenta las siguientes características según Holdrige (1987):

- Zona de vida: Bosque muy Húmedo – Pre Montano Tropical (bmh-PT)
- Precipitación: 3 200 mm/año
- T° promedio: 24°C
- Humedad relativa: 87%

3.2. Material y métodos

3.2.1. Materiales y equipos

3.2.1.1. Materiales de laboratorio

Se usaron los siguientes materiales, tales como: Fiola de 50ml (Fisher Scientific), Pipetas volumétricas (Fisher Scientific), tubos de plástico (Falcon), microtubos 100 µl (Axygen), cubetas de poliestireno (Brand™) (1cm × 1cm × 4.5cm), micropipetas (Fisherbrand) (1000µl, 100µl, 10µl), gradillas (Fisher Scientific), etiquetas (Pegafan), papel filtro (Whatman),

papel bulki A4 (Graphos), vasos de precipitación (Marienfeld), alcohol 96° (Alkofarma), hisopos (Tuinies), papel toalla (Elite), pinzas de madera (Amazon), tubos de ensayo (Pyrex), limaduras de magnesio (Underground).

3.2.1.2. Equipos

Se emplearon los siguientes equipos: Espectrofotómetro (UV/VIS Genesys 10, USA), balanza analítica (Sartorius BP, 3100S), estufa (Memmert, INB 500), molino manual (Bosh E-Nr. MKM 6000), centrífuga (Hettich- Alemania, 22R), molino de cuchilla (Toyama, TYPE Y90L-4), Baño María (Memmert WNB 10), plancha calefactora (Fisher Scientific, SB162-3), homogenizador (TYPE, 37600 Mixer), Lámpara UV/Vis (Ali, AD2038UV MG/WM), cámara fotográfica (canon, EOS Rebel SL2 C), refrigeradora (Electrolux, DW44S).

3.2.1.3. Reactivos

(+) Catequina (Sigma Aldrich), Carbonato de sodio (Scharlau), Acido gálico (Sigma Aldrich), Folin-Ciocalteu (Himedia), Hidróxido de sodio (Scharlau), Cloruro de aluminio 6-Hidrate (Merck), Nitrito de sodio (Sigma Aldrich), 2,2-diphenil-1-picrilhidrazil (DPPH*) (Sigma Aldrich), Metanol (Lichrosolv), (±) 6-hydroxy 2,5,7,8tetramethylchroman-2-carboxylic acid (TROLOX) (Sigma Aldrich), Ácido sulfúrico (MERCK), Peróxido de hidrógeno (Merck), Tolueno (Sigma Aldrich), Anhídrido acético (J.T Baker), Gelatina- sal (Merck), Cloruro de sodio (J.T Baker) , Urea (Bio Systems), Cloruro férrico (Alfa Aesar), Diclorometano (R.J.T BAKER), Sulfato de sodio anhídrido (Merck), Reactivo Kedde (Sigma-Aldrich), , HCL cc. (Sigma-Aldrich), Alcohol etílico (Alkofarma), Acetato de plomo (J.T. Baker), Ácido acético (Sigma Chemical), Dragendorff (Sigma Aldrich), Mayer (Sigma Aldrich), Hagger (Sigma Aldrich), Wagner (Sigma Aldrich), Amoniaco (Valvone).

3.2.1.4. Determinación botánica de *M. barbeyana*

La identificación taxonómica de la especie fue efectuada por el Laboratorio de Dendrología y Herbario de la Facultad de Ciencias Forestales de la Universidad Nacional Agraria la Molina (Figura 3, Anexo 1).

3.2.1.5. Recolección y acondicionamiento del material vegetal

Las hojas y corteza se recolectaron del Bosque Reservado de la Universidad Nacional Agraria de la Selva (BRUNAS) tomando en cuenta que no presentaran daños, seguidamente se realizó un lavado (Figura 4, Anexo 1) y desinfección con hipoclorito de sodio a 200 ppm para luego ser oreado durante 30 minutos (Figura 5, Anexo 1). Una vez lista las muestras se secaron a 60°C por 12 horas (Figura 6, Anexo 1), luego fueron molidas en un molino de cuchillas y finalmente, envasadas en bolsas de papel hasta su análisis respectivo (Lock, 1994).

3.2.2. Metodología

3.2.2.1. Tamizaje fitoquímico

a. Reconocimiento de alcaloides

Para el reconocimiento de alcaloides se añadió 5g de muestra seca de hoja y corteza de *M. Barbeyana* en dos vasos de precipitado, posteriormente se añadió un volumen suficiente de HCL al 5% para que toda la muestra este en contacto con la solución ácida. Luego, se calentó con agitación en baño maría por 5 minutos, inmediatamente se dejó reposar 30 minutos hasta enfriar y seguidamente se filtró usando papel filtro. Prontamente, se colocaron en 4 tubos de ensayos 2 ml del filtrado ácido, en seguida se añadió a cada tubo dos gotas de los reactivos Dragendorff, Hagger, Mayer y Wagner. Si se registra turbidez o precipitado por lo menos en tres tubos, se considera que la muestra presenta alcaloides (Alejandro, 1973; Miranda *et al.*, 2000).

b. Reconocimiento de flavonoides, leucoantocianidinas y cardiotónicos

En dos vasos precipitado se colocó 5g de muestra seca de hoja y corteza de *M. Barbeyana*, luego se adicionó un volumen suficiente de alcohol etílico que cubra toda la muestra y le confiera fluidez. Después de ello se calentó en baño maría durante 5 minutos con agitación. Seguidamente, se dejó enfriar y luego se filtró. Al filtrado, se le adiciono un volumen igual de solución de acetato de plomo al 4% que contenía ácido acético al 0.5%, luego se agitó y se dejó reposar durante 15 minutos y finalmente se filtró. Con el filtrado obtenido se llevó a

cabo ensayos de reconocimiento de flavonoides, leucoantocianidinas y cardiotónico (Alejandro, 1973; Miranda *et al.*, 2000).

c. Ensayo para Flavonoides

Se colocó varias limaduras de magnesio en un tubo de ensayo, a esto se agregó 2ml del filtrado y por la pared del tubo se dejó caer varias gotas de HCL concentrado. La manifestación de colores naranja, rojo, rosado o violeta es prueba positiva para la existencia de flavonoides en la muestra (Figura 4 y 5, Anexo 1).

d. Ensayo para leucoantocianidinas

Se agregó 2 ml del filtrado en un tubo de ensayo. Seguidamente se incorporó 1 ml de ácido clorhídrico concentrado, luego se calentó en baño de agua hirviendo a lo largo de 15 minutos. La aparición de color rojo es prueba positiva para la existencia de leucoantocianidinas.

e. Ensayo para cardiotónicos

En un tubo de ensayo se colocó 1 ml del filtrado, luego de ello se añadió 0.5 ml del reactivo Kedde (compuesto de: 1 ml de la solución A+1 ml de solución B). La aparición de colores violetas, púrpuras es prueba positiva para la presencia de cardiotónicos (Figura 16 y 17, Anexo 1).

f. Reconocimiento de Saponinas, Taninos, Esteroles y/o Triterpenoides y Quinonas

Se empleó el método propuesto por Alejandro (1973) y Miranda *et al.* (2000), el cual consistió en lo siguiente: En dos vasos precipitados se añadió 5 g de muestra seca de hojas y corteza de *M. barbeyana* luego se vertió un volumen suficiente de alcohol a la muestra, seguidamente se calentó en baño maría durante 10 minutos con agitación y una vez concluido el tiempo se filtró en caliente, luego se concentró hasta la mitad del volumen en el filtrado. Se llevó a un embudo de separación, del cual se retiró dos porciones de 10 ml c/u de diclorometano.

Seguidamente, se incorporó un volumen de agua para que se formen dos fases. Se recuperó ambas fases. La fase acuosa se filtró y con el filtrado obtenido se realizó ensayos para taninos, saponinas y quinonas.

La fase orgánica se recuperó, se secó con sulfato de sodio anhidrido y se filtró, con el filtrado se efectuó ensayos para triterpenos o esteroides.

g. Reconocimiento de Saponinas

Se agitó en un tubo de ensayo tapado, 4 ml del filtrado acuoso, vigorosamente durante 1 minuto. La formación de espuma abundante y permanente es prueba positiva para saponinas presentes en la muestra (Figura 6 y 7, Anexo 1).

h. Reconocimiento de Taninos

Se cogió 1 ml del filtrado acuoso en un tubo de ensayo, se añadió 1 ml del reactivo de gelatina- sal. Se redisolvió el precipitado en 2 ml de urea de 10M. Luego se añadió 2 o 3 gotas de cloruro férrico al 10%. La formación de un precipitado al añadir el reactivo gelatina-sal, y el surgimiento de colores o precipitados verdes, azules o negros indica que es positivo la presencia de taninos en la muestra (Figura 8 y 9, Anexo 1).

i. Reconocimiento de Triterpenos y/o Esteroides

En un tubo de ensayo limpio y seco se colocó 1 ml del filtrado orgánico. Posterior a ello se colocó 1 ml de anhidrido acético y por la pared del tubo y con mucha precaución, se dejó rebalsar 1-2 gotas de ácido sulfúrico concentrado. La formación de colores rojos, violetas, azules, o verdes es prueba positiva para esteroides y/o triterpenoides (Figura 10 y 11, Anexo 1).

j. Reconocimiento de Quinonas

Para iniciar haciendo uso de un tubo de ensayo se insertó aproximadamente 5ml del filtrado acuoso, luego se procedió a añadir 1 ml de peróxido de hidrógeno al 20% y 1 ml de ácido sulfúrico al 50%. Continuamente se realizó el calentamiento de la muestra por un período

de 15 minutos dentro de un baño con agua en estado de ebullición. Pasado el período de enfriamiento se procede a añadir 5 ml de tolueno. Seguidamente se agita evitando llegar a disolver o combinar. Para finalmente dar un resultado y comprobar si existe quinonas dentro de la muestra se procede a verificar si la capa acuosa cambia su color a rojo o rosado.

k. Reconocimiento de Antocianinas

En dos vasos precipitado se colocó 5 gr de muestra seca de hojas y corteza de *M. barbeyana* posteriormente se adicionó unos 100 ml de agua, se calentó a ebullición durante unos 5 minutos y se filtró.

