UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA

FACULTAD DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA, DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES, ANTOCIANINAS, FLAVONOIDES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN EXTRACTOS DE CORTEZA DE MURURÉ (*Brosimum acutifolium* Huber)

Tesis

Para optar el título de:

INGENIERO EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

Presentado por:

RAZA QUIROZ ROSALVA CHARITO

Tingo María– Perú

2023

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
Tingo María
FACULTAD DE INGENIERIA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS
Carretera Central Km. 1.21. Teléfono (062) 561385
Apartado Postal 156 Tingo María E.mail; fiia@unas.edu.pe

"Año de la Unidad, la Paz y el Desarrollo"

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS Nº 002-2023

Los Miembros del Jurado que suscriben, reunidos en acto público el 24 de febrero del 2023, a horas 4:00 p.m., en la Sala de Grados de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, ubicada en la ciudad de Tingo María, provincia de Leoncio Prado, región Huánuco, para calificar la tesis presentada por la Bach. **ROSALVA CHARITO RAZA QUIROZ,** titulada:

"CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA, DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES, ANTOCIANINAS, FLAVONOIDES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN EXTRACTOS DE CORTEZA DE MURURÉ (*Brosimum acutifolium* Huber)"

Después de haber escuchado la sustentación y las respuestas a las preguntas formuladas, lo declaran ..APROBADO.. con el calificativo de ..MUY BUENO....; en consecuencia, la sustentante, queda apta para obtener el título de **Ingeniero en Industrias Alimentarias**, de conformidad con el artículo 45º numeral 45.2, de la Ley Universitaria 30220; los artículos 132 inciso "k" y 135 inciso "f" del Estatuto de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.

Tingo María, 24 de febrero del 2023

Dr. Elizabeth Susana Ordoñez Gómez
Presidenta

M.Sc. Williams Vicente Roldán Carbajal
Miembro

M.Sc. Nancy Nery Contreras Gutierrez
Miembro

M.Sc. Yolanda Jesús Ramírez Trujillo
Asesora

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
REPOSITORIO INSTITUCIONAL DIGITAL
(RIDUNAS)
Correo: repositorio@unas.edu.pe

"Año de la unidad, la paz y el desarrollo"

CERTIFICADO DE SIMILITUD T.I. N° 189 - 2023 - CS-RIDUNAS

El Director de la Dirección de Gestión de Investigación de la Universidad Nacional Agraria de la Selva, quien suscribe,

CERTIFICA QUE:

El Trabajo de Investigación; aprobó el proceso de revisión a través del software TURNITIN, evidenciándose en el informe de originalidad un índice de similitud no mayor del 25% (Art. 3° - Resolución N° 466-2019-CU-R-UNAS).

Facultad:

Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias

Tipo de documento:

Tesis	X	Trabajo de investigación	

TÍTULO	AUTOR	PORCENTAJE DE SIMILITUD
CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA, DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES, ANTOCIANINAS, FLAVONOIDES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN EXTRACTOS DE CORTEZA DE MURURÉ (*Brosimum acutifolium Huber*)	RAZA QUIROZ ROSALVA CHARITO	17% Diecisiete

Tingo María, 11 de julio de 2023

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA
DIRECCION DE GESTION DE LA INVESTIGACION

Dr. Tomás Menacho Mallqui
DIRECTOR

C.C. Archivo

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA

FACULTAD DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

ESCUELA PROFESIONAL DE INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA, DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES, ANTOCIANINAS, FLAVONOIDES Y CAPACIDAD ANTIOXIDANTE EN EXTRACTOS DE CORTEZA DE MURURÉ (*Brosimum acutifolium* Huber)

Autora	: RAZA QUIROZ ROSALVA CHARITO
Asesora	: Ing. YOLANDA J. RAMÍREZ TRUJILLO

Programa de investigación	: Ciencia y Tecnología de Alimentos
Línea de investigación	: Ciencia y Tecnología de Alimentos
Eje temático	: Nutrición y alimentos funcionales
Lugar de ejecución	: Universidad Nacional Agraria de la Selva
Duración	: 6 meses
Financiamiento	: Propio

Tingo María – Perú

2023

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN
OFICINA DE INVESTIGACIÓN

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA

REGISTRO DE TESIS PARA OBTENCION DEL TITULO UNIVERSITARIO

I. DATOS GENERALES DE PREGRADO

Universidad	:	Universidad Nacional Agraria de la Selva
Facultad	:	Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias
Título de la Tesis	:	Caracterización fitoquímica, determinación de polifenoles totales, antocianinas, flavonoides y capacidad antioxidante en extractos de corteza de mururé (*Brosimum acutifolium* Huber)
Autora	:	Raza Quiroz Rosalva Charito
Asesora de Tesis	:	Ing. Msc. Ramírez Trujillo, Yolanda Jesús
Programa de Investigación	:	Ciencia y Tecnología de Alimentos
Línea de Investigación	:	Ciencia y Tecnología de Alimentos
Eje Temático de Investigación:		Nutrición y alimentos funcionales
Lugar de Ejecución	:	Laboratorios FIIA - UNAS
Duración	:	Fecha de Inicio : 17/08/2019
		Fecha de Término : 01/01/2022
Financiamiento	:	Propio

Tingo Maria – PERU

2023

Ing. Yolanda Jesus Ramirez Trujillo

ASESORA

Bach. Raza Quiroz Rosalva Charito

TESISTA

DEDICATORIA

A **DIOS** por haberme dado salud y vida, haber guiado mi camino y por darme sabiduría y fortaleza a lo largo de mi carrera para así poder alcanzar mis objetivos.

A mis padres **BALENTIN RAZA PEÑA e IGNACIA QUIROZ PONCE** por su esfuerzo de sacarme adelante a pesar de las dificultades siempre estuvieron ahí para mí brindándome su apoyo incondicional para forjarme un futuro mejor.

A mis Hermanas **NALY JUDITH RAZA QUIROZ** junto a su esposo **GARDEL SILVA PANDURO, MISHEL RAZA QUIROZ, SHEYLA RAZA QUIROZ Y BASTY RAZA QUIROZ** por su apoyo incondicional sus sabios consejos gracias por estar siempre para mí.

A mi hija **MARILIN BREYS DIAZ RAZA** por ser mi mayor motivo de seguir adelante y a mi esposo **CARLOS DIAZ BARDALES** por la motivación de siempre salir adelante y cumplir mis sueños.

AGRADECIMIENTO

- A mis padres por su esfuerzo, apoyo incondicional y por creer en mí.
- A la UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA, por darme la oportunidad de formarme como profesional.
- A la Facultad de Ingeniería en Industrias Alimentarias, por ser el cimiento de mi formación profesional y a todos mis profesores que conformaron de manera directa o indirecta en mi formación profesional
- A mi asesora, la Ing. YOLANDA JESUS RAMIREZ TRUJILLO, por todo su apoyo y dedicación y al Dr. PEDRO PELAEZ SANCHEZ por su apoyo en la realización de este proyecto.
- A mi hija por ser mi razón para seguir superándome cada día y así lograr mis objetivos
- A mis hermanas en especial a NALI RAZA QUIROZ por ser ejemplo de mujer luchadora
- A todos mis familiares, mi tía Edelmira Quiroz Ponce, mi tío Juster Quiroz Ponce y mis abuelitos: Lucia Ponce y Juan Quiroz por estar siempre cuando lo necesite.
- A la Ing. SISSY MERYLL, por su apoyo, conocimiento, amistad y paciencia durante la ejecución de este proyecto.
- A mis compañeros por su apoyo moral e incondicional y compañerismo en la presente investigación y vida universitaria y a mis mejores amigas MIRIAM PIMENTEL ZEVALLOS y CARMEN ATAVILLOS DOMINGUEZ por ser parte de esta etapa de mi vida, por aconsejarme, guiarme y no dejar nunca rendirme.

RESUMEN

El trabajo de investigación tuvo los siguientes objetivos: Realizar la caracterización fitoquímica, cuantificar polifenoles totales, antocianinas, flavonoides y determinar la capacidad antioxidante mediante los radicales libres DPPH Y ABTS^{o+} en tres tipos de extractos de corteza de *Brosimum acutifolium* H. Mediante el tamizaje fitoquímico se logró determinar un contenido abundante en cumarinas, leucoantocianidinas, triterpenos y alcaloides (+++), contenido moderado en taninos, flavonoides y compuestos fenólicos (++), poco contenido de quinonas (+) y ausente en antocianinas cardiotónicos y saponinas (-). Para cuantificar las propiedades funcionales de *B. acutifolium* se prepararon tres tipos de extractos: metanólico hidroalcohólico y acuosa (50 mg/mL). Según los resultados, el contenido de polifenoles varia, conteniendo el extracto hidroalcohólico: 1,40 ± 0,01 g EAG/100 g, el metanólico: 0,79 ± 0,00 g EAG/100 g y el acuoso: 1,44 ±0 ,00 g EAG/100g, siendo en el extracto acuoso más elevado y el hidroalcohólico el más bajo. En cuanto a flavonoides: en el extracto hidroalcohólico se obtuvo 0,34 ± 0,01 g EC/100 g, en el metanólico 0,18 ± 0,00 g EC/100 g y en el acuoso 0,16 ± 0,00 g EC/100 g, no se logró determinar presencia de antocianinas en la corteza de *Brosimum*. En la capacidad antioxidante, se obtuvo resultados mayores con el radical ABTS; en el extracto hidroalcohólico 5,05±0,02 mMTEAC/100g, en función al radical DPPH^{o+} y 10,01±0,13 mMTEAC/100g con el radical ABTS^{o+}, en el extracto metanólico 3,55±0,02 mMTEAC/100g en función al radical DPPH^{o+} y 5,70±0,0313 mMTEAC/100g en función a ABTS^{o+} y en el extracto acuoso 2,12±0,02 mMTEAC/100g en función al radical DPPH^{o+} y 7,84±0,08 mMTEAC/100g en función a ABTS^{o+}.

Palabras Clave: compuestos fenólicos, polifenoles, antocianinas, flavonoides, antioxidantes, antioxidantes naturales y b*rosimium.*

ABSTRACT

The objectives of the research work were the following: to do a phytochemical characterization; to quantify the total polyphenols, anthocyanins, and flavonoids; and to determine the antioxidant capacities for the DPPH and ABTS$^{\circ+}$ free radicals for three types of *Brosimum acutifolium* H. bark extract. Through the phytochemical screening, an abundant content of coumarins, leucoanthocyanidins, triterpenes, and alkaloids (+++) were found, [as well as], a moderate content of tannins, flavonoids, and phenolic compounds (++), and a low content of quinones (+), [with an] absence of anthocyanins, cardiotonic, and saponins (-). In order to quantify the functional properties of *B. acutifolium* three types of extracts were prepared: methanolic, hydroalcoholic, and aqueous (50 mg/mL). According to the results, the polyphenol content varied, [where the] content for the hydroalcoholic extract was 1.40 ± 0.01 g EAG/100 g, [for the] methanolic [it was] 0.79 ± 0.00 g EAG/100 g, and [for the] aqueous [it was] 1.44 ±0.00 g EAG/100g; with the aqueous extract being the most elevated and hydroalcoholic being the lowest. With respect to the flavonoids, for the hydroalcoholic extract 0.34 ± 0.01 g EC/100 g was obtained, 0.18 ± 0.00 g EC/100 g for the methanolic [extract], and 0.16 ± 0.00 g EC/100 g for the aqueous [extract]; the presence of anthocyanins in the *Brosimum* bark was not found. For the antioxidant capacity, the best results for the ABTS radical was obtained with the hydroalcoholic extract [at] 5.05±0.02 mMTEAC/100g for the DPPH^{o+} radical and 10.01±0.13 mMTEAC/100g for the ABTS^{o+} radical; for the methanolic extract 3.55±0.02 mMTEAC/100g [was found] for the DPPH^{o+} radical and 5.70±0.0313 mMTEAC/100g for the ABTS^{o+} radical; and for the aqueous extract 2.12±0.02 mMTEAC/100g [was found] for the DPPH^{o+} radical and 7.84±0.08 mMTEAC/100g for the ABTS^{o+}radical.

.

Keywords: phenolic compounds, polyphenols, anthocyanins, flavonoids, antioxidants, natural antioxidants, b*rosimium*

ÍNDICE GENERAL

I. INTRODUCCIÓN 1
2.1. Mururé 2
2.1.1. Definición 2
2.1.2. Clasificación taxonómica del árbol mururé (*Brosimum acutifolium* Huber) 2
La clasificación del árbol de mururé según Huber (1867) es: 2
2.1.3. Descripción botánica árbol de mururé 2
2.1.4. Corteza 3
2.2. Tamizaje fitoquímico 3
2.3. Polifenoles, compuestos fenólicos, antocianinas y flavonoides 7
2.3.1. Polifenoles 7
2.3.2. Compuestos fenólicos 10
2.3.3. Antocianinas 10
2.3.4. Flavonoides 11
2.4. Antioxidante 12
2.5. Radicales libres 17
3.1 Lugar de ejecución 19
2.6. Material de análisis 19
Corteza de mururé 19
2.7. Equipos, materiales y reactivos 19
2.7.1. Equipos 19
2.7.2. Materiales 20
2.7.3. Reactivos y solventes 20
2.8. Métodos de análisis 20
2.9. Metodología experimental 21
2.9.1. Acondicionamiento de la muestra 21
2.9.2. Caracterización fitoquímica del extracto de la corteza de mururé 21
3.5.3 Preparación de los extractos 23

3.5.4. Cuantificación de polifenoles totales, antocianinas y flavonoides en los extractos de cortezas de mururé 24
3.5.5. Determinación de la capacidad antioxidante en los extractos de corteza de mururé 25
3.5.6. Diseño experimental 27
III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 28
3.1. Tamizaje fitoquímico de la corteza de mururé 28
3.2. Resultados de la cuantificación de polifenoles totales 29
3.3. Cuantificación de flavonoides totales 30
3.4. Cuantificación de antocianinas totales 32
3.5. Capacidad antioxidante en los extractos de mururé 32
3.5.1. Inhibición del radical 1,1 Diphenyl - 2 - picryl - hydrazyl (DPPH $^{o+}$) 32
3.5.2. Inhibición del radical catión 2,2- azinobis (3 - etilbenzotiazoline-6 ácido sulfónico) (ABTS$^{\circ+}$) 33
IV. CONCLUSIONES 35
V. PROPUESTA A FUTURO 36
VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS 37
ANEXOS 43

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla **Página**

1. Clasificación general de los polifenoles. 9
2. Resultados del tamizaje fitoquímico de la corteza de mururé 28
3. Resultado de la cuantificación de polifenoles totales en los extractos de corteza de mururé ……29
4. Resultados de la cuantificación de flavonoides totales en los extractos de corteza de mururé ……31
5. Resultados de la capacidad de inhibir el radical ($DPPH^{o+}$) en los extractos de corteza de mururé 32
6. Determinación del TEAC en función a $ABTS^{o+}$ en los extractos de corteza de mururé 33

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura **Página**

1. Árbol de mururé **3**
2. Estructura de las cumarinas **4**
3. Estructura de los taninos **5**
4. Estructura de las quinonas **6**
5. Estructura de las flavononas **7**
6. Antocianina 3-glucosido **11**
7. Estructura química de los flavonoides naturales **12**
8. Reacción entre los compuestos fenólicos. Método Folin-Ciocalteu (a); Variación de color observada en el ensayo (b). **14**
9. Variación de color en el ensayo ABTS (a); Esquema de reacción involucrado en el ensayo de actividad de eliminación de cationes radicales 2,2′-Azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) (b) **15**
10. Mecanismos de eliminación de DPPH por un antioxidante (AH). **16**
11. Diseño experimental para evaluar polifenoles totales, antocianinas, flavonoides y capacidad antioxidante ($DPPH^{o+}$ /$ABTS^{o+}$), en los extractos de corteza de mururé. **27**
12. Contenido de polifenoles en los diferentes tipos de extractos de la corteza de mururé. **30**
13. Contenido de flavonoides totales en los extractos de la corteza de mururé **31**
14. Capacidad antioxidante ($DPPH^{o+}$) en los extractos de corteza de mururé. **32**
15. Capacidad antioxidante ($ABTS^{o+}$) en los extractos de corteza de mururé **34**

I. INTRODUCCIÓN

Hoy en día, las plantas medicinales se han vuelto uno de los recursos más utilizados en nuestra amazonia, para el cual se utilizan las hojas, flores, raíces y cortezas como el mururé, con fines terapéuticos, medicinales y es cada vez más frecuente, el interés en la medicina alternativa o complementaria y seguirá aumentando, siendo el árbol de mururé un árbol muy popular entre los nativos chamanes ya que la corteza es utilizada por los pobladores para uso medicinal, sin poseer información científica sobre esta.

