



UNAP



**FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS
ESCUELA DE FORMACIÓN PROFESIONAL DE
BROMATOLOGÍA Y NUTRICIÓN HUMANA**

TESIS

**“ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y COMPUESTOS FENÓLICOS
DE LA HOJA Y LÁTEX DEL *Jatropha curcas* (PIÑÓN
BLANCO)”**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE
LICENCIADO(A) EN BROMATOLOGÍA Y NUTRICIÓN
HUMANA**

Presentado por:

**REYNA ISABEL RODRÍGUEZ LÓPEZ
CESIAH DEVORA VEGA VALLES**

Asesor (es):

**Ing. ALENGUER GERÓNIMO ALVA ARÉVALO, Dr.
Blga. JESSY PATRICIA VÁSQUEZ CHUMBE, Mgr.**

Iquitos, Perú

2019



UNAP

FACULTAD DE INDUSTRIAS ALIMENTARIAS

Escuela de Formación Profesional de Bromatología y
Nutrición Humana

ACTA DE SUSTENTACIÓN

En la ciudad de Iquitos, siendo las 09.00 horas del día 28 de febrero del 2019, en las instalaciones de la Sala de Reuniones de la Decanatura, ubicado en el Campus SL11 Puerto Almendra de la Facultad de Industrias Alimentarias sito al margen derecho del río Nanay, Distrito de San Juan Bautista, Provincia de Maynas, Departamento de Loreto, se dio inicio a la sustentación pública de la Tesis: **“ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y COMPUESTOS FENOLICOS DE LA HOJA Y LATEX DEL *Jatropha curcas* (PIÑÓN BLANCO)”**, presentado por las Bachilleres **Reyna Isabel Rodríguez López y Cesiah Devora Vega Valles**, con el asesoramiento de don Alenguer Gerónimo Alva Arévalo, doña Jessy Patricia Vásquez Chumbe

Estando el Jurado Calificador conformado por los siguientes miembros, según Resolución Decanal N° 051-FIA-UNAP-2019, del 25 de febrero del 2019.

Ing°	JORGE AUGUSTO TORRES LUPERDI	:	Presidente
Ing°	JORGE LUIS CARRANZA GONZALES	:	Miembro
Lic°	MIRIAM RUTH ALVA ANGULO	:	Miembro

Siendo las 10.00 horas del mismo día, se dio por concluida la sustentación, habiendo sido APROBADA con la nota de 17 y el calificativo de Muy Buena, estando las bachilleres aptas para obtener el Título Profesional de Licenciadas en Bromatología y Nutrición Humana.

El Jurado Calificador alcanzará a la sustentante, si el caso lo requiere, las correcciones u observaciones presentadas.


Presidente
Jorge Torres Luperdi
 Ingeniero en Industrias Alimentarias
 CIP: 23850


Miembro
Jorge Luis Carranza González
 Ingeniero en Industrias Alimentarias
 CIP: 1113


Miembro
Miriam Ruth Alva Angulo
 Licenciada en Nutrición
 C.N. N° 0130


Asesor
Alenguer Gerónimo Alva Arévalo
 Ingeniero en Industrias Alimentarias
 CIP: 1113



Asesor
Blga. Jessy Vásquez Chumbe
 CBP: 2094



MIEMBROS DEL JURADO

Tesis aprobada en la sustentación publicada el 28 de Febrero del 2019 por el jurado nombrado por la dirección de escuela de Formación profesional de Bromatología y Nutrición Humana para optar el título de:

LICENCIADA (O) EN BROMATOLOGÍA Y NUTRICIÓN HUMANA



.....
ING. JORGE AUGUSTO TORRES LUPERDI

PRESIDENTE



.....
ING. JORGE LUIS CARRANZA GONZALES

MIEMBRO



.....
LIC. MIRIAM RUTH ALVA ANGULO

MIEMBRO

AUTORIZACIÓN DE ASESORES

El Dr. Alenguer Gerónimo Alva Arévalo, docente principal del Departamento de Ingeniería de Alimentos, de la Facultad de Industrias Alimentarias y la Blga. Jessy Vásquez Chumbe docente principal de la Facultad de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana.

