



UNAP



**FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**

TESIS

**ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE FENOLES TOTALES DE
LA HOJA Y LÁTEX DE *Brosimum alicastrum* Sw. (MORACEAE)
PROCEDENTE DEL DISTRITO DE SACANCHE, SAN MARTÍN - 2022**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
BIÓLOGO**

PRESENTADO POR:

SIRIA ROSINA PORTALANZA ROJAS

ASESORES:

Blgo. JHON DEL AGUILA PASQUEL, M.Sc.

Ing. GABRIEL EMILIO VARGAS ARANA, Dr.

IQUITOS, PERÚ

2024

ACTA DE SUSTENTACIÓN



UNAP

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
ESCUELA PROFESIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS N° 009-CGT-UNAP-2024

En la ciudad de Iquitos, Departamento de Loreto, mediante sala presencial, a los 03 días del mes de mayo del 2024, a las 17.00 horas se dio inicio a la sustentación pública de la tesis titulada: "ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y CONTENIDO DE FENOLES TOTALES DE LA HOJA Y LATEX DE *Brosimum alicastrum* Sw. (MORACEAE) PROCEDENTE DEL DISTRITO DE SACANCHE, SAN MARTIN - 2022", presentado por la bachiller SIRIA ROSINA PORTALANZA ROJAS, autorizada mediante RESOLUCIÓN DECANAL N° 252-2024-FCB-UNAP, para optar el Título Profesional de BIÓLOGA, que otorga la UNAP de acuerdo a Ley 30220, su Estatuto y el Reglamento de Grados y Títulos vigente.

El Jurado Calificador y dictaminador designado mediante RESOLUCIÓN DECANAL N°016-2024-FCB-UNAP, de fecha 04 de enero de 2024, integrado por los siguientes Profesionales:

- Blgo. JORGE LUIS MARAPARA DEL ÁGUILA, Dr. - Presidente
- Blga. ADRIANA DEL PILAR BURGA CABRERA, Dra. - Miembro
- Blgo. RICHARD JAVIER HUARANCA ACOSTUPA, M.Sc. - Miembro



Luego de haber escuchado con atención y formulado las preguntas, las cuales fueron absueltas:

SATISFACTORIAENTE

El Jurado después de las deliberaciones correspondientes, llegó a las siguientes conclusiones:

La sustentación pública y la Tesis han sido APROBADA con la calificación de BUENA estando la Bachiller apta para obtener el Título Profesional de BIÓLOGA.



Siendo las 19.20 horas se dio por terminado el acto de sustentación.

Blgo. JORGE LUIS MARAPARA DEL ÁGUILA, Dr.
Presidente

Blga. ADRIANA DEL PILAR BURGA CABRERA, Dra.
Miembro

Blgo. RICHARD JAVIER HUARANCA ACOSTUPA, M.Sc.
Miembro

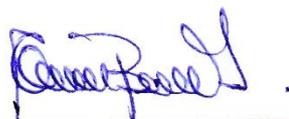
Blgo. JHON DEL AGUILA PASQUEL M.Sc.
Asesor

Ing. GABRIEL EMILIO VARGAS ARANA, Dr.
Asesor

JURADO CALIFICADOR Y DICTAMINADOR



Blgo. JORGE LUIS MARAPARA DEL ÁGUILA Dr.
Presidente



Blga. ADRIANA DEL PILAR BURGA CABRERA Dra.
Miembro



Blgo. RICHARD JAVIER HUARANCA ACOSTUPA M.Sc.
Miembro

ASESORES

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'Jhon Del Aguila Pasquel', written in a cursive style.

Blgo. JHON DEL AGUILA PASQUEL M.Sc.

A handwritten signature in blue ink, appearing to be 'Gabriel Emilio Vargas Arana', written in a cursive style.

Ing. GABRIEL EMILIO VARGAS ARANA Dr.

RESULTADO DEL INFORME DE SIMILITUD

Reporte de similitud

NOMBRE DEL TRABAJO

FCB_TESIS_PORTALANZA ROJAS.pdf

AUTOR

SIRIA ROSINA PORTALANZA ROJAS

RECuento de palabras

7423 Words

Recuento de caracteres

39161 Characters

Recuento de páginas

37 Pages

Tamaño del archivo

784.1KB

Fecha de entrega

Sep 1, 2024 9:34 PM GMT-5

Fecha del informe

Sep 1, 2024 9:34 PM GMT-5

● 19% de similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base de datos.

- 15% Base de datos de Internet
- Base de datos de Crossref
- 13% Base de datos de trabajos entregados
- 6% Base de datos de publicaciones
- Base de datos de contenido publicado de Crossref

● Excluir del Reporte de Similitud

- Material bibliográfico
- Coincidencia baja (menos de 10 palabras)

Resumen

DEDICATORIA

A mis padres Rosa Rojas Riva y Anthony Portalanza López por el apoyo que me han brindado desde el inicio de mi carrera y en todo el proceso para la realización de este trabajo de tesis.

AGRADECIMIENTO

- La tesis fue financiada por “CONCYTEC/FONDECYT”, LA EMBAJADA BRITÁNICA, NERC y EL FONDO NEWTON bajo contrato N° 001-2019 FONDECYT correspondiente al proyecto “ÁRBOLES: Comprensión basada en los rasgos funcionales de la biodiversidad y la resiliencia de los bosques latinoamericanos”.
- Agradecimiento al Programa Nacional de Investigación Científica y Estudios Avanzados (PROCIENCIA) del Consejo Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación Tecnológica (CONCYTEC) y al Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana (IIAP), por el financiamiento recibido mediante el proyecto “Generación de alternativas alimenticias y económicas con productos forestales no maderables en rodales naturales de *Brosimum alicastrum* en bosques secos premontano tropical de la región San Martín”, con número de Contrato N° PE501079656-2022-PROCIENCIA.
- A mis asesores, el Blgo. Jhon Del Águila Pasquel, M.Sc. y al Ing. Gabriel Emilio Vargas Arana, Dr., por ser partícipes en la realización de mi trabajo de tesis, por los consejos, sugerencias, tiempo y dedicación en todo el proceso hasta la culminación de la tesis.
- A la Ing. Claudia Merino Zegarra e Ing. Gober Maytahuari por brindarme asesoramiento y orientación durante el periodo de trabajo en laboratorio.
- A los ingenieros María Elena Rojas, Jimmy Córdova, Ana Siles, Blgo. Gabriel Hidalgo, Luis Torres y Marcos Ríos por los consejos e impulsarme incansablemente a seguir adelante.

- A todas las personas que de una y otra forma apoyaron, haciendo posible que éste trabajo culminara.
- A la Blga. Nallarett Marina Dávila Cardozo, que en paz descansa, por brindarme su apoyo incondicional desde el inicio de las tesis, por la paciencia y ser uno de los motivos principales por el que este trabajo se pudo realizar.

ÍNDICE

PORTADA	i
ACTA DE SUSTENTACIÓN	ii
JURADO CALIFICADOR Y DICTAMINADOR	iii
ASESORES	iv
RESULTADO DEL INFORME DE SIMILITUD	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTO	vii
ÍNDICE DE TABLAS	x
ÍNDICE DE FIGURAS	x
ÍNDICE DE ANEXOS	xi
RESUMEN	xii
RESUMEN	xiii
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I. MARCO TEÓRICO	5
1.1. Antecedentes	5
1.2. Bases teóricas	9
2.1. Definición de términos básicos	17
CAPÍTULO II. HIPÓTESIS Y VARIABLES	19
2.1. Formulación de la hipótesis	19
2.1.1. Hipótesis	19
2.2. Variables y su operacionalización	19
CAPÍTULO III. METODOLOGÍA	20
3.1. Tipo y diseño	20
3.2. Diseño muestral	20
3.3. Procedimiento de recolección de datos	20
3.4. Procesamiento y análisis de datos	27
CAPÍTULO IV. RESULTADOS	31
CAPÍTULO V. DISCUSIÓN	31
CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES	34
CAPÍTULO VII. RECOMENDACIONES	35
CAPÍTULO VIII. FUENTES DE INFORMACIÓN	36
ANEXOS	48

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla N° 01. Formato de codificación de muestras	22
--	----

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura N° 01. Mecanismo de reacción del reactivo Folin-Ciocalteu	15
Figura N° 02. Mecanismo de reacción del DPPH con antioxidantes	16
Figura N° 03. Mecanismo de reacción del ABTS con antioxidantes	17
Figura N° 04. Esquema del trabajo metodológico	21
Figura N° 05. Actividad antioxidante por el método DPPH en hoja y látex de <i>Brosimum alicastrum</i>	28
Figura N° 06. Actividad antioxidante por el método ABTS en hoja y látex de <i>Brosimum alicastrum</i>	29
Figura N° 07. Contenido de fenoles totales por el método Folin-Ciocalteu en hoja y látex de <i>Brosimum alicastrum</i>	29
Figura N° 08. Correlación entre la actividad antioxidante y el contenido de fenoles totales de las muestras de hojas y látex de <i>Brosimum alicastrum</i> utilizando el método DPPH (a) y ABTS (b)	30
Figura N° 09. Curva de calibración de regresión lineal del método DPPH	49
Figura N° 10. Curva de calibración de regresión lineal del método ABTS	50
Figura N° 11. Curva de calibración de regresión lineal del método Folin-Ciocalteu	51
Figura N° 12. Muestra SPR 01	52
Figura N° 14. Muestra SPR 03	52
Figura N° 15. Hojas seleccionadas de la muestra SPR 01	53
Figura N° 16. Hojas seleccionadas de la muestra SPR 02	53
Figura N° 17. Hojas seleccionadas de la muestra SPR 03	53

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo N° 01. Mapa de los puntos de muestreo	48
Anexo N° 02. Curva de calibración con el método DPPH y antioxidante Trolox	49
Anexo N° 03. Curva de calibración con el método ABTS y antioxidante Trolox	50
Anexo N° 04. Curva de calibración con el método Folin-Ciocalteu y ácido gálico	51
Anexo N° 05. Fotos de individuos colectados	52
Anexo N° 06. Selección de hojas en campo	53
Anexo N° 07. Selección de área del tronco para la colecta de látex	54
Anexo N° 08. Colecta de látex de <i>Brosimum alicastrum</i>	54
Anexo N° 09. Procedimiento de preparación del extracto de hojas (I)	55
Anexo N° 10. Procedimiento de preparación del extracto de hojas (II)	56
Anexo N° 11. Procedimiento de preparación del extracto de látex	57
Anexo N° 12. Ensayo de actividad antioxidante mediante el método DPPH	58
Anexo N° 13. Ensayo de actividad antioxidante mediante el método ABTS	59
Anexo N° 14. Ensayo de contenido de fenoles totales mediante el método de Folin-Ciocalteu	60
Anexo N° 15. Constancia de determinación de las muestras	61

RESUMEN

La actividad antioxidante es importante porque los antioxidantes actúan neutralizando los radicales libres, evitando así que cause daño a las células, previniendo de esta manera enfermedades degenerativas. Este estudio se enfocó en la comparación de la actividad antioxidante y fenoles totales de las hojas y el látex de árboles de *Brosimum alicastrum*, especie considerada con muchos beneficios medicinales, procedente del distrito de Sacanche, San Martín. La actividad antioxidante se determinó a través de los métodos 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) y 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS). Mientras que, el contenido de fenoles totales fue cuantificado con el método Folin-Ciocalteu. Las hojas mostraron mayor actividad antioxidante que el látex con ambos métodos ($p < 0.01$): DPPH (220.20 ± 0.58 y 8.97 ± 0.05 $\mu\text{mol trolox/g}$, respectivamente) y ABTS (219.91 ± 0.39 y 72.67 ± 0.53 $\mu\text{mol trolox/g}$, respectivamente). La concentración de fenoles totales también fue mayor en las hojas que en el látex de *B. alicastrum*: 568.92 ± 0.11 y 348.17 ± 0.15 mg ácido gálico/g , respectivamente ($p < 0.01$). Hubo una correlación positiva entre la actividad antioxidante y el contenido de fenoles totales de *B. alicastrum*. Se confirmó el potencial antioxidante de las hojas de *B. alicastrum* y la necesidad de realizar estudios más detallados para su aplicación en el tratamiento de enfermedades degenerativas.

Palabras clave: *Brosimum alicastrum*, látex, actividad antioxidante, fenoles, trolox, ácido gálico.

ABSTRACT

Antioxidants are of utmost importance because they act by neutralizing free radicals, thus preventing them from causing damage to cells, thus preventing degenerative diseases. This study focused on the comparison of the antioxidant activity and total phenolics of the leaves and latex of *Brosimum alicastrum* trees, species considered to have many medicinal benefits, from the district of Sacanche, San Martín. Antioxidant activity was determined through the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) methods. Meanwhile, the total phenolic content was quantified with the Folin-Ciocalteu method. The leaves showed greater antioxidant activity than latex with both methods ($p < 0.01$): DPPH (220.20 ± 0.58 and 8.97 ± 0.05 $\mu\text{mol trolox/g}$, respectively) and ABTS (219.91 ± 0.39 and 72.67 ± 0.53 $\mu\text{mol trolox/g}$, respectively). The concentration of total phenols was also higher in the leaves than in the latex of *B. alicastrum*: 568.92 ± 0.11 and 348.17 ± 0.15 mg gallic acid/g , respectively ($p < 0.01$). There was a positive correlation between antioxidant activity and total phenolic content of *B. alicastrum*. The antioxidant potential of *B. alicastrum* leaves was confirmed and the need to carry out more detailed studies for its application in the treatment of degenerative diseases.

Keywords: *Brosimum alicastrum*, latex, antioxidant activity, phenols, trolox, gallic acid

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades degenerativas y crónicas han aumentado significativamente, convirtiéndose en un gran inconveniente en la salud pública. Por lo tanto, existe un incremento del interés para investigar posibles factores preventivos para dichas enfermedades. Por ejemplo, las dietas saludables, con frutas y verduras, poseen diferentes compuestos bioactivos que previenen el incremento de enfermedades degenerativas tales como el Alzheimer, Cáncer, enfermedades cardiovasculares entre otras ⁽¹⁻³⁾.

Los compuestos bioactivos presentes en las plantas son responsables de protegerlas frente a la exposición de factores bióticos o abióticos que causan estrés, e.g. el ataque de insectos plaga, la infección por hongos, entre otros. En la actualidad, existe gran cantidad de estudios enfocados en los compuestos bioactivos por su capacidad para el tratamiento y mitigación de algunas enfermedades en los seres humanos. Además, la elaboración de productos farmacéuticos derivados de compuestos bioactivos extraídos de plantas es una actividad sostenible en el tiempo, debido a que la extracción puede ser realizada en plantas presentes en los bosques en pie o en sistemas agroforestales ^(4,5).