Todas las plantas o partes de plantas tienen valor medicinal debido a su perfil fitoquímico característico. Algunas plantas o partes de estas plantas son reportados en la literatura para su uso medicinal, mientras que algunos aún están a la espera de su exploración. Por lo tanto, la detección de plantas o partes de plantas inexploradas en busca de sus fitoconstituyentes o su potencial biológico está ganando una gran atención día a día en todo el mundo (Singh et al., 2019). Por otro lado, las drogas sintéticas que las personas usan para curar enfermedades tienen efectos secundarios graves (Zhang et al., 2015; Srivastava et al., 2019).

Contando con datos de la composición fitoquímica de las plantas es posible determinar la capacidad funcional de las mismas, siendo la corteza de mururé una planta poco estudiada pero muy utilizada en la medicina tradicional, es por ello por lo que planteamos estudiar tres tipos de extractos como son hidroalcohólico, metanólico y acuoso determinando sus compuestos funcionales y fitoquímicos. para así darle un gran valor a este recurso razón por el cual planteamos los siguientes objetivos:

- Realizar la caracterización fitoquímica de los extractos metanólico, hidroalcohólico y acuoso de la corteza del mururé.
- Cuantificar polifenoles totales, antocianinas y flavonoides en los extractos metanólico, hidroalcohólico y acuoso de la corteza de mururé.
- Determinar la capacidad antioxidante (DPPH^{o}+ y ABTS^{o}+) en extractos metanólico, hidroalcohólico y acuoso de la corteza de mururé.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Mururé

2.1.1. Definición

Mururé es una corteza de familia de las *Mulberry* y el género *Brosimum* incluye alrededor de 50 especies de plantas tropicales y templadas de América del Sur. Tiene diferentes nombres comunes, tales como: congona, mercuio-vegetal, murure-da-terra-firma, murare, mururé en Perú, leche-caspi, manichi, quecho (Mass y Campanera, 2011).

2.1.2. Clasificación taxonómica del árbol mururé (*Brosimum acutifolium* Huber)

La clasificación del árbol de mururé según Huber (1867) es:

Reino	Plantae
Filo	Magnoliophyta
Orden	Magnoliopsida
Clase	Urticales
Familia	Moraceae

2.1.3. Descripción botánica árbol de mururé

Es un árbol grande (15 a 25 m de altura) (Figura 1). Cuando es cortado, de la corteza sale un látex blanco rosáceo, presenta hojas estipuladas, el bulbo de la flor es globoso (diámetro: 0-11 mm), con muchas hojas basales semicirculares cónicas, su fruto es globoso, pericarpio de crustáceo, sus semillas son hemisféricas (lado puntiagudo). Se distribuye en la Amazonía de Brasil, Perú y Bolivia. Es una especie de la planta esciofito (plantas fotófobas) que se encuentra en áreas de bosque primario, suelos francos, limosos, que tienden a ser ácidos, fértiles y bien drenados, con acidez baja a moderada. En Perú se pueden encontrar en los departamentos de Loreto, Ucayali Huánuco y Madre de Dios (Mass y Campanera, 2011).

Figura 1. Árbol de mururé

2.1.4. Corteza

Corteza es el término empleado para indicar todos los tejidos encontrados en la parte externa del cambium vascular (finísima capa entre la corteza y la madera de los árboles) o corteza de un árbol. En una planta adulta, hay dos tejidos principales en la corteza: la corteza secundaria y la corteza exterior, que permiten determinar dos partes: parte exterior (corteza muerta o ritidoma) y la parte interna (corteza vivo o floema secundario) (Cocks, 2000).

2.2. Tamizaje fitoquímico

En la investigación fitoquímica, representa una de sus primeras etapas que ayudan a identificar los principales grupos químicos presentes, que van a servir para los procesos de extracción o de fraccionamiento de los extractos y su aislamiento. En el tamizaje fitoquímico se extrae de la planta un componente utilizando un adecuado disolvente aplicando una reacción inicial de coloración y luego la precipitación. Esta prueba debe permitir realizar una rápida evaluación cuyas respuestas sean sensibles, reproducibles, así como económicas. Los resultados de las pruebas fitoquímicas son solo para fines ilustrativos y deben interpretarse junto con los resultados de las pruebas farmacológicas (Lock, 1994).

La fitoquímica estudia la composición química de las plantas. La extracción es una de las técnicas más utilizadas para determinar principios activos presentes en las plantas, por medio de la cual se separan los materiales solubles, que vienen a ser los componentes fitoquímicos, a partir de tejidos vegetales que es la materia insoluble), todo esto por acción de los disolventes. La extracción sólido-líquido es la que más se utiliza, en ella se pon en contacto

íntimo la materia prima con el disolvente en procesos (percolación, maceración e inmersión). Un paso muy importante del análisis fitoquímico viene a ser la separación de los componentes y dentro de los métodos físicos más utilizados están los cromatográficos y en particular: la cromatografía en columna o en capa fina (Flores-Morales et al., 2014).

2.2.1. Cumarinas

Las cumarinas se encuentran naturalmente en plantas superiores y también en microorganismos en forma de metabolitos secundarios. Se puede describir como una molécula de benceno con dos átomos de hidrógeno adyacentes reemplazados por una cadena similar a la lactona, formando un segundo heterociclo de seis miembros que comparte dos carbonos con el anillo de benceno. Sus derivados, que pueden ser naturales y sintéticos, son útiles en muchos campos del conocimiento y comúnmente son utilizado en la medicina, en forma de glucósidos.

La cumarina es un O-heterocíclico muy importante que consiste en la fusión de anillos de benceno y de α-pirona. La cumarina es un miembro de la familia de los flavonoides, que está asociado con la baja toxicidad. Las propiedades farmacológicas de las cumarinas dependen del patrón de sustituciones que contienen las aplicaciones terapéuticas, y pueden influir en la toxicidad. Es bien sabido que la presencia de grupos hidroxilo y amina es importante para muchas cumarinas biológicamente activas. La estructura química de la cumarina y sus derivados putativos se presenta en la Figura 2 (Skalicka-Wozniak et al., 2016; Gulcin, 2020).

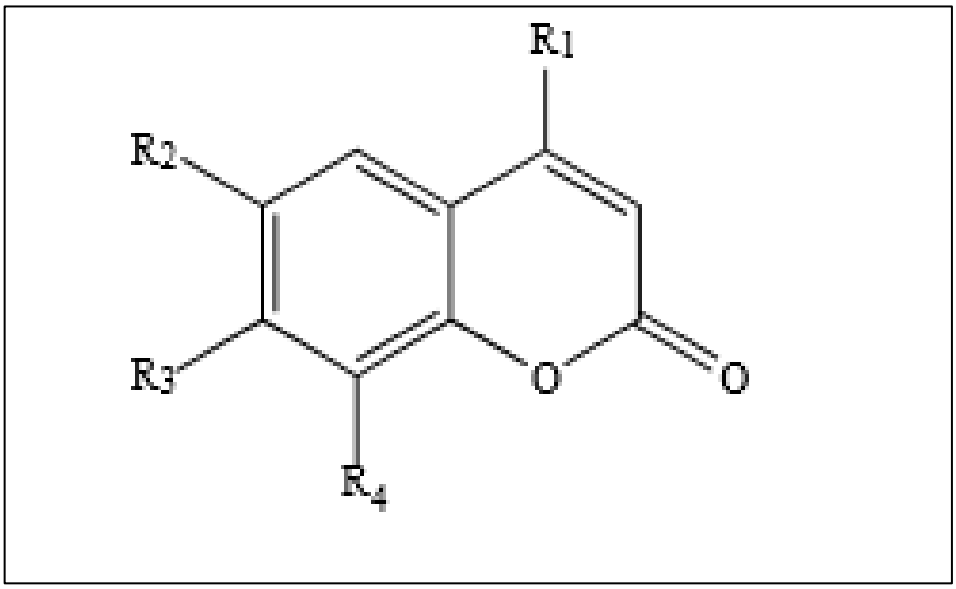
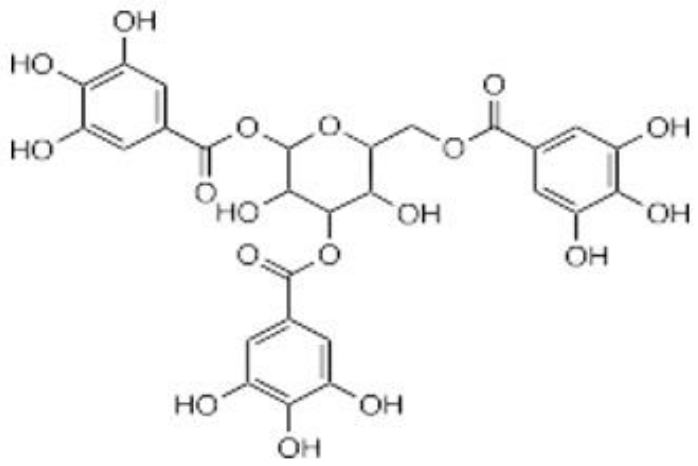


Figura 2. Estructura de las cumarinas

2.2.2. Taninos

Los taninos pueden ser definidos como condensados o hidrolizables proantocianidinas dependiendo de sus estructuras químicas (Figura 3). Se encuentran en muchas plantas, protegiéndolas de la depredación, así como pueden actuar como pesticidas y ayudar en la regulación de crecimiento de las plantas. Asimismo, la destrucción o modificación de los taninos con el tiempo juega un papel importante a la hora de determinar tiempos de cosecha. Los taninos son oligómeros y derivados de los flavonoides, específicamente el favan-3-oles, aunque hidrolizable con ácido gálico glicosilado. En los fenoles, sus grupos se unen muy fuertemente con los grupos –NH de péptidos y proteínas impidiendo la hidrólisis y el proceso de digestión que se produce en el estómago y es conocido por ello como tipo anti-nutricional que se encuentra en la naturaleza (Shahidi y Ambigaipalan, 2015).



Tanino

Figura 3. Estructura de los taninos

2.2.3. Alcaloides vegetales

Los alcaloides vegetales, uno de los grupos más grandes de productos naturales, representan un grupo muy diverso de entidades químicas. Los alcaloides abarcan una clase enorme de aproximadamente 12 000 productos naturales. El principal requisito para la clasificación como alcaloide es la presencia de un átomo de nitrógeno básico en cualquier posición de la molécula, al no incluir nitrógeno en un enlace amida o peptídico. Como implica esta definición excepcionalmente amplia, los alcaloides forman un grupo de moléculas estructuralmente diversas y biogénicamente no relacionadas. Muchos de estos compuestos

poseen potentes efectos farmacológicos. Por ejemplo, los alcaloides vegetales bien conocidos incluyen los analgésicos narcóticos, la morfina y codeína, apomorfina (un derivado de la morfina) utilizada en la enfermedad de Parkinson, el relajante muscular papaverina y agentes antimicrobianos sanguinarina y berberina. También se han desarrollado varios medicamentos potentes contra el cáncer a partir de compuestos vegetales (Bribi, 2018).

2.2.4. Quinonas

Son compuestos orgánicos que poseen un anillo diona que se encuentra totalmente conjugado. Se clasifican como ubiquinonas con coenzima Q10, ejemplo las antraquinonas o las que poseen dos anillos fenólicos en su estructura, como la emodin (Figura 4) y naftoquinonas (poco frecuentes) que son las que poseen un solo anillo aromático ligado al anillo conjugado por un grupo cetona doble. Según investigaciones las quinonas presentan propiedades redox, así como la coenzima Q10 (potente antioxidante) (Petillo y Hultin, 2008; Peñarrieta et al., 2014)

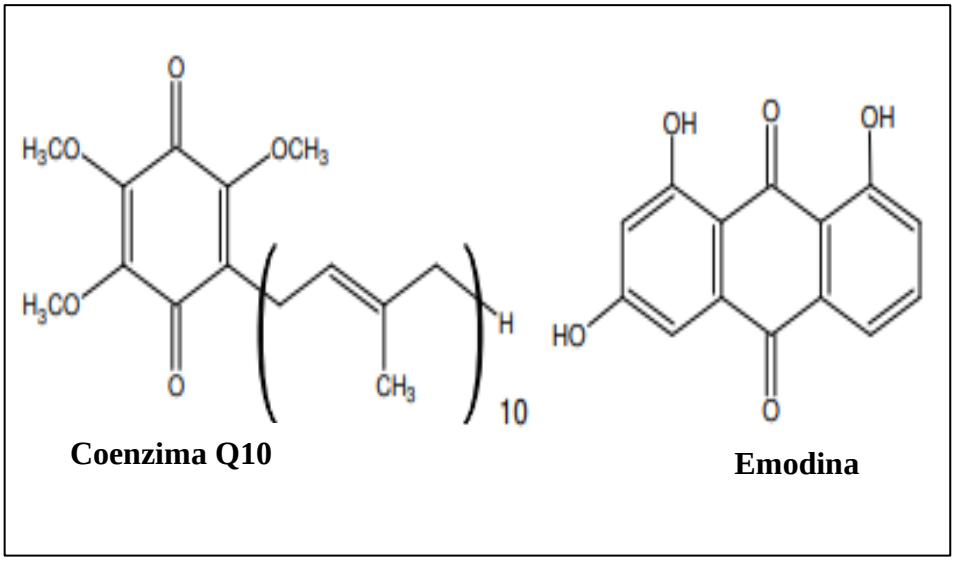


Figura 4. Estructura de las quinonas

2.2.5. Flavononas y flavanonoles

Las flavonas y los flavonoles se diferencian por el anillo que poseen (anillo C (Figura 5), comparado con los aurones y chalconas, el anillo C en las flavononas es heterocíclico que se encuentra saturado de oxígeno de seis miembros, contando con un grupo cetona en posición 4 (anillo heterocíclico de oxígeno) ejemplo naringenin, mientras que los flavanonoles presentan un grupo hidroxilo que se añade al anillo en la posición 5, cerca del

grupo cetona (como en taxifolina). Estos tipos de flavonoides se enuentran en las frutas como la naringenina (uno de los flavanonas) que es responsable de la amargura de los cítricos, y la taxifolina que se encuentra en los frutos como el açaí (*Euterpe sp*.), frutas amazónicas de América del Sur (Peñarrieta et al., 2014)

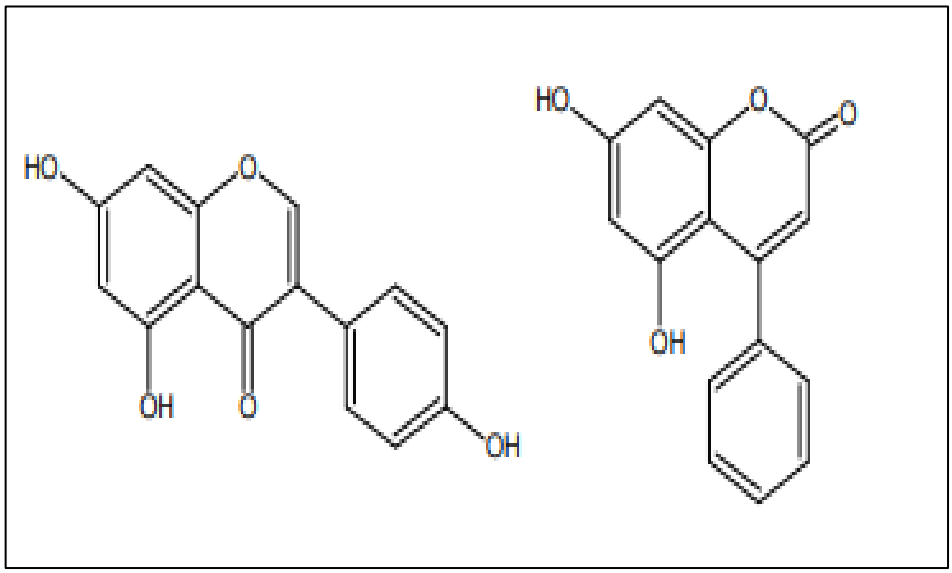


Figura 5. Estructura de las flavononas

2.2.6. Leucoantocianinas

Son compuestos del tipo flavan y podrían ser conocidos como flavan-3, 4-cis-dioles porque presentan un grupo hidroxilo más en posición 4 en el heterociclo C, comparado con lo de las catequinas. Se encuentran presentes en plantas y vienen a ser precursores otros compuestos como las antocianinas, taninos y catequinas. Así como el en las fresas, la leucocianidina es precursor para la biosíntesis de flavonoides en ella. (Peñarrieta et al., 2014)

2.3. Polifenoles, compuestos fenólicos, antocianinas y flavonoides

2.3.1. Polifenoles

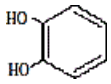
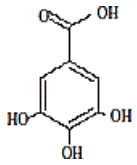
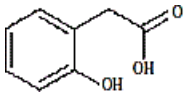
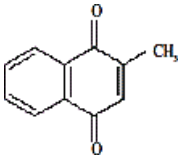
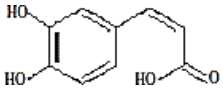
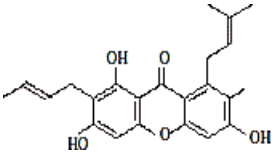
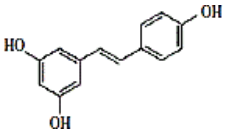
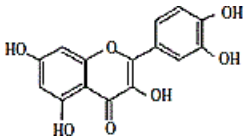
Dentro de los grupos de los metabolitos, los polifenoles son los metabolitos secundarios que participan en la defensa y contra las radiaciones UV o la proliferación de patógenos. Están en las plantas, en más de 8000 estructuras químicas, las mismas que se caracterizan por contar con un anillo aromático por lo menos y este se encuentra unido ya sea a uno o en otros casos a más grupos hidroxilos que vienen a ser derivados de los ésteres, éteres, o de los glucósidos (Fernández, 2012).