Posterior a ello en otro tubo de ensayo se colocó 2 ml del filtrado, para luego añadir 1 ml de NaOH diluido y se observó el color formado. Análogamente al anterior, en un tubo de ensayo se colocó 2 ml del filtrado y se añadió 2 gotas del ácido mineral diluido (ácido sulfúrico) y se observó el color formado. Las antocianinas se identifican por presentar diferentes colores a diferentes pH (Figura 12 y 13, Anexo 1) (Alejandro, 1973; Miranda *et al.*, 2000)

l. Reconocimiento de Cumarinas

El reconocimiento de cumarinas consistió en lo siguiente: En un tubo de ensayo se añadió 5 gr del material vegetal de *M. barbeyana* y se colocó una cantidad necesaria de etanol 96° comercial hasta cubrir todo el material vegetal. Luego se procedió a cubrir el acceso del tubo de ensayo haciendo uso del papel filtro blanco y se aseguró con pinzas para tubo de ensayo. Para posteriormente añadir ciertas gotas de NaOH disuelto 5% en papel filtro que cubra el acceso del tubo de ensayo, luego se dejó por un período de 5 minutos en un estado de ebullición luego de un previo calentamiento, se procedió al retiro del papel filtro al finalizar el enfriamiento. Finalmente haciendo uso de la luz ultravioleta a 365nm se observó que apareció una tonalidad fluorescente (verde, roja o amarilla) en el papel filtro por lo que se deduce que existe Cumarinas (Figura 14 y 15, Anexo 1) (Alejandro, 1973; Miranda *et al.*, 2000).

3.2.3. Asignación cualitativa para el tamizaje fitoquímico

Tabla 1. Valoración cualitativa para el tamizaje fitoquímico (Carbajal *et al.*, 2009)

Resultado	Asignación
Negativo	-
Dudoso	+/-
Escaso	+
Regular	++
Moderado	+++
Abundante	++++

3.2.3.1. Cuantificación de polifenoles totales y flavonoides

La preparación de los extractos acuosos (infusión) se realizó de la siguiente manera: Se pesó 2,5g de cada tipo de droga (hojas y corteza) en vasos precipitado a los cuales se agregó agua destilada hasta un volumen de 50 ml y se llevaron a baño maría a 45, 65, y 95°C por 5 minutos, luego los extractos fueron filtrados y centrifugados a 10000 rpm a 4°C por 10 minutos. Es importante señalar que los extractos han servido para los siguientes análisis: Cuantificación de polifenoles totales, flavonoides y capacidad antioxidante.

La curva de calibración fue elaborada con las siguientes concentraciones 10, 25, 50, 75 y 100 ug/mL (Tabla 17, Anexo 2). La cantidad de polifenoles totales se cuantifico en función a la curva de calibración de ácido gálico (AG) (Figura 20, Anexo 2). El contenido de polifenoles totales presentes en las muestras se reportó en mg de ácido gálico equivalente (EAG)/ g de muestra seca (Singleton y Rossi, 2009).

Para la cuantificación del contenido de polifenoles totales se tomó 100 µL de muestra, se mezclaron con 500 µL de solución Folin-Ciocalteu (1:10 Folin-Agua destilada) después de 8 min se añadió 400 µL de Na₂CO₃ al 7.5 % (Figura 16, Anexo 1), prontamente se almacenó por 2 horas a temperatura ambiente en oscuridad, finalmente se realizó la lectura en el espectrofotómetro UV/VIS a 740 nm.

Los flavonoides totales se calcularon en base a una curva estándar elaborada con catequina (Figura 21, Anexo 2) la cual fue realizada a una concentración comprendida entre 1,0; 2,5; 5,0; 7,5; 10,0 $\mu\text{g/ml}$ (Tabla 19) y los resultados se expresaron en mg equivalentes de catequina por g de muestra seca.

Se cuantificó utilizando el método colorimétrico, reportado por Gasca *et al.* (2003), para lo cual se utilizó 100 μL de muestra la cual se mezclaron con 30 μL de nitrito de sodio al 5% reposando 6 minutos, para luego añadir 30 μL de cloruro de aluminio al 10% dejando 5 minutos en reposo, después de ello se añadió 200 μL de hidróxido de sodio 1M dejando en reposo 5 minutos por último se añadió 640 μL de agua destilada (Figura 17, Anexo 1), a la mezcla se le hizo reposar a temperatura ambiente durante 30 minutos con agitación intermitente. La absorbancia de la mezcla se midió a 344 nm.

3.2.3.2. Determinación de la capacidad antioxidante

a. Determinación de la capacidad antioxidante frente al radical DPPH*

El porcentaje de secuestro de radicales DPPH* se determinó en función a la curva estándar de Trolox (Figura 22, Anexo 2), que fue elaborada en concentraciones entre 0,1 – 1,5 mM (Tabla 21) por lo que la muestra de los resultados fue en μM de Trolox equivalente (TEAC) por g de muestra seca.

Durante la estimación de la capacidad antioxidante se tuvo la necesidad de usar el radical 2,2-diphenil-1-picrilhidrazil (DPPH*), reportado por Brand-Williams *et al.*, (1995). Se tomó 25 μL de infusión y se hizo reaccionar con 975 μL de DPPH* 100 μM en un ambiente con baja luminosidad y se registraron las absorbancias a 515 nm, a lo largo de 10 minutos o hasta que se observe un valor de absorbancia constante (Figura 18, Anexo 1).

3.2.4. Análisis Estadístico

Los datos se calcularon bajo un Diseño Completamente al Azar con un arreglo factorial de 2Ax 3B con 3 repeticiones, las mismas que se muestran en la Tabla 2. Además de ello, para comparar la diferencia entre promedios se empleó la prueba de Tukey ($P < 0,05$).

Tabla 2. Análisis de varianza para las evaluaciones realizadas *M. Barbeyana*

Fuente de variación	Grados de libertad
Tipo de droga (A)	a-1=1
T° de solvente (B)	b-1=2
A*B	(a-1) (b-1) =2
Error experimental	(a*b) (n-1) =12
Total	17

3.2.5. Diseño experimental y factores estudiados

Se empleo el Diseño Completamente al Azar (DCA) con un arreglo factorial de 2Ax3B. En la Tabla 3, se muestra los factores estudiados con sus correspondientes niveles.

Tabla 3. Factores estudiados con sus respectivos niveles

Factores	Niveles	Símbolo
A. Tipo de droga	Hoja	a ₁
	Corteza	a ₂
	Agua (95°)	b ₁
B. T° de solvente	Agua (65°)	b ₂
	Agua (45°)	b ₃

3.2.6. Modelo aditivo lineal

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

Donde:

Y_{ijk}	: Variable respuesta u observación
μ	: Media poblacional
A_i	: Efecto del i-ésimo tipo de droga
B_j	: Efecto del j-ésimo temperatura del solvente
$(A*B)_{ij}$	: Efecto de la interacción del i – ésimo nivel del factor tipo de droga con el j – ésimo del nivel del factor temperatura de solvente
E_{ijk}	: Error experimental

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Tamizaje fitoquímico de hojas y corteza de *M. barbeyana*

Se observó presencia abundante de flavonoides (++++), taninos (++++), en hojas y corteza, así como también presencia moderada de saponina (+++), triterpenos y/o esteroides (+++) y antocianinas (+++). Análogamente, se observó presencia regular de cumarinas (++) en hojas y corteza (Tabla 4).

Plazas (2018) realizó estudios a tres especies del género *Miconia* en hojas en las cuales identifico la presencia de flavonoides, quinonas, cumarinas, cardiotónicos, saponinas, taninos, terpenos/esteroides y derivados del ácido cumárico y presencia negativa de alcaloides. Análogamente, Prado (2009) en la corteza de *C. Spruceanum* encontró la presencia de metabolitos secundarios como lactonas, quinonas, flavonas, taninos y la ausencia de alcaloides y por último Piña *et al.* (2016) ejecutaron un estudio a cerca de la caracterización fitoquímica de hojas y corteza de *S. mombin* comprobando que en los extractos obtenidos (Maceración, Ultrasonido y Percolación) a partir de las hojas se identificaron a los siguientes metabolitos secundarios como los fenoles, taninos, coumarinas, saponinas, flavonoides, alcaloides, quinonas, triterpenos, esteroides y azúcares reductores en corteza adquirieron fenoles, taninos, coumarinas, saponinas, flavonoides, alcaloides, y azúcares reductores. Todas estas especies pertenecientes a distintos familias, género y especie poseen diferentes tipos de metabolitos secundarios al igual que nuestra especie en estudio por ello, podemos señalar que el contenido de metabolitos secundarios está intervenido por el genotipo de la planta (especie y variedad), las características ambientales (radiación solar y reservas de agua), la hora de recolección, las fases de las luna, velocidad en el crecimiento, la madurez, el estado nutricional del suelo, el estrés de las especie, la depredación y enfermedades (Waterman y Mole, 1994). También se podría afirmar que la presencia de los metabolitos secundarios está vinculada con los mecanismos de defensa de la planta y los efectos del suelo y del clima (Harborne, 1993).

Asimismo, la recolección de la droga (hojas y corteza) se ha observado un estado sanitario muy bueno del árbol *M. barbeyana*, lo cual posiblemente es debido a la presencia de metabolitos secundarios en hojas y corteza; ante ello, (Díaz y Asencio, 2008) manifiesta que, la existencia de los metabolitos secundarios desempeñan funciones muy diversas y fundamentales para las plantas entre ellas de protección frente agentes patógenos,

microorganismos entre otros, su participación es a nivel fisiológico (formando partes de la estructura química) y ecológico (sobrevivencia de las plantas) entre otras funciones.