INFORMAMOS:

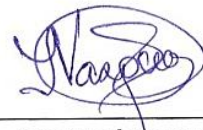
Que las Bachilleres Rodríguez López Reyna Isabel y Vega Valles Cesiah Débora, han realizado bajo nuestra dirección, la tesis intitulada: "ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE COMPUESTOS FENOLICOS DE LA HOJA Y LATEX DEL *Jatropha curcas* (PIÑON BLANCO)". Considerando que el mismo reúne los requisitos necesarios para ser presentado ante el Jurado Calificador, a tal efecto para la obtención del título de Licenciado en Bromatología y Nutrición humana.

AUTORIZAMOS:

A las citadas Bachilleres a presentar el trabajo Final de la Carrera, para proceder a su sustentación cumpliendo así con la normativa vigente que regula los Grados y títulos de la Facultad de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana.



DR. ALENGUER GERÓNIMO ALVA ARÉVALO



BLGA. JESSY VÁSQUEZ CHUMBE

DEDICATORIA

Le dedicamos en primer lugar al forjador de nuestro camino, a nuestro padre celestial, el que siempre nos acompaña y a la vez nos levanta de un tropiezo para seguir luchando por nuestros sueños, y finalmente a nuestras familias, principalmente a nuestras madres que han sido un pilar fundamental en nuestra formación personal como profesional, por brindarnos la confianza, consejos, oportunidades y recursos para lograrlo con todo el amor del mundo.

Reyna Isabel y Cesiah Devora

AGRADECIMIENTO

En primera instancia agradecemos a Dios por darnos la vida, salud y por su inmensa gracia, de poder cumplir y concluir con esta etapa de nuestra vida profesional.

Agradecemos a nuestras mamás por día a día darnos los ánimos para continuar nuestras carreras y nunca dejar de confiar en nosotras.

A nuestros docentes de la Universidad Nacional de la Amazonia Peruana, personas de gran sabiduría, por las ganas de transmitirnos sus conocimientos y ayudarnos a culminar con éxitos nuestros estudios universitarios.

Al Dr. Alenguer Gerónimo Alva Arévalo y la Blga. Jessy Patricia Vásquez Chumbe Mgr., gracias por sus asesoramientos, quienes se han esforzado en brindarnos todos sus conocimientos y la dedicación que los ha regido, hemos podido lograr uno de nuestros objetivos, como culminar el desarrollo de nuestra tesis con éxito y obtener una afable titulación profesional.

Reyna Isabel Rodríguez López
Cesiah Devora Vega Valles

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág.
PORTADA.....	i
ACTA DE SUSTENTACIÓN	ii
MIEMBROS DEL JURADO.....	iii
AUTORIZACIÓN DE ASESORES	iv
DEDICATORIA.....	v
AGRADECIMIENTO	vi
ÍNDICE DE CONTENIDO	vii
ÍNDICE DE CUADROS.....	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	x
ÍNDICE DE ANEXOS.....	xi
RESUMEN.....	xii
ABSTRACT	xiii
INTRODUCCIÓN.....	1
CAPÍTULO I. MARCO TEÓRICO	2
1.1. ANTECEDENTES	2
1.2. BASES TEORICAS	4
1.3. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS	33
CAPÍTULO II. HIPÓTESIS Y VARIABLES	37
2.1. FORMULACIÓN DE LA HIPÓTESIS.....	37
2.1.1. Hipótesis General	37
2.2. VARIABLES Y SU OPERACIONALIZACION	37
2.2.1. Variables.....	37
2.2.2. Operacionalización de las variables	38
CAPÍTULO III: METODOLOGÍA	39
3.1. TIPO Y DISEÑO.....	39
3.2. DISEÑO MUESTRAL	40
3.3. PROCEDIMIENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS	40
3.3.1. Recolección de la Muestra Vegetal y obtención de extractos etanólico.	40
3.4. PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE LOS DATOS	43
3.4.1. Equipos y materiales.....	43