Los polifenoles son un tipo de metabolitos secundarios complejos que se encuentran presente en la naturaleza en las plantas ya sea en flores, cortezas, raíces, tallos, hojas y frutos. Numerosos estudios han demostrado que los polifenoles derivados de plantas tienen una variedad de bioactividades debido a su estructura química única, como antioxidantes, antimicrobianos y prevención de enfermedades crónicas, enfermedades cardiovasculares, cáncer, osteoporosis y neurodegeneración. (Wu y Zhou, 2021), las mismas que son muy investigados por poseer alta capacidad antioxidante, así como por su potencial antimicrobiano, anticoagulante, anticanceroso, cardioprotector y vasodilatador cuya acción está relacionada con la movilidad que poseen sus átomos de hidrógeno fenólico que permite a las células humanas defenderse de lesiones que son provocadas por las células cancerígenas (Calle et al., 2021).

Los compuestos polifenólicos (CPF) vienen a ser sustancias activas biológicamente, existiendo muchas evidencias epidemiológicas, así como estudios in vitro, en animales y en humanos, que demuestran su actividad benéfica en el organismo en contra muchas enfermedades. Los compuestos polifenólicos entre otros protege a las personas contra las lesiones celulares, así como subcelulares, inhiben el crecimiento de los tumores, propician la activación de sistemas para la detoxificación hepática y bloquean las vías metabólicas que podrían producir carcinogénesis (desarrollo del cáncer) transformando células sanas en células malas o cancerígenas (Mercado-Mercado et al., 2013).

En la Tabla 1 se puede observar la clasificación de polifenoles, según lo manifestado por Mercado-Mercado et al. (2013).

Tabla 1. Clasificación general de los polifenoles.

Clase	Estructura	Ejemplo
Fenoles simples	C6	 Catecol
Ácidos hidroxibenzoicos	C6-C1	 Ácido gálico
Ácidos fenilacéticos	C6-C2	 Ácido 2-hidroxi-fenilacético
Naftoquinonas	C6-C4	 Menadiona
Ácidos hidroxicinámicos	C6-C3	 Ácido caféico
Xantomas	C6-C1-C6	 Mangostina
Estibenos	C6-C2-C6	 Resveratrol
Flavonoides	C6-C3-C6	 Quercetina

Fuente: Mercado-Mercado et al. (2013)

2.3.2. Compuestos fenólicos

Representan el grupo de fitoquímicos que se encuentran en mayor cantidad y representación, son importantes porque intervienen en la fisiología y metabolismo que se produce en las células, así tenemos la morfología, el crecimiento, la reproducción, su capacidad de defensa en plagas y en los depredadores, en los procesos que se producen en la germinación, etc.). Están presentes en mucho de los productos naturales consumidos en la alimentación de los humanos, se acaba de demostrar su significativa actividad antioxidante siendo un potencial factor en la salud humana (Jurado et al., 2015).

La mayoría de los compuestos fenólicos forman parte de la dieta humana, y están presentes en los preparados medicinales, sus efectos de protección son atribuidos a la actividad antioxidante que poseen, así como a sus propiedades antimicrobianas, antiinflamatorias, anticancerígenas etc. Dentro de los compuestos fenólicos presentes en las plantas y más conocidos se encuentran los ácidos fenólicos, los lignanos, los terpenos y los taninos (Nazck y Shahidi 2006; Shahidi y Ambi gaipalan 2015). Los compuestos fenólicos metabolitos naturalmente presentes en casi todos los materiales vegetales, incluidos los productos alimenticios de origen vegetal. Estos compuestos, se cree que son una parte integral en la dieta de los humanos y de los animales. Los antioxidantes naturales en mayor parte son los compuestos fenólicos y dentro de ellos los grupos de mayor importancia entre los antioxidantes naturales se cuentan a los flavonoides, los tocoferoles y a los ácidos fenólicos (Gulcin 2020).

2.3.3. Antocianinas

Son compuestos solubles en agua, su color e intensidad en solución es muy influenciado por el pH. Las variaciones de color están conectadas con los cambios estructurales dependientes del pH de antocianinas. Las antocianinas juegan un papel biológico importante como antioxidantes y es relevante la capacidad que poseen para dar color a las plantas yen general a los productos vegetales. Intervienen en el proceso de atracción que se produce en los animales para realizar la polinización y la disposición de las semillas, son de considerable valor en la coevolución de estas interacciones planta-animal. Ellos pueden actuar como antioxidantes o como agentes antibacterianos (Symonowicz et al., 2012).

Las antocianinas vienen a ser los glucósidos de las antocianidinas, siendo casi siempre la glucosa que se encuentra en su molécula (posición 3-hidroxilo del anillo C), y en el caso de que la antocianina posea más de un glucósido, ésta está ubicada en la segunda posición del enlace, es decir en la posición 5 (Figura 6). Las antocianinas se encuentran también

en los alimentos vegetales las antocianidinas, responsables de dar color a los frutos y flores. Juntamente con los taninos y los antocianos son los encargados de dar el color rojo a los vinos añejos. Las antocianinas se utilizan en la industria alimentaria como colorantes naturales y están considerados dentro del Codex Alimentarius con el código E169. Por su capacidad antioxidante, tanto las antocianinas como las antocianidinas están asociadas como compuestos que benefician a la salud de las personas; así el consumo está relacionado con la prevención de enfermedades que devienen del estrés oxidativo, como las enfermedades cardíaca coronaria y con el cáncer (Peñarrieta et al., 2014).

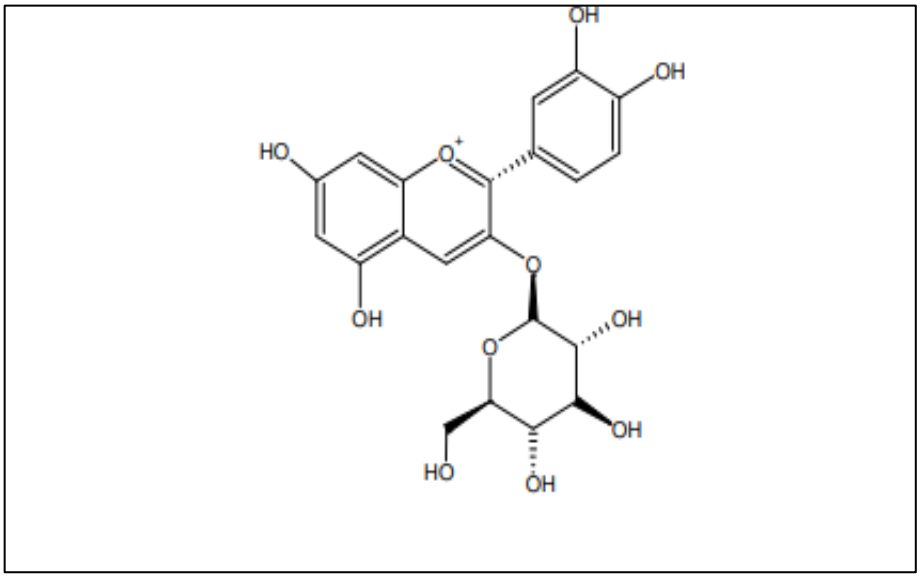


Figura 6. Antocianina 3-glucosido

2.3.4. Flavonoides

Derivado del latín *flavus* “amarillo”, es un término genérico utilizado para describir una variedad de metabolitos secundarios. Los flavonoides se han vuelto muy importantes debido a sus efectos beneficiosos para el cuerpo humano, las cuales tienen propiedades antibacterianas, anticancerígenas y reducen el riesgo de enfermedades cardiacas. (Mass y Campanera, 2011).

Los flavonoides constituyen aquello compuestos orgánicos presentes en forma natural en las plantas. Hay más de 5000 compuestos flavonoides en la naturaleza, pero los que se encuentran en los alimentos se dividen en seis categorías diferentes: flavonoles, antocianinas, flavan-3-oles, isoflavonoides, flavanonas y flavonas (Erdman et al., 2007). Estos compuestos son de mucho interés por los beneficios que dan en la salud de las personas. El consumir flavonoides está asociado a tener un riego de muerte menor por enfermedades cardiovascular (Grosso et al., 2017).

La estructura básica del flavonoide (Figura 7) es el favan núcleo (15 átomos de carbono en tres anillos C6–C3–C6, etiquetados como A, B y C. El doble enlace que poseen así como el carbonilo y el grupo hidroxilo en el anillo de piranilo C es base para que se clasifiquen en diferentes clases y subclases (Gulcin, 2020).

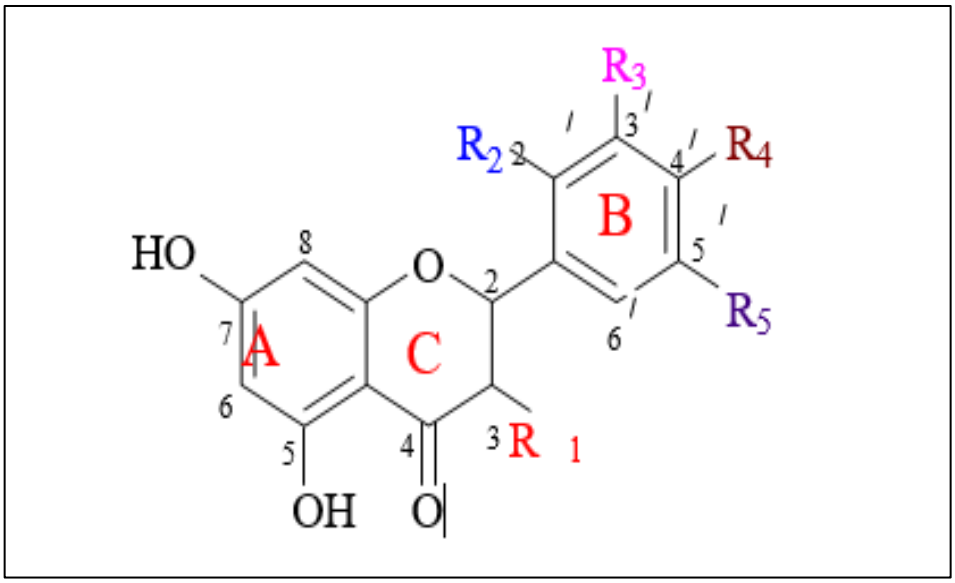


Figura 7. Estructura química de los flavonoides naturales

2.4. Antioxidante

Viene a ser una sustancia que se encarga de neutralizar la acción oxidante que poseen los radicales libres, actuando como liberadores de electrones en sangre, los mismos que son captados por los radicales libres, que mantienen así, su estabilidad (Avello y Valdivia, 2009).

2.4.1. Clasificación de los antioxidantes

Por el mecanismo de funcionamiento, los antioxidantes se pueden clasificar en antioxidantes primarios y secundarios. Los antioxidantes se encargan de inhibir la reacción en cadena que produce la oxidación y pueden intervenir agentes que donan hidrógeno o aceptan radicales libres lo que produce radicales más estables. Los antioxidantes en este grupo tienen principalmente una estructura fenólica e incluyen los siguientes: minerales antioxidantes, vitaminas antioxidantes y fitoquímicos, entre los cuales se encuentran flavonoides, catequinas, carotenoides, β caroteno, licopeno, diterpeno y sus derivados. Estos compuestos poseen muchos mecanismos entre los que se tienen el unir iones

metálicos, eliminando las especies reactivas al oxígeno, convirtiendo hidroperóxidos en especies no radicales, absorbiendo la radiación UV o desactivando el oxígeno singlete.

La actividad de los compuestos antioxidantes va a depender de muchos factores, dentro de ellas, sus propiedades de estructura de la misma, la temperatura a la que se encuentran, de cuáles son las características del sustrato que se encuentra susceptible a la oxidación, de su concentración, de la presencia de compuestos sinérgicos y de prooxidantes y del estado físico en el que se encuentra el sistema. La estructura química de un antioxidante determina su reactividad intrínseca a los radicales libres y otras ROS y, por lo tanto, influye en la actividad antioxidante. La eficiencia de los antioxidantes también depende de su concentración y localización en el sistema, por ejemplo, la distribución de la interfaz, Otro factor con un papel importante en su acción protectora, a corto o largo plazo, es la cinética de la reacción. Esto implica la velocidad de reacción entre un antioxidante y un oxidante distinto, la termodinámica de la reacción y la capacidad del antioxidante para reaccionar. Todos estos parámetros deben tenerse en cuenta al considerar la eficiencia y la selección de una sustancia antioxidante adecuada para un uso particular (Munteanu y Apetrei, 2021).

2.4.2. Método de Folin-Ciocallteu

La prueba de Folin-Ciocalteu es un método bien conocido destinado a determinar el contenido fenólico total (TPC). La prueba de Folin-Ciocalteu fue ampliamente utilizada en estudios clínicos y nutricionales para medir el contenido polifenólico total en alimentos de origen vegetal y muestras biológicas. Este método fue diseñado originalmente para analizar proteínas, pero más tarde fue adoptado por Singleton, Orthofer y Lamuela-Raventos (1999) con el fin de analizar los componentes fenólicos en el vino, después de lo cual se convirtió en una prueba de rutina para la evaluación antioxidante de extractos de alimentos y plantas (Munteanu y Apetrei, 2021).

En la actualidad, la prueba de Folin-Ciocalteu está disponible comercialmente en varias sociedades comerciales importantes, por lo que este método se utiliza ampliamente para cuantificar polifenoles en extractos derivados de plantas, así como en alimentos y bebidas. Esta prueba está basada en la capacidad de reducción que posee el reactivo de Folin-Ciocalteu con los compuestos fenólicos que se encuentran en estado alcalino. Las características de su composición química exacta no se encuentran muy definida, creyéndose que puede poseer un complejo de ácido fosfomolíbdico/fosfotúngstico que es reducido hasta que se presenta un cromóforo azul con máxima absorción a longitud de onda de 765 nm (Figura 8) (Munteanu y Apetrei, 2021).

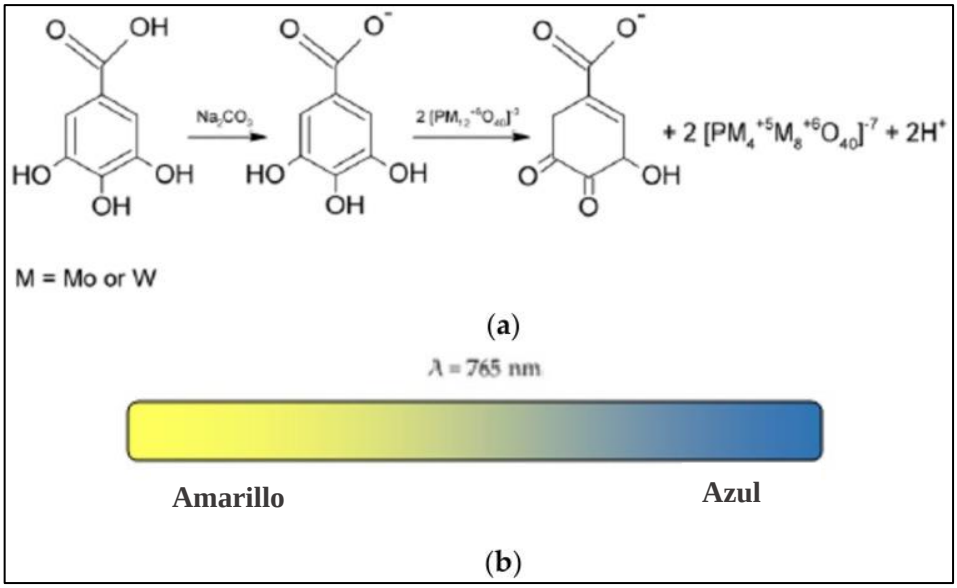


Figura 8. Reacción entre los compuestos fenólicos. Método Folin-Ciocalteu (a); Variación de color observada en el ensayo (b).