Tabla 4. Tamizaje fitoquímico de hojas y corteza de *M. barbeyana*

Parte de la droga	Reactivo utilizado	Metabolito Secundario	Prueba
Corteza	Dragendorff	Alcaloides	-
	Mayer	Alcaloides	-
	Wagner	Alcaloides	-
	Hagger	Alcaloides	-
Hoja	Dragendorff	Alcaloides	-
	Mayer	Alcaloides	-
	Wagner	Alcaloides	-
	Hagger	Alcaloides	-
Corteza	HCL y cinta de magnesio	Flavonoides	++++
Hoja	HCL y cinta de magnesio	Flavonoides	+++
Corteza	HCL	Leucoantocianidinas	+/-
Hoja	HCL	Leucoantocianidinas	+++
Corteza	kedde	Cardiotónico	-
Hoja	kedde	Cardiotónico	-
Corteza	Agua/agitar	Saponina	+++

Hoja	Agua/agitar	Saponina	+++
Corteza	Gelatina – sal	Tanino	++++
Hoja	Gelatina – sal	Tanino	++++
Corteza	H ₂ SO ₄ (ácido sulfúrico)	Triterpenos y/o esteroides	+++
Hoja	H ₂ SO ₄ (ácido sulfúrico)	Triterpenos y/o esteroides	+++
Corteza	Tolueno, NaOH con amoniacó	Quinonas	-
Hoja	Tolueno, NaOH con amoniacó	Quinonas	-
Corteza	NaOH, H ₂ SO ₄	Antocianinas	+++
Hoja	NaOH, H ₂ SO ₄	Antocianinas	+++
Corteza	Lámpara UV	Cumarinas	++
Hoja	Lámpara UV	Cumarinas	++

Nulo (-), dudoso (+-), escaso (+), regular (++), Moderado (+++), abundante (++++). Escala ordinal reportado por Carbajal (Carbajal *et al.*, 2009).

4.2. Cuantificación de polifenoles totales y flavonoides de hojas y corteza de *M. barbeyana*

Los resultados obtenidos (Tabla 5), según el tipo de droga (hoja y corteza), varían significativamente ($P < 0.05$) (Tabla 6). Así, el análisis de la interacción de los factores evaluados de la combinación del tipo de droga y temperatura del solvente dio como resultado que la corteza presentó mayor contenido de polifenoles a una temperatura de 95°C siendo $173,97 \pm 2,38$ mgEAG/g de muestra seca y menor contenido a una temperatura de 45°C con $26,78 \pm 0,52$ mgEAG/g de muestra seca, respectivamente. Asimismo, (Soto y Rosales, 2016), en su estudio a cerca de la extracción de compuestos fenólicos y actividad antioxidante con soluciones hidroetanólicas de *P. durangensis* y *Q. sideroxyla*, obtuvieron un mayor resultado en corteza de *P. durangensis* (PdE80-1/10) con un valor de $712,36 \pm 13,4$ mgEAG/g extracto seco a temperatura ambiente (24°C) y en *Q. sideroxyla* (QsE80-1/10) de $592,97 \pm 10,6$ mg EAG/g extracto seco. Comparando estos resultados con el obtenido en nuestro estudio fueron diferentes, presentando mayor contenido de polifenoles en corteza las especies de *P. durangensis* y *Q. sideroxyla* ya que fueron realizados en extracto de muestra, presentando así mayores valores ya que, los metabolitos secundarios se encuentran concentrados por ello presentan mayor contenido de compuestos polifenólicos que los de nuestro estudio.

Por otro lado, en hojas a una temperatura de 95°C dio como resultado $137,28 \pm 0,65$ mgEAG/g muestra seca, a 65°C se obtuvo $118,57 \pm 1,53$ mgEAG/g muestra seca y a 45°C $22,82 \pm 0,43$ mg EAG/g muestra seca (Tabla 5). Tapia *et al.* (2014), en su estudio de polifenoles en hojas de *L. glaucescens*, obtuvo como resultado a 25°C un valor de $157,1 \pm 0,7$ mgEAG/g muestra seca, a 92°C un valor de $414,30 \pm 7,1$ mgEAG/g y en metanol obtuvo $142,3 \pm 0,7$ mgEAG/g muestra seca. Daza (2004), llevo a cabo la cuantificación de polifenoles totales de *C. spruceanum* en hojas y cortezas recolectadas a diferentes horas siendo las hojas recolectadas a las 07:00a.m. quienes presentaron el mayor contenido de polifenoles con $2,081 \pm 0,281$ mg AGE/g muestra seca en la extracción acetona/agua y los que fueron extraídos con agua a 45°C respectivamente obtuvieron mayores resultados en hojas recolectadas a las 7:00am presentando los valores de $0,318 \pm 0,017$ mgAGE/g muestra seca y por último Diedrich *et al.* (2020) obtuvieron en la extracción de compuestos fenólicos de corteza la de *C. lechleri* mayor resultado a 70°C en agua siendo $46,6 \pm 0,1$ mgGAE/g muestra seca y menor resultado a 35°C en agua con $35,6 \pm 0,2$ mgEAG/g muestra seca, lo mismo ocurrió con el solvente etanol que utilizó el cual presentó mayores resultados incrementado la temperatura, estos datos comparando con nuestros resultados nos puede indicar que la extracción de compuestos

fenólicos a altas temperaturas y utilizando solventes polares, optimiza significativamente en la extracción de fenoles totales (Vermerris y Nicholson, 2008).

Tabla 5. Contenido de polifenoles totales expresado en mgEAG/g de muestra seca en extractos acuosos de hojas y corteza de *M. barbeyana*

Tipo de droga	Temperatura del solvente	Promedios ¹
Corteza	95°	173,97±2,38 ^a
Hoja		137,28±0,65 ^b
Corteza	65°	119,10±0,70 ^c
Hoja		118,57±1,53 ^c
Corteza	45°	26,78±0,52 ^d
Hoja		22,82±0,43 ^e

¹Los valores representan el promedio ± ES. Las letras a-e, representan diferencia estadística entre los promedios evaluados mediante DCA, prueba de Tukey ($P<0,05$).

La diferencia en el contenido de polifenoles entre las temperaturas y las drogas vegetales (corteza y hoja) puede ser por las formas de extracción ya que no hay un método o solvente específico, pues ello dependerá de la concentración del solvente, del tamaño molecular, tiempo de contacto, reactivos a utilizar, ellos se ven intervenidos por las propiedades fisicoquímicas que presentan las distintas estructuras de los polifenoles, Además de ello la hora en que se recolecta está intervenida por la vida media de los metabolitos, la cual es cambiante; en algunos puede ser de días y en otros de horas. Este hecho es el motivo de las modificaciones que se examina en su concentración a lo largo del día (Singh y Heldman, 1998). Por lo tanto, los fenoles al poseer más de un grupo –OH favorecen en la solubilidad en agua; así mismo la temperatura tiene un rol importante en la resección de estos compuestos, debido a que fomenta el aumento en los coeficientes de difusión y solubilidad de los compuestos fenólicos, al causar la redención de los polifenoles. (Wang *et al.*, 2007; Al-Farsi y Lee, 2008).

Según la prueba de Tukey ($P<0,05$) (Tabla 6), el contenido de polifenoles totales por el factor tipo de droga, muestra diferencias significativas entre la corteza y la hoja con valores de 106,62±21,48 y 92,89±17,73 mgEAG/g de muestra seca, respectivamente.

Tabla 6. Contenido de polifenoles totales respecto al tipo de droga (mgEAG/g)

Tipo de droga	Promedios	Tukey ($P<0,05$) ¹
Corteza	106,62±21,48	a
Hoja	92,89±17,73	b

¹Letras iguales indican que no existe diferencia significativa (NS) dentro del mismo grupo.

Según la prueba de Tukey ($P<0,05$) (Tabla 7), el contenido de polifenoles totales por el factor temperatura, muestra diferencias significativas entre 95°C, 65°C y 45°C con valores de 155,63±8,27; 118,83 ±0,76 y 24,80±0,93 mgAGE/g de muestra seca, respectivamente.

Tabla 7. Contenido de polifenoles totales respecto a las temperaturas (mgEAG/g)

Temperatura del solvente	Promedios	Tukey ($P<0,05$)
95°	155,63±8,27	a
65°	118,83±0,76	b
45°	24,80±0,93	c

¹Letras iguales indican que no existe diferencia significativa (NS) dentro del mismo grupo.

El contenido de flavonoides (Tabla 8), según el tipo de droga (hoja y corteza), varían significativamente ($P<0.05$) (Tabla 9) en hojas y corteza de *M. barbeyana* a diferentes niveles de temperatura (45°C, 65°C y 95°C). El análisis de la interacción de los factores evaluados de la combinación tipo de droga y temperatura dio como resultado que la corteza presentó mayor contenido de flavonoides a una temperatura de 95°C, mientras que la hoja presentó menor contenido a una temperatura de 45°C, con valores promedio de 33,03 ± 0,92 y 3,91 ± 0,18 mgEC/g de muestra seca, respectivamente

Tabla 8. Contenido de flavonoides expresado en mgEC/g muestra seca en extractos acuosos de hojas y corteza de *M. barbeyana*

Tipo de droga	Temperatura del solvente	Promedios ¹
Corteza	95°	33,03±0,92 ^a
Hoja		26,54±0,44 ^b
Corteza	65°	22,67±0,15 ^c
Hoja		19,91±0,48 ^d
Corteza	45°	5,80±0,21 ^e
Hoja		3,91±0,18 ^f

¹Los valores representan el promedio±ES. Las letras a-f, representan diferencia estadística entre los promedios evaluado mediante DCA, prueba de Tukey ($P<0,05$).

Según la prueba de Tukey ($P<0.05$) (Tabla 9), el contenido de flavonoides por el factor tipo de droga, muestra diferencias significativas entre la corteza y la hoja con valores de 20,50±3,97 y 16,79 ± 3,36 mgEC/g de muestra seca, respectivamente.

Tabla 9. Contenido de flavonoides respecto al tipo de droga (mgEC/g).

Tipo de droga	Promedios	Tukey ($P<0,05$) ¹
Corteza	20,50±3,97	a
Hoja	16,79±3,36	b

¹Letras iguales indican que no existe diferencia significativa (NS) dentro del mismo grupo.

Según la prueba de Tukey ($P<0.05$) (Tabla 10), el contenido de flavonoides totales por el factor temperatura, muestra diferencias significativas entre 95°C, 65°C y 45°C con valores de 29,78 ± 1,52; 21,29 ± 0,65 y 4,86 ± 0,43 mgEC/g de muestra seca, respectivamente.