Entre los compuestos bioactivos, se destacan los antioxidantes que son un grupo amplio de compuestos capaces de disminuir y prevenir el daño oxidativo a las células causado por la aparición de radicales libres en exceso, presentes en el cuerpo. En las últimas décadas, se ha incrementado el desarrollo de métodos para evaluar la actividad antioxidante de extractos de plantas mediante experimentos *in vitro* e *in vivo*. La actividad antioxidante de las

plantas depende del tipo de extracto y su origen, es decir puede variar en las semillas, frutos, hojas, o látex de diferentes especies, entre otros factores ^(1,6).

La actividad antioxidante de las plantas es medida por la presencia de compuestos fenólicos: una gran variedad de metabolitos secundarios encargados de diversas funciones fisiológicas ⁽⁷⁾. En las plantas, los compuestos fenólicos participan en el crecimiento, la reproducción y la respuesta a situaciones al estrés provocado por factores bióticos y abióticos externos ⁽⁸⁾. Por lo tanto, los compuestos fenólicos derivados de plantas contribuyen al mantenimiento de la salud humana debido a su capacidad para quelar metales ⁽⁹⁾, inhibir enzimas que participan en la síntesis de compuestos dañinos para órganos y tejidos (e.g, lipooxigenasa y leucotrienos ⁽¹⁰⁾) y actuar como captadores de radicales libres ⁽¹¹⁾; e.g., actividad antioxidante.

La región amazónica provee una gran diversidad de especies de plantas con propiedades medicinales utilizadas como digestivos, antioxidantes, antiinflamatorios, laxantes, antihelmínticos, dermoprotectores, entre otros ⁽¹²⁾. Varias especies de la familia Moraceae se utilizan para tratar dolencias y enfermedades, por ejemplo el “ojé”, *Ficus insipida* es utilizada para aliviar problemas digestivos y el látex de *Artocarpus altilis* “pan de árbol” o “pandisho”, es usado para cicatrizar heridas en algunas comunidades de la Amazonia peruana ^(13,14).

Brosimum alicastrum “machinga”, otra especie de la familia Moraceae, presenta reportes alentadores de efectos antioxidantes en su semilla, hojas y látex que son utilizados para el tratamiento de diabetes, enfermedad degenerativa que se agrava por el incremento de radicales libres ⁽¹⁵⁻¹⁷⁾.

Además, estudios realizados en México reportaron que la corteza de *B. alicastrum* tiene potencial antioxidante y es usado para el tratamiento de la diabetes, asma e incluso cáncer uterino ⁽¹⁷⁾. En la Amazonía peruana, existen otras especies con destacado efecto antioxidante (e.g., hojas de *Croton draconoides* “sangre de grado” ⁽¹⁸⁾), sin embargo nuestra investigación se enfoca en *B. alicastrum* porque, además de su potencial antioxidante, sus semillas son utilizadas para producir una harina con contenido nutricional similar a la harina de trigo ⁽¹⁹⁾, e inclusive la madera de *B. alicastrum* tiene valor comercial ⁽²⁰⁾. Por lo tanto, de confirmarse su potencial antioxidante, *B. alicastrum* sería una especie con elevado potencial medicinal, nutricional y económico que debería ser considerado en los sistemas agroforestales, tal como ocurre en el distrito de Sacanche donde existen plantaciones de *B. alicastrum* establecidas hace más de 30 años.

Para determinar la actividad antioxidante de los extractos vegetales generalmente se emplean dos métodos conocidos como DPPH y ABTS ⁽²¹⁾ ⁽²²⁾. Ambos métodos se basan en la capacidad del extracto vegetal para capturar radicales como el DPPH y el ABTS, generando una capacidad equivalente a Trolox ($\mu\text{mol Trolox/g}$) que es un compuesto químico antioxidante estándar ⁽²³⁾. De modo complementario, además de la actividad antioxidante se evalúa el contenido de compuestos fenólicos o fenoles totales en el extracto vegetal utilizando el método Folin-Ciocalteu. Dicho método utiliza espectrofotometría UV-visible para determinar la concentración de fenoles totales equivalente al ácido gálico (mgGAE/g) ⁽²³⁾, un compuesto fenólico estándar.

En ese sentido, el presente trabajo de tesis tiene como finalidad generar conocimiento sobre la actividad antioxidante de las hojas y el látex de *B. alicastrum* que permitirá valorar la especie por su actividad antioxidante. Específicamente, este estudio se trazó como objetivo general comparar la actividad antioxidante y el contenido de fenoles totales de las hojas y el látex de individuos de *B. alicastrum* del distrito de Sacanche en el departamento de San Martín y como específicos comparar la actividad antioxidante entre la hoja y el látex de *B. alicastrum*; comparar la concentración de fenoles totales entre la hoja y el látex de *B. alicastrum* procedente del distrito de Sacanche, San Martín - 2022.

CAPÍTULO I. MARCO TEÓRICO

1.1. Antecedentes

En 2023, se desarrolló una investigación en México para determinar las propiedades nutricionales y antioxidantes de *Brosimum alicastrum*, utilizando las semillas en harina, secadas por diferentes métodos: secado al sol y con aire caliente a 45°C y 60°C. La investigación utilizó los métodos de 2,2-difenil-1-picrilhidrazina (DPPH) y 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico) (ABTS) para la actividad antioxidante y el método de Folin-Ciocalteu para el análisis de fenoles totales. Los resultados para DPPH F45 (secado a 45°C) fue de $8.49 \pm 0.99 \mu\text{M TEAC/g}$ (actividad antioxidante equivalente a trolox sobre gramos de muestra) y para F60 (secado a 60°C) de $2.04 \pm 0.47 \mu\text{M TEAC/g}$. Para ABTS en F45 fue de $69.66 \pm 2.88 \mu\text{M TEAC/g}$ y en F60 de $68.18 \pm 3.66 \mu\text{M TEAC/g}$. En el contenido de fenoles para F60 fue de $11.61 \pm 0.79 \text{ mg GAE/g}$ (equivalente a ácido gálico sobre gramos de muestra), que fue el valor más bajo, al contrario de F45 que aumentó a $12.78 \pm 0.86 \text{ mg GAE/g}$. El trabajo concluyó que la harina de la semilla de *B. alicastrum* es una fuente potencial de antioxidantes naturales para prevenir el daño oxidativo. Sin embargo, el secado a 60°C provocó una significativa disminución de contenido de fenoles totales y en la actividad antioxidante ⁽²⁴⁾.

En 2021, se realizó una investigación sobre la actividad vasorelajante y antioxidante de *Brosimum alicastrum*, *Cnidocolus chayamansa*, *Jatropha gaumeri*, *Manilkara zapota*, *Tradescantia spathacea* y *Turnera difusa*, plantas medicinales de Campeche, México, donde utilizaron extractos metanólicos de hojas de estas plantas como materia prima para desarrollar análisis fitoquímicos, espectroscópicos y farmacológicos. Entre los resultados más

destacados, se obtuvo un mayor contenido de compuestos fenólicos simples y flavonoides en *B. alicastrum*, *J. gaumeri* y *T. difusa*, que ejercen una importante actividad antioxidante con mejor potencia y eficacia que *Camellia sinensis* (control positivo). En el caso de *B. alicastrum* tuvo EC_{50} (Concentración efectiva media): $22.9 \pm 2.4 \mu\text{g/mL}$; E_{max} : $98.7\% \pm 6.4\%$; EC_{50} : $30.6 \pm 0.9 \mu\text{g/mL}$; $E_{\text{máx}}$: $85.8\% \pm 1.7\%$ vs. EC_{50} : $41.8 \pm 0.3 \mu\text{g/mL}$; $E_{\text{máx}}$: 94.6 ± 0.8 ; $p < 0,05$) de manera dependiente de la concentración ⁽²⁵⁾.

En 2021, se realizó un estudio de la capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales en las hojas de *Ficus maxima*, usando dos métodos: 1. DPPH para la capacidad antioxidante y 2. Folin–Ciocalteu para los polifenoles, donde los extractos metanólicos dieron como resultados, en el caso de los polifenoles un $14.31 \pm 0.20 \text{ mg}$ de catequina eq/g de muestra seca y para la capacidad antioxidante fue de 443.63 ± 1.09 en mM Trolox eq/g de muestra seca ⁽²⁶⁾.

En 2019, se estudió a *Brosimum alicastrum* como alternativa para mejorar las propiedades nutricionales de la tortilla de harina de trigo, el objetivo principal fue evaluar el efecto de la harina de trigo parcial inducida por la harina de *B. alicastrum* en diferentes propiedades entre ellas en la capacidad antioxidante. La harina de semilla obtuvo mejores resultados en contenido de fenoles totales con (RSF) $65.8 \pm 2.26 \text{ mg GAE/g}$ y $21.1 \pm 1.50 \text{ mg GAE/g}$ para la tortilla de harina con *B. alicastrum* (RFT), en el caso de DPPH se obtuvo $0.9 \pm 0.09 \text{ mmol TEAC/100 g}$ en RSF y $0.3 \pm 0.01 \text{ mmol TEAC/100 g}$ en RFT, y en ABTS tuvo una mejor captación en RSF con $14.3 \pm 0.10 \text{ mmol TEAC/100 g}$ y $0.4 \pm 0.01 \text{ mmol TEAC/100 g}$ en RFT. El trabajo concluyó que la harina de semilla de *B. alicastrum* mejora el valor nutricional de la tortilla de harina de trigo y es

capaz de proporcionar propiedades funcionales que contribuyen a una dieta más saludable ⁽¹⁵⁾.

En 2019, se realizó un estudio sobre el efecto del solvente de extracción sobre el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante de la semilla de *Brosimum alicastrum*. Se evaluó el efecto de siete sistemas de solventes sobre el contenido de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante *in vitro*. Se determinó que el solvente más eficiente fue el extracto etanol/agua (1:1, v/v) con mayor contenido de fenoles totales, 1230.12 ± 10.61 mg GAE/100g de muestra seca, para DPPH obtuvieron 872.75 ± 26.95 μ mol trolox/100g y en ABTS 57.22 ± 2.91 mM trolox/100g ⁽²⁷⁾.

En 2019, se desarrolló una investigación para determinar el contenido de fenoles totales y actividad antioxidante de *Brosimum gaudichaudii* Trécul, utilizando las cáscaras secas del fruto. El estudio utilizó el método de DPPH para la actividad antioxidante y el método de Folin-Ciocalteu para el análisis de fenoles totales. Donde se obtuvo como resultado que, para DDPH 26.46 μ mol/g y para la concentración de compuestos fenólicos fue de 44.30 mg EAG/100 ⁽²⁸⁾.

En 2019, se desarrolló una investigación sobre el efecto de la adición de extractos hidroalcohólicos de *B. gaudichaudii* y *Pyrostegia venusta* para la estabilidad oxidativa de hamburguesas de vacuno. El objetivo fue evaluar la capacidad antioxidante *in vitro* de extractos hidroalcohólicos y determinar el efecto de la adición de estos extractos en la estabilidad oxidativa de las hamburguesas de res. El estudio utilizó el método de DPPH para la actividad antioxidante y el método de Folin-Ciocalteu para el análisis de fenoles

totales. La especie *Brosimum gaudichaudii*, con 50% de etanol, tuvo mejores resultados para DDPH 77.15 ± 1.30 y para la concentración de fenoles 2.93 ± 0.19 g GAE/L ⁽²⁹⁾.

En 2018, se realizó un estudio para evaluar la actividad antiulcerosa y antioxidante *in vitro* del extracto etanólico de látex de *Ficus racemosa* L. Para evaluar la actividad antioxidante utilizaron el método DPPH. Se obtuvo como resultados para DDPH en una concentración de 100 µg/ml con un porcentaje de inhibición de 46.42% y con una concentración de 1000 µg/ml se obtuvo 91.85%. El trabajo concluyó que el extracto etanólico de látex de *F. racemosa* puede tener efectos beneficiosos en el tratamiento de la úlcera gástrica debido al carácter citoprotector de sus constituyentes antioxidantes ⁽³⁰⁾.

En 2017, se realizó un estudio sobre como optimizar la extracción por ultrasonido de polifenoles, así como la actividad antioxidante de las hojas de *B. alicastrum*. El objetivo principal fue determinar un mejor rendimiento e índice de calidad del producto en las condiciones óptimas de extracción. El estudio utilizó el método de Folin-Ciocalteu para el análisis de fenoles totales y para la actividad antioxidante el método DPPH y ABTS, se obtuvo como resultado para la concentración de compuestos fenólicos 45.18 mg EAG/g, en el caso de DPPH se obtuvo un valor máximo de 67.27 µmol TE/g y en ABTS el valor máximo fue 38.79 µmol TE/g ⁽³¹⁾.

En 2012, se desarrolló una investigación sobre la actividad antioxidante de 24 plantas nativas utilizadas en Guatemala, entre ellas *B. alicastrum*. La concentración de fenoles se evaluó por el método de Folin-Ciocalteu y la capacidad antioxidante total mediante DPPH, El fruto seco de *B. alicastrum*

dió como resultado una concentración de fenoles totales de IC50 (Concentración inhibitoria media) 17.28 ± 0.66 y en la actividad antioxidante 1.27 ± 0.15 ⁽³²⁾.

1.2. Bases teóricas

Brosimum alicastrum Sw.

Es una especie de sotobosque, perennifolia, de lento crecimiento y de larga vida. En Perú se le conoce como manchinga, y se puede encontrar en la Amazonía peruana ⁽³³⁾.

Descripción botánica

Árbol de 20 a 40 metros de altura total y un diámetro entre 40-150 centímetros a la altura del pecho, fuste cilíndrico, la base del tallo con raíces tablares de 1 a 1.5 m de alto o recto, puede presentar o no ramificación gruesa, suele ser empinada y la copa de color verde pálido ^(34,35).