2.4.3. Ensayo de ABTS

La actividad antioxidante equivalente a Trolox (TEAC) fue desarrollada por primera vez por Miller y su equipo (1993) como un método antioxidante equivalente al Trolox simple y conveniente utilizado para medir la capacidad antioxidante total (TAC) (Miller et al., 1993). La prueba tiene la capacidad de medir cómo los antioxidantes neutralizan al ácido 2,2′-azinobis(3-etilbenztiazolina-6-sulfónico) ($ABTS^{\bullet+}$) que es un catión radical estable, con un cromóforo azul-verde cuya absorción máxima es a longitud de onda de 734 nm, en el que su intensidad disminuye porque está presente el antioxidante $ABTS^{\bullet+}$ y puede ser generada a partir de ABTS con la presencia del poderoso agente antioxidante. La decoloración del color azul-verde que se cuantifica con la caída repentina que se produce de la absorbancia de 734 nm, esta depende también del tiempo de la reacción, de la actividad antioxidante que posee en forma intrínseca y de la concentración presente en la muestra (Figura 9) (Munteanu y Apetrei 2021).

En la prueba TEAC original, la metmioglobina y el peróxido de hidrógeno se utilizan para generar un radical intermedio de ferrimyoglobina, que posteriormente reacciona con ABTS para producir $ABTS^{\bullet+}$. Más tarde, el agente oxidante fue reemplazado por peróxido o persulfato. El persulfato de potasio viene a ser el oxidante que se utiliza mayormente para la producción de $ABTS^{\bullet+}$.

Como se puede ver en las reacciones a continuación, en el sistema formado por ABTS/H_2O_2/peroxidasa, ABTS se comporta como un agente reductor, sustituyendo la forma habilitada de la enzima (llamado compuesto I) en el compuesto II, que regresa a la forma inicial de la enzima (E).

$$E \text{ (forma nativa de peroxidasa)} + H_2O_2 \rightarrow \text{Compuesto I} + H_2O$$

$$\text{Compuesto I} + \text{ABTS} \rightarrow \text{Compuesto II} + \text{ABTS}^{\bullet+} \text{ (radical catiónico ABTS)}$$

$$\text{Compuesto II} + \text{ABTS} \rightarrow E + \text{ABTS}^{\bullet+}$$

ABTS es oxidado por oxidantes a su catión radical, $ABTS^{\bullet+}$ que es de color intenso en azul-verde. El radical ABTS se caracteriza por su solubilidad en agua y su disolución en solventes orgánicos, por lo que se puede determinar la capacidad antioxidante de los compuestos solubles en hidrófilos o lipófilos (Munteanu y Apetrei 2021).

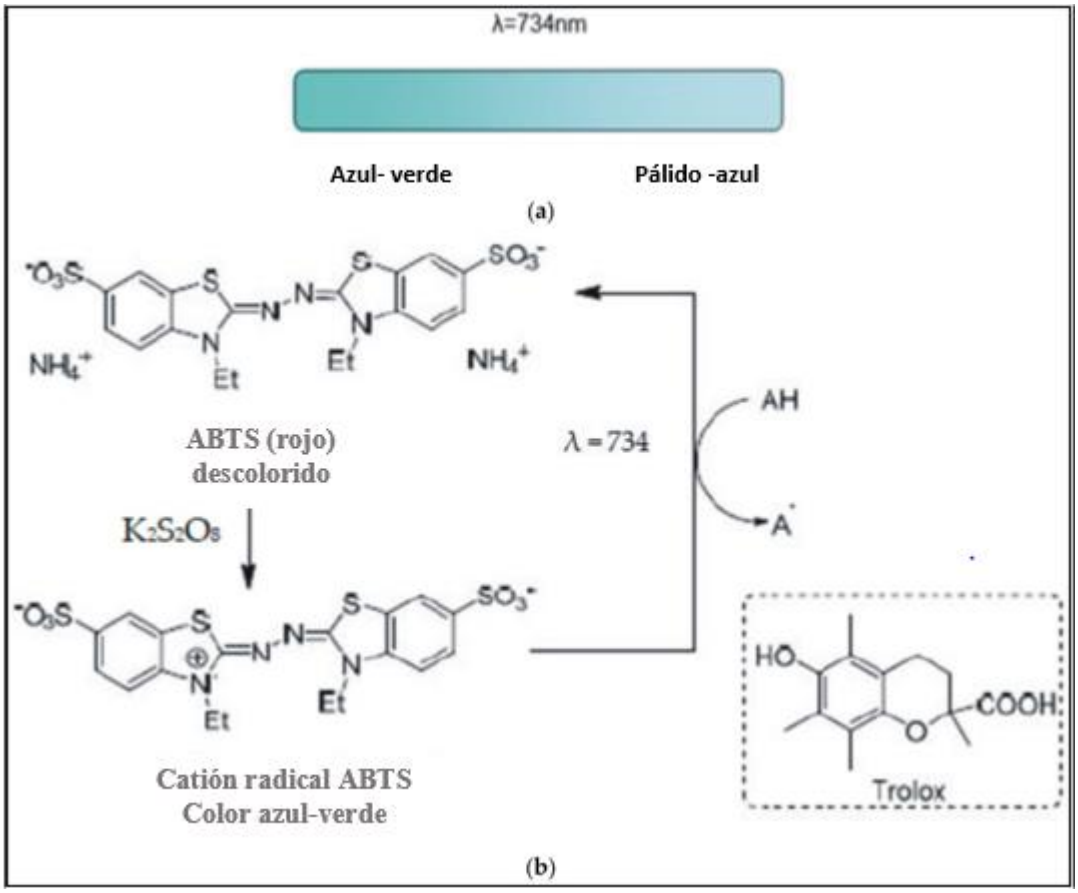


Figura 9. Variación de color en el ensayo ABTS (a); Esquema de reacción involucrado en el ensayo de actividad de eliminación de cationes radicales 2,2′-Azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acido (ABTS) (b)

2.4.4. Ensayo de DPPH

DPPH° es un radical, presente en forma de monómero en estado sólido, así como en solución. Los primeros datos estructurales mostraron que su baja reactividad única estaba influenciada principalmente por el "cribado eficiente de la estructura hidracilo por las partes circundantes de la molécula" y menos por la conjugación extendida. El radical puede disolverse en muchos disolventes orgánicos, exceptuando al agua. Por lo general, se disuelve en metanol, etanol o sus mezclas acuosas. En este último caso, el contenido de agua no debe exceder el 60% para que el radical sea más fácilmente soluble.

La prueba de neutralización DPPH está basada en la capacidad de donar electrones de los antioxidantes que permiten neutralizar el radical DPPH. La reacción produce un cambio de color que es medido a longitud de onda de 517 nm e indica su actividad antioxidante (Figura 10). La prueba DPPH es considerada una técnica simple requiriendo sólo de un espectrofotómetro Vis o de un espectrómetro de resonancia paramagnética electrónica (EPR). Sin embargo, DPPH$^{\bullet}$ no es un radical natural pero el mecanismo de reacción con antioxidantes es similar al de los radicales peroxilo ROO$^{\bullet}$ (Munteanu y Apetrei, 2021).

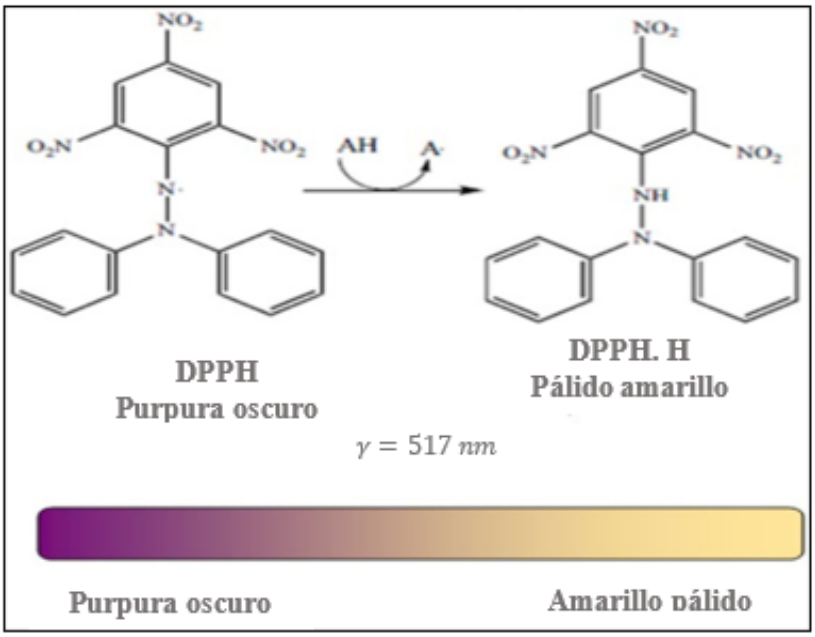


Figura 10. Mecanismos de eliminación de DPPH por un antioxidante (AH).

2.4.5. Trolox ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico

El Trolox o tocoferol soluble en agua, sirve como un control positivo, que inhibe la formación de catión radical, no es un antioxidante natural (Bursal et al., 2019). La actividad presente en los fluidos biológicos, células, tejidos y extractos naturales está optimizado por trolox como estándar. Trolox ha sido ampliamente utilizado como compuesto modelo de α-tocoferol en biología, bioquímica y aplicaciones farmacéuticas que permiten la eliminación de radicales libres y reducción del daño por el estrés oxidativo y ha sido diseñado para medir la concentración de la solución de trolox con referencia a la concentración de la solución antioxidante estándar bajo investigación (Shivakumar y Kumar, 2018; Gulcin, 2020).

2.5. Radicales libres

Viene a ser una especie química que tiene un solo electrón en el orbital exterior. En este estado, el radical libre, altamente activo y lábil tiene la capacidad de reaccionar con los químicos orgánicos e inorgánicos y de manera muy particular con las moléculas formadoras de las membranas biológicas, como son los lípidos, las proteínas y el ADN que forma el material genético, así estos radicales libres lesionan de forma irreversible las estructuras celulares e inducen a mutaciones. Los radicales libres son capaces de iniciar reacciones autocatalíticas y las moléculas con las que reaccionan, se convierten en otros radicales libres llevándose a cabo unas reacciones en cadena, proceso que se conoce con el nombre de propagación (Lozano et al., 1997).

Los radicales libres poseen en su estructura uno o más electrones que se encuentras desapareados, se caracterizan por ser altamente reactivos y esto es punto clave para que puedan formarse otros radicales libres en la cadena que poseen una vida media que va de microsegundos, además poseen una propagación rápida con un elevado potencial para dañar a otras moléculas vecinas. Un radical libre tiene la capacidad de afectar a un millón de moléculas en una reacción producida en cadena, los compuestos formados son los que se conocen como ERO (especies reactivas del oxígeno) o ROS por sus siglas en inglés (Coronado et al., 2015).

Los radicales libres que se generan en el metabolismo aeróbico se encuentra involucrados en procesos reguladores como por ejemplo la proliferación celular, la apoptosis y la expresión génica. Cuando los radicales libres son generados en gran cantidad son capaces de contrarrestar la capacidad defensora del antioxidante, siendo perjudiciales para las biomoléculas que son esenciales para la oxidación de los lípidos de la membrana, así como de las proteínas celulares, carbohidratos, el ADN y las enzimas. El estrés oxidativo da lugar a la aparición de compuestos citotóxicos (malonil dialdehído, 4-hidroxinonenal) y altera el

equilibrio oxidante-antioxidante (homeostasis redox) que caracteriza el funcionamiento celular normal y estudios recientes, se ha afirmado repetidamente que el estrés oxidativo no solo no se limita al daño inducido por radicales libres en las biomoléculas, sino que también implica la perturbación del estado redox celular, que se ha descrito como "una interrupción en la señalización y el control redox"; por lo tanto, el sistema antioxidante implica más que la mera captura de radicales libres (Pisoschi et al., 2016)

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Lugar de ejecución

El trabajo de investigación se realizó en el Centro de Investigaciones para el Desarrollo en Biotecnología de la Amazonía-CIDBAM y en el Laboratorio de Fitoquímica de la Facultad de Recursos Naturales de la Universidad Nacional Agraria de la Selva-UNAS, distrito de Rupa Rupa, provincia Leoncio Prado, departamento de Huánuco; (altitud, 660 metros sobre el nivel del mar, latitud 09°17'08"S y 75°59'52"O, clima tropical con una humedad de 84% y a 25 °C.

2.6. Material de análisis

Corteza de mururé

La planta de mururé se encuentra localizada en la provincia de Tocache en el distrito de Tocache en el caserío de Shapaja en las siguientes coordenadas geográficas (-8.108526, -76.411870). El material biológico para estudiar fue la corteza de mururé el cual se recolecto empaco y transportó al laboratorio en estado fresco para su respectivo análisis. La identificación de la taxonomía del mururé fue realizado en el laboratorio de Fitoquímica, por el Dr. Warren Ríos García - docente de la Facultad de Recursos Naturales Renovables - UNA especialista en plantas medicinales.

2.7. Equipos, materiales y reactivos

2.7.1. Equipos

Para elaborar dicho estudio se usaron los siguientes equipos tales como: agitador magnético 753A serie 0825351 115 V, Lámpara UV-CE. Modelo M02-0955, Balanza Sartorius modelo M-Power AZ-214, Baño María (Memmert WNB 10), Selladora modelo Impulse Seater KS. 100–250W A KS. 500-800W, Estufa BARNSTEAD, Refrigerador Coldex Perú, Equipo Soxhlet Gerhardt. Germany, Espectrofotómetro UV/VIS Genesys 10S Thermo SCIENTIFIC, Lámpara UV/Vis (Ali, AD2038UV MG/WM), Centrifuga modelo MIKRO R22 (Hettich, Germany), pH metro digital marca KYNTEL, cámara fotográfica y molino de martillos.

2.7.2. Materiales

Placa Petri, pinzas, matraces Erlenmeyer 500 mL, 250 mL, 50mL y 10mL marca kimax USA, pipetas de 50 mL y 10 mL marca Brand, vasos de precipitación (Marienfeld de 50-1000Ml), tubos de plástico(Falcon), embudo de separación, probetas graduadas de (250,500,100 y 50 mL), Espátulas metálicas, Parafilm, embudos de filtración, buretas de (50 y 100 mL), fiola Fischer Scientific (10, 50 y 250 mL), hisopos (Tuinies),baguet de vidrio, papel toalla, tubos de ensayo (10 mL), micropipetas (0 – 10, 10 – 100, 20- 200 y 100 – 1000 µL), cubetas de poliestireno (Brand) de 1,5 mL, tips (1000 y 200 µL), microtubos (1,5 y 2 mL), gradillas de ensayo; pizetas de material plástico (100 mL), termómetro, papel filtro whatman # 42.

2.7.3. Reactivos y solventes

Acetato de plomo, peróxido de hidrogeno al 20%, limaduras de magnesio, reactivo de kedde(Sigma Aldrich), cloruro férrico $FeCL_3$, Hexano (PA) , ácido sulfúrico(H_2SO_4) 95-97% (PA), hipoclorito de sodio al 2%, agua destilada H_2O, ácido clorhídrico concentrado (HCLc), 2,2'–Azino-bis (3– ettrylbenzothiazoline–6–sulfonic acid) diammonium salt (ABTS, USA 98% pureza), (+) Catequina (Sigma Aldrich), alcohol al 80%, hidróxido de sodio Scharlau (NaOH) al 0,1 N; persulfato de Potasio ($K_2S_2O_8$); Etanol (grado QP); etanol 96° (C_2H_6O), metanol (grado QP), , Tolueno (Sigma Aldrich), Anhídrido acético (J.T Baker), amoniaco NH_3, reactivo de dragendorf (Sigma Aldrich), valser(Sigma Aldrich), Mayer(Sigma Aldrich), Reineckato(Sigma Aldrich), reactivo de gelatina-sal Merck, ácido acético; acido gálico Sigma Aldrich ($C_7H_6O_5$) 98,1 %, Folin – Ciocalteu (Merck. Germany) phenol reagente (2N, Sigma Aldrich), carbonato de sódio Scharlau al 7,5 % (Na_2CO_3); 1,1–Diphenyl–2–picril–hydrazil (DPPH, USA) 90% pureza;

2.8. Métodos de análisis

Evaluación fitoquímica: Por el método de Lock (1994) (saponinas, compuestos, flavonoides, cumarinas, taninos, antraquinonas, antocianinas, aminoácidos y alcaloides).

Cuantificación de polifenoles totales: Método espectrofotométrico (Folin Ciocalteu, 1927), expresado como equivalente de ácido gálico y descrito por Doroteo et al. (2013).

Cuantificación de antocianinas totales: Este es uno de los métodos espectrofotométricos los cuales fueron descritos por Zapata et al. (2014).