Tabla 10. Contenido de flavonoides respecto a las temperaturas (mgEC/g)

Temperatura del solvente	Promedios	Tukey ($P<0,05$)
95°	29,78±1,52	a
65°	21,29±0,65	b
45°	4,86±0,43	c

¹Letras iguales indican que no existe diferencia significativa (NS) dentro del mismo grupo

En el caso de los flavonoides se logró determinar una alta presencia en corteza y a una temperatura de 95°C siendo $33,03 \pm 0,92$ mgEC/g de muestra seca y en hojas $26,54 \pm 0,44$ mgEC/g muestra seca a la misma temperatura, comparando estos datos con el estudio de (Soto y Rosales, 2016) en el cual realizaron la extracción con soluciones hidroetanólicas en corteza de *P. durangensis* y *Q. sideroxyla* obtuvieron que la concentración de flavonoides en *P. durangensis* (PdE20-1/10) fue mayor siendo $614,68 \pm 8,1$ mgEC/g muestra seca mientras que en *Q. sideroxyla* (QsE80-1/10), fue menor $385,95 \pm 22,2$ mgEC/g muestra seca a temperatura ambiente (25°C) por otro lado Pérez *et al.* (2014) en la cuantificación de flavonoides que realizaron en hojas de *P. guajava* utilizando etanol y agua obtuvo como resultado $28,45 \pm 8,08$ mgEC/g muestra seca en hojas jóvenes y $17,05 \pm 4,29$ mgEC/g muestra seca en hojas maduras estos resultados comparados con los del presente estudios muestran diferencias tanto en hoja como en corteza ya sea por factores genéticos, ambientales, tiempo de extracción, longitudes de ondas, reactivos a utilizar, etc. En nuestros resultados se observa que, al incrementar la temperatura con un solvente polar, tiende a incrementar la extracción de flavonoides, polifenoles en corteza; por ende, el rendimiento cuantitativo y cualitativo de la extracción dependerá de la polaridad que presente el disolvente empleado, también a que según prospera la edad del árbol, el espesor de la corteza aumenta con ello la masa celular aumenta logrando abarcar y conservar más componentes fitoquímicos. La modificación que hay en la composición de la corteza entre las distintas especies de árboles es diversa pues ello se sujetará a los componentes morfológicos comprometidos. Como se sabe la corteza presenta en su estructura constituyentes solubles (extractivos) como la pectina, compuestos fenólicos y suberina. Su variación en su constitución de una misma especie se ve influenciada en su variabilidad genética y ambiental (Rodríguez *et al.*, 1994).

Como se sabe el ritidoma tiene una composición química compleja los extractivos de la corteza están divididos en constituyentes lipofílicos e hidrofílicos. Estos extraíbles abarcan una basta diversidad de agregados orgánicos descentralizados y acumulados en el lumen celular o infiltrando las paredes de las células, que para removerlos se puede usar el éter, hexano, acetona, metanol, etanol y agua, entre otros, que son solventes neutrales de polaridad cambiante. Por otro lado, de la parte lipofílica (no polar) se separan las grasas, ceras, terpenos y alcoholes alifáticos superiores, mientras que de la parte hidrofílica (polar) está formada esencialmente por sustancias polifenólicos (Fengel y Wegener, 1989). Se debe agregar que los flavonoides desempeñan una función importante en las plantas los cuales son el de protección frente a agentes agresores externos, señal química y efecto sobre las enzimas y que en varias especies

cambian sustancialmente en su genotipo, por la eventualidad estacional, edad, deterioro de la hoja y zonas de ubicación (Faraa y Tahara, 1999).

4.3. Evaluación de la actividad antioxidante de hojas y corteza de *M. barbeyana* a través del radical DPPH*

Los resultados de la capacidad antioxidante evaluado a través del radical DPPH* (Tabla 11.), no varían significativamente ($P < 0.05$) (Tabla 12). Así, el análisis de la interacción de los factores evaluados de la combinación del tipo de droga y temperatura del solvente dio como resultado, que la corteza presentó mayor capacidad antioxidante a una temperatura de 95°C siendo $8,89 \pm 0,09 \mu\text{MTEAC/g}$ muestra seca, mientras que la hoja presentó menor contenido a una temperatura de 45°C con un valor de $202,1 \pm 2,7 \mu\text{MTEAC/g}$ muestra seca, respectivamente. Análogamente, Tapia *et al.* (2014), en hoja de *L. glaucescens* con el método DPPH* a una temperatura de 25°C obtuvieron como resultado $449,50 \pm 36,7 \mu\text{MTEAC/g}$ muestra seca y a una temperatura de 92°C fue $541,0 \pm 38,2 \mu\text{MTEAC/g}$ muestra seca y con metanol $556,20 \pm 7,9 \mu\text{MTEAC/g}$ muestra seca muestra seca. Asimismo, los resultados obtenidos por Diedrich *et al.* (2020) en la especie *C. lechleri* a dos temperaturas de extracción (35° y 70°C) la evaluación de la capacidad antioxidante por el método DPPH* resultó a una T° de 35°C en etanol $49,25 \pm 0,6 \mu\text{MTEAC/g}$ muestra seca y en agua $193,88 \pm 1,08 \mu\text{MTEAC/g}$ muestra seca y a una T° de 70°C para etanol $283,11 \pm 0,29 \mu\text{MTEAC/g}$ muestra seca y en agua $152,65 \pm 2,21 \mu\text{MTEAC/g}$ muestra seca. Si comparamos nuestros datos con los del estudio de Diedrich y Tapia podemos ver que a mayor temperatura mayor es la extracción fenoles y por ende la capacidad antioxidante en los extractos con distintos tratamientos aplicados ya sea en hoja o corteza, en nuestro estudio fue en corteza y a mayor temperatura.

Tabla 11. Actividad antioxidante por el método DPPH* $\mu\text{MTEAC/g}$ muestra seca en extractos acuosos de hojas y corteza de *M. barbeyana*

Tipo de droga	Temperatura del solvente	Promedios ¹
Corteza	95°	8,89±0,09 ^a
Hoja		7,40±0,07 ^a
Corteza	65°	5,43±0,13 ^a
Hoja		3,68±0,12 ^a
Corteza	45°	3,45±0,07 ^a
Hoja		2.02±0,02 ^a

¹Los valores representan el promedio±ES. Letras iguales, representan que no existe diferencia estadística entre los promedios evaluado mediante DCA, prueba de Tukey ($P < 0.05$).

Según la prueba de Tukey ($P < 0.05$) (Tabla 12), la actividad antioxidante mediante el método DPPH* factor tipo de droga, muestra diferencias significativas entre la corteza y la hoja con valores de 5,92±0,79 y 4,37±0,79 $\mu\text{MTEAC/g}$ muestra seca, respectivamente.

Tabla 12. Actividad antioxidante respecto al tipo de droga ($\mu\text{MTEAC/g}$)

Tipo de droga	Promedios	Tukey ($P < 0,05$) ¹
Corteza	5,92±0,79	a
Hoja	4,37±0,79	b

¹Letras iguales indican que no existe diferencia significativa (NS) dentro del mismo grupo

Según la prueba de Tukey ($P < 0.05$) (Tabla 13), la capacidad antioxidante mediante el método DPPH* por el factor temperatura, muestra diferencias significativas entre 95°C, 65°C y 45°C con valores de 8,14±0,33; 4,55±0,39 y 2,73±0,32 $\mu\text{MTEAC/g}$ de muestra seca, respectivamente.

Tabla 13. Actividad antioxidante respecto a las temperaturas ($\mu\text{MTEAC/1g}$)

Temperatura del solvente	Promedios	Tukey ($P < 0.05$)
95°	8,14±0,33	a
65°	4,55±0,39	b
45°	2,73±0,32	c

¹Letras iguales indican que no existe diferencia significativa (NS) dentro del mismo grupo

Las diferencias observadas de nuestro estudio entre el contenido de compuestos fenólicos y su actividad antioxidante comparado con las otras investigaciones como se mencionó anteriormente se debe a la condición química de los solventes, radicales y polaridad de los compuestos utilizados, de tal forma que al combinar estas propiedades implica una alteración en el traspaso de electrones y átomos de hidrógeno, como también implica que existan componentes que no tienen actividad antioxidante pero que pueden obstruir en la resolución, un ejemplo claro son los fenólicos polimerizados (Pérez y Saura, 2006).

El ensayo que se llevó a cabo a través del método DPPH*, se tiene que existe una dependencia elevada de la actividad antioxidante con la composición del extracto y el resultado de la correlación provocados por estos, es decir, la capacidad antioxidante es el resultado de acción recíproca entre ambos, por lo que se puede esperar que los resultados sean correlativos o incompatibles (Ruíz *et al.*, 2018). Por último, algunos estudios realizados a la familia Melastomataceae han demostrado que pueden ser empleadas con fines medicinales, ornamentales y alimenticios. En la medicina tradicional son reconocidas por sus propiedades astringentes, hemostáticas, antibacterianas y antidiarreicas Freire *et al.* (2002), además de que sus compuestos polifenólicos presentes en diferentes especies de la familia que se caracterizan por su marcada actividad antioxidante, relacionada a sus propiedades redox (Stanojevic *et al.*, 2009).

V. CONCLUSIONES

- Mediante el tamizaje fitoquímico realizado a la especie *M. barbeyana* se detectaron la presencia de metabolitos secundarios como flavonoides, leucoantocianidinas, saponinas, taninos, triterpenoides y/o esteroides, antocianinas, cumarinas y la ausencia de alcaloides, cardiotónicos, quinonas evaluadas en hojas y corteza.
- La cuantificación de polifenoles respecto al análisis de la interacción de los factores evaluados (AB), la combinación de: Tipo de droga (corteza)*Temperatura del solvente (95°C) dio un mayor valor el cual fue de $173,97 \pm 2,38$ mgEAG/g materia seca. Asimismo, la cuantificación de polifenoles por el factor tipo de droga en corteza fue mayor con $106,62 \pm 21,48$ mgEAG/g materia seca y por el factor temperatura de 95°C fue también mayor siendo $155,63 \pm 8,27$ mgEAG/g materia seca. Para flavonoides la interacción de los factores evaluados (A y B), la combinación de: Tipo de droga (corteza)*Temperatura del solvente (95°C) dio un mayor valor el cual fue de $33,03 \pm 0,92$ mgEC/g muestra seca. Asimismo, haciendo el análisis de los valores independientes por el tipo de droga (corteza) se obtuvo mayor resultado el cual fue $20,50 \pm 3,97$ mg EC/g muestra seca y por el factor temperatura se obtuvo mayor resultado con 95°C siendo $29,78 \pm 1,52$ mgEC/g muestra seca.
- Por otro lado para la actividad antioxidante mediante el método DPPH* respecto al análisis de la interacción de los factores evaluados (AB), la combinación de: Tipo de droga (corteza)*Temperatura del solvente (95°C) dio como mayor resultado siendo $8,89 \pm 0,9$ μ MTEAC/g muestra seca, seguido de la hoja cuyo resultado fue $7,40 \pm 0,07$ μ MTEAC/g muestra seca y por el factor tipo de droga en corteza fue mayor que en hoja dando como resultado $5,92 \pm 0,79$ μ MTEAC/g muestra seca, por último el factor tipo de temperatura con 95°C tuvo mayor actividad antioxidante frente a los demás siendo este $8,14 \pm 0,33$ μ MTEAC/g muestra seca.