3.4.2. Evaluación de la actividad antioxidante por el método 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH).	45
3.4.3. Preparación del extracto etanólico.	46
3.4.4. Determinación de fenoles totales.	47
3.4.5. Determinación de antocianinas, por el método pH diferencial. ...	47
3.4.6. Determinación de flavonoides.	49
3.4.7. Determinación de flavonoides.	50
3.4.8. Determinación taninos.	50
3.4.9. Análisis de datos para la determinación de la actividad antioxidante.	50
3.5. ASPECTOS ÉTICOS	51
CAPÍTULO IV. RESULTADOS	52
4.1. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LA ESPECIE <i>Jatropha curcas</i> (PIÑÓN BLANCO).	52
4.1.1. Extracción Etanólica de las diferentes partes de <i>Jatropha</i> <i>curcas</i>	52
4.2. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LA JATROPHA CURCAS.	52
4.2.1. Actividad Antioxidante de la Hoja de la <i>Jatropha curcas</i>	52
4.2.2. Actividad Antioxidante del Látex de la <i>Jatropha curcas</i>	54
4.3. DETERMINACION DE COMPUESTOS FENOLICOS DEL EXTRACTO ETANOLICO DE ESPECIE <i>Jatropha curcas</i> (PIÑÓN BLANCO).	56
4.3.1. Compuestos Fenólicos del Látex de <i>Jatropha Curcas</i> (Piñón Blanco)	59
CAPÍTULO V: DISCUSIÓN.....	62
CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES	65
CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES	66
CAPÍTULO VIII: FUENTES DE INFORMACIÓN	67
ANEXOS	78

ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
Cuadro N°1: Extractos para la determinación antioxidante de la hoja y el látex de la especie <i>Jatropha curcas</i> (piñón blanco)	52
Cuadro N°2: Promedio de lecturas del espectrofotómetro de la hoja del piñón blanco	52
Cuadro N°3: Promedio de lecturas del espectrofotómetro del látex del piñón blanco	54
Cuadro N°4: Resumen del contenido de fenoles totales (FT), taninos, antocianinas y flavonoides presentes en la hoja del piñón blanco.....	58
Cuadro N°5: Resumen del contenido de fenoles totales (FT), taninos, antocianinas y flavonoides presentes en el látex del piñón blanco.....	59

ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura N°1: Jatropha curcas (Piñón blanco)	4
Figura N°2: Estructura básica del Fenol	16
Figura N°3: Estructura básica de un flavonoide	22
Figura N°4: Flavonoides, Estructura básica y tipos	23
Figura N°5: Características estructurales de los principales tipos de flavonoides	24
Figura N°6: Estructura de un tanino	26
Figura N°7: Estructura ácido gálico	27
Figura N°8: Estructura flavan-3,4-diol	28
Figura N°9: Mecanismo de reacción de vainillina con taninos.	29
Figura N°10: Obtención del extracto Etanólico y determinación de antioxidantes de la Jatropha curcas	42
Figura N°11: Curva de inhibición de las concentraciones del extracto etanolito de la hoja del piñón blanco	53
Figura N°12: Concentración mínima al 25% de AA de la hoja de piñón	54
Figura N°13: Concentración mínima al 95% de AA del látex de piñón blanco	55
Figura N°14: Concentración mínima al 25% de AA del látex de piñón blanco	55
Figura N°15: Curva padrón de ácido gálico para cálculo de fenoles totales	56
Figura N°16: Curva estándar de taninos par cálculo de Taninos	57
Figura N°17: Compuestos fenólicos presentes en la hoja del piñón blanco	58
Figura N°18: Compuestos fenólicos presentes en el látex del piñón blanco	60