Cuantificación de flavonoides totales: La cuantificación de flavonoides fue desarrollada según el método espectrofotométrico descrito por Doroteo et al. (2013).

Evaluación de la capacidad antioxidante

- Según el método DPPH (Brand-Williams et al., 1995), por inhibición de radicales libres 1,1 diphenyl-2-picryl-hydrazyl ($DPPH^{o+}$) se determina la absorbancia residual el cual se encuentra reportado en artículo de Mensor et al. (2001).
- Según el método $ABTS^{o+}$ que indica la capacidad de inhibir el catión 2,2-azinobis (3-etilbenzotiazoline – 6 ácido sulfónico) método desarrollado por Pellegrini et al. (1999), con algunas modificaciones y a su vez se encuentra reportado por Álvarez et al. (2014).

2.9. Metodología experimental

2.9.1. Acondicionamiento de la muestra

La muestra fue recolectada en horas de la mañana (7:00-10:00 am), realizando cortes de 20∗20 cm al árbol de mururé, obteniéndose cortezas frescas las cuales fueron transportadas en bolsas envueltas en papel Kraft hasta el Laboratorio de HPLC. La identificación de la muestra fue confirmada por el profesor Warren Ríos García (Docente FRN).

Las muestras se clasificaron y se descartaron aquellas que sufrieron daños en la corteza, luego lavadas en solución de hipoclorito al 2%. Una vez cortadas en fragmentos fueron secadas en una estufa a 60 °C aproximadamente por 4 días hasta que la humedad fue constante (Rodés et al., 2015). Posteriormente la muestra seca fue pulverizada en un molino de martillos y pasado por una malla de tamiz de 1 mm de diámetro y almacenadas en bolsas de polipropileno a temperatura ambiente.

2.9.2. Caracterización fitoquímica del extracto de la corteza de mururé

2.9.2.1. Preparación del extracto

5 g de muestra de la corteza de mururé fue colocada en un matraz Erlenmeyer, se agregó alcohol etílico cubriéndose toda la muestra y para que le dé fluidez, luego fue calentado en baño maría (5 minutos) agitándose contantemente, luego fue enfriado para ser filtrado. Obtenido el filtrado, se añadió solución de acetato de plomo al 4% en un volumen igual, éste contenía ácido acético al 0,5%, fue agitado dejándose en reposo por 15 min, luego se filtró. Obtenido el filtrado se evaluó el contenido de fitoquímicos (flavonoides, leucoantocianidinas y cardiotónicos).

Se añadió 5 g de corteza molida de mururé en un matraz, luego se adicionó un volumen suficiente de alcohol, se calentó en baño maría por 10 min agitándose constantemente, filtrándose en caliente y se concentró hasta tener un filtrado con la mitad del volumen. El extracto obtenido se pasó por un embudo de separación del que se obtuvo dos

porciones con volumen de 10 mL c/u de diclorometano. Luego se agregó un volumen de agua para formarse dos fases. La fase acuosa fue filtrada para analizarse los taninos, las saponinas y las quinonas en el filtrado. La otra fase fue secada utilizando sulfato de sodio anhídrido y fue filtrada, en el filtrado se efectuaron los análisis de triterpenos o esteroides. Los 2 procesos fueron referenciados gracias a los extractos obtenidos por (Chang et al., 2013).

2.9.2.2. Tamizaje fitoquímico

En el tamizaje se evaluaron los siguientes metabolitos secundarios

Compuestos fenólicos (reactivo cloruro férrico): Se agregó unas gotas de solución de $FeCl_3$ al 1% a los extractos el cual dio una coloración azul, verde o negro, que indican presencia de compuestos fenólicos.

Flavonoides: Se colocaron varias limaduras de magnesio en un tubo de ensayo e inmediatamente se agregó 2 mL del filtrado de la solución alcohólica de corteza molida seguidamente y por las paredes del tubo se incorporó HCL en gotas. La visualización de color rojo indica (flavonas), roja a crimson (flavonoles), crimson a magneta (flavononas) y algunas veces azul o verde que indican la existencia de flavonoides.

Leucoantocianidinas: 2 mL del filtrado fue colocado en un tubo de ensayo, incorporándose 1 mL de HCL concentrado, se calentó en baño maría por 15 min. La visualización de color rojo indica que reacción positiva, por tanto, hay presencia de leucoantocianidinas.

Cardiotónicos: 1 mL del filtrado fue colocado en un tubo de ensayo, añadiéndose 0,5 mL del reactivo Kedde constituído por 1 mL de la solución A + 1 mL de solución B. La presencia de coloración violeta o púrpura indicaría que está presente los cardiotónicos.

Cumarinas: 5 g de muestra pulverizada fue colocado en un tubo de ensayo, luego se añadió agua destilada en cantidad suficiente para cubrir la muestra, se tapa la boca del tubo de ensayo con papel filtro blanco el cual debe de estar humedecido con NaOH al 10%. Luego se dejó un tiempo de 5 min en ebullición. se retiró el papel filtro y se expuso a la luz ultravioleta (365 nm). Cuando se observa que en el papel filtro se presenta una tonalidad fluorescente entre amarilla-verdosa o azul indica que la reacción ha sido positiva y hay por tanto presencia de cumarinas.

Taninos (reacción de gelatina): Se trabajó con el extracto orgánico en tres tubos de ensayo denominados tubos 1, 2 y 3, al tubo 1 se añadió NaCl al 5%, al tubo 2 se agregó una solución de gelatina 1% y al tubo 3 se agregó un reactivo (gelatina-sal). Si se precipita con este último reactivo (el tubo 3), o ambos (tubo 1 y tubo 3) indica la presencia de taninos. Si se presenta precipitación sólo en el tubo 1 la prueba es considerado falso. Igualmente se podrá comprobar

si al extracto inicial se agrega solución de $FeCl_3$ y la aparición de los colores azul, azul negro, verde o azul verdoso indican positivo para la muestra.

Saponinas y compuestos relacionados (prueba de espuma): Con el material pulverizado se preparó un extracto acuoso al 1%, luego se filtró y el filtrado se agitó vigorosamente por 1 min. Al observarse una espuma abundante y que al mismo tiempo es permanente indica prueba positiva para la muestra.

Triterpenos y/o Esteroides: A 1 mL del filtrado orgánico que se encuentra en un tubo de ensayo se agreg´1 mL de anhídrido acético y teniendo mucho cuidado se adiciona por la pared del tubo 1 o 2 gotas de H_2SO_4 cc. La presencia de los colores rojo, violeta, azul o verde indica presencia de esteroides y/o triterpenoides.

Antraquinonas (reacciones de Borntrager): La muestra seca y pulverizada fue macerada en benceno, se agitó con solución acuosa de NH_3 o NaOH, la presencia de una coloración rosado o roja en la parte acuosa indica prueba positiva de antraquinonas.

Quinonas: Utilizándose un tubo de ensayo se agregó unos 5 mL de filtrado acuoso, se añadió 1 mL de peróxido de hidrógeno (20%) y 1 mL de H_2SO_4 (50%). Se calentó la muestra por 20 minutos en baño con agua en ebullición. Después de enfriarse se añadió 5 mL de tolueno. Se agitó evitando que se combinen las fases. La existencia de quinonas fue verificada por el cambio de coloración de la capa a color rojo o rosado, con esto se comprueba la presencia de quinonas.

Alcaloides: Se pesó 10 g de muestra que debe estar seca y molida y se colocó en un Erlenmeyer, añadiéndose HCl (5%) suficiente para que toda la muestra se encuentre sumergida en la solución anterior y se calentó a baño María, luego fue enfriada y filtrada. Seguidamente se colocó el producto filtrado ácido en una cantidad de 2 mL en cuatro tubos de ensayo, con 2 gotas de los reactivos: Dragendorff, Mayer, Wagner y Reineckato de amonio, luego se agitaron muy bien y se observó la presencia de turbidez en la solución o de un precipitado en al menos tres de los tubos, lo que indicaría que en la muestra existe alcaloides.

Antocianinas: Se colocó 5 g de corteza molida de mururé en un vaso de precipitado, se adicionó agua en ebullición en cantidad de 100 mL por 5 minutos y se llevó a filtración. Seguidamente en otro tubo se colocó el filtrado (2 mL) adicionándose 1 mL de NaOH diluido, observándose el color formado, luego en un tubo de ensayo se colocó 2 mL del filtrado, añadiéndose 2 gotas de H_2SO_4observándose el color que ha adquirido. La presencia de antocianinas indica diferente coloración a diferentes niveles de pH.

3.5.3 Preparación de los extractos

Extracto hidroalcohólico: Se pesó una muestra de 1 g de corteza de mururé molida el cual se mezcló con 20 mL de (etanol: agua destilada) durante 24 horas a temperatura ambiental. Luego se filtró, el filtrado resultante se almacenó en refrigeración a 4 °C hasta su respectivo uso (Doroteo et al., 2013).

Extracto metanólico: Se tomó 1 g de muestra, se añadió 20 mL de metanol y se dejó en reposo por un tiempo de 24 horas a la temperatura ambiental. Después de ese tiempo fue filtrada obteniéndose una suspensión acuosa de color pardo, que constituirá el extracto metanólico total EMT (Duran et al., 2013).

Extracto acuoso: A 1 g de la muestra se añadió 20mL agua destilada dejándose reposar por 24 horas a temperatura ambiental. Luego se filtró. El extracto obtenido fue almacenado en refrigeración a una temperatura menor de 4 °C (Ortiz et al., 2009).

3.5.4. Cuantificación de polifenoles totales, antocianinas y flavonoides en los extractos de cortezas de mururé

3.5.4.1. Cuantificación de polifenoles totales

Preparación de la curva estándar: Se utilizó una curva estándar utilizándose ácido gálico, a diferentes concentraciones (10, 25, 50, 75 y 100 µg/mL), a partir de una concentración de 100 µg/mL. Se colocaron 100 µL de agua desionizada (valor en blanco) en una cubeta y 100 µL de diferentes estándares de concentración en la otra cubeta. A continuación, se añadió solución de fenol Folin Ciocalteu (1/10) en cantidad de 500 µL de y Na_2CO_3 (7,5%) 400 µL,se incubaron en oscuridad a temperatura ambiente por 2 horas y finalmente se leyó en un espectrofotómetro U/VIS a longitud de onda de 740 nm, graficándose los resultados en una curva concentración-absorción y se determinaron la ecuación $y = 0,0912\ x + 0,0086$ y el $R^2 = 0,9994$ (Anexo A).

Análisis de polifenoles totales: Se prepararon diluciones de trabajo a partir de los extractos, para el cual se realizó la reacción agregando 100 µL de la dilución de trabajo y 500 µL de la solución Folin-Ciocalteu, esta solución se agito vigorosamente en un homogeneizador por 5 minutos e inmediatamente se agregó carbonato de sodio (7,5%) 400 µL, volviéndose a agitar por 2 minutos, después se dejó reposar por 60 minutos a temperatura ambiental y sin luz (en oscuridad). Luego de los 60 minutos se midieron las absorbancias con un espectrofotómetro UV/VIS a 740 nm. El total de polifenoles totales encontrados se expresó en mgEAG/g de muestra seca.

3.5.4.2. Cuantificación del contenido de antocianinas totales

Las antocianinas monoméricas fueron cuantificadas según el método por diferencia del pH; una alícuota del extracto antociánico fue mezclado con un tampón de

cloruro de potasio 0,025 M a pH 1,0 (usando ácido clorhídrico) y otra utilizando un tampón de acetato de sodio 0, 4M a pH 4,5 (usando ácido acético). Las lecturas fueron realizadas a una longitud de onda de máxima absorción (510 nm), proporcional al contenido de antocianinas. Luego, se midió la absorción a 700 nm contra un blanco (agua destilada desionizada) para corregir las medidas por la presencia de sustancias interferentes. La concentración de antocianinas fue expresada en mg de cianidina-3-glucósido/100 mL de muestra seca.

$$A = (A_{510nm} - A_{700\ nm})_{pH1} - (A_{510nm} - A_{700\ nm})_{pH4.5}$$

La concentración de antocianinas se determinó utilizando la siguiente formula:

$$\boldsymbol{PMA}\left(\frac{\boldsymbol{mg}}{\boldsymbol{L}}\right) = \frac{\boldsymbol{A} * \boldsymbol{PM} * \boldsymbol{FD} * \mathbf{1000}}{\epsilon * \mathbf{1}}$$

PMA = Pigmentos monoméricos de antocianina

$\mathrm{PM} = \mathrm{P.M.}$ cianidin 3 glucosido

$\mathrm{FD} =$ factor de dilucion

$€ =$ absortividad molar (26,900)

3.5.4.3 Cuantificación del contenido de flavonoides

El contenido de flavonoides presente en los tres extractos se determinó mediante un ensayo colorimétrico. Se añadieron 30 µL de nitrito de sodio a 100 µL de extracto (concentración 0,5 mg/mL). Después de 6 minutos de reposo se añadieron 30 µL de cloruro de aluminio, después de 5 minutos de reposo se añadieron 200 µL de hidróxido de sodio y finalmente 640 µL de agua destilada. Para cuantificar flavonoides se usó una curva estándar generada con catequinas (concentraciones 10 a 100 µg/mL) según se indica en el Anexo B. Las absorbancias se midieron en un espectrofotómetro a 510 nm, los flavonoides presentes se expresaron en mg de catequina/g de muestra seca.

3.5.5. Determinación de la capacidad antioxidante en los extractos de corteza de mururé

3.5.5.1. Capacidad de inhibir radical 1,1 – difenil – 2- picryl-hydrazyl ($DPPH^{\circ+}$)

Preparación de la curva estándar: Se partió de una solución stock de Trolox 2 mM (0,05 g en 100 mL de agua desionizada), a partir de esta solución se prepararon soluciones a concentraciones de 0 a 1 mM, para esto se añadió 25 µL de alcohol a una cubeta control, luego

se añadió en otra cubeta 25 µL de la muestra a diferentes concentraciones, inmediatamente después se agregó 975 µL de solución de trabajo $DPPH^{o+}$ se agitó y se leyó a 515 nm en un espectrofotómetro U/VIS contra una cubeta con 1000 µL de alcohol denominado blanco y los resultados obtenidos se representaron gráficamente como concentración frente a absorbancia para determinar la ecuación correspondiente y = 20,081x + 0,0286 y el coeficiente R^2 = 0,9989 (Anexo C).

Para la capacidad antioxidante se preparó una solución stock 1 mM del reactivo $DPPH^{o+}$ para esto se pesó 0,0394 g de $DPPH^{o+}$ y se disolvió en 100 mL de metanol grado reactivo, esta solución stock fue almacenada a 4 ºC en oscuridad, a partir de la solución stock indicada se prepararon soluciones de trabajo a 100 µM utilizado para las reacciones. La inhibición del radical $DPPH^{o+}$ se determinó adicionando en una cubeta 25 µL de los extractos de mururé más 975 µL del stock del radical $DPPH^{o+}$ el cual se encontraba a 100 µM haciendo un volumen total de 1000 µL inmediatamente después se leyó la absorbancia a 515 nm de longitud de onda, cada 30 s por 10 min o hasta que las absorbancias sean constantes, todas las lecturas se hicieron contra un blanco que fue alcohol 1000 µL, La concentración de $DPPH^{o+}$ se calcularon de la curva obtenida utilizando regresión lineal. Estos resultados fueron expresados como TEAC, o sea, actividad equivalente de Trolox en las siguientes unidades (µMTEAC/g de muestra).