VI. PROPUESTAS A FUTURO

- Se recomienda realizar estudios toxicológicos a fin de que en el futuro pueda ser utilizado en el ser humano.
- Realizar estudios complementarios que ayuden a conocer más a fondo las propiedades de los polifenoles en especies forestales como evaluar la actividad microbiana, bactericida y sus efectos medicinales para la salud humana.
- Se sugeriría evaluar la actividad antioxidante en muestra fresca para determinar la diferencia de la capacidad antioxidante respecto a la muestra seca obtenida en nuestros análisis.
- Seguir con este tipo de trabajos utilizando todos los desechos que mayormente no utilizamos en la extracción de las especies forestales y ver formas de darles un uso que de alguna u otro manera ayude a aprovecharlas.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alejandro, D. (1973). Métodos de Investigación Fitoquímica (1^{era} ed.). Limusa S.A.
- Ayala, F. (2003). Taxonomía vegetal - Gymnospermae y Angiospermae de la Amazonía Peruana. (1^{era} ed.). Centro de estudios tecnológicos de la Amazonía (CETA).
- Aldana, C., y Guayasamin, E. (2014). Evaluación de la actividad antioxidante de los extractos (alcohólico y acuoso) de las hojas de *Ficus citrifolia* y caracterización química de los polifenoles [Tesis Ingeniería Biotecnológica de los Recursos Naturales, Universidad Politécnica Salesiana]. Repositorio institucional de la Universidad Politécnica Salesiana. <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/6011>.
- Avalos, A., & Pérez., E. (2009). Metabolitos secundarios de plantas. Serie Fisiología vegetal, 2 (3),119-145. https://eprints.ucm.es/9603/1/Metabolismo_secundario_de_plantas.pdf
- Beltrán, C., Diaz, F., & Gómez, H. (2013). Tamizaje fitoquímico preliminar de especies de plantas promisorias de la costa atlántica colombiana. Revista Cubana de Plantas Medicinales,18(4),619-631. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S102847962013000400013
- Bors, W., & Saran, M. (1987). Radical scavenging by flavonoid antioxidants. Free radical researchcommunications,2(4),288-294. <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3109/10715768709065294>
- Brand-Williams W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. (1995). Use of a Free Radicals Method to Evaluate Antioxidant Activity. Academy Press Limitad, 28(1), 25-30. [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(95\)80008-5](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(95)80008-5)
- Carbajal, L., Hata, Y., Sierra, N., & Rueda, D. (2009). Análisis fitoquímico preliminar de hojas, tallos y semillas de cupatá (*Strychnos schultesiana*Krukoff). Revista Colombia ForestaJ, 12(1)161-170. <http://www.scielo.org.co/pdf/cofo/v12n1/v12n1a11>.

- Daza, M. (2004). Polifenoles Totales y capacidad Antioxidante en *Calycophyllum spruceanum* (Benth.) Hook. f. ex k. Schum. "capirona". [Tesis de Ingeniero, Universidad Nacional Agraria de la Selva]. Repositorio Institucional de la Universidad Nacional Agraria de la Selva]. <http://repositorio.unas.edu.pe/handle/UNAS/655>
- Díaz, J., & Asencios, R. (2008). Actividad antimicrobiana de plantas. Revista Científica de la Universidad Científica del Sur, 6(1):1-18. <https://es.slideshare.net/ucsurcultural/cientifica-6>
- Deng, Y., Zhao, Y., Padilla, O., & Yang, G. (2015). Polyphenols, antioxidant and antimicrobial activities of leaf and bark extracts of *Solidago canadensis* L. 74(1), 803-809. ELSEIVER. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.06.014>
- Diedrich C., Danguì L., Sari R., Cristo G., Silva H., Aparecido V., Condorin T., & Teresinha S. (2020). Bioactive compounds extraction of *Croton lechleri* barks from Amazon forest using chemometrics tools. Journal of King Saud University – Science, 33(2) 101416-1014221. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2021.101416>
- Duarte, J., & Pérez, F. (2015). Protección cardiovascular con flavonoides. Enigma farmacocinético, 56(4). 193-200. <http://dx.doi.org/10.4321/S2340-98942015000400002>
- Faraa, M., & Tahara, S. (1999). Fungal metabolism of flavonoids and related phytoalexins. Phytochemistry, 2(1) 1-33. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=193215009001>
- Fengel, D., & Wegener, G. (1989). Wood—Chemistry, Ultrastructure, Reactions. 2nd Edition. <https://doi.org/10.1515/9783110839654>
- Freire, A., Fernández, D., & Quintana, C. (2002). Usos de melastomataceae en el Ecuador. Brit Org/SIDA, 20(1), 233-260. <https://www.jstor.org/stable/41968018?seq=1>
- García, D. (2016). Caracterización de algunos metabolitos primarios y secundarios en dos variedades comerciales de lúcumo (*Pouteria lúcumo*). [Tesis de Ingeniero, Universidad

Nacional Agraria la Molina] Repositorio institucional de la Universidad Nacional Agraria la Molina. <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/2565>

Gasca, A., Cabezas, A., Torras, L., Bastida, J., & Codina, C. (2013). Chemical composition and antioxidant activity of the ethanol extract and purified fractions of cadillo (*Pavonia sepioides*). *Free Radicals and Antioxidants*. 3(1),55-61. <https://doi.org/10.1016/j.fra.2013.09.001>

Gascon, S. (2002). Manual de campo de especies forestales de bosque ribereño en la microcuenca Wara. Futura.

Gómez, D. (2010). Evaluación de la actividad antibacteriana y antimicótica de los extractos de *myrciastes hallii* (arrayán), *amaranthus asplundii* (ataco), *peperomia peltigera* (pataku yuyo), especies reportadas en peguche – imbabura, sobre *streptococcus mutans*, *klebsiella pneumoniae*, *candida albicans* causantes de enfermedades bucofaríngeas [Tesis de Ingeniero, Escuela politécnica del ejército] Repositorio de la Escuela politécnica del ejército. <https://repositorio.espe.edu.ec/bitstream/21000/586/1/T-ESPE-029608.pdf>

Guerrero, N. (2014). Caracterización fitoquímica y actividad biológica de *Oryctanthus spicatus loranthaceae* [Tesis de Ingeniero, Universidad Politécnica Salesiana] Repositorio institucional Universidad Politécnica Salesiana <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/7084>

Griffiths, H., & Lunec, J. (2001). Ascorbic acid in the 21st century - more than a simple antioxidant. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 10 (4),173-182. [http://10.1016/s1382-6689\(01\)00081-3](http://10.1016/s1382-6689(01)00081-3)

Harborne, B. (1993). Introduction to Ecological Biochemistry. 4th Edición. Academic Press, Harcomt Brace & Co. Publishers, New York, USA. 320 p. <https://www.elsevier.com/books/introduction-to-ecological-biochemistry/harborne/978-0-08-091858-7>

- Holdridge, R. (1987). Ecología basada en zonas de vida. (3^{era} ed.). IICA.
<http://www.cct.or.cr/contenido/wp-content/uploads/2017/11/Ecologia-Basada-en-Zonas-de-Vida-Libro-IV.pdf>
- Kobus, J., Flaczyk, E., Rudzińska, M., & Kmiecik, D. (2014). Antioxidant properties of extracts from Ginkgo biloba leaves in meatballs. Meat Science, Poznan, Poland. 97(2), 174–180.
<https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2014.01.011>
- Londoño, L. (2011). Antioxidantes: Importancia biológica y métodos para medir su actividad. Corporación Universitaria Lasallista. <http://hdl.handle.net/10567/133>
- Marín, S., Fernis, J., Torres, A., Omar L., Santafe, P., Gilmar, Gabriel., Saez, Vega., Armando, A., Guzmán, T., & C, A. (2016). Estudio fitoquímico y evaluación de la actividad antioxidante de Esenbeckia littoralis Donn.Sm. (Loro grande). Revista Cubana de Plantas Medicinales, 21(4), 1-12. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962016000400004&lng=es&tlng=es.
- Miranda, M., & Cuellar, A. (2000). Manual de prácticas de Laboratorio.Farmacognosia y Productos Naturales. Félix Varela.
- Meco, J., Pascual, V., & Solá, R. (2016). La utilización de los esteroides vegetales en la práctica clínica: de la química a la clínica. Clin. Investig. Arterioscler. Barcelona, España. 28(6):283-294. <http://dx.doi.org/10.1016/j.arteri.2016.04.001>
- Mesa, M., Zapata, S., Arana, L., Zapata, I., Monsalve, Z., & Rojano, B. (2015). Actividad antioxidante de extractos de diferente polaridad de Ageratum conyzoides L. *Latin American and Caribbean Bulletin of Medicinal and Aromatic Plants*, 14(1),1-10.
<https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=85632845001>
- Mostacero, J., Mejía C., & Gamarra T. (2002). Taxonomía de las fanerógamas útiles del Perú. Ed. Normas Legales S.A.C. <https://www.worldcat.org/title/taxonomia-de-las-fanerogamas-utiles-del-peru/oclc/876631742>