La corteza externa es lisa, parda con tonalidad grisácea amarillenta, posee lenticelas más largas que anchas o redondeadas de unos 4 por 10-20 mm, Corteza interna tiene un color crema amarillento, se puede encontrar de fibrosa hasta granulosa, con abundante exudado lechosa. Ramas terminales redondas en sección, secas de color marrón claro, de 4-6 mm de diámetro, ligeramente fisuradas, lenticulares, con cicatrices, de 5-12 mm de largo en el ápice de las ramas terminales. Hojas son simples, alternas, espirales, 10-22 cm de largo, 4-9 cm de ancho, pecíolos 0,8-1,4 cm de largo, hojas enteras, oblongas a ovadas, gruesas, con nervios pinnados, entre los cuales se encuentran 22 a 26

pares anastomosados en los nervios secundarios. El ápice es puntiagudo y afilado, la base es obtusa a aguda y las hojas son lisas. Las flores son pequeñas, unisexuales, con un borde reducido, las flores femeninas miden 5-10 mm de largo, el estilo es corto, el ovario es ovoide, el estigma algo alargado, flores masculinas tienen 2-4 estambres. Fruto más o menos carnoso, esférico, con coloración amarilla a rojiza, de 2 a 3 cm de diámetro que contienen aproximadamente 2 a 4 drupas pequeñas ⁽³⁵⁾.

Taxonomía

Dominio : Eucariota
Reino : Plantae
Clado : Angiospermas
Clado : Eudicotiledóneos
Clado : Superrosidas
Clado : Rosidas
Clado : Eurosides I
Orden : Rosales
Familia : Moraceae
Tribu : Dorstenieae
Género : Brosimum
Especie : *Brosimum alicastrum* Sw ⁽³⁶⁾.

Los nombres comunes de esta especie pueden variar de acuerdo a su ubicación, como, manchinga en la selva baja (Perú), congona en la selva central (Perú), ramón (México), muiratinga (Brasil); mare (Colombia) ⁽³⁷⁾.

Distribución

Esta especie tiene una amplia distribución, extendiéndose desde el sur de México pasando por toda Centroamérica llegando hasta el norte de Sudamérica (Colombia, Guyana, Surinam, Venezuela, Ecuador, Bolivia, Perú, noreste de Brasil). En Perú, se encuentra distribuida en los bosques amazónicos, desde los 200 hasta los 1600 msnm, en los departamentos de Loreto, Amazonas, Madre de Dios, San Martín y Ucayali donde tiene su mayor representación. La especie habita en bosques tropicales húmedos, bosques tropicales secos, bosques tropicales muy húmedos y otros tipos de bosques ^(35,38).

Usos

En la Amazonia peruana, especialmente en las comunidades nativas se conocen los usos potenciales de esta especie, debido a que sus ancestros la utilizaban tradicionalmente para la producción de alimentos durante las sequías. Las semillas son particularmente populares en los mercados internacionales porque son un producto forestal no maderable con alto valor nutricional y gran potencial industrial ⁽³⁹⁾. Las semillas secas son convertidas en harina, galletas, pan y tortillas, también suelen tostarlas y molerlas como sustituto del café ^(15,40). Además, se utilizan para preparar una sustancia llamada capomolina, que se vende como agente galactogénico para aumentar la producción de leche en mujeres lactantes ⁽¹⁷⁾.

El látex diluido puede utilizarse como sustituto de la leche debido a su agradable sabor y con posibilidades de disolverse en agua ⁽⁴¹⁾, Los usos medicinales incluyen las infusiones del látex y las hojas para

asma, afecciones al pecho, como antitusivo, balsámico, diaforético, emenagogo, para la diabetes, la tuberculosis y bronquitis ⁽⁴²⁾. Además, las hojas son utilizadas como forraje para ganado ⁽⁴³⁾. La pulpa del fruto y las semillas son comestibles para el ser humano ya que son altamente nutritivas por su contenido de ácidos grasos insaturados y poliinsaturados, aceites esenciales, azúcares y altas cantidades de triptófano ^(17,44).

Estrés oxidativo

Debido a la constante formación de radicales, el ser humano ha desarrollado diversos mecanismos de defensa antioxidantes. Cuando esta defensa no es tan eficiente e incrementa el desarrollo de radicales libres, a esto se le denomina estrés oxidativo. Este daño oxidativo se debe al exceso de radicales libres llegando a causar daño celular ⁽⁴⁵⁾. El estrés oxidativo se produce en las células y tejidos cuando existe una alteración del equilibrio entre las sustancias prooxidativas y antioxidantes favoreciendo a los primeros ⁽⁴⁶⁾.

Actividad antioxidante

Se basa en comprobar como un agente oxidante induce daño oxidativo a un sustrato oxidable daño que va ser individuo reducido en presencia de un antioxidante. La actividad antioxidante no se puede evaluar directamente, pero se puede determinar por el efecto de un compuesto antioxidante en un proceso de oxidación controlado. Además, algunos productos intermedios o finales se pueden utilizar para evaluar la actividad antioxidante. Tampoco se puede determinar basándose únicamente en un ensayo de prueba ⁽⁴⁷⁾.

Actividad antioxidante en plantas

Los antioxidantes de las plantas pueden actuar como donantes de hidrógeno, ayudando así a prevenir o retrasar el desarrollo de enfermedades degenerativas. Existen varios reportes que muestran la importancia de la actividad antioxidante de plantas, frutas y vegetales que han sido utilizados como medicinas en diversos tratamientos de manera tradicional a nivel mundial. La actividad antioxidante de algunas plantas principalmente se debe por los compuestos no nutricionales que presentan una buena actividad biológica, tales como los polifenoles, vitaminas y minerales. Los polifenoles encontrados en muestras vegetales incluyen los flavonoides, la quercetina, las catequinas y algunos colorantes naturales como betalaínas ⁽⁴⁸⁾.

Compuestos fenólicos en plantas

Las plantas tienen rutas metabólicas que conducen a una gran variedad de productos secundarios que pueden responder eficazmente a situaciones estresantes provocadas por factores bióticos y abióticos. Estas vías (a menudo reclutadas a partir de importantes vías metabólicas primarias después de la duplicación del gen original, lo que da como resultado genes duplicados con nuevas funciones y roles optimizados y diversos en las nuevas vías) son una parte integral del programa de desarrollo de plantas. La acumulación de metabolitos secundarios a menudo marca el comienzo de las etapas de desarrollo. El estricto control espacial y temporal de la expresión génica asegura el patrón correcto de acumulación de varios subproductos ^(49,50).

Las briófitas son productores comunes de polifenoles y flavonoides, pero son las plantas vasculares las que contienen todos los polifenoles ⁽⁵¹⁾. Las plantas superiores sintetizan varios miles de compuestos fenólicos, y el número de compuestos completamente distinguidos aumenta constantemente. Las hojas de las plantas vasculares contienen diversos glucósidos de ácidos hidroxicinámicos; flavonoides glicosilados, flavonoles; y proantocianidinas y algunos parientes ⁽⁵²⁾. Los compuestos fenólicos son importantes para la calidad de los alimentos vegetales, son responsables del color y sabores. En particular, la contractilidad se debe al depósito de proteínas salivales por los polifenoles, un mecanismo que puede estar involucrado en la protección contra sus efectos nutricionales. Finalmente, se cree que los compuestos fenólicos contribuyen a los beneficios para la salud asociados con una dieta de frutas y verduras. Durante el procesamiento y la conservación de los alimentos, los compuestos fenólicos de las plantas se transforman en varios compuestos derivados ⁽⁵³⁾.

Método Folin-Ciocalteu

Este método espectrofotométrico fue desarrollado por Folin y Ciocalteu y modificado por Singleton y Rossi ⁽⁵⁴⁾, se utiliza para determinar los fenoles totales. El reactivo es una mezcla de ácido fosfotúngstico ($H_3PW_{12}O_{40}$) y ácido fosfomolibdico ($H_3PMo_{12}O_{40}$), que se disminuye cuando los compuestos fenólicos se oxidan, desarrollando óxidos azules de tungsteno (W_8O_{23}) y molibdeno (Mo_8O_{23}). Los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo Folin-Ciocalteu en condiciones alcalinas (ajustadas a $pH > 10$ con solución de carbonato de sodio). La

disociación del protón fenólico permite la formación del ion fenolato capaz de reducir el reactivo apoyando la idea de que la reacción ocurre a través de un mecanismo de transferencia de electrones ⁽⁵⁵⁾. La absorbancia se mide a 765 nm. Los resultados se expresan en miligramos de ácido gálico por gramos de muestra (mgGAE/g) ⁽²³⁾.

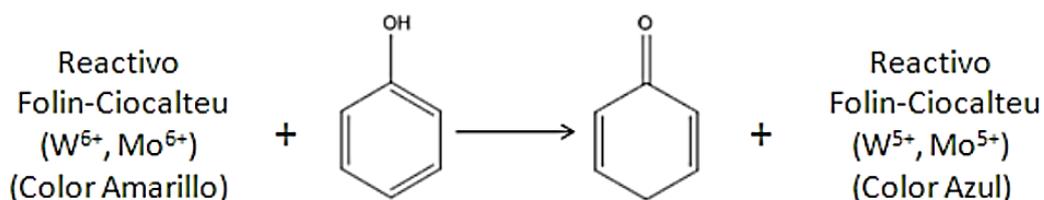


Figura N° 01. Mecanismo de reacción del reactivo Folin-Ciocalteu ⁽⁵⁶⁾

Método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo)

Este método, descrito por Brand-Williams ⁽⁵⁷⁾, se basa en la captura del radical DPPH por antioxidantes en absorbancia medida a 515 nm ⁽²¹⁾. El 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo es un radical de nitrógeno orgánico, estable que, en presencia de donadores de electrones de hidrogeno, disminuye la captación de absorción y la solución con el radical pierde su color, tornándose amarillenta según el número de electrones atrapados, por lo tanto, cuando un electrón desapareado de DPPH receptiona un átomo de hidrógeno de compuestos antioxidantes la coloración cambia. Esta reacción se desarrolla a los 30 minutos después de ser aplicada ⁽⁵⁸⁾. La concentración del radical en el medio de la reacción se calcula a partir de una curva de calibrado obtenida por regresión lineal y se expresan en TEAC, actividad equivalente a Trolox ($\mu\text{mol Trolox/g}$) ⁽²³⁾.

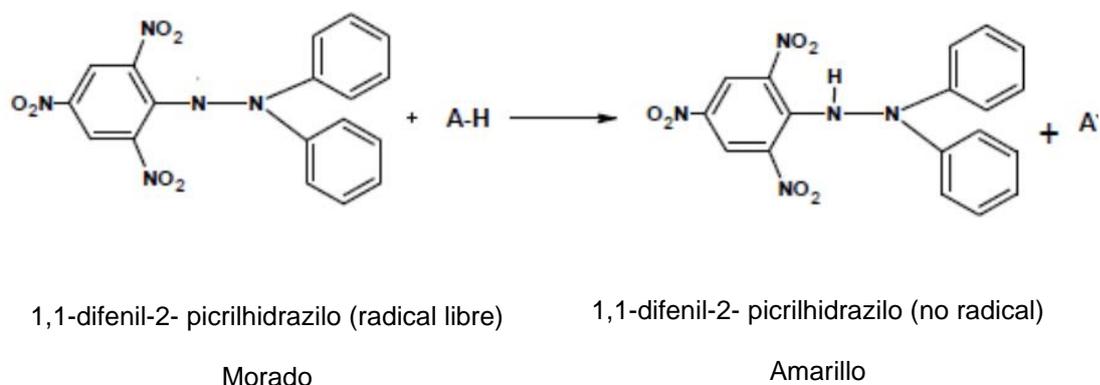


Figura N° 02. Mecanismo de reacción del DPPH con antioxidantes ⁽⁵⁹⁾

Método ABTS (Ácido 2,2'- azino- bis- (3- etiltiazolina- benceno sulfónico- 6)

Este método, fue descrito por Nicholas J. Miller y años posteriores fue modificado por Re ⁽²²⁾. El radical ABTS^{•+} se produce después de hacer reaccionar el ABTS (7 mM) junto con persulfato de potasio (K₂S₂O₈) incubado a temperatura ambiente (± 25 °C) y en la oscuridad durante aproximadamente 16 h. Luego se diluye con metanol hasta conseguir un valor de absorbancia en el rango de 0,70 (± 0,1) a 754 nm (longitud de onda de máxima absorbancia) ^(22,23). Este método expresa los resultados en términos de la capacidad del antioxidante para donar hidrógeno y estabilizar el radical ABTS. El color que experimenta la solución ABTS durante la reacción se compara con el producido por un antioxidante estándar a base de vitamina E llamado Trolox para crear una curva estándar. Por esta razón, los resultados se expresan en TEAC (actividad antioxidante equivalente a Trolox) ⁽⁶⁰⁾.

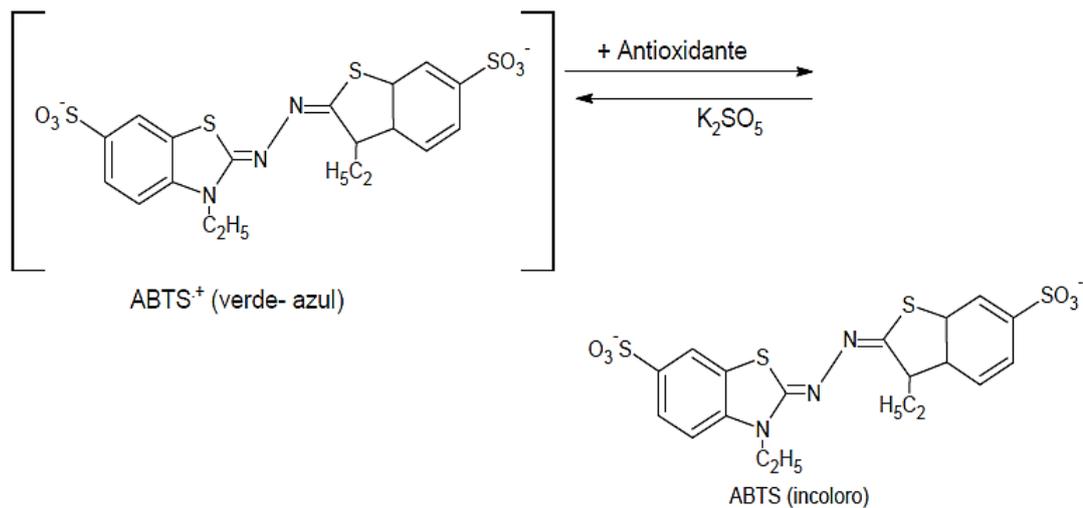


Figura N° 03. Mecanismo de reacción del ABTS con antioxidantes

2.1. Definición de términos básicos

Látex (bot.): Jugo generalmente lechoso, comúnmente blanco, a veces amarillo, anaranjado o rojo, que fluye de las heridas de la planta. El látex es una emulsión de un líquido acuoso con diversas sustancias insolubles, el líquido acuoso contiene azúcares, pequeñas cantidades de diversos albuminoides, alcaloides, entre otros ⁽⁶¹⁾.