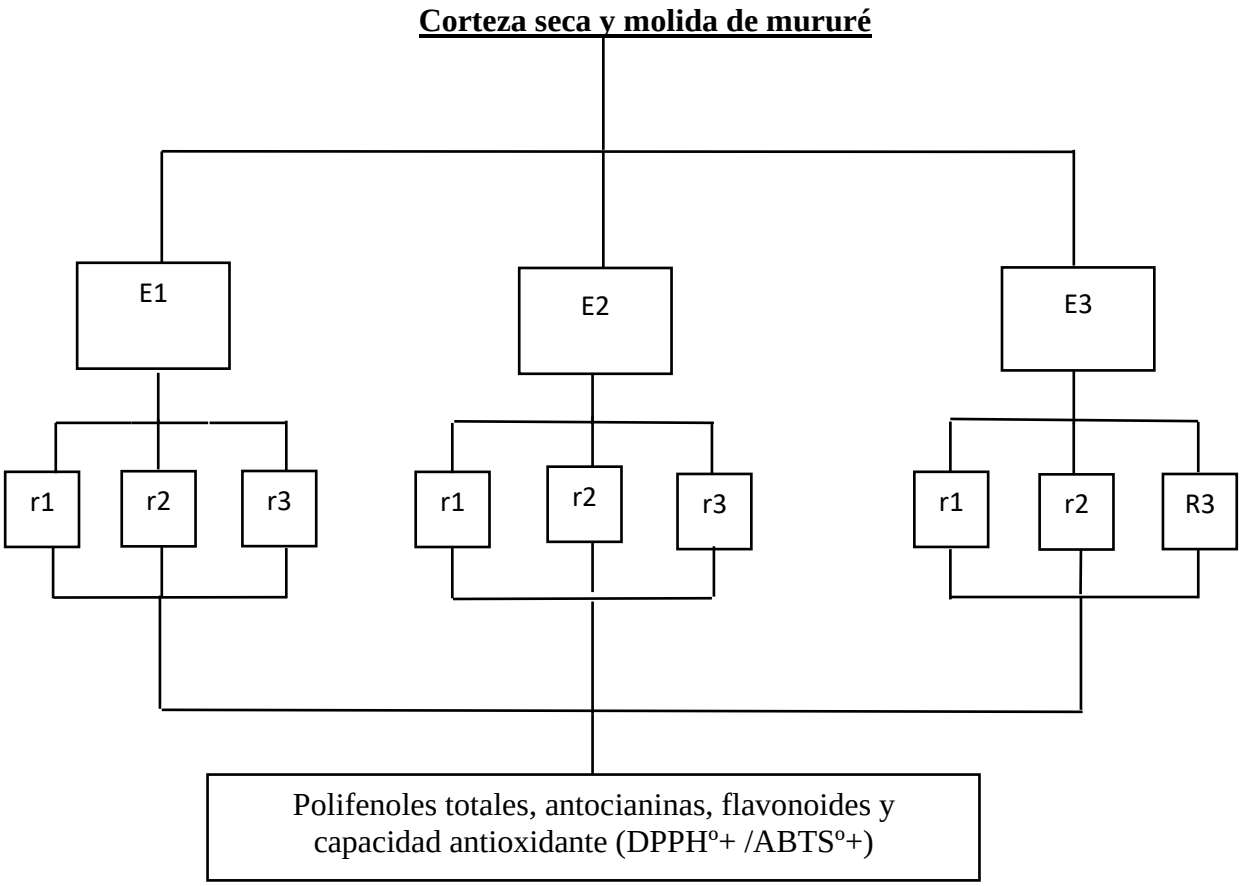
3.5.5.2. Capacidad de inhibir radical libre 2,2 – azinobis (3–ethylbenzotiazolin–6-ácido sulfónico) ($ABTS^{o+}$)

Preparación de la curva estándar: A parir de una solución stock: Trolox a 2 mM (0,05 g en 100 mL de agua desionizada), se prepararon 5 concentraciones (estándares) que van de 0 a 1 mM, para esto se agrega en una cubeta, 10 µL de alcohol (control) y en otras cubetas 10 µL de las muestras, inmediatamente después, se añade 990 µL de la solución de trabajo $ABTS^{o+}$, leyéndose finalmente las absorbancias en espectrofotómetro UV/VIS a 734 nm, obtenidos los resultados, se graficó la curva concentración - absorbancia, del que se obtienen la ecuación y = 31,558 x – 0,0021 y el coeficiente R^2=0,9982 (Anexo D).

La capacidad de la muestra de ensayo para inhibir el radical $ABTS^{o}$ se comparará con el estándar de trolox. $ABTS^{o+}$ este se generará mezclando ABTS 7 mM con la solución stock de persulfato potásico 122,5 mM el cual se incubó por un tiempo de 12 a 16 h en oscuridad y la temperatura del ambiente hasta que la reacción sea completada y la absorbancia sea estable. La absorbancia de la solución de trabajo del $ABTS^{o+}$ debe estar en equilibrio 0,70 (± 0,02). La inhibición del radical $ABTS^{o+}$ se logró mediante la decoloración de un color verde a amarillo, el cual se midió un espectrofotómetro UV/VIS a 734 nm. Para

obtener dicha reacción se usó 10 µL de cada muestra con 990 µL de la solución de trabajo (radical $ABTS^{o+}$), las lecturas se ejecutaron a 734 nm después de 10 min, los experimentos fueron realizaron por triplicado. La concentración del $ABTS^{o+}$ en la reacción se calculó mediante una curva de calibración de trolox a diferentes concentraciones en disolución de metanol al 80% el cual fue obtenida mediante regresión lineal, cuyos resultados fueron expresados en TEAC (actividad equivalente a trolox) y en µMTEAC/g de muestra.

3.5.6. Diseño experimental



1. $E1$: Extracto hidroalcohólico (70/30 v/v) $E2$: Extracto metanólico
2. $E3$: Extracto acuoso r_n:repeticiones (1,2 y 3)
3. **Variables independientes:** extracto de corteza seca y molida de mururé (E1, E2 Y E3)
4. **Variable dependiente:** Contenido de polifenoles totales, antocianinas, flavonoides y capacidad antioxidante ($DPPH^{o+}$ y $ABTS^{o+}$).

Figura 11. Diseño experimental para evaluar polifenoles totales, antocianinas, flavonoides y capacidad antioxidante ($DPPH^{o+}$ /$ABTS^{o+}$), en los extractos de corteza de mururé.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Tamizaje fitoquímico de la corteza de mururé

Mediante tamizaje fitoquímico se logró identificar semi cualitativamente los principales constituyentes químicos que posee la corteza de mururé, el cual se observa en la Tabla 2.

Tabla 2. Resultados del tamizaje fitoquímico de la corteza de mururé

Metabolitos	Ensayos	reacción
Compuestos fenólicos	reactivo cloruro férrico	++
	Dragendorff	++
Alcaloides	Hager	+++
	Warner	+++
	Reineckato de amonio	++
Flavonoides	coloración	++
Leucoantocianidinas	coloración	+++
Cardiotónicos	coloración	-
Saponina	prueba de espuma	-
Taninos	reactivo gelatina-sal	++
Triterpenos y/o esteroles	coloración	+++
Antocianinas	Coloración	-
Quinonas	Coloración	+
Cumarinas	Luz UV	+++

(-) ausente, (+) poco, (++) moderado, (+++) abundante

Los resultados obtenidos según la Tabla 2 sobre el tamizaje fitoquímico indica un contenido abundante en cumarinas, leucoantocianidinas, triterpenos y alcaloides (+++), un contenido moderado en taninos, flavonoides y compuestos fenólicos (++), poco contenido de quinonas (+) y ausente en el contenido de antocianinas cardiotónicos y saponinas (-) mientras que Yactayo (2021) en su estudio sobre tamizaje fitoquímico y evaluación

antioxidante de hojas y corteza de *Miconia barbeyana* (paliperro) encontró abundante cantidad de flavonoides y taninos en las hojas y en la corteza y presencia moderada de saponina, triterpenos y/o esteroides y antocianinas, observó regular cantidad de cumarinas en las hojas y corteza, las cuales son muy similares a excepción del contenido de alcaloides.

En el extracto de la corteza de mururé la presencia de alcaloides se encuentra en cantidad moderada (++), el cual comparada con la corteza de *Hippocratea excelsa* (Cancerina), ésta se encuentra en abundante cantidad (+++) (Montejano-Rodríguez et al., 2019), por lo que antiguamente la corteza de mururé era utilizada en la medicina oriental.

La presencia de taninos se considera favorable por tener propiedades astringentes, vasoconstrictoras y antiinflamatorias además de su acción antioxidante, cicatrizante y una de las posibles alternativas para el control de parásitos, sin embargo, existe pocos reportes de estudios científicos sobre plantas medicinales aplicado en humanos Armindo (2014), quien con su teoría de la importancia del estudio fitoquímico impulsa a investigar más sobre este tema.

En el estudio fitoquímico de la corteza de mururé se logró identificar la presencia de alcaloides (+++), flavonoides (++), Leucoantocianidinas (+++), taninos (++), triterpenos (+++) y cumarinas (+++) las cuales fueron similares a los obtenidos en la corteza de *Hippocratea excelsa* Kunth reportado por Montejano-Rodríguez et al. (2019) *y* al extracto de *Solanum nigrum* reportado por Armindo et al. (2014).

3.2. Resultados de la cuantificación de polifenoles totales

En la Tabla 3 y Figura 12 se presentan los resultados encontrados referidos a polifenoles totales en los tres tipos de extractos de corteza de mururé.

Tabla 3. Resultado de la cuantificación de polifenoles totales en extractos de corteza de mururé

Tratamientos	g EAG/100g muestra
Extracto hidroalcohólico	1,40 ± 0,01[a]
Extracto metanólico	0,79 ± 0,00[b]
Extracto acuoso	1,44 ±0 ,00[a]

Valores expresados son medias ± S.D. de tres mediciones paralelas. EAG: Equivalente de ácido gálico. Diferentes letras (a y b) indican diferencias significativas en los extractos ($p < 0,05$)

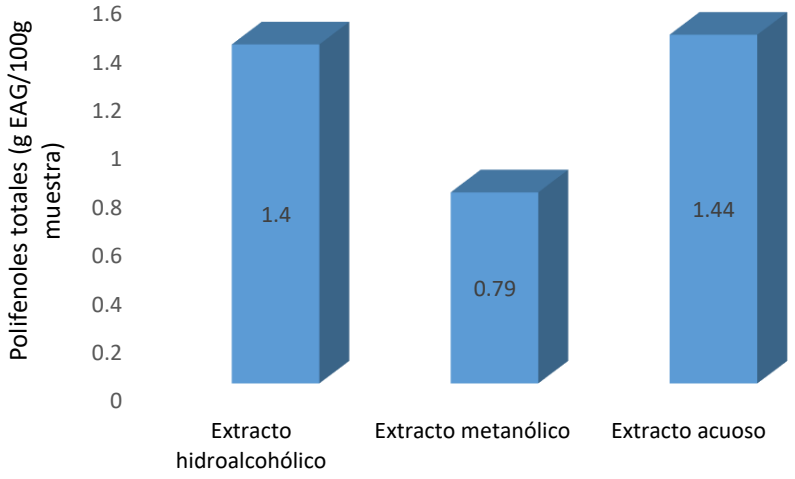


Figura 12. Contenido de polifenoles en los extractos de la corteza del mururé

El mayor grupo de sustancias no energéticas que se encuentran en los alimentos son los compuestos fenólicos y en su mayoría son de origen vegetal (Quiñones y Aleixandre, 2012) de allí, la importancia de su cuantificación. De acuerdo con los resultados obtenidos, existe diferencia estadísticamente significativa ($p<0,05$) (Anexo E), siendo en el extracto acuoso e hidroalcohólico valores más altos que en el metanólico la cual concuerda con varios estudios donde el etanol es un excelente disolvente para la recuperación de fenólicos, especialmente en combinación con agua, donde se crea un medio más polar que facilita el proceso de extracción, dando un mayor rendimiento (Oreopoulou et al., 2019).

Los polifenoles totales encontrados en los extractos de la corteza de *Brosimum acutifolium* Huber fueron 1,40 ± 0,01; 0,79 ± 0,00 y 1,44 ±0 ,00 (g EAG/100g) en los tres tipos de extractos: metanólico, hidroalcohólico y acuoso respectivamente, los cuales son similares a las cortezas de los árboles de Roble rojo (*Quercus rubra)*, Cerezo negro (*Prunus serótina)*, Roble pedunculado (*Quercus robur*) y carpintero europeo (*Carpinus betulus*),con valores de 1,734 ± 2,97; 1,15 5± 1,51; 1,058 ± 1,77 y 1,06 ± 3,6 (g EAG/100g) y mucho menores a las cortezas de fresno europeo (*Fraxinus excelsior*) y langosta negra (*Robinia pseudoacacia*) con valores de 5,306 ± 2,43 y 3,593 ± 2,43 g EAG/100g muestra (Charu et al., 2021).

3.3. Cuantificación de flavonoides totales

Los resultados respecto al contenido de flavonoides totales se encuentran en la Tabla 4 y en la Figura 13.

Tabla 4. Contenido de flavonoides totales en los extractos de corteza de mururé

Tratamientos	g EEC/100g muestra seca
Extracto hidroalcohólico	0,34 ± 0,01[a]
Extracto metanólico	0,18 ± 0,00[b]
Extracto acuoso	0,16 ± 0,00[b]

Valores expresados son medias ± S.D. de tres mediciones paralelas. EC: Extractos de Catequina. Diferentes letras (a, y b) indican diferencias significativas en los extractos ($p < 0,05$)

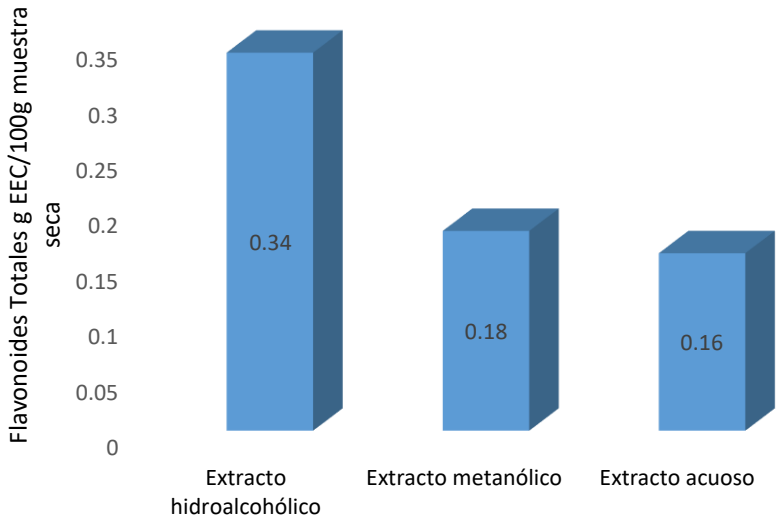


Figura 13. Contenido de flavonoides totales en los extractos de la corteza del mururé

Según el análisis estadístico se encuentra diferencia estadísticamente significativa ($p < 0,005$) (Anexo F), siendo el extracto hidroalcohólico el que contiene más flavonoides (0,34 ± 0,01 g EC/100 g) y el extracto acuoso el menor valor (0,16 ± 0,00 g EC/100 g).

Los flavonoides detectados en la corteza de mururé, según indica Martínez et al. (2012), podrían ser de mucho beneficio debido al efecto fitoestrogénico y por la capacidad antioxidante que influyen en el proceso de síntesis de eicosanoides, en la agregación plaquetaria y en la oxidación de lipoproteínas de baja densidad.

El contenido de flavonoides totales se determinó con una curva estándar de catequina obteniendo resultados que variaron de 0,16 ±0,00 a 0,34 ± 0,01g EC/100 g en los tres tipos de extractos, los cuales son mucho más altos que los encontrados en la corteza del Mu Dan Pi (*Paeonia suffruticosa*) las cuales variaron desde 0,45 a 1,49 mg g^{-1} evaluadas en distintas zonas geográficas de china (Shan-Shan et al., 2018).

3.4. Cuantificación de antocianinas totales

En las condiciones de análisis de la corteza del mureré, no se ha determinado la presencia de antocianinas, debido principalmente a que estos pigmentos naturales, son compuestos solubles en agua que producen coloraciones rosadas, rojas, moradas y azules en frutas, verduras y flores (Alappat y Alappat, 2020). Veinte antocianidinas se encuentran en las plantas; sin embargo, solo seis de ellos están presentes en casi todas las frutas y verduras (Blando et al., 2018), incluyendo cianidina, delfinidina, pelargonidina, peonidina, malvidina y petunidina, y su distribución es de aproximadamente 50, 12, 12, 12, 7 y 7 %, respectivamente (Khoo et al., 2017)

3.5. Capacidad antioxidante en los extractos de mururé

3.5.1. Inhibición del radical 1,1 Diphenyl - 2 - picryl - hydrazyl (DPPH $^{o+}$).

La capacidad antioxidante DPPH en los extractos de mururé se indican en la Tabla 5 y Figura 14.