- Palazón, M., Periago, J., & Navarro, I. (2018). Estimación de la ingesta diaria de carotenoides en adolescentes españoles (10-17 años). *Rev. Esp. Nutr. Comunitaria*. Murcia, España, 24(2). <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/ibc-178347>
- Pereira, S., Vega, D., Almeida, M., & Morales, G. (2009). Tamizaje fitoquímico de los extractos alcohólico, etéreo y acuoso de las hojas de la *Trichilia hirta* L. *Rev. Química viva*. Buenos Aires, Argentina, 3(8), 192-199. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=86320633005>.
- Pérez, J., & Saura C. (2006). Effect of solvent and certain food constituents on different antioxidant capacity assays. *Food Research International*, 39(7), 791-800. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2006.02.003>.
- Pérez, E., Ettiene, G., Marín, M., Casassa, P., A., Silva, N., Raga, J., González, C., Sandoval, L., & Medina, D. (2014). Determinación de fenoles y flavonoides totales en hojas de guayabo (*Psidium guajava* L.). *Revista De La Facultad De Agronomía De La Universidad DelZulia*, 31(1). <https://produccioncientificaluz.org/index.php/agronomia/article/view/27149>
- Perdomo, A. (2009). Contenido de Polifenoles Totales y Capacidad Antioxidante en Extractos Acuosos e Hidroalcohólicos de Hojas y Corteza de *Ochroma pyramidale* (Cav. ex Lam.) Urban “topa”. [Tesis de Ingeniero, Universidad Nacional Agraria de la Selva]. Repositorio Institucional Universidad Nacional Agraria de la Selva. <http://repositorio.unas.edu.pe/handle/UNAS/715>
- Peñarrieta, M., Tejeda, L., Mollinedo, P., Vila, J., & Bravo, J. (2014). Compuestos fenólicos y su presencia en alimentos. *Revista Boliviana de Química*, 31(2), 68- 81. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=4263/426339682006>
- Piña, R., Laurel, L., Ortiz, Y., Marcel, A., & Hernández, M. (2016). Caracterización fitoquímica de extractos obtenidos a partir de hojas y cortezas de *Spondias mombin* (jobo), su relación con las propiedades medicinales de esta especie. *Rev. Médica Granma*. Bayamo, Cuba, 20(2), 236-245. <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=66146>

- Plazas, E. (2018). Tamizaje químico y evaluación de la actividad antioxidante de hojas y frutos de tres especies del género *Miconia* (Melastomataceae). *Revista Ciencia: Desarrollo E Innovación*, 2(1). 43-48. <https://revistas.udca.edu.co/index.php/rcdi/article/view/491>
- Prado, M. (2009). Estudio fitoquímico de la corteza de capirona *Calycophyllum spruceanum*. [Tesis de Ingeniero, Universidad Nacional Agraria La Molina] Repositorio institucional de la Universidad Nacional Agraria La Molina <http://repositorio.lamolina.edu.pe/handle/UNALM/425>
- Quispillo, J. (2013). Separación, purificación y posible identificación de metabolitos secundarios del Escobillon rojo (*Callistemon speciosus*). [Tesis de Ingeniero, Escuela Superior Politécnica de Chimborazo] Repositorio de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. <http://dspace.esPOCH.edu.ec/handle/123456789/3097>
- Re, R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med*, 26(9),1231 – 1237. [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00315-3)
- Ruiz, S., Venegas, E., Valdiviezo, J., & Plasencia., J. (2018). Contenido de fenoles totales y capacidad antioxidante in vitro del zumo de "pur pur" *Passiflora tripartita* var. mollissima (Passifloraceae). *SciELO Perú*, 25(3):1003-1014. <http://doi.org/10.22497/arnaldoa.253.25312>
- Sánchez, V., & Méndez, N. (2013). Estrés oxidativo, antioxidantes y enfermedad. *Revista Médica Sur. México*, 20(3),161-168.<https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=79284>
- Singleton, V., & Rossi, J. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phospho-tungstic acid reagents. *Amer J Enol Viticult* 16(1),144-158. <https://www.ajevonline.org/content/16/3/144>

- Singh, R., & Heldman, D. (1998). Introducción a la Ingeniería de Alimentos. Ed. Acribia, S.A. https://www.academia.edu/19037127/Introduccionalaingenieriadelosalimentos_150720195315_lva1_app6891
- Soto, M., & Rosales, M. (2016). Efecto del solvente y de la relación masa/solvente, sobre la extracción de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de extractos de corteza de *Pinus durangensis* y *Quercus sideroxyla*. Maderas. Ciencia y tecnología. 18(4), 701-714. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-221X2016005000061>.
- Stanojević, L., Stanković, M., Nikolić, V., Nikolić, L., Ristić, D., Čanadonovic., J. & Tumbas, V. (2009). Antioxidant activity and total phenolic and flavonoid contents of *Hieracium pilosella* L. Extracts. Sensors. 9(7), 5702 -14. <https://doi.org/10.3390/s90705702>.
- Talavera, R. & Quichca, E. (2014). Dendrología de 10 especies maderables del arboreto de la Facultad de Ciencias Agrarias, UNCP – Satipo. [Tesis de Ingeniero, Universidad Nacional del Centro del Perú] Repositorio institucional de la Universidad Nacional del Centro del Perú <http://repositorio.uncp.edu.pe/handle/UNCP/3986>
- Tapia, H. (2014). Caracterización fitoquímica y actividad biológica de *Oryctanthus spicatus* (Loranthaceae). [Tesis de Ingeniero, Universidad Politécnica Salesiana] Repositorio institucional de la Universidad Politécnica Salesiana <http://dspace.ups.edu.ec/handle/123456789/7084>
- Tapia, N., Pérez, O., Román, A., Quintanar, A., García, E., & Cruz, F. (2014). Histoquímica, contenido de fenoles totales y actividad antioxidante de hoja y de madera de *Litsea glaucescens* Kunth (Lauraceae). Madera y Bosques. 20(3), 125-137 http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S140504712014000300011
- Tromelin, A., & Guichard, E. (2003). Use of Catalyst in a 3D- QSAR study of the Interactions between Flavor Compounds and - lactoglobulin. J. Agric. Food Chem. 51(7), 1977-1983. <https://doi.org/10.1021/jf0207981>

Ullauri, P. (2010). Transporte de masa en extracción fase sólido-líquido. Reciteia. Quito, 10(2): 1-13 <https://es.scribd.com/document/46488042/2010-Ullauri-Transporte-de-masa-en-extraccion-fase-solido-liquido>.

Vermerris W., & Nicholson, R. (2008). Biosynthesis of Phenolic Compounds. In: Phenolic Compound Biochemistry. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-5164-7_3.

Vintimilla, M. (2013). Determinación de la actividad antioxidante de las fracciones lipofílicas e hidrofílicas de subproductos agroindustriales de mango [Tesis de Ingeniero, Universidad Técnica Particular de Loja]. Repositorio Institucional de la Universidad Técnica Particular de Loja <http://dspace.utpl.edu.ec/handle/123456789/5752>

Wang, J., Sun, Y., Cao, Y., Tian & X. Li. (2007). Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. Food Chemistry, 106(2),804-810. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2405844019367027>

Welty, J., Wicks, R., & Wilson, R. (1991). Fundamentos de transferencia de momento, calor y masa. (4ta ed.). Limusa. <http://148.206.53.233/tesiuami/Libros/L28.pdf>.

Waterman., G., & Mole, S. (1994). Method in Ecology. Analysis of Phenolic Plant Metabolites. Blackwell Scientific.<https://www.worldcat.org/title/analysis-of-phenolic-plant-metabolites/oclc/30073068>

VIII. ANEXOS Y GLOSARIO

8.1. Anexos

Anexo 1. Panel fotográfico



Figura 1. Extracción de la corteza de *M. barbeyana*



Figura 2. Extracción de las hojas de *M. barbeyana*



Figura 3. Muestra botánica de la especie *M. barbeyana* y constancia de determinación botánica