Exudado (bot.): Líquido, más o menos fluido o denso, que por exudación sale de los órganos de las plantas en condiciones patológicas, o al ser lesionados ⁽⁶¹⁾.

Antioxidantes: Se trata de compuestos sintetizados por las plantas en sus diversas partes (frutos, hojas, raíces, etc.) caracterizados por la unión de grupos hidroxilo (OH) y ayudan a frenar la oxidación regulando la formación de radicales ⁽⁶²⁾.

Radicales libres: Es cualquier molécula que contiene de uno a más electrones desapareados, están ampliamente implicados en la generación de distintas enfermedades degenerativas ⁽⁶²⁾.

Espectrofotometría: Es un método analítico que puede determinar la concentración de un compuesto en solución ⁽⁶³⁾.

Compuestos fenólicos: son sustancias que poseen funciones fenol, tiene origen en el mundo vegetal, considerados unos de los principales metabolitos secundarios de las plantas ⁽⁶⁴⁾.

Trolox: Es un análogo de la vitamina E, soluble en agua, además de ser empleado en curvas estándar en diversos ensayos de actividad antioxidante ⁽⁶⁵⁾.

Ácido gálico: Es un compuesto con propiedades antioxidantes, que reduce las especies reactivas de oxígeno a través de mecanismos de absorción y neutralización de radicales libres. El ácido gálico se usa ampliamente en la industria farmacéutica como estándar para la determinación del contenido de fenoles mediante la prueba de Folin-Ciocalteu ⁽⁶⁶⁾.

Folin-Ciocalteu: Es una mezcla de fosfomolibdato y fosfotungstato, que reaccionan con cualquier tipo de fenol para formar complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico ⁽⁶⁷⁾.

CAPÍTULO II. HIPÓTESIS Y VARIABLES

2.1. Formulación de la hipótesis

2.1.1. Hipótesis

El látex tiene más actividad antioxidante y concentración de fenoles totales que la hoja de *Brosimum alicastrum*.

2.2. Variables y su operacionalización

2.2.1. Variable independiente:

- Tipo de extracto

2.2.2. Variable dependiente:

- Actividad antioxidante y contenido de fenoles totales

Tipo	Variable	Definición	Tipo por su naturaleza	Indicador	Escala de medición	Categorías	Valores de las categorías	Medio de verificación
I N D E P E N D I E N T E	Tipo de extracto	Muestras maceradas en etanol	Cuantitativo	Extracto de hoja Extracto de látex	Razón	.	Hojas o látex	Hoja de reporte analítico
	Actividad antioxidante	Mide el efecto de un compuesto antioxidante en un proceso de oxidación controlado	Cuantitativo	Porcentaje de inhibición del DPPH. Porcentaje de inhibición del ABTS	Razón	-	μmolTrolox/g	Pruebas bioquímicas
Contenido de Fenoles	Capacidad de cuantificar los fenoles que reaccionan con agentes oxidantes.	Absorbancia de fenoles totales		-		mg equivalente de ácido gálico (GAE)/g		

CAPÍTULO III. METODOLOGÍA

3.1. Tipo y diseño

La investigación fue de tipo descriptiva y transversal, en el que se comparó la actividad antioxidante y contenido de fenoles totales de la hoja y del látex de *Brosimum alicastrum*.

3.2. Diseño muestral

Población universo

La población universal estuvo conformada por las hojas y látex de todos los árboles de *B. alicastrum*.

Población de estudio

La población de estudio estuvo conformada por las hojas y látex de árboles de *B. alicastrum* procedentes del distrito de Sacanche, San Martín.

Tamaño de la población de estudio

Estuvo constituida por los extractos de las hojas y látex de 3 individuos de *B. alicastrum* procedentes del distrito de Sacanche, San Martín.

Criterios de selección

Se colectaron hojas enteras, frescas, adultas. El látex fue colectado de árboles con un diámetro mayor a los 20 cm (diámetro a la altura del pecho).

3.3. Procedimiento de recolección de datos

3.3.1. Área de estudio

El área de estudio de la presente investigación fue en el distrito de Sacanche, localizado en el departamento de San Martín ubicado geográficamente a 7°4' 19" S y 76° 42' 51" W. El distrito tiene veranos cortos, calurosos, e inviernos cálidos y mayormente nublados. Durante el año, la temperatura suele oscilar entre 21 °C y 35 °C y rara vez baja de 20 °C o sube por encima de 37 °C (Anexo N° 01).

Las muestras de hojas y látex fueron analizadas en el Laboratorio de Química de Productos Naturales (LQPN) del Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP), ubicado en el Centro de Investigaciones Fernando Alcántara en el kilómetro 4.5 de la carretera Iquitos - Nauta, Distrito de San Juan, Departamento de Loreto.

3.3.2. Esquema metodológico.

Los pasos seguidos del trabajo se resumen en la Figura 04:

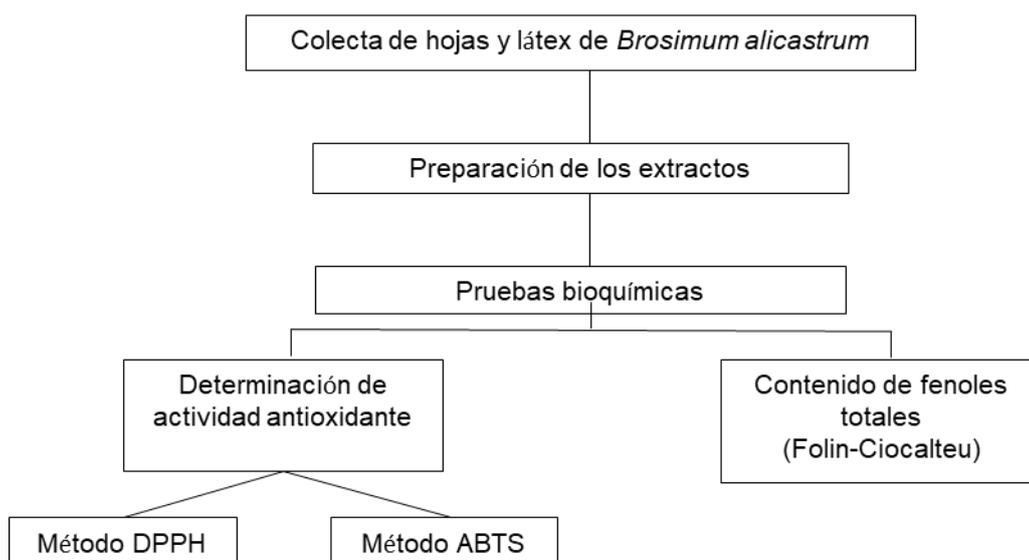


Figura N° 04. Esquema del trabajo metodológico

3.3.3. Colecta de las muestras para el análisis

Muestras de hojas y látex fueron extraídas de tres árboles de *B. alicastrum* (n=3) que cumplieron los criterios de inclusión y exclusión descritos en la sección 3.2. Se utilizó tijeras podadoras para colectar 2 kg de hojas. El látex fue colectado directamente de incisiones realizadas en la corteza de cada árbol. Para la colecta del látex se utilizó envases de muestras marca Samplix de 100 ml. Posteriormente, para evitar su oxidación la muestra de látex fue preservada libre de luz y en refrigeración hasta el procesamiento en el laboratorio.

Las muestras fueron codificadas según lo definido en la Tabla 1.

“SPR 01” H / L	SPR (Abreviatura del nombre del colector)
	01 (Número de árbol)
	H (Hoja)
	L (Látex)

Tabla N° 01. Formato de codificación de muestras

3.3.4. Preparación de los extractos

Se elaboraron tres extractos por cada muestra colectada de hojas y látex (3 muestras x 3 extractos = 9 extractos en total).

Las hojas se cortaron en diminutos fragmentos y fueron secadas en una estufa a 35°C durante 72 horas para disminuir la humedad en la muestra. Luego, se micropulverizaron en una licuadora industrial (Waring) y se guardaron en bolsas Ziploc. Después, una sub muestra de 20 g de hojas pulverizadas es

sometida a un proceso de maceración en el cual se agregó 100 ml de etanol, se dejó reposar durante 24 horas, se filtró y posteriormente se llevó a concentrar a presión reducida en un rotavapor con una rotación de 150 rpm a 40 °C. El proceso de maceración se realizó dos veces en la misma sub muestra de hojas.

El látex previamente refrigerado pasó por un proceso de liofilización a una temperatura de -55 °C y 0.021 mBar de presión (liofilizador CHRIST Alpha 1-2 LDplus) para disminuir la humedad en la muestra. Luego la muestra liofilizada fue triturada manualmente en un mortero hasta obtener una sub muestra con un peso de 10 g. La submuestra también fue sometida a maceración siguiendo los mismos pasos descritos para la maceración de las hojas.

3.3.5. Determinación de actividad antioxidante

Para determinar la actividad antioxidante de las hojas y látex se utilizaron los siguientes métodos:

Método DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

Se empleó el método del radical libre DPPH, siguiendo la metodología de Brand-Williams con ciertas modificaciones ⁽⁵⁷⁾. Se utilizó 20 mg de muestra para preparar una solución madre de cada extracto (hojas y látex respectivamente) ajustada a un volumen de 10 mL de metanol al 80%. Un volumen de 200 µL de la solución madre del extracto fue añadido a un tubo de ensayo, luego se agregó 2300 µL de metanol y finalmente se adicionó 2500 µL del DPPH a 200 µM (solución “muestra”: extracto + DPPH + metanol). También se preparó una solución “control” conteniendo 2500 µL del DPPH a

200 µM y 2500 µL de metanol. Además, se preparó una solución “blanco” que contiene 200 µL de la solución madre y 4800 µL de metanol. Las soluciones “muestra” y “control” se dejaron reposar por 30 minutos. Luego, se midió la absorbancia a 515 nm de la solución “muestra”, “control” y “blanco” utilizando un espectrofotómetro UV-vis. Así, la inhibición del radical DPPH por acción del extracto se determinó por esta expresión:

$$\% \text{ Inhibición DPPH} = 100 - \frac{(A_{\text{muestra}} - A_{\text{blanco}}) \times 100}{A_{\text{control}}}$$

Donde:

A_{muestra} : Absorbancia de la solución “muestra” a 515 nm.

A_{control} : Absorbancia de la solución “control” a 515 nm.

A_{blanco} : Absorbancia de la solución “blanco” a 515 nm.

El porcentaje de inhibición de DPPH por acción del extracto se convirtió a actividad antioxidante expresada en unidades equivalentes a Trolox (µmol de Trolox/g), un compuesto químico antioxidante estándar. Por ese motivo se elaboró una curva patrón lineal utilizando concentraciones conocidas de Trolox (5 a 30 µmol) relacionadas a porcentajes de inhibición de DPPH. A partir de la curva patrón se obtuvo una ecuación lineal (donde, x = concentración de Trolox; y = porcentaje de inhibición de DPPH; Anexo 02) que permitió generar el equivalente a Trolox de los extractos utilizados.

Método ABTS (Ácido 2,2'- azino- bis- (3- etiltiazolina- benceno sulfónico- 6)

Se empleó el método de ABTS según lo descrito por Re ⁽²²⁾, con algunas modificaciones. Se utilizó 20 mg de muestra para preparar una solución madre

de cada extracto (hojas y látex respectivamente) ajustada a un volumen de 10 mL de metanol al 80%. Un volumen de 30 μ L de la solución madre del extracto fue añadido a un tubo ensayo, luego se agregó 1970 μ L de la mezcla ABTS + Buffer (solución “muestra”: extracto + ABTS + Buffer). También se preparó una solución “control” conteniendo 2000 μ L de la mezcla ABTS + buffer. Además, se preparó una solución “blanco” que contiene 500 μ L de metanol al 80% y 1500 μ L de Buffer PBS 0.01M. Las soluciones “muestra” y “control” se dejaron reposar por 7 minutos. Luego, se midió la absorbancia a 734 nm de la solución “muestra”, “control” y “blanco” utilizando un espectrofotómetro UV-vis. Así, la inhibición del radical ABTS por acción del extracto se determinó por esta expresión:

$$\% \text{ Inhibición ABTS} = 100 - \frac{(A_{\text{muestra}} - A_{\text{blanco}}) \times 100}{A_{\text{control}}}$$

Donde:

A_{muestra} : Absorbancia de la solución “muestra” a 734 nm.

A_{control} : Absorbancia de la solución “control” a 734 nm.

A_{blanco} : Absorbancia de la solución “blanco” a 734 nm.

El porcentaje de inhibición de ABTS por acción del extracto se convirtió a actividad antioxidante expresada en unidades equivalentes a Trolox (μ mol de Trolox/g), un compuesto químico antioxidante estándar. Por ese motivo se elaboró una curva patrón lineal utilizando concentraciones conocidas de Trolox (5 a 30 μ mol) relacionadas a porcentajes de inhibición de ABTS. A partir de la curva patrón se obtuvo una ecuación lineal (donde, x = concentración de

Trolox; y = porcentaje de inhibición de ABTS; Anexo 03) que permitió generar el equivalente a Trolox de los extractos utilizados.

3.3.6. Determinación del contenido de fenoles totales

Para la determinación de la concentración de fenoles totales se utilizó el método de Folin-Ciocalteu. Se tomó 20 mg de muestra para preparar una solución madre de cada extracto (de hojas y de látex, respectivamente) ajustada a un volumen de 10 mL de metanol al 80%. Un volumen de 60 μ L de la solución madre de la muestra fue añadida a un tubo de ensayo, luego se agregó 2240 μ L de agua ultra pura y 100 μ L del reactivo Folin-Ciocalteu (solución "muestra"). La solución fue homogenizada y se dejó reposar por 3 minutos a 20 °C. Al término del reposo, se adicionó 100 μ L de carbonato de sodio al 20%, se calentó a 40 °C por 20 min al baño maría, luego se enfrió en baño de hielo para medir la absorbancia de la solución "muestra" a 760 nm en un espectrofotómetro UV-vis. Además, se midió la absorbancia a 760 nm de una solución "blanco" preparada con 2200 μ L agua ultra pura, 100 μ L de carbonato de sodio al 20% y 100 μ L del reactivo Folin-Ciocalteu.