Tabla 5. Capacidad de inhibir el radical (DPPH^{o+}) en los extractos de corteza de mururé

Tratamientos	(DPPH^{o+}) mMTEAC/100g muestra seca
Extracto hidroalcohólico	5,05±0,02^{a}
Extracto metanólico	3,55±0,02^{b}
Extracto acuoso	2,12±0,02^{c}

Valores expresados son medias ± S.D. de tres mediciones paralelas. TEAC: Equivalente a Trolox. Diferentes letras (a, b, c y d) indican diferencias significativas en los extractos ($p < 0,05$)

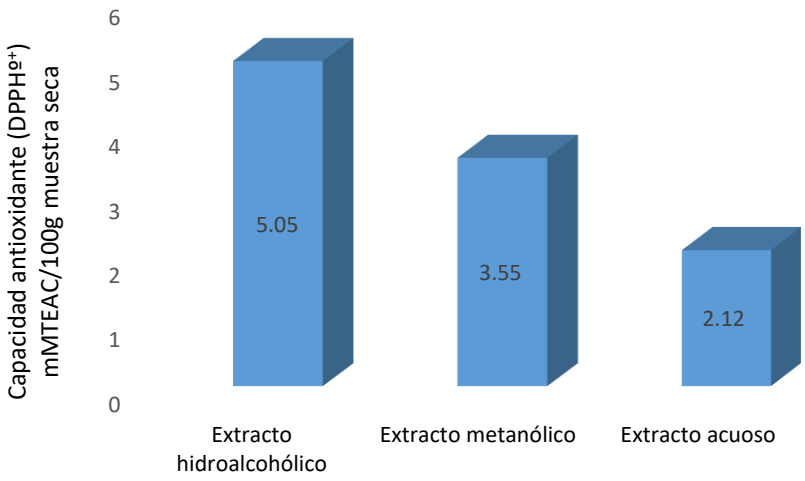


Figura 14. Capacidad antioxidante (DPPHº$^{+}$) en los extractos de corteza de mururé

La prueba DPPH$^{\circ+}$ se basa en la capacidad que posee este radical libre de volverse incoloro ante la presencia de extractos de plantas. Tiene un electrón impar que es el responsable de la absorbancia a 517 nm, que cambia a un color violeta visible. Cuando el DPPH$^{\circ+}$ acepta un electrón donado por algún compuesto del extracto, en otras palabras, un antioxidante, el DPPH$^{\circ+}$ se decolora, lo que se puede cuantificar con la disminución de la absorbancia (Kumar et al., 2011).

Los resultados obtenidos para el extracto hidroalcohólico fueron de 5,05±0,02 mMTEAC/100g, para el extracto metanólico 3,55±0,02 mMTEAC/ 100g y para el extracto acuoso 2,12±0,02 mMTEAC/100g, existiendo diferencia estadísticamente significativa ya que el valor p inferior a 0,05 (Anexo G). Los cuales comparados a los resultados en un estudio de quince plantas medicinales realizado por Tukun et al. (2014), obtuvieron valores de 0,14; 0,42; 0,41;0,19;1,13;1,34; 1,24;3,32, hasta 7,54 µMTEAC/g, los cuales son mucho más bajos a los de la corteza de mururé, el cual difiere de Santos et al. (2015), quienes en su estudio en extractos acuoso, hidroalcohólico y etanólico de *Tagetes erecta* L. *y Tagetes patul*a L. obtuvieron en los extractos acuoso, hidroalcohólico y etanólico valores de 7,96; 8,143 y 7,489 mMTEAC/g siendo mucho mayor a lo obtenido en corteza de mururé.

La capacidad antioxidante DPPH$^{\circ+}$ en los tres extractos de corteza variaron de 2,12±0,02; 3,55±0,02 y 5,05±0,02 mMTEAC/100g (5,306; 8,8852 y 12,639 mg TE/g), contando con una capacidad antioxidante baja en comparación con el extracto de corteza de *Z. guilletii* con 82,50 ± 0,79b mgTE/g *M. hurifolia* con 494,33 ± 0,80 mgTE/g y *S. tragacanta* con 491,31 ± 1, 94 mgTE/g (Nabeelah et al., 2019).

3.5.2. Inhibición del radical catión 2,2- azinobis (3 - etilbenzotiazoline-6 ácido sulfónico) (ABTS$^{\circ+}$)

En la Tabla 6 y Figura 15 se muestran la inhibición del radical ABTS$^{\circ+}$ para los tres tipos de extractos de la corteza de mururé.

Tabla 6. Capacidad para inhibir el radical ABTS^{o+} en los extractos de corteza de mururé

Tratamientos	**(**ABTS^{o+}) **mMTEAC/100g**
Extracto hidroalcohólico	10,01±0,13^{a}
Extracto metanólico	5,70±0,03^{b}
Extracto acuoso	7,84±0,08^{c}

Valores expresados son medias ± S.D. de tres mediciones paralelas. TEAC: Equivalente a Trolox. Diferentes letras (a, b, c y d) indican diferencias significativas en los extractos ($p < 0,05$)

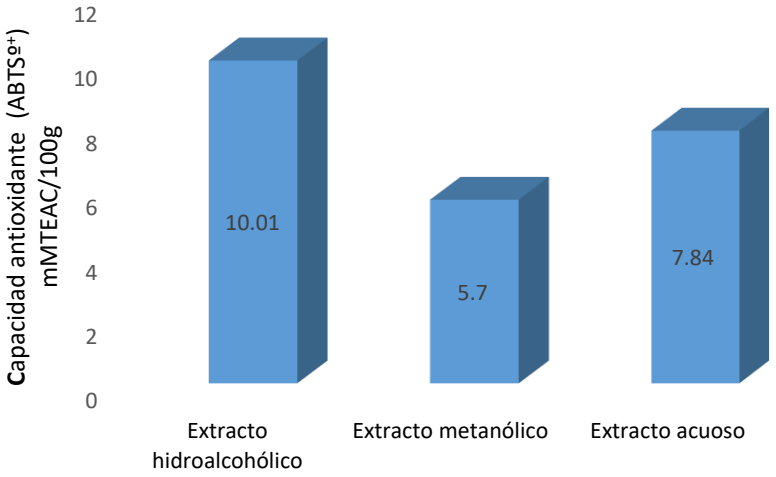


Figura 15. Capacidad antioxidante (ABTS^{o+}) en los extractos de corteza de mururé

El método ABTS^{o+} es excelente para reconocer la actividad antioxidante, presenta una absorbancia máxima a 730 nm, disminuyendo con la captura de los radicales de protones. Este método ha sido utilizado recientemente para determinar las propiedades antioxidantes. en varios extractos de plantas (Kumar et al., 2011).

Según el análisis estadístico se reportó diferencia estadística entre los extractos (Anexo H) siendo el extracto hidroalcohólico el más elevado con 10,01±0,13 mMTEAC/100g, el extracto acuoso con 7,84±0,08 mMTEAC/100g y el más bajo fue en el extracto metanólico con 5,70±0,03mMTEAC/100g.

La capacidad antioxidante ABTS^{o+} de los extractos de corteza de mururé fueron de 10,01±0,13; 5,70±0,03 y 7,84±0,08 mMTEAC/100g (25,0540; 14,2665 a 19,6227 mg TE/g) siendo mucho mayores en comparación con el extracto etanólico y acuoso de la corteza de K*haya senegalensis* A. Juss con valores de 3±0,05 y 3,01±0,02 63 mg TE/g. (Marius et al. (2016) y mucho menores a los resultados obtenidos en las cortezas de *Carapa procera* con 500 µmol Trolox / g (125,145 mgTE/g) (Seck et al., 2021).

Kumar et al. (2011) indica que la cuantificación con ABTS^{o+} es inducida por interacciones con hidrógeno o especies donantes de electrones, no distingue entre extractos que contienen buenos compuestos antioxidantes. Comparando los resultados con los radicales DPPH^{o+} y ABTS^{o+} se observó diferencia, la actividad antioxidante de ABTS^{o} fue mayor que la del radical DDPH^{o}.

IV. CONCLUSIONES

- El análisis fitoquímico en la corteza de mururé (*Brosimum acutifolium*) determinó un contenido abundante en cumarinas, leucoantocianidinas, triterpenos y alcaloides (+++), un contenido moderado en, taninos, flavonoides y compuestos fenólicos (++), poco contenido de quinonas (+) y ausente en antocianinas cardiotónicos y saponinas (-).
- La cantidad de polifenoles totales que se encuentran presente en los extractos hidroalcohólico, metanólico y acuoso de la corteza de mururé fue: 1,40 ± 0,01; 0,79 ± 0,00 y 1,44 ±0 ,00 (g EAG/100g muestra) respectivamente, flavonoides 0,34 ± 0,01; 0,18 ± 0,00 y 0,16 ± 0,00 (g EC/100 g muestra) respectivamente, no se encontró antocianinas.
- Las capacidades antioxidantes de los extractos hidroalcohólico, metanólico y acuoso de la corteza de mururé, frente al radical $DPPH^{o+}$ fueron de 5,05±0,02; 3,55±0,02 y 2,12±0,02 (mMTEAC/100g) respectivamente, mientras que en función al radical $ABTS^{o+}$ los resultados fueron 10,01±0,13; 5,70±0,03 y 7,84±0,08 (mMTEAC/100g) respectivamente.

V. PROPUESTA A FUTURO

- Realizar pequeños cortes de 20x20 cm en la toma de las muestras de corteza para evitar que el árbol de *Brosimum acutifolium* Huber sufra daños y así preservar la vegetación.
- Realizar un estudio para determinar qué tipo de alcaloides contiene la corteza de *Brosimum acutifolium* Huber para poder hacer un uso adecuado de esta corteza en la medicina.
- Realizar estudios toxicológicos para determinar el posible uso en el ser humano.
- Evaluar la actividad antioxidante en muestra fresca de mururé a fin de compararla con los resultados obtenidos en muestra seca en la presente investigación.
- Realizar análisis de compuestos bioactivos para *Brosimum acutifolium* Huber en diferentes zonas geográficas.
- Efectuar estudios in vivo para poder determinar la respuesta frente a la capacidad funcional del extracto de *Brosimum acutifolium* Huber.

VI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alappat, B., & Alappat, J. (2020). Anthocyanin Pigments: Beyond Aesthetics. Molecules, 25(23), article 5500. 10.3390/molecules25235500.

Álvarez, J., Pastoriza, S., Alonso-Olalla, R., Delgado-Andrade, C., Rufián-Henares, J. A. (2014). Nutritional and physicochemical characteristic of commercial Spanish citrus juices. *Food Chemistry*, 164, 396–405.

Armindo (2014). Tamizaje fitoquímico de extractos metanólicos de *Tephrosia vogelii* Hook, *Chenopodium ambrosoides, Cajanus caja*n y *Solanum nigrum* L. de la provincia de Huambo, Angola. *Rev Salud Anim.* 36(3). http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0253-570X2014000300005

Avello, M, y Valdivia, R. (2009). Extractos antioxidantes y antimicrobianos de *Aristotelia chilensis* y *Ugnimo linae* y sus aplicaciones como preservante en productos cosméticos, Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas, *BLACPMA* 8(6), 479-486.

Blando, F., Calabriso, N., Berland, H., Maiorano, G., Gerardi, C., Carluccio, M., & Andersen, (2018). Radical scavenging and anti-inflammatory activities of representative anthocyanin groupings from pigment-rich fruits and vegetables. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(1), article 169. 10.3390/ijms19010169.

Bribi, N. (2018). Pharmacological activity of Alkaloids: A Review. DOI:10.63019/ajb.v1i2.467

Bursal, E., Aras, A., Kılıç, O., Taslimi, P, Gören, C., Gulçin, İ. (2019). Phytochemical content, antioxidant activity and enzyme inhibition efect of Salvia eriophora Boiss. y Kotschy against acetylcholinesterase, α-amylase, butyrylcholinesterase and α-glycosidase enzymes. *J Food Biochem* 43(3). DOI: 10.1016/j.bcab.2020.101711

Calle, J., Benavent, G y Rosell, C. (2021). Use of flour from cormels of *Xanthosoma sagittifolium* (L.) Schott and *Colocasia esculenta* (L.) Schott to develop pastes foods: Physico-chemical, 51 functional and nutritional characterization. *Food Chemistry*, 344, 128-666. DOI: 10.1016/j.foodchem.2020.128666.

Coronado, H., Salvador, V., Gutiérrez, R., Vázquez, F., Radilla, V. (2015). Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Revista chilena de nutrición, 42*(2),206-212.

Cocks, M. (2000). *Histología vegetal básica.* Ed. 1980. Madrid, España, editorial Hermann Blume. 128 p.

Chang, H., Garcia, L., Rosabal, C., Espinosa, R., Ramos, E., Remon, L. (s/f). Antibacteriana in vitro de los extractos de hojas y tallos de S*olanum nigrum* L. que crece en Cuba. *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*, 44(4), 30-35.

Charu Agarwal, Tamás Hofmann, Eszter Visi-Rajczi, Zoltán Pásztory, Low-frequency, (2021). green sonoextraction of antioxidants from tree barks of Hungarian woodlands for potential food applications,n. *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification*, 159,108-221. 1,https://doi.org/10.1016/j.cep.2020.108221.

Doroteo, V., Díaz, C.., Terry, C.., Rojas, R. (2013). Compuestos fenólicos y actividad antioxidante in vitro de 6 plantas peruanas. *Revista de la sociedad química del Perú*, 79(1),13-20.

Durán, M., Montero, P., Marrugo, Y. (2013). Extractos metanólicos de corteza de guayaba (*Psidium guajava* L.) y mango (*Mangifera indica* L.): efecto citotóxico, anti hemolítico y en la morfología de membrana de eritrocitos. Revista U.D.C.A *Actualidad y divulgación científic*a, 16(2), 327-334.

Erdman, J. W., Jr., D. Balentine, L. Arab, G. Beecher, J. T. Dwyer, J. Folts, J. Harnly, et al. (2007). Flavonoids and heart health: proceedings of the ILSI North America Flavonoids Workshop, May 31-June 1, 2005, Washington, DC. *Journal of Nutrition* 137 (3 Suppl 1):718s-737s. https://doi.org/10.1093/jn/137.3.718S.

Fernández, F. (2012). *Byrsonimacrassifolia* (l.) *H.B.K: estudio fitoquímico y farmacológico*. (Tesis doctorado en farmacología, Universidad Complutense de Madrid). https://eprints.ucm.es/id/eprint/15173/1/T33739.pdf

Ferrari Morena, V. P., Ibáñez, F., Cabrera, D., & Pintado, B. (2019). Compuestos bioactivos y capacidad antioxidante en frutos nativos del Uruguay. *INNOTEC*, 64–75. https://doi.org/10.26461/19.02

Flores-Morales, V., Castañeda, H. O., Montiel, S. T., Hernández D. G. (2014). Análisis fitoquímico preliminar del extracto hexánico de hojas de *Hemiphylacus novogalicianus*, una especie endémica de México. *Investigación y Ciencia*, 22 (63), 18-23.

Grosso, G., Micek, A., Godos, J., Pajak, A., Sciacca, S., Galvano, F., Giovannucci, E. (2017). Dietary flavonoid and lignan intake and mortality in prospective cohort studies: Systematic review and dose-response meta-analysis. *American Journal of Epidemiology*:1-13. https://doi.org/10.1093/aje/kww207.

Gulcin, I. (2020). Antioxidantes y métodos antioxidantes: una visión general actualizada. *Archivos de Toxicología*, 94, 651–715. doi:10.1007/s00204-020-02689-3.

Huber, J. (1867). Mururé. [en línea]: Amazonia, guía ilustrada de flora y fauna (http://amazonia.iiap.org.pe/especies/ver/512, documentos, 1867).

Jurado, T., Aparcana, A., Villarreal, I., Ramos, L., Calixto, M., Hurtado, M., Acosta, A. (2015). Evaluación del contenido de polifenoles totales y la capacidad antioxidante de los extractos etanólitos de los frutos de aguaymanto (*Physalis peruviana* L.) de diferentes lugares del Perú. *Rev. Soc. Química Perú*. 82(3),272-279.

Khoo, H. E., Azlan, A., Tang, S. T., & Lim, S. M. (2017). Anthocyanidins and anthocyanins: Colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food & Nutrition Research*, 61(1), 1361779. https://doi. org/10.1080/16546628.2017.1361779

Kumar, M., Kumar, S., Kaur, S. (2011). Investigations on DNA protective and antioxidant potential of chloroform and ethyl acetate fractions of *Koelreuteria paniculate. Laxm.* 5(3), 421-427.

Lock, O. (1994). *Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales*. (2ª ed) Perú: Pontificia Universidad Católica del Perú; Fondo Editorial. https://www.fondoeditorial.pucp.edu.pe/429-investigacion-fitoquimica.html

Lozano, C.J., Barrios, M.A., Pedrosa, A.A. (1997). Radicales libres y antioxidantes, realidades y perspectivas. *Revista archivo médico de Camagüey*, 1(2),1-7

Martínez, A.Y., Martínez, Y.O., Escalona, A.A., Soto R.F., Valdivié, N.M. (2012). Chemical composition and phytochemical screening of leaf and shoot powder of Anacardium occidentale L. (cashew tree). *Rev Cubana Plant Med*. 17(1),1-10.

Mass, H., Campanera, M. (2011). *Árboles medicinales. Conocimientos y usos en la cuenca baja del río Marañón zona de amortiguamiento de la Reserva Nacional Pacaya Samiria*. Programa de Cooperación Hispano Peruano - Proyecto Araucaria XXI Nauta. Iquitos. https://sinia.minam.gob.pe/download/file/fid/39748.