Figura 4. Reconocimiento de flavonoides en hoja de *M. barbeyana*



Figura 5. Reconocimiento de flavonoides en corteza de *M. barbeyana*



Figura 6. Reconocimiento de saponina en hoja de *M. barbeyana*



Figura 7. Reconocimiento de saponina en corteza de *M. barbeyana*

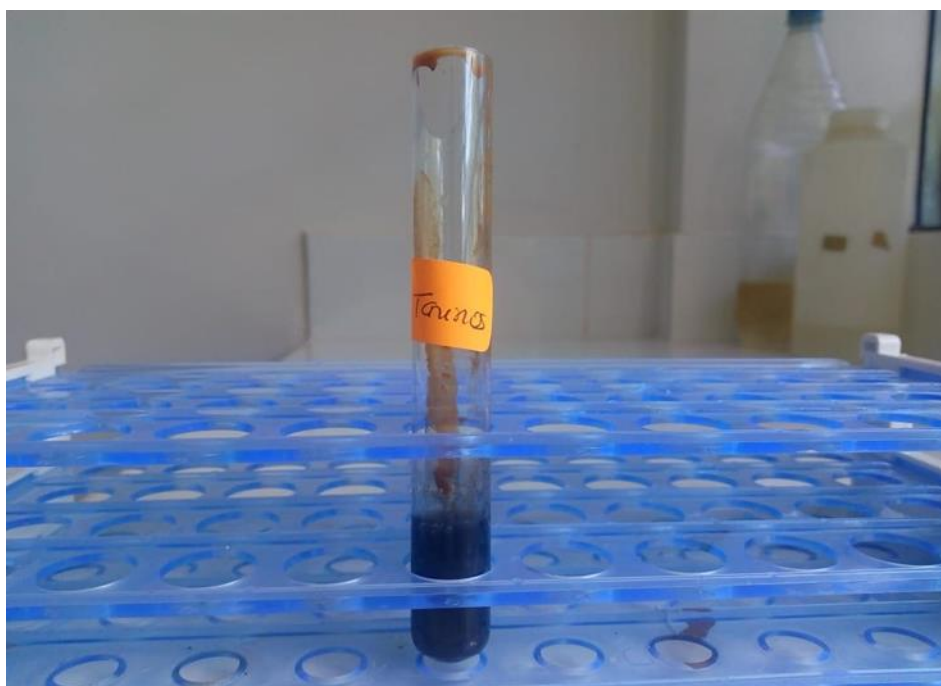


Figura 8. Reconocimiento de tanino en hoja de *M. barbeyana*



Figura 9. Reconocimiento de tanino en corteza de *M. barbeyana*



Figura 10. Reconocimiento de triterpenos en corteza de *M. barbeyana*

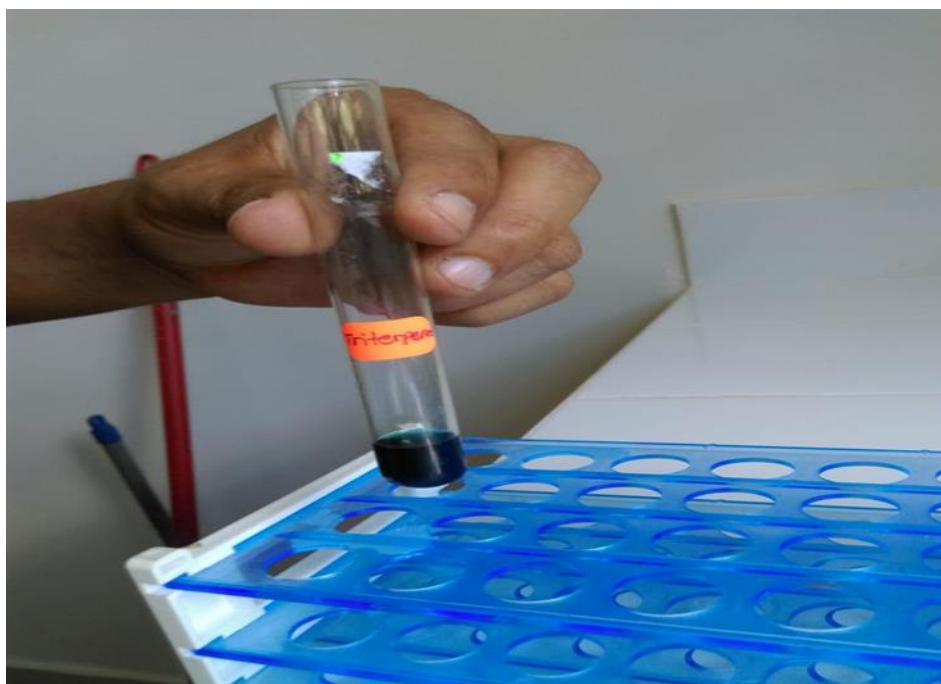


Figura 11. Reconocimiento de triterpeno en hoja de *M. barbeyana*



Figura 12. Reconocimiento de antocianina en hoja de *M. barbeyana*



Figura 13. Reconocimiento de antocianina en corteza de *M. barbeyana*

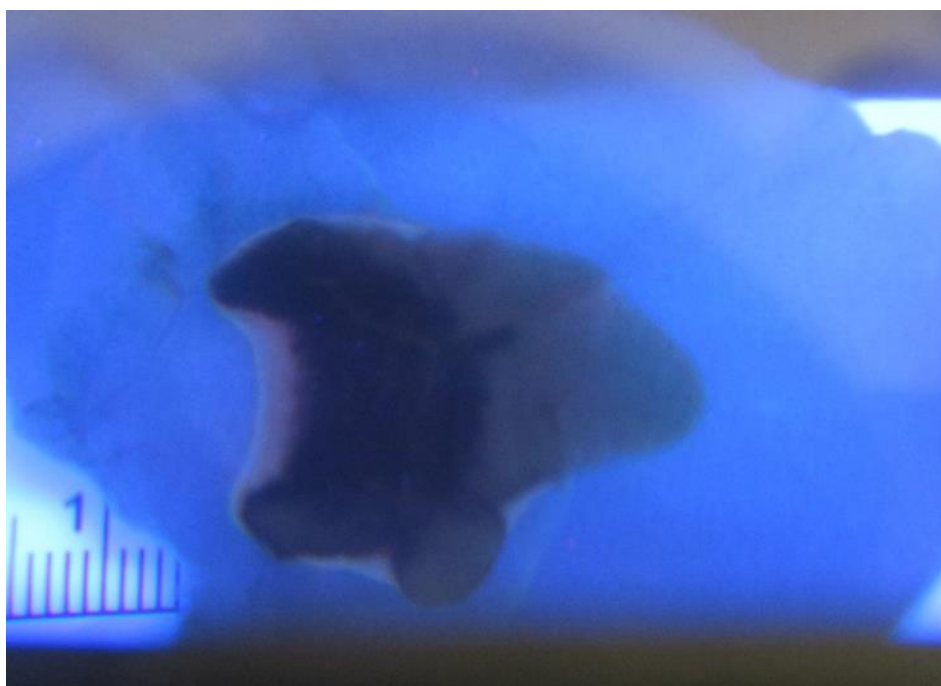


Figura 14. Reconocimiento de cumarina en corteza de *M. barbeyana*

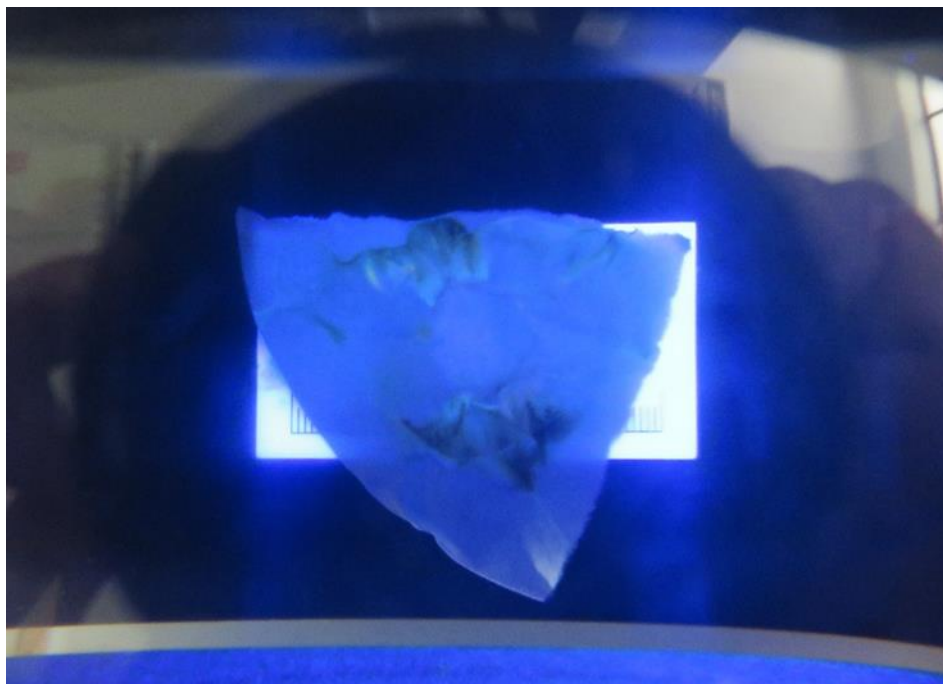


Figura 15. Reconocimiento de cumarina en hoja de *M. barbeyana*



Figura 16. Cuantificación de polifenoles totales de *M. barbeyana*

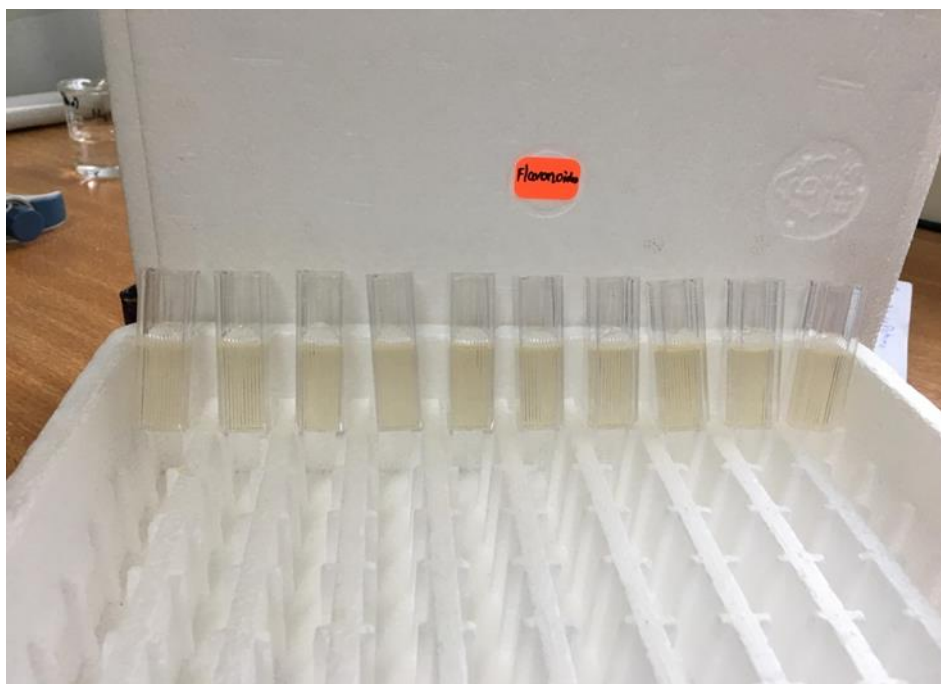


Figura 17. Cuantificación de flavonoides totales de *M. barbeyana*

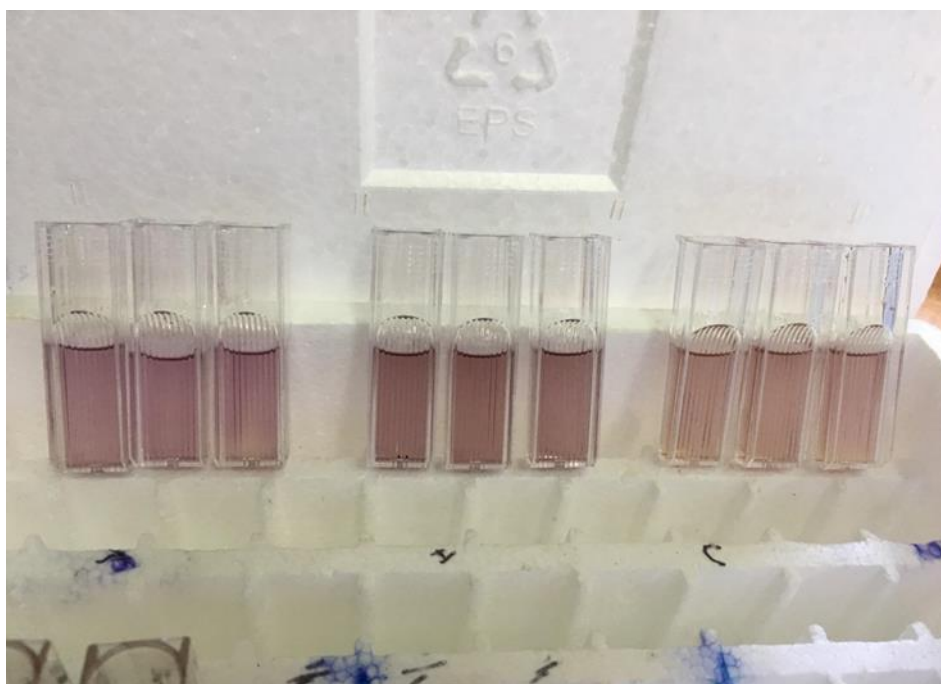


Figura 18. Cuantificación de antioxidante con el reactivo DPPH* de *M. barbeyana*