La cantidad de fenoles totales de los extractos se expresó como unidad equivalente a Ácido gálico (mg de ácido gálico/g): un compuesto fenólico con propiedades antioxidantes. Por ese motivo se elaboró una curva patrón lineal utilizando concentraciones conocidas de Ácido gálico (10 a 100 μ g/mL) y los respectivos valores de absorbancia a 760 nm obtenidos con el espectrofotómetro UV-vis. A partir de la curva patrón se obtuvo una ecuación lineal (donde, x = concentración de Ácido gálico; y = absorbancia a 760 nm;

Anexo 04) que permitió generar el equivalente a Ácido gálico de los extractos utilizados siguiendo la expresión:

$$\frac{\text{Ácido gálico (mg)}}{\text{peso muestra (g)}} = \frac{[\text{AG}] \text{ muestra } (\mu\text{g/mL}) \times V_{\text{sol extracto}}(\text{mL})}{1000 \times \text{peso muestra (mg)}}$$

Dónde:

[AG] muestra = Concentración del ácido gálico en muestra

Vsol Extracto = Volumen de la solución “muestra”

3.4. Procesamiento y análisis de datos

Para la lectura de los valores de absorbancia con el espectrofotómetro UV-vis se utilizó el programa Cary WinUV Software. Para analizar los datos se desarrolló la prueba T de Student y coeficiente de correlación de rango de Kendall. Para las pruebas y la elaboración de gráficos se utilizó el programa R (versión 4.3.0). Los valores de actividad antioxidante y fenoles totales son reportados en promedio \pm desviación estándar.

3.5. Aspectos éticos

Se respetó las normas de bioseguridad que presenta el laboratorio, además, de los códigos de ética en investigación científica, en la obtención de las muestras no se taló ningún árbol de *Brosimum alicastrum* por lo que fue una extracción sostenible.

CAPITULO IV. RESULTADOS

4.1. Actividad antioxidante de hojas y látex de *Brosimum alicastrum*

4.1.1. Método DPPH y ABTS

La actividad antioxidante fue mayor en las hojas en comparación al látex en ambos métodos (DPPH y ABTS). Para DPPH se obtuvo 220.20 ± 0.58 y 8.97 ± 0.05 μM trolox/g para hojas y látex, respectivamente ($p < 0.01$, Figura N° 05). Mientras que los valores para el método ABTS fueron 219.91 ± 0.39 μM trolox/g para hojas y 72.67 ± 0.53 μM trolox/g para látex ($p < 0.01$, Figura N° 06).

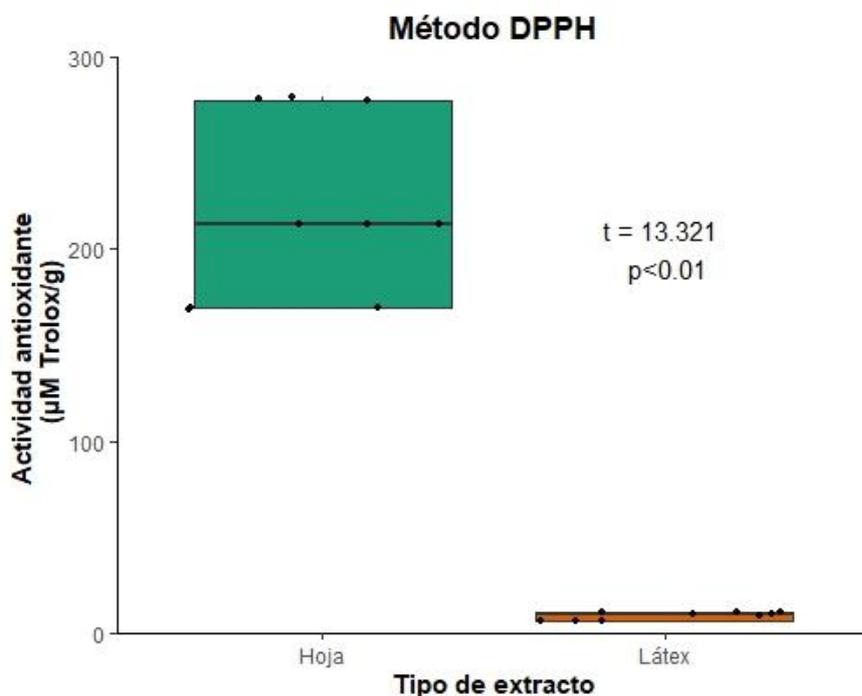


Figura N° 05. Actividad antioxidante por el método DPPH en hoja y látex de *Brosimum alicastrum*

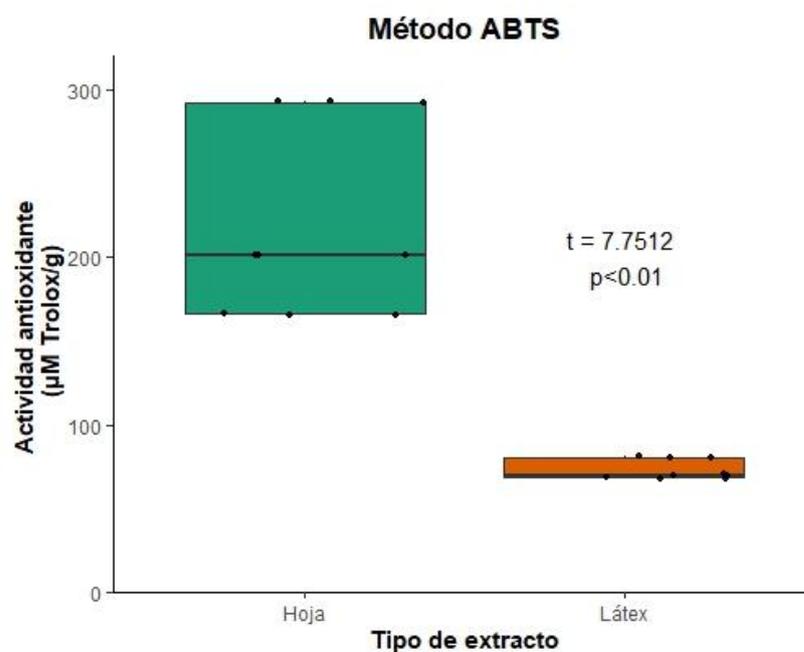


Figura N° 06. Actividad antioxidante por el método ABTS en hoja y látex de *Brosimum alicastrum*

4.3. Contenido de fenoles totales

Según el método Folin-Ciocalteu, el contenido de fenoles totales fue mayor en las hojas en comparación con el látex: 568.92 ± 0.11 y 348.17 ± 0.15 mg de ácido gálico/ g, respectivamente ($p < 0.01$, Figura N° 07).

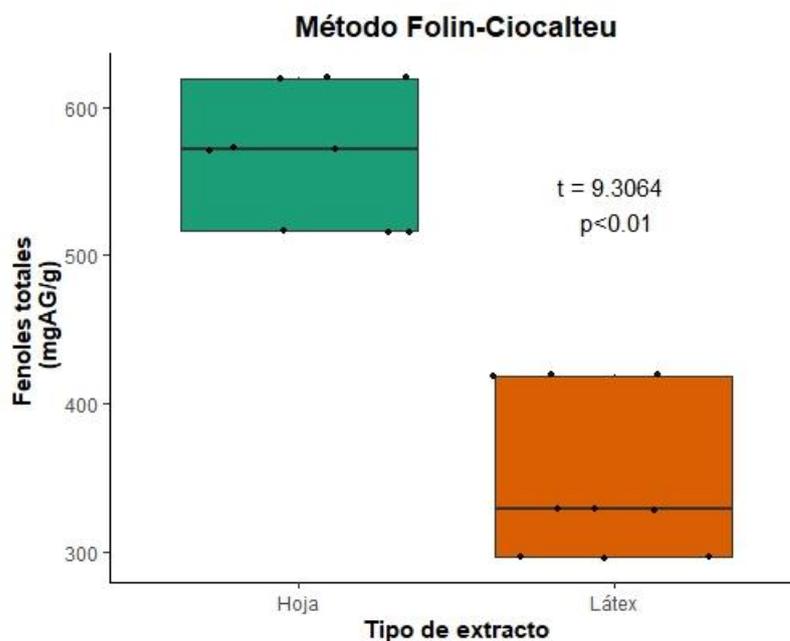


Figura N° 07. Contenido de fenoles totales por el método Folin-Ciocalteu en hoja y látex de *Brosimum alicastrum*

Además, se encontró una correlación positiva entre el contenido de fenoles totales y la actividad antioxidante calculada con los métodos DPPH ($r= 0.87$; $p < 0.001$) y ABTS ($r= 0.89$; $p < 0.001$) (Figura N° 07).

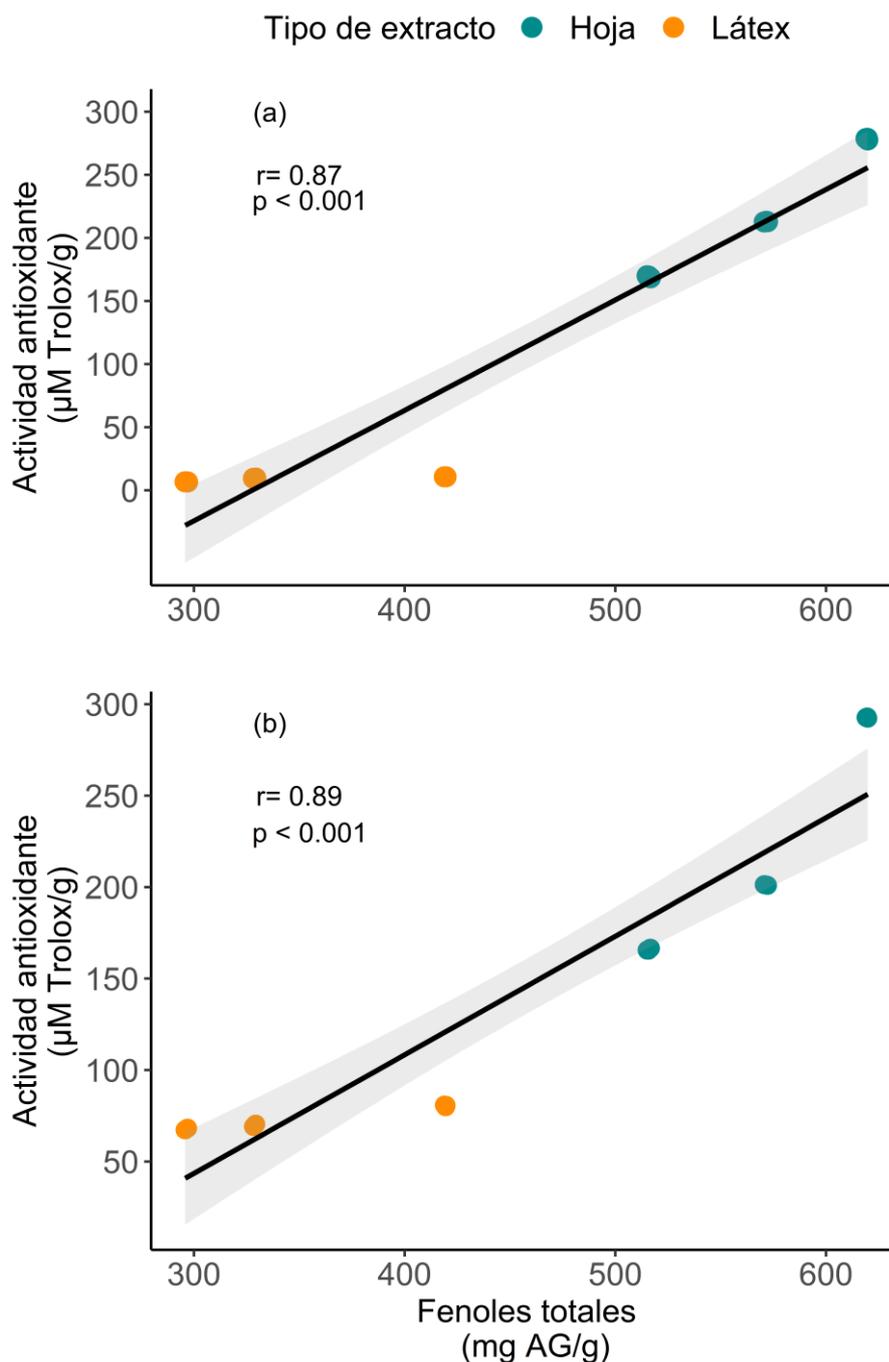


Figura N° 08. Correlación entre la actividad antioxidante y el contenido de fenoles totales de las muestras de hojas y látex de *Brosimum alicastrum* utilizando el método DPPH (a) y ABTS (b)

CAPITULO V. DISCUSIÓN

Ambos métodos usados para evaluar la actividad antioxidante (DPPH y ABTS) mostraron una diferencia marcada entre las hojas y el látex, siendo la hoja la que exhibió la mejor actividad antioxidante. Patrones similares fueron encontrados en estudios que compararon la actividad antioxidante entre las hojas y el látex de *Croton draconoides* ⁽¹⁸⁾ y *Euphorbia helioscopia*, donde las hojas exhibieron un destacado efecto antioxidante en comparación con el látex ⁽⁷¹⁾.

El promedio de TEAC determinado por DPPH fue de 220.20 $\mu\text{mol trolox/g}$ para hojas y 8.97 $\mu\text{mol trolox/g}$ para látex. Dicho resultado indica que los compuestos químicos presentes en las hojas (e.g. fenoles totales) captan los radicales DPPH con mayor eficiencia, en concordancia con lo reportado en un estudio de plantas medicinales en México ⁽²⁵⁾, donde se afirma que *Brosimum alicastrum* es una de las especies con mayor contenido de antioxidantes como los compuestos fenólicos y flavonoides. Por otro lado, la actividad antioxidante reportada en nuestro estudio para el extracto de hoja es 3 veces superior a los valores reportados para hojas de *B. alicastrum* con 67.27 $\mu\text{mol trolox/g}$ ⁽³¹⁾. Sin embargo, nuestros valores son menores a lo reportado para otras especies de la familia Moraceae, como las hojas de *Ficus maxima* que presenta el doble de actividad antioxidante con 443.63 $\mu\text{mol trolox/g}$ ⁽⁷²⁾. Mientras que, los valores de actividad antioxidante del látex del presente estudio fueron bastante inferior a lo mostrado por el látex de *Ficus carica* (27.08 $\mu\text{mol trolox/g}$) ⁽⁷³⁾.