Marius, L., Traore, R., Ouedraogo, N., Kini, F., Tibiri, A., Duez, P., Guissou, I.P. (2016). In vitro antioxidant activity and phenolic contents of different fractions of ethanolic extract from Khaya senegalensis A. Juss. (Meliaceae) stem barks. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* 10 (23), 501–507.

Mensor, L.L., Menezes, F.S., Leitão, G.G., Reis, A.S., Santos, T.C., Coube, C.S., Leitão, S.G. (2001). Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytotherapy Research*, 15(2), 127–130.

Mercado-Mercado, G., Carrillo, R., Wall, A., López, A y Álvarez, E. (2013). Compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante de especias típicas consumidas en México. *Nutrición Hospitalaria, 28(1),* 36-46. https://dx.doi.org/10.3305/nh.2013.28.1.6298

Miller N.J., Diplock A.T., Rice-Evans C., Davies M.J., Gopinathan V., Milner A (1993). Un método novedoso para medir la capacidad antioxidante y su aplicación para monitorizar el estado antioxidante en neonatos prematuros. *Clin. Sci.* 1993, 84:407–412. doi: 10.1042/cs0840407

Montejano-Rodríguez, J. R., Almaguer-Vargas, G., Pacheco-Miramontes, D. F., Rivera-Cabrera, P., Becerril-Flores, M. A., Imbert-Palafox, J. L., … Ruiz-Anaya, M. E. (2019). Tamizaje fitoquímico preliminar y actividad Antimicrobiana in vitro del extracto etanólico de la corteza de Hippocratea excelsa Kunth (Cancerina). Educación y Salud *Boletín Científico Instituto de Ciencias de La Salud Universidad Autónoma Del Estado de Hidalgo,* 8(15):41–47.

Munteanu, I. G., Apetrei, C. (2021). Métodos analíticos utilizados para determinar la actividad antioxidante: una revisión. *Revista internacional de ciencias moleculares*, *22*(7), 3380. https://doi.org/10.3390/ijms22073380.

Nabeelah Bibi Sadeer, Eulogio José Llorent-Martínez, Kouadio Bene, Mohamad Fawzi Mahomoodally, Adriano Mollica, Kouadio Ibrahime Sinan, Azzurra Stefanucci, Alba Ruiz-Riaguas, María Luisa Fernández-de Córdova, Gokhan Zengin (2019). Chemical profiling, antioxidant, enzyme inhibitory and molecular modelling studies on the leaves and stem bark extracts of three African medicinal plants, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 174,19-33. https://doi.org/10.1016/j.jpba.2019.05.041.

Ortiz, F.H., Sanchez, W.F., Mendez, J.A., Murillo E.P. (2009). Potencial antioxidante de hojas y corteza de *Bahuinia kalbreyeri* Harms: contribución de sus flavonoides en esta actividad. *Rev. Acad. Colomb. Cienc.* 33(127), 183-191.

Oreopoulou, A., Tsimogiannis D., Oreopoulou, V. (2019). Extraction of Polyphenols from Aromatic and Medicinal Plants: An Overview of the Methods and the Effect of Extraction Parameters. In book: Polyphenols in Plants (pp.243-259), DOI:10.1016/B978-0-12-813768-0.00025-6

Petillo, D., Hultin, O. (2008). Ubiquinone-10 as an antioxidant. *Journal of Food Biochemistry*., 32, 173-181.

Peñarrieta, M., Vila, José., Mollinedo, P., Tejeda, L., 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=426339682006

Pisoschi, AM, Pop A, Cimpeanu C, Predoi G. (2016). Determinación de la capacidad antioxidante en plantas y productos derivados de plantas: una revisión. *Oxid Med Cell Longev* doi: 10.1155/2016/9130976.

Quinones, M., Miguel, M., Aleixandre, A. (2012). Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutr Hosp.* 2012;27(1):76-89, https://scielo.isciii.es/pdf/nh/v27n1/09_revision_08.pdf

Rodés, R.S., Peña F.D., Hermosilla, E.R. (2015). Tamizaje fitoquímico de extractos y tinturas al 20 % de la raíz y corteza de *Dichrostachys cinerea* L. (Marabú). *Revista cubana de plantas medicinales*, 20(2), 156-166.

Santos, P. C., Santos, V. H. M., Mecina, G. F., Andrade, A. R., Fegueiredo, P. A., Moraes, V. M. O., Silva, R. M. G. (2015). Phytotoxicity of *Tagetes erecta* L. and *Tagetes patula* L. on plant germination and growth. *South African Journal of Botany*, 100, 114–121. doi:10.1016/j.sajb.2015.05.013

Seck, A. Hosu, C. Cimpoiu, S.F. Ndoye, L.A. Ba, C. Sall, M. (2021). Seck, Phytochemicals content, screening and antioxidant/pro-oxidant activities of Carapa procera (barks) (Meliaceae), *South African Journal of Botany*. 137, 369-376. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.11.019.

Symonowicz, M., Sykula-Zajac, A., Lodyga-Chruścińska, E., Rumora, I., Straukas, M. (2012). Evaluation of polyphenols and anthocyanins contents in black chockeberry - *Photiniamelanocarpa* (Michx.) fruits extract. *Acta Pol Pharm*, 69(3), 381-387

Shan-Shan, L., Qian, Wu., Dan-Dan Y., Cheng-Yong, F., Zheng-An, L., Liang-Sheng, W. (2018). Phytochemical variation among the traditional Chinese medicine Mu Dan Pi from *Paeonia suffruticosa* (tree peony). Revista *Phytochemistry* ,146,16-24, https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2017.11.008.

Srivastava, A., Srivastava, P., Pandey, A., Khanna, V.K., Pant, A.B. (2019). Phytomedicine: a potential alternative medicine in controlling neurological disorders. *Rev. to Phytomedicine. Academic Press*, pp. 625–655.

Shahidi, F., Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: antioxidant activity and health efects—a review. *J Funct Foods* 18,820–897

Shivakumar, A., Kumar, MSY. (2018). Critical review on the analytical mechanistic steps in the evaluation of antioxidant activity. *Crit Rev Anal Chem* 48,214–236

Singh, S., Singh, D.B., Singh, S., Shukla, R., Ramteke, P.W., Misra, K. (2019). Exploring medicinal plant legacy for drug discovery in post-genomic era. *Proc. Natl. Acad. Sci*., India Section B 89, 1141–1151

Skalicka-Wozniaka, K., Erdogan, I., Cordell, GA., Nabavi, SM., Budzynska, B (2016) Implication of coumarins towards central nervous system disorders. *Pharmacol Res* 103,188–203

Tukun, A. B., Shaheen, N., Banu, C. P., Mohiduzzaman, M., Islam, S., Begum, M. (2014). Antioxidant capacity and total phenolic contents in hydrophilic extracts of selected Bangladeshi medicinal plants. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 7, S568–S573. doi:10.1016/s1995-7645(14)60291-1

Wu, Q., Zhou, J. (2021). The application of polyphenols in food preservation. Advances in *Food and Nutrition Research*. doi:10.1016/bs.afnr.2021.02.005

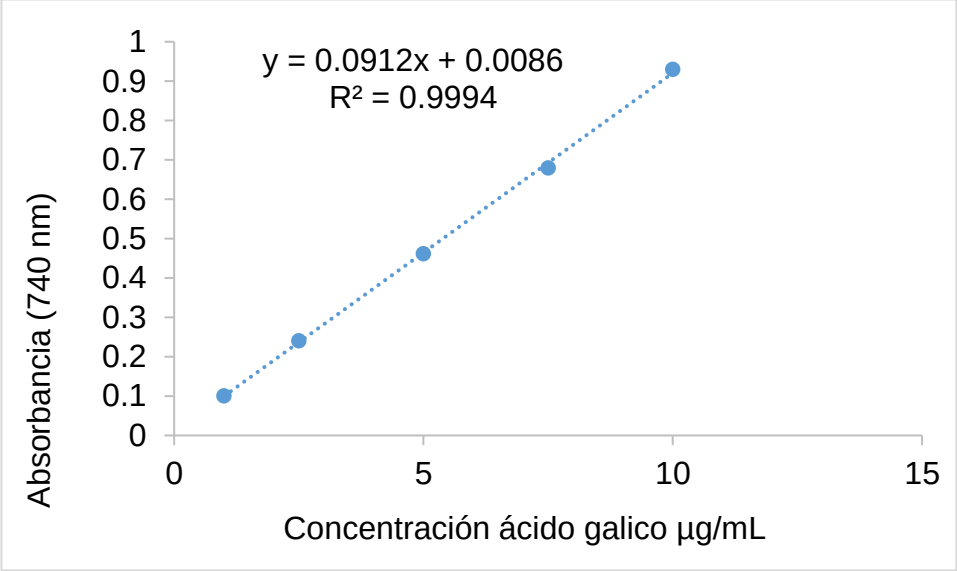
Yactayo, V. (2021*). Tamizaje fitoquímico y evaluación antioxidante del extracto acuoso a diferentes temperaturas de hojas y corteza de Miconia barbeyana (paliperro).* [Tesis Ingeniero forestal, Universidad Nacional Agraria de la Selva, Tingo María.Perú].

Zapata, L.M., Heredia, A.M., Quinteros, C.F., Malleret, A.D., Clemente, G., Y., Cárcel, J.A. (2014). Optimización de la extracción de antocianinas de arándanos. *Ciencia, docencia y tecnología*, 49, 166-192.

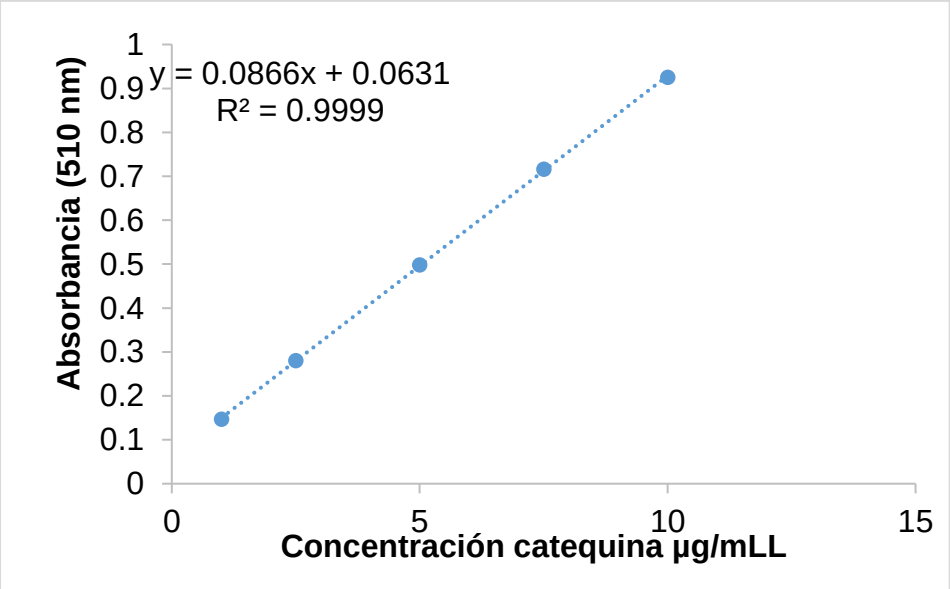
Zhang, J., Onakpoya, I.J., Posadzki, P., Eddouks, M. (2015). The safety of herbal medicine: from prejudice to evidence. Evidence Based Complement. *Alternat. Med*. 2015, 1– 10

ANEXOS

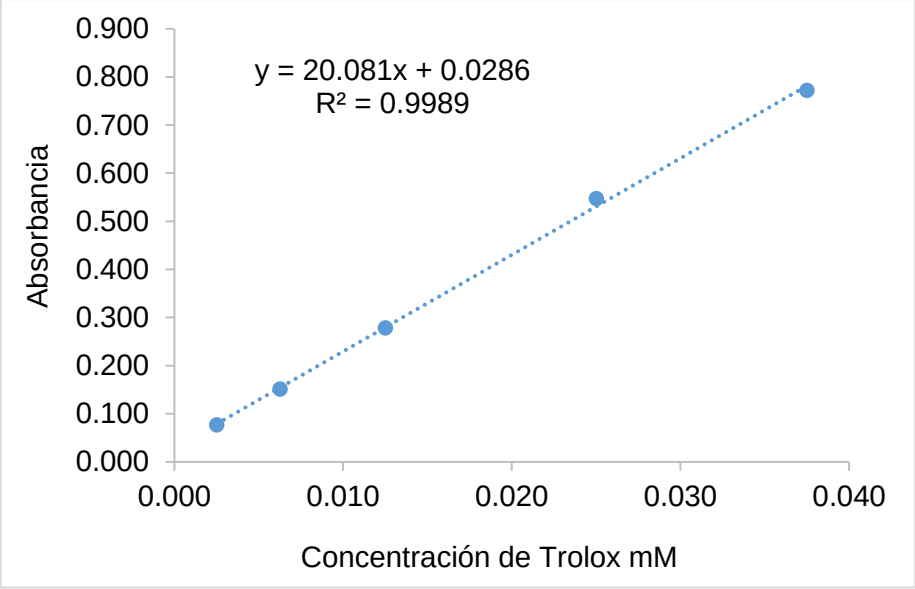
Anexo A. Comportamiento de la curva estándar de ácido gálico para la cuantificación de polifenoles totales



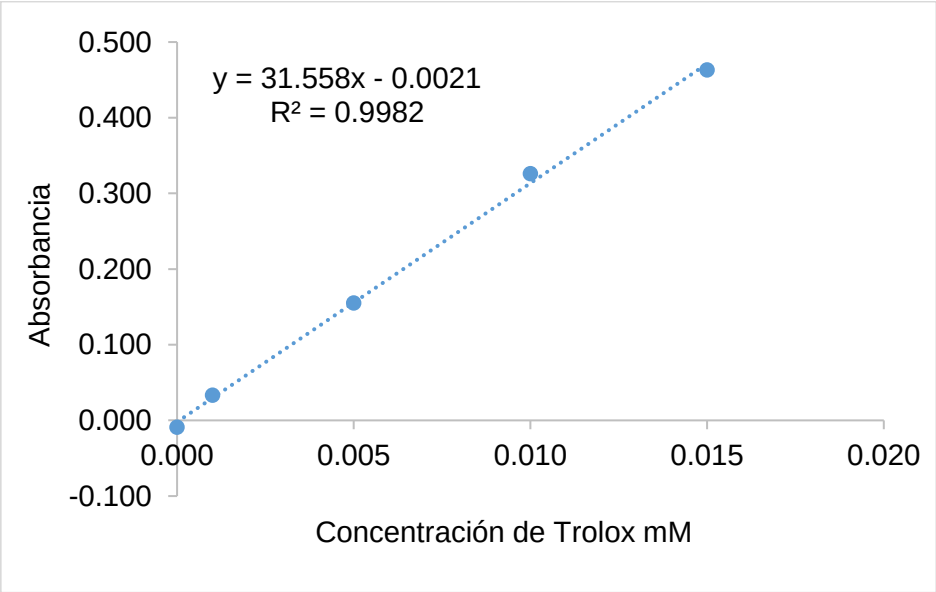
Anexo B. Comportamiento de la curva estándar de ácido gálico para la cuantificación de flavonoides totales



Anexo C. Comportamiento de la curva estándar del Trolox para la inhibición del radical DPPH.



Anexo D. Comportamiento de la curva estándar del Trolox para la inhibición del radical ABTS.



Anexo E. Análisis de varianza de contenido de polifenoles totales en los extractos de corteza de mururé.

Fuente	**G.L.**	**S.C.**	**C.M.**	**Razón-F**	**Valor-P**
Tratamientos	2	0,81	0,40	9533,90	0,0000
Error experimental	6	0,00	0,00		
Total	**8**	**0.81**			

Anexo F. Análisis de varianza de contenido de flavonoides totales en los extractos de corteza de mururé.

Fuente	**G.L.**	**S.C.**	**C.M.**	**Razón-F**	**Valor-P**
Tratamientos	2	0,062			
Error experimental	6	0,000	0,000		
Total	**8**	**0.062**			

Anexo G. Análisis de varianza inhibición del radical DPPH en los extractos de corteza de mururé.

Fuente	**G.L.**	**S.C.**	**C.M.**	**Razón-F**	**Valor-P**
Tratamientos	2	12,87	6,43	19011,83	0,0000
Error experimental	6	0,00	0,00		
Total	**8**	**12.87**			

Anexo H. Análisis de varianza inhibición del radical ABTS en los extractos de corteza de mururé.

Fuente	**G.L.**	**S.C.**	**C.M.**	**Razón-F**	**Valor-P**
Tratamientos	2	27,72	13,8611	1230,09	0,0000
Error experimental	6	0,07	0,0112684		
Total	**8**	**27,79**			

Anexo I. Galería de fotografías

Arbol de *brosinum acotifolium* H.