Anexo 2. Tablas de evaluación

Tabla 14. Concentración y absorbancia de polifenoles

Concentración ug/mL	Absorbancia
1	0.129
2.5	0.249
5	0.515
7.5	0.811
10	1.145

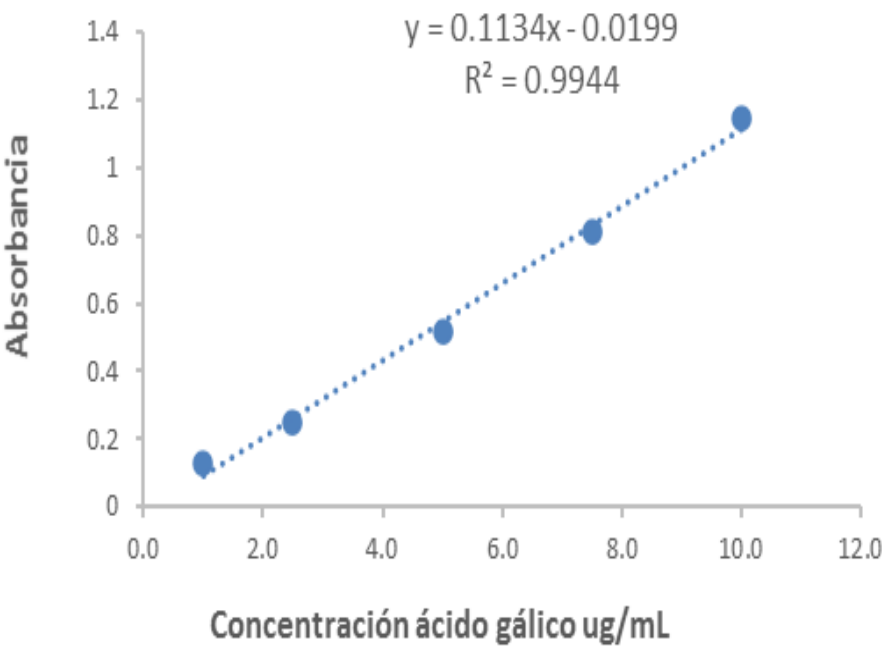


Figura 19. Curva patrón de ácido gálico

Tabla 15. Pendiente e intersección de la curva patrón

Parámetro	Valor
Pendiente	0.1134
Intersección	-0.0199

Tabla 16. Concentración y absorbancia de flavonoides

Concentración ug/mL	Absorbancia
1	0.147
2.5	0.28
5	0.498
7.5	0.716
10	0.925

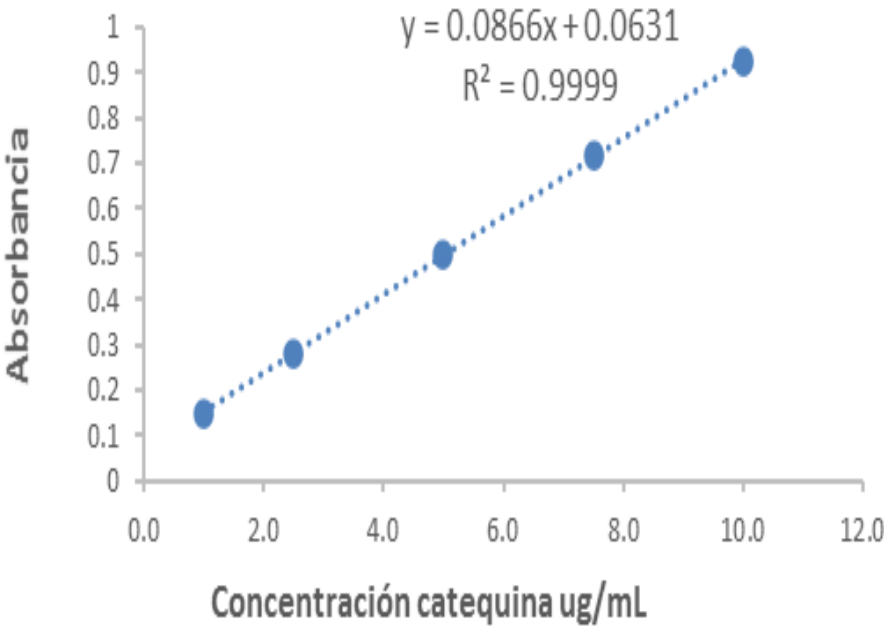


Figura 20. Curva patrón de catequina

Tabla 17. Pendiente e intersección de la curva patrón

Parámetro	Valor
Pendiente	0.0866
Intersección	0.0631

Tabla 18. Concentración y absorbancia de DPPH*

Concentración mM	Absorbancia Residual	Absorbancia inhibida
0.038	0.297	-0.297
0.025	0.453	-0.453
0.013	0.654	-0.654
0.006	0.777	-0.777
0.003	0.836	-0.836

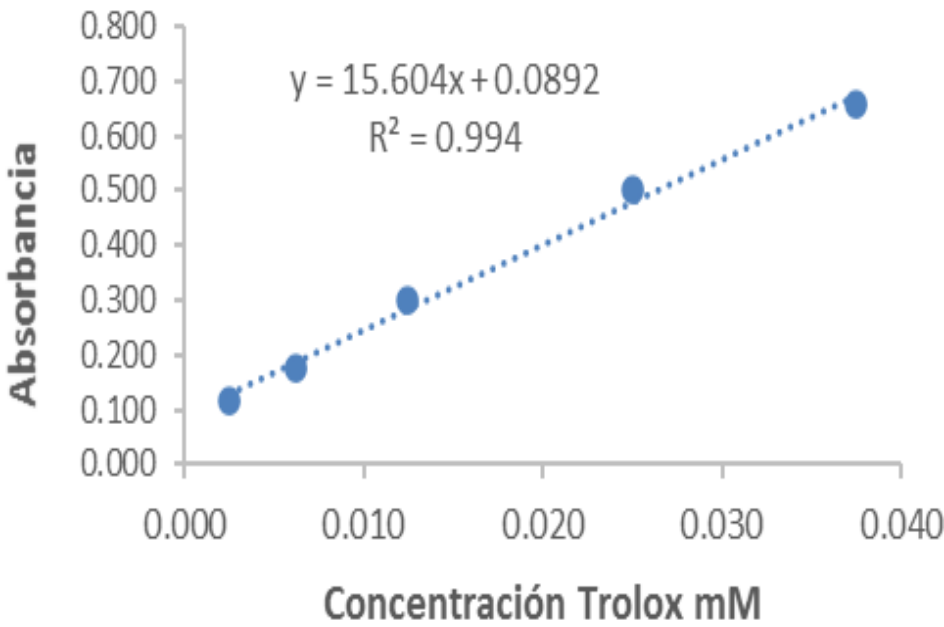


Figura 21. Curva patrón de Trolox

Tabla 19. Pendiente e intersección de la curva patrón

Parámetro	Valor
Pendiente	15.6036
Intersección	0.0892

Tabla 20. Análisis de variación para Polifenoles

Fuente de variación	GL.	CM.	F.C.	SIG.
Droga	1	8473966.2	179.4	*
Temperatura	2	273106956.1	5781.5	*
droga * temperatura	2	5975483.1	126.5	*
Error experimental	12	47238.4		
Total	17			

Significativo: *

Tabla 21. Análisis de variación para Flavonoides

Fuente de variación	GL.	CM.	F.C.	SIG.
Droga	1	0.620	88.823	*
Temperatura	2	9.637	1380.378	*
droga * temperatura	2	0.090	12.870	*
Error experimental	12	0.007		
Total	17			

Significativo: *

Tabla 22. Análisis de variación para DPPH*

Fuente de variación	GL.	CM.	F.C.	SIG.
Droga	1	108689.2	395.5	*
Temperatura	2	454638.0	1654.3	*
droga * temperatura	2	421.5	1.5	NS
Error experimental	12	274.8		
Total	17			

No Significativo: NS; Significativo: *

8.2. Glosario

Tamizaje fitoquímico: es una de las etapas iniciales de la investigación Fitoquímica, que permite determinar cualitativamente los principales grupos químicos, presentes en una planta y, a partir de allí, orientar la extracción y/o fraccionamiento de los extractos para el aislamiento de los grupos de mayor interés.

Antioxidantes: Molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas. La oxidación es una reacción química de transferencia de electrones de una sustancia a un agente oxidante. Las reacciones de oxidación pueden producir radicales libres que comienzan reacciones en cadena que dañan las células.

Capacidad antioxidante equivalente de Trolox: mide la capacidad antioxidante de una sustancia dada, en comparación con el estándar de Trolox.

Extracto acuoso: Es la separación de porciones biológicamente activas presentes en los tejidos de plantas con el uso de solvente (agua); este procedimiento consiste en llevar a la mezcla a la temperatura de ebullición del agua.

Droga Vegetal: Se denomina así a las plantas o sus partes enteras, molidas o pulverizadas (flores, frutos, semillas, tubérculos, cortezas, etc.).

Disolventes polares: Se utilizan para disolver sustancias polares un ejemplo es el agua o los alcoholes de bajo peso molecular.

Disolventes apolares: Son sustancias químicas, o una mezcla de las mismas, que son capaces de disolver sustancias no hidrosolubles y que por sus propiedades disolventes tienen múltiples aplicaciones en varias tecnologías industriales y en laboratorios de investigación. Algunos son: éter dietílico, cloroformo, benceno, tolueno, xileno, cetonas, hexano, ciclohexano y tetracloruro de carbono.

Solvente: es una sustancia química en la que se disuelve un soluto.

Ritidoma: La corteza o ritidoma es la capa más externa de tallos y de raíces de plantas leñosas, como los árboles que cubre y protege la madera y consiste de tres capas, el felógeno, el floema, y el cambium vascular.