De manera similar, con el método de ABTS el extracto de hoja muestra mayor actividad antioxidante con 219.9 $\mu\text{mol trolox/g}$, mientras que en el extracto de látex presenta una actividad con 72.67 $\mu\text{mol trolox/g}$.

La actividad antioxidante de las hojas de *B. alicastrum* con el método de ABTS (219.9 $\mu\text{mol trolox/g}$) fue 5 veces mayor que los valores reportados para hojas de *B. alicastrum* con el mismo método ABTS en México (38.79 $\mu\text{mol trolox/g}$)⁽³¹⁾. Sin embargo, los valores obtenidos en el presente estudio son bastante inferiores a la actividad antioxidante de las hojas de *Origanum vulgare* “orégano” (800.16 $\mu\text{mol trolox/g}$), una especie de uso común y de alto valor comercial⁽⁷⁴⁾. Por otro lado, la actividad antioxidante del látex de *B. alicastrum*, determinada por ABTS (72.67 $\mu\text{mol trolox/g}$), fue mayor a los valores reportados para el látex del peciolo de la fruta de *Ficus carica* “higo” con 0.296 $\mu\text{mol trolox/g}$ ⁽⁷⁵⁾.

La mayor actividad antioxidante de la hoja de *B. alicastrum*, coincide con un elevado contenido de fenoles totales en las hojas (prueba de Folin-Ciocalteu, 568.92 mg AG/g), en comparación con el látex (348.17 mg AG/g). Dicha concentración de fenoles totales en las hojas es superior a lo reportado para hojas de *Brosimum utile* con 61.83 mg AG/g⁽⁷⁶⁾. Por otro lado, la cantidad de fenoles totales del látex fue ligeramente superior a lo reportado para el látex de la especie *Ficus benghalensis* con 276 GAE/g de extracto⁽⁷⁷⁾.

Estudios previos han demostrado una correlación positiva significativa entre el contenido de fenoles totales y las propiedades antioxidantes en las plantas medicinales⁽⁷⁸⁻⁸⁰⁾. Dicha tendencia también fue observada en el presente estudio (Figura N° 08). Estos hallazgos sugieren que el contenido de fenoles

totales, presente tanto en las hojas como en el látex, contribuye significativamente al potencial antioxidante, debido a que la actividad antioxidante está relacionada con el contenido fenólico de los extractos de plantas, se espera que cuanto mayor sea el contenido fenólico del extracto, mayor será su capacidad antioxidante ⁽⁸¹⁾. Diferentes estudios relacionan la actividad antioxidante con el contenido fenoles totales, y cada compuesto fenólico aporta de diferente forma ⁽²³⁾. Además, estos compuestos fenólicos presentan una estructura química adecuada para realizar una acción antioxidante y actuar como captadores de radicales libres ⁽⁸²⁾.

CAPITULO VI. CONCLUSIONES

En la especie *Brosimum alicastrum*, las hojas poseen mayor actividad antioxidante que el látex: 220.20 ± 0.58 y 8.97 ± 0.05 $\mu\text{mol trolox/g}$ respectivamente según el método DDPH, así como 219.91 ± 0.39 y 72.67 ± 0.53 $\mu\text{mol trolox/g}$ respectivamente según el método ABTS.

La concentración de fenoles totales fue mayor en las hojas (568.92 ± 0.11 mg AG /g) en comparación con el látex (348.17 ± 0.15 mg AG /g). Además, el contenido de fenoles totales estuvo directamente relacionado con la actividad antioxidante encontrada con los métodos de ABTS y DPPH ($r > 0.86$ y $p < 0.01$ en ambos casos).

CAPITULO VII. RECOMENDACIONES

- Realizar estudios de actividad antioxidante de las otras partes vegetativas, corteza y raíz de *Brosimum alicastrum* que puede ser importante para aumentar el conocimiento sobre la especie.
- Realizar ensayos in-vivo con el extracto de hojas de *B. alicastrum*.
- Impulsar la investigación de varias especies vegetales, encontrar alternativas a la medicina y darles un valor añadido a las plantas medicinales de uso tradicional.

CAPITULO VIII. FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Pérez Jiménez J. Efecto de fibra antioxidante de uva en status antioxidante y parámetros de riesgo cardiovascular en humanos. [Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias - Departamento de Química Física Aplica]. España. 2007;
2. Gámez-Villazana J. Avances en la determinación de compuestos bioactivos en alimentos. *Rev Agrollania Cienc Technol.* 2020;19.
3. Navarro-González I, Andreo-Martínez P, García-Martínez N. Beneficios de los compuestos bioactivos del mangostán en la enfermedad de Alzheimer: Revisión narrativa. 2021;
4. Ng ZX, Yong PH, Lim SY. Customized drying treatments increased the extraction of phytochemicals and antioxidant activity from economically viable medicinal plants. *Ind Crops Prod.* noviembre de 2020;155:112815.
5. Gasaly N, Riveros K, Gotteland. Fitoquímicos: una nueva clase de prebióticos. *Rev chil nutr.* abril de 2020;47(2).
6. Arcila-Lozano CC, Loarca-Piña G, Lecona-Uribe S, González de Mejía E. El orégano: propiedades, composición y actividad biológica de sus componentes. *Arch Latinoam Nutr.* 2004;54(1):100-11.
7. García Martínez EM, Fernández Segovia I, Fuentes López A. Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu. 2015 [citado 7 de marzo de 2024]; Disponible en: <https://riunet.upv.es/handle/10251/52056>

8. Zárate-Martínez W, González-Morales S, Ramírez-Godina F, Robledo-Olivo A, Juárez-Maldonado A. Efecto de los ácidos fenólicos en el sistema antioxidante de plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* Mill.). *Agron Mesoamerican*. 2021;854-68.
9. Martínez-Valverde I, Periago MJ, Ros G. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. *Arch Latinoam Nutr*. 2000;50(1):5-18.
10. Zamora MB, Zamora DES, Pérez VM. Leucotrienos y antileucotrienos en medicina basada en la evidencia. *Rev Mex Patol Clínica Med Lab*. 2015;62(3):157-62.
11. Cardeño ÁV, Molina MC, Miranda I, García GT, Morales JM, Stashenko EE. Actividad antioxidante y contenido total de fenoles de los extractos etanólicos de *Salvia aratocensis*, *Salvia Sochensis*, *Bidens reptans* y *Montanoa ovalifolia*. *Sci Tech*. 2007;13(33):205-7.
12. Khamlichi MD. Plantas que producen látex. *Científico*. 1 de junio de 2021;
13. Rengifo Salgado EL, Fachín Malaverri L, Rodríguez del Castillo Á, Palacios Sánchez JL. El conocimiento tradicional para la mejoría de su salud, con especies medicinales en las comunidades indígenas de la etnia Shawi, en la Amazonia peruana. 2020;
14. Cáceres P. Moraceae endémicas del Perú. *Rev Peru Biol*. diciembre de 2006;13(2):456-456.
15. Subiria-Cueto R, Larqué-Saavedra A, Reyes-Vega ML, de la Rosa LA, Santana-Contreras LE, Gaytán-Martínez M, et al. *Brosimum alicastrum* Sw.

- (Ramón): An Alternative to Improve the Nutritional Properties and Functional Potential of the Wheat Flour Tortilla. *Foods*. 24 de noviembre de 2019;8(12):613.
16. Kubra Tokpunar H. Chemical Composition and Antioxidant Properties of Maya nut (*Brosimum alicastrum*). 2010;
17. Peters CM, Pardo-Tejeda E. *Brosimum alicastrum* (Moraceae): uses and potential in Mexico. *Econ Bot*. 1982;36(2):166-75.
18. Vásquez Gonzáles JL. Determinación de la capacidad antioxidante del *Croton draconoides* Muell Arg. (Sangre de grado) de Pucallpa y Tingo María. 2008 [citado 30 de noviembre de 2023]; Disponible en: <http://repositorio.unas.edu.pe/handle/20.500.14292/667>
19. Subiría-Cueto CR. Caracterización fisicoquímica, sensorial y capacidad antioxidante de una tortilla de harina adicionada con *Brosimum alicastrum*. *Prod Investig ICB* [Internet]. 2018 [citado 7 de marzo de 2024]; Disponible en: <http://cathi.uacj.mx/handle/20.500.11961/4446>
20. Osco Mallqui S. Rendimiento en aserrío de *Brosimum alicastrum* en el aserradero y servicios “La Torre” EIRL, Pichanaki–Junín. 2020 [citado 7 de marzo de 2024]; Disponible en: <http://repositorio.uncp.edu.pe/handle/20.500.12894/6990>
21. Moscoso Moscoso E. Determinación de la capacidad antioxidante y compuesto bioactivos de cinco clones de papa nativa (*Solanum tuberosum*) y del puré deshidratado. 2014;

22. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice-Evans C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radic Biol Med.* 1999;26(9-10):1231-7.
23. Kuskoski EM, Asuero AG, Troncoso AM, Mancini-Filho J, Fett R. Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. *Food Sci Technol.* 2005;25:726-32.
24. Losoya-Sifuentes C, Pinto-Jimenez K, Cruz M, Rodriguez-Jasso RM, Ruiz HA, Loredó-Treviño A, et al. Determination of Nutritional and Antioxidant Properties of Maya Nut Flour (*Brosimum alicastrum*) for Development of Functional Foods. *Foods.* enero de 2023;12(7):1398.
25. Crespo FJA, Pérez EC, Estrella JDV, Velazquez MGM, Morales BOO, Crecencio PZ, et al. Vasorelaxant and antioxidant activity of some medicinal plants from Campeche, Mexico. *Pharmacogn Mag.* 2021;17(73):23-30.
26. Aponte Flores DN. Capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales en ficus máxima mill. (pati). Univ Católica Los Ángeles Chimbote [Internet]. 20 de abril de 2021 [citado 6 de octubre de 2023]; Disponible en: <https://repositorio.uladech.edu.pe/handle/20.500.13032/21771>
27. Moo-Huchin VM, Canto-Pinto JC, Cuevas-Glory LF, Sauri-Duch E, Pérez-Pacheco E, Betancur-Ancona D. Effect of extraction solvent on the phenolic compounds content and antioxidant activity of Ramon nut (*Brosimum alicastrum*). *Chem Pap.* julio de 2019;73(7):1647-57.

28. Coutinho A, Dos Santos L, Damasceno E, Soares N. Determinação dos fenóis totais e da atividade antioxidante da *Brosimum gaudichaudii*. BJHP. 26 de agosto de 2019;1(3).
29. De Oliveira Ferreira NS, Rosset M, Lima G, Stuelp Campelo PM, De Macedo REF. Effect of adding *Brosimum gaudichaudii* and *Pyrostegia venusta* hydroalcoholic extracts on the oxidative stability of beef burgers. LWT. julio de 2019;108:145-52.
30. Sathish R, Nachammai V, Pasupathi G, Senthilkumar M. In-Vitro Antiulcer and Antioxidant Activity of Ethanolic Extract of *Ficus racemosa* L. latex. Res J Pharmacol Pharmacodyn. 31 de octubre de 2018;10(4):159-62.
31. Mariel Gullian Klanian, Montserrat Terrats Preciat. Optimization of the Ultrasound-Assisted Extraction of Phenolic Compounds from *Brosimum alicastrum* Leaves and the Evaluation of Their Radical-Scavenging Activity. Molecules. 7 de agosto de 2017;22(8):1286.
32. Cáceres A, Lange K, Cruz SM, Velásquez R, Lima S, Menéndez MC, et al. Assessment of antioxidant activity of 24 native plants used in Guatemala for their potential application in natural product industry. Acta Hort. octubre de 2012;(964):85-92.
33. Ballina-Gómez HS, Iriarte-Vivar S, Orellana R, Santiago LS. Crecimiento, supervivencia y herbivoría de plántulas de *Brosimum alicastrum* (Moraceae), una especie del sotobosque neotropical. Rev Biol Trop. diciembre de 2008;56(4):2055-67.

34. Toledo E. Utilización industrial de nuevas especies forestales en Perú. Rev For Centroam Vol 6 Número 21 Oct-Diciembre Páginas 31-36. 1997;
35. Rojas Hidalgo DL. Ensayo de germinación de *Brosimum alicastrum* “congona machinga”, con tratamientos pre-germinativos, en vivero, Puerto Almendras, Loreto, Perú[Tesis]. 2015;
36. *Brosimum alicastrum*. En: Wikipedia [Internet]. 2023. Disponible en: https://it.wikipedia.org/wiki/Brosimum_alicastrum
37. Alvarez Meza RB. Determinación de los parámetros físicos-químicos en madera preservada de *Brosimum alicastrum* Swartz - SATIPO[Tesis]. 2009;
38. Taboada Rodriguez RA. Clasificación estructural de la especie forestal machinga «*Brosimum alicastrum*». 2004;
39. Arévalo Guerra H, Dávila Cardozo N, Del Castillo Torres D. Manchinga: Planta potencial en la lucha contra el hambre y la anemia. Attalea. 31 de marzo de 2022;
40. Pennington TD, Sarukhán J. Árboles tropicales de México: manual para la identificación de las principales especies. UNAM; 2005. 530 p.
41. Gaibor DV. Determinación de la actividad gastroprotectora de savia de Sande (*Brosimum utile*) en ratas (*Rattus norvegicus*) con lesiones gástricas inducidas. 2014;20.
42. Yanes CV, Muñoz AB, Alcocer MI, Silva MGDYC, Dirzo S. Árboles y arbustos nativos potencialmente valiosos para la restauración ecológica y

- la reforestación. México DF México Inst Ecol Univ Nac Autónoma México. 2001;
43. Wanjau S, Mukalama J, Thijssen R. Transferencia de biomasa: Cosecha gratis de fertilizante. Bol ILEIA. 1998;13(3):25.
 44. Pardo Tejeda E, Sánchez Muñoz C. *Brosimum alicastrum*: a potentially valuable tropical forest resource. Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos. México; 1981.
 45. Murillo F. Actividad antioxidante in vitro de las bebidas de frutas. *Bebidas Mex*. 2006;15:20-7.
 46. Viada Pupo E, Gómez Robles L, Campaña Marrero IR. Estrés oxidativo. *Correo Científico Méd*. 2017;21(1):171-86.
 47. Tovar Del Rio J. Determinación de la actividad antioxidante por DPPH Y ABTS de 30 plantas recolectadas en la cafetera. 2013;
 48. Quispe Espinoza M, Rojas Moncada A. Actividad antioxidante del extracto alcohólico de hojas de *Verbena littoralis* Kunth (verbena) en Iquitos, Loreto, Perú. 2013;
 49. Wink M. *Biochemistry of plant secondary metabolism*. Vol. 2. CRC Press; 1999.
 50. Nascimento NC do, Fett-Neto AG. Plant secondary metabolism and challenges in modifying its operation: an overview. *Plant Second Metab Eng Methods Appl*. 2010;1-13.

51. Harborne JB. Methods in plant biochemistry. Volume 1. Plant phenolics. Academic Press Ltd.; 1989.
52. Herms DA, Mattson WJ. The dilemma of plants: to grow or defend. Q Rev Biol. 1992;67(3):283-335.
53. Cheynier V. Phenolic compounds: from plants to foods. Phytochem Rev. junio de 2012;11(2-3):153-77.
54. Sellappan S, Akoh CC, Krewer G. Phenolic compounds and antioxidant capacity of Georgia-grown blueberries and blackberries. J Agric Food Chem. 2002;50(8):2432-8.
55. Valenzuela Bustamante PD. Evaluación de la actividad antioxidante y determinación del contenido de fenoles totales y flavonoides de hojas de diferentes genotipos de Ugni molinae Turcz. 2015;
56. Mercado Sánchez JM. Determinación de la capacidad antioxidante de flavonoides de plantas medicinales e identificación por electroforesis capilar.
57. Brand-Williams W, Cuvelier ME, Berset C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT - Food Sci Technol. 1995;28(1):25-30.
58. Sucupira NR, da Silva AB, Pereira G, da Costa JN. Métodos para determinação da atividade antioxidante de frutos. J Health Sci. 2012;14(4).
59. Alam MdN, Bristi NJ, Rafiquzzaman Md. Review on in vivo and in vitro methods evaluation of antioxidant activity. Saudi Pharm J. 1 de abril de 2013;21(2):143-52.

60. Cerón L, López I. Extracción y cuantificación de compuestos con actividad antioxidante a partir de cáscaras de tres variedades de papa (*Solanum Tuberosum*) en el departamento de Nariño. 2013;
61. Font Quer P. Diccionario de botánica. *Lingua*. 1953;15:95.
62. Avello M, Suwalsky M. Radicales libres, antioxidantes naturales y mecanismos de protección. *Atenea Concepc*. 2006;(494):161-72.
63. Abril Díaz N, Bárcena Ruiz A, Fernández Reyes E, Galván Cejudo A, Jorrín Novo J, Peinado Peinado J, et al. Espectrofometría: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas. *Dep Bioquímica Biol Mol*. :1-8.
64. Creus EG. Compuestos fenólicos. *Offarm*. 2004;23(6):80-4.
65. Rodríguez-Gutiérrez I, Domínguez-Rebolledo Á, Loeza-Concha H, Castellanos-Zacarías C, Tun-Moo M, Ramón-Ugalde J. Efecto de los antioxidantes Trolox y Crocina sobre la criopreservación del semen de ovino Pelibuey. *Abanico Vet*. 2021;10(1):1-9.
66. Nobre DAC, Macedo WR, Silva GH, Lopes LS, Jaimes EHL. Aplicación y efecto antioxidante del ácido gálico sobre la calidad de semillas de trigo. *Rev Ciênc Agrár*. 3 de febrero de 2019;42(1):22-9.
67. Lamuela-Raventós RM. Folin–Ciocalteu method for the measurement of total phenolic content and antioxidant capacity. 15 de diciembre de 2017;107-15.

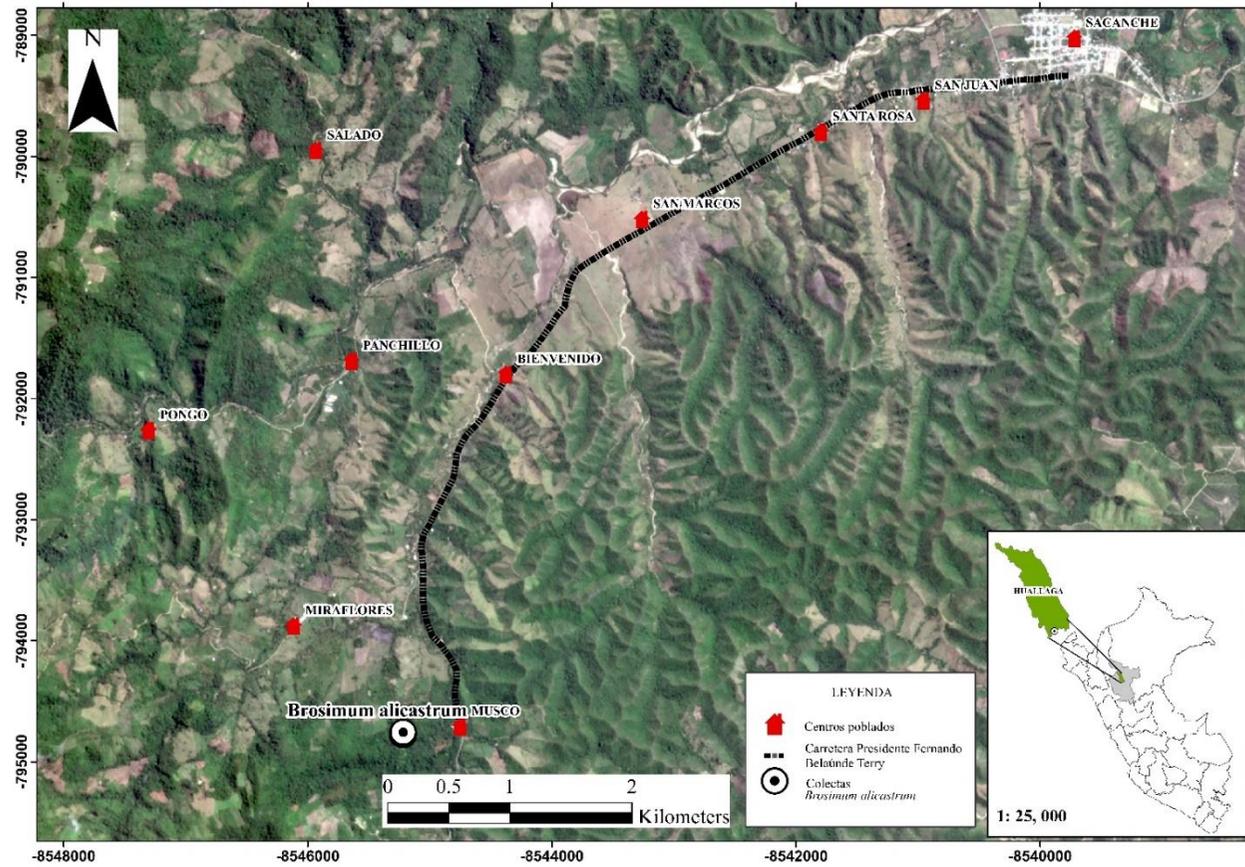
68. Sharma OP, Bhat TK. DPPH antioxidant assay revisited. *Food Chem.* 2009;113(4):1202-5.
69. Mensor LL, Menezes FS, Leitão GG, Reis AS, Santos TC dos, Coube CS, et al. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant activity by the use of DPPH free radical method. *Phytother Res.* 2001;15(2):127-30.
70. Rezaire A, Robinson JC, Bereau D, Verbaere A, Sommerer N, Khan MK, et al. Amazonian palm *Oenocarpus bataua* ("patawa"): Chemical and biological antioxidant activity–Phytochemical composition. *Food Chem.* 2014;149:62-70.
71. Saleem U, Hussain K, Ahmad M, Irfan Bukhari N, Malik A, Ahmad B. Physicochemical and phytochemical analysis of *Euphorbia helioscopia* (L.). *Pak J Pharm Sci [Internet]*. 2014 [citado 30 de noviembre de 2023];27(3). Disponible en: <https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&profile=ehost&scope=site&authtype=crawler&jrnl=1011601X&AN=96087989&h=g%2BMZFWHefP2qCnF0QuZGoY0SSp4sSH0TedsL%2BRqDJA9HgZQJRAhQKShKMv2yx9YXorl3oTDYbr2V9Cyzlanu7w%3D%3D&crl=c>
72. Aponte Flores DN. Capacidad antioxidante y contenido de polifenoles totales en ficus máxima mill.(pati). [citado 30 de noviembre de 2023]; Disponible en: <http://repositorio.uladech.edu.pe/handle/20.500.13032/21771>

73. Shahinuzzaman M, Yaakob Z, Anuar FH, Akhtar P, Kadir NHA, Hasan AM, et al. In vitro antioxidant activity of *Ficus carica* L. latex from 18 different cultivars. *Sci Rep.* 2020;10(1):10852.
74. Fukalova T, Brito B, Novoa T, Samaniego I, Tapia I. Comparative Analysis of the Physicochemical Properties and Antioxidant Capacity of a Morphotype Of Oregano (*O. Vulgare* L.) Cultivated in Two Locations of the Ecuadorian Sierra. *Mod Sci J [Internet]*. 2022 [citado 30 de noviembre de 2023];11(1). Disponible en: <https://journals.modernsciences.org/index.php/msj/article/view/17>
75. Paşayeva L, Özalp B, Fatullayev H. Potential enzyme inhibitory properties of extracts and fractions from fruit latex of *Ficus carica*-based on inhibition of α -amylase and α -glucosidase. *J Food Meas Charact.* octubre de 2020;14(5):2819-27.
76. de Jesús Padilla F, Rincón AM, Rached LB, Suárez A. *Protium neglectum*, *Podocalyx loranthoides*, and *Brosimum utile* source of flavonoids and other phenolic compounds with antioxidant activity. *Rev Fac Farm.* 2008;71(1):8-17.
77. Bandekar H, Nagavekar N, Lele SS. Studies on Banyan (*Ficus benghalensis* L.): Characterization of fruit and callus induction. 2013 [citado 30 de noviembre de 2023]; Disponible en: <https://nopr.niscpr.res.in/handle/123456789/20945>
78. Price CC, Altice FL, Shyr Y, Koff A, Pischel L, Goshua G, et al. Tocilizumab treatment for cytokine release syndrome in hospitalized patients with

- coronavirus disease 2019: survival and clinical outcomes. *Chest*. 2020;158(4):1397-408.
79. Abdel-Aty AM, Hamed MB, Salama WH, Ali MM, Fahmy AS, Mohamed SA. Ficus carica, Ficus sycomorus and Euphorbia tirucalli latex extracts: Phytochemical screening, antioxidant and cytotoxic properties. *Biocatal Agric Biotechnol*. 2019;20:101199.
80. Katalinic V, Milos M, Kulisic T, Jukic M. Screening of 70 medicinal plant extracts for antioxidant capacity and total phenols. *Food Chem*. 2006;94(4):550-7.
81. Hernández-Moreno LV, Salazar JR, Pabón LC, Hernández-Rodríguez P, Hernández-Moreno LV, Salazar JR, et al. Actividad antioxidante y cuantificación de fenoles y flavonoides de plantas colombianas empleadas en infecciones urinarias. *Rev UDCA Actual Amp Divulg Científica [Internet]*. junio de 2022 [citado 8 de marzo de 2024];25(1). Disponible en: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S0123-42262022000100016&lng=en&nrm=iso&tlng=es
82. Ricco RA, Wagner ML, Portmann E, Reides C, Llesuy S, Gurni AA, et al. Análisis de polifenoles, actividad antioxidante y genotoxicidad en especies argentinas de Lippia y Aloysia (Verbenaceae). *Bol Latinoam Caribe Plantas Med Aromáticas*. 2010;9(5):388-96.

ANEXOS

Anexo N° 01. Mapa de los puntos de muestreo



Anexo N° 02. Curva de calibración con el método DPPH y antioxidante Trolox

[] Trolox (μM)	% Inhibición
5	11.506
10	22.897
15	34.612
20	47.465
25	58.515
30	71.027

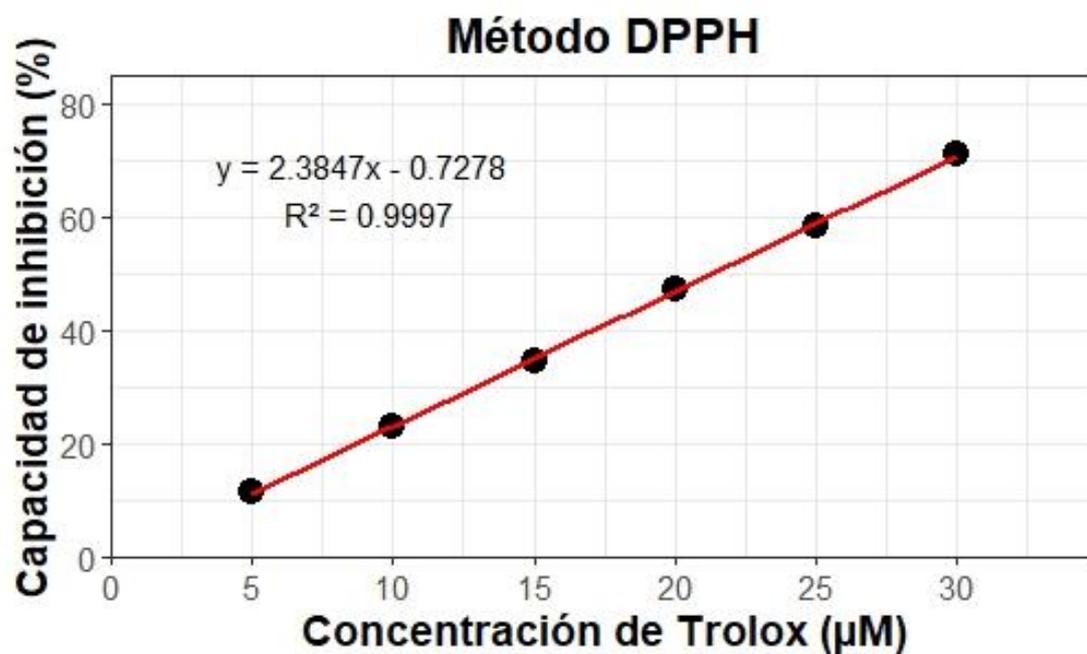


Figura N° 09. Curva de calibración de regresión lineal del método DPPH

Anexo N° 03. Curva de calibración con el método ABTS y antioxidante Trolox

[] Trolox (μM)	% Inhibición
4	36.887
6	45.081
8	55.240
10	63.587
12	73.843
14	82.748

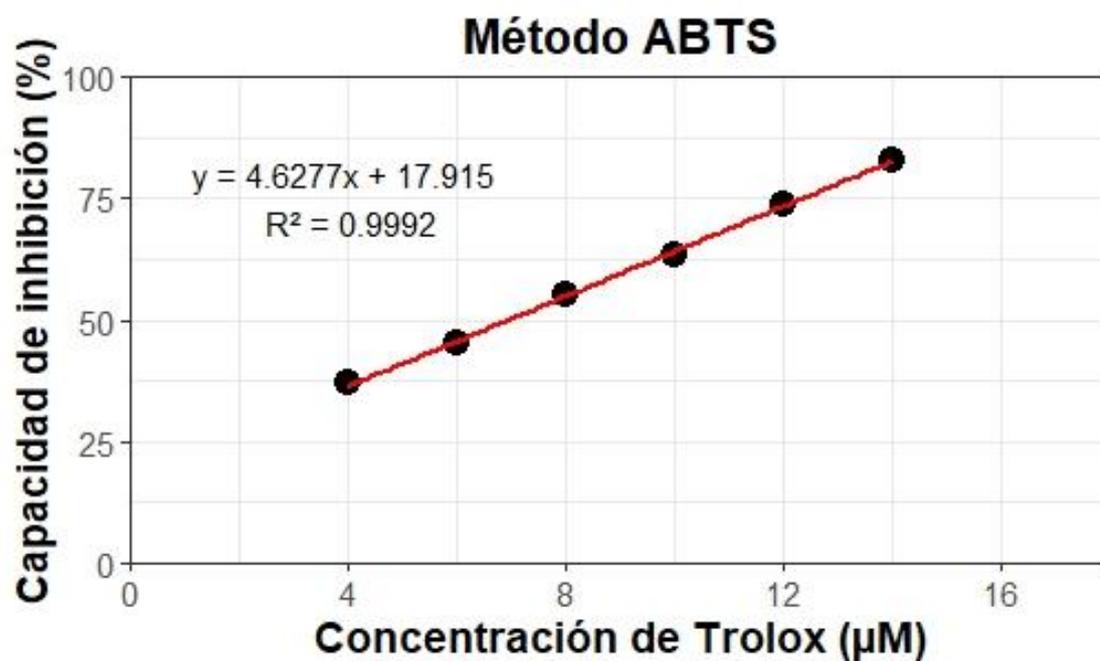


Figura N° 10. Curva de calibración de regresión lineal del método ABTS

Anexo N° 04. Curva de calibración con el método Folin-Ciocalteu y ácido gálico

[] Ác. gálico (µg/mL)	Absorbancia
10	0.0717
30	0.2298
50	0.3982
80	0.6517
100	0.8237

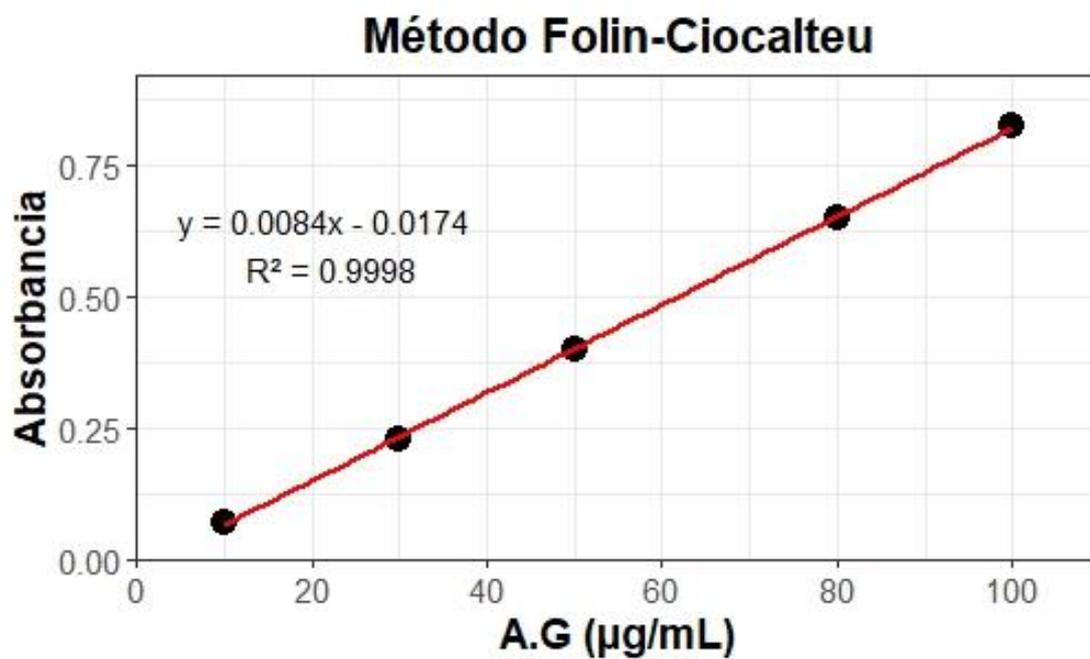


Figura N° 11. Curva de calibración de regresión lineal del método Folin-Ciocalteu

Anexo N° 05. Fotos de individuos colectados



Figura N° 12. Muestra SPR 01



Figura N° 13. Muestra SPR 02



Figura N° 14. Muestra SPR 03

Anexo N° 06. Selección de hojas en campo



Figura N° 15. Hojas seleccionadas de la muestra SPR 01



Figura N° 16. Hojas seleccionadas de la muestra SPR 02



Figura N° 17. Hojas seleccionadas de la muestra SPR 03

Anexo N° 07. Selección de área del tronco para la colecta de látex



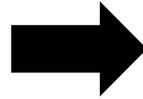
Anexo N° 08. Colecta de látex de *Brosimum alicastrum*



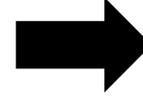
Anexo N° 09. Procedimiento de preparación del extracto de hojas (I)



Secado de hojas en estufa a 35° por 72 horas



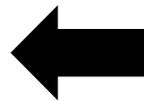
Hojas secas



Micropulverizado en licuadora industrial Waring



Pesado de hojas pulverizadas

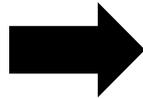


Se guardó en bolsas Ziploc

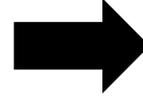
Anexo N° 10. Procedimiento de preparación del extracto de hojas (II)



Se pesó 20 g de hoja pulverizada en un matraz



Se agregó etanol



Se maceró con etanol durante 24 horas



Proceso de filtrado



Se concentró en rotavapor



Se extrajo el resultado

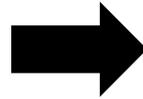


Posteriormente se liofilizó

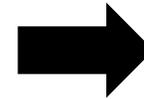
Anexo N° 11. Procedimiento de preparación del extracto de látex



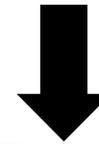
Se pulverizó en un mortero el látex liofilizado



Se pesó 10 g de látex pulverizado en un matraz



Se maceró con etanol durante 24 hora



Proceso de filtrado



Se concentró en un rotavapor

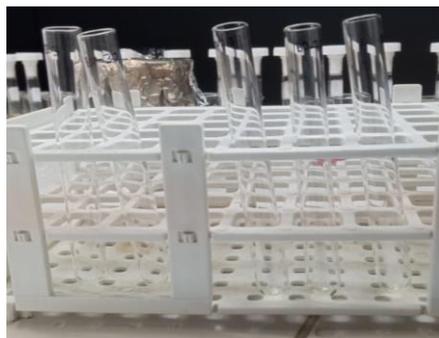


Se extrajo el resultado



Posteriormente se liofilizó

Anexo N° 12. Ensayo de actividad antioxidante mediante el método DPPH



Se utilizó 5 tubos de 5 x 100 mm



Se agregó 200 μ L de solución madre, excepto al control



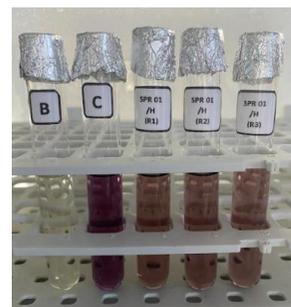
Se agregó metanol



Se adiciono DPPH de 200 μ M, excepto al blanco



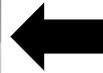
Se homogenizó



Muestras en reacción

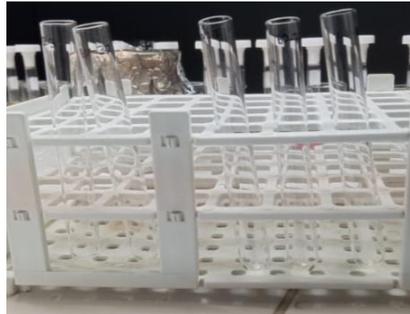


Se realizó la lectura después 30 min a 515 nm

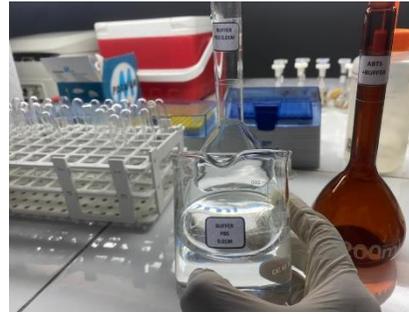


Cubetas después de la lectura

Anexo N° 13. Ensayo de actividad antioxidante mediante el método ABTS



Se utilizó 5 tubos de 5 x 100 mm



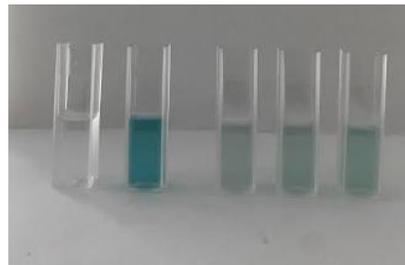
Se preparó el blanco con MeOH 80% + Buffer PBS 0.01



Se agregó 30 μ L de solución madre, excepto al control y blanco



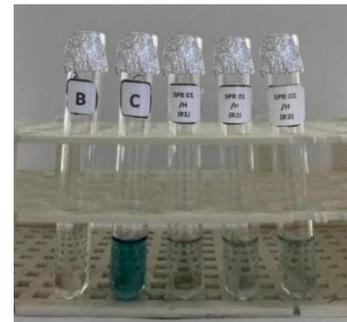
Se adiciono ABTS+Buffer, excepto al blanco



Cubetas después de la lectura



Se realizó la lectura después 7 min a 734nm

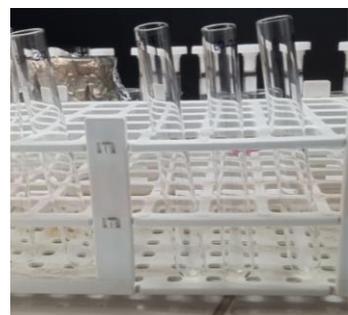


Muestras en reacción



Se homogenizó

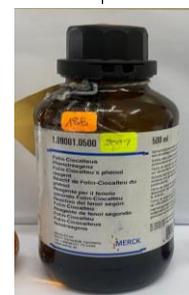
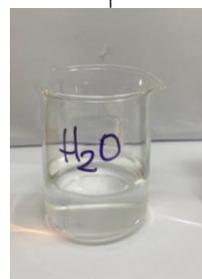
Anexo N° 14. Ensayo de contenido de fenoles totales mediante el método de Folin-Ciocalteu



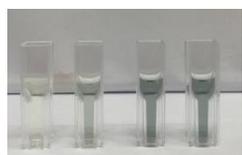
Se utilizó 4 tubos de 5 x 100 mm



Se agregó 60 µL de solución madre, excepto al blanco



Se agregó H₂O MQ y el reactivo Folin dejando reposar por 3 min



Cubetas después de la lectura



Se realizó la lectura a 760 nm



Se calentó en baño maría a 40° por 20 min y luego se enfrió



Se homogenizó



Se agregó Na₂CO₃ 20 %

Anexo N° 15. Constancia de determinación de las muestras



PERÚ

Ministerio
del Ambiente

Instituto de
Investigaciones de la
Amazonia Peruana - IIAP



"Decenio de la igualdad de oportunidades para mujeres y hombres"
"Año de la unidad, la paz y el desarrollo"

CONSTANCIA N° 0002-HH-IIAP-2023 DETERMINACIÓN DE MUESTRAS BOTÁNICAS

El Herbario Herrerense (HH) del Instituto de Investigaciones de la Amazonia Peruana (IIAP) – Sede Iquitos, reconocida como Institución Científica Nacional Depositaria de Material Biológico (Cód. Aut. N° AUT-ICND-2016-007 y RDG N° 157-2016-SERFOR/DGGSPFFS).

Hace constar que, a solicitud de la bachiller **Siria Rosina Portalanza Rojas** con DNI 76397561, egresada de la **Facultad de Ciencias Biológicas**, Escuela profesional de **Ciencias Biológicas** de la **Universidad Nacional de la Amazonia Peruana (UNAP)**, región Loreto. Se proporciona la determinación de tres especímenes colectados bajo la ejecución de la tesis de pregrado titulada "*Actividad antioxidante y contenido de fenoles totales de la hoja y látex de Brosimum alicastrum Sw. (Moraceae) procedente del Distrito de Sacanche, San Martín – 2022*".

Las cuales fueron identificadas en el Herbario Herrerense (HH), que a continuación se indican:

Muestra	Código de colecta	Familia	Especie	Nombre común
1	SPR 01	Moraceae	<i>Brosimum alicastrum Sw.</i>	"manchinga"
2	SPR 02	Moraceae	<i>Brosimum alicastrum Sw.</i>	"manchinga"
3	SPR 03	Moraceae	<i>Brosimum alicastrum Sw.</i>	"manchinga"

Sin otro particular, se expide el presente documento a solicitud de la interesada para los fines convenientes.


BLO. CARLOS GABRIEL
HIDALGO PIZANGO
CBP. 10305

Carlos Gabriel Hidalgo Pizango
Investigador Dirección BOSQUES
IIAP

Iquitos, 24 de noviembre del 2023



OFICINA IQUITOS - LORETO - PERU
Av. Abelardo Quiñones km. 2.5 S/N San Juan Bautista
E-mail: presidencia@iiap.gob.pe
OFICINA DE COORDINACIÓN - LIMA - PERU
Av. Larco 900, OX.501, Miraflores.
E-mail: iaoch@iiap.gob.pe