ÍNDICE DE ANEXOS

	Pág.
Anexo N°1. Cálculo de la captura de radicales libres por el método del DPPH de la hoja y látex del piñón blanco (promedio de 30 medidas).....	77
Anexo N°2. Datos obtenidos para la captura de radicales libres a diferentes concentraciones del látex del piñón blanco	78
Anexo N°3. Datos para la obtención de fenoles totales del látex del piñón blanco	83
Anexo N°4. Datos para la obtención de flavonoides del látex del piñón blanco	83
Anexo N°5. Datos para la obtención de taninos del látex del piñón blanco.....	84
Anexo N°6. Datos para la obtención de antocianinas del látex del piñón blanco	84
Anexo N°7. Datos para la obtención de antocianinas de la hoja del piñón blanco	86
Anexo N°8. Datos para obtener en diferentes concentraciones del DPPH de la hoja del piñón blanco	88
Anexo N°9. Control del DPPH de la hoja del piñón blanco.	93
Anexo N°10. Datos para la obtención de fenoles totales del piñón blanco.....	94
Anexo N°11. Datos para la obtención de flavonoides del piñón blanco.....	94
Anexo N°12. Datos para la obtención taninos de la hoja del piñón blanco.....	95
Anexo N°13. Galería de fotos	96

RESUMEN

En el actual trabajo de investigación se analizó la actividad antioxidante y compuestos fenólicos del extracto etanólico del látex y la hoja de la especie *Jatropha curcas* (piñón blanco) recolectado en el Centro Experimental de Plantas Medicinales de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la UNAP. Para el análisis de los antioxidantes se empleó el extracto etanólico acidificado con 1% de ácido fórmico, mediante la prueba del DPPH en un espectrofotómetro UV-vis donde se encontró una elevada Actividad Antioxidante (AA) de la hoja a una concentración de (5 mg, en un promedio de absorción de 0.016 % y de inhibición 90.02%), y en (100 gr de muestra original se obtuvo 1,568.53mg de fenoles totales) en el látex se encontró una elevada cantidad de actividad de antioxidantes en concentración de 5 mg, en un promedio de absorción de 0.016 % y de inhibición 95.48%, y en 100 gr de muestra original se obtuvo 2,943.91 mg de fenoles totales.

Palabras Clave: *Jatropha curcas*, antioxidante, compuestos fenólicos.

ABSTRACT

In the current research work the antioxidant activity and phenolic compounds of the ethanolic extract of the latex and the leaf of the species *Jatropha curcas* (white pinion) collected in the Experimental Center of Medicinal Plants of the Faculty of Agronomic Sciences of the UNAP were analyzed. For the analysis of the antioxidants, the ethanolic extract acidified with 1% formic acid was used, by means of the DPPH test in a UV-vis spectrophotometer where a high Antioxidant Activity (AA) of the leaf was found at a concentration of (5 mg , in an average of absorption of 0.016% and inhibition 90.02%), and in (100 g of original sample was obtained 1,568.53 mg of total phenols) in the latex was found a high amount of antioxidant activity in concentration of 5 mg, in an average of absorption of 0.016% and of inhibition 95.48%, and in 100 g of original sample, 2,943.91 mg of total phenols were obtained.

Keywords: *Jaropha curcas*, antioxidant, phenolic compounds

INTRODUCCIÓN

El Perú se caracteriza por tener una gran cantidad de pisos climáticos, esto debido a la variabilidad de su geografía, cada una de ellas con su propia flora y fauna que lo caracteriza y que son usados por los pobladores en su vivienda, comida, salud de una manera responsable con su medio ambiente.

Las especies vegetales utilizados como plantas medicinales han revelado tener gran potencial como fuente de anti infectivos, antioxidantes, etc.; esto se debe a la presencia de moléculas biológicamente activas producidos por metabolitos secundarios; muchos de los cuales presentan actividad antifúngica y antibacteriana. Según Kuhnau (1976), los compuestos responsables son flavonoides, cumarinas, quinonas, alcaloides, glucósidos de fenoles y saponinas.

Los taninos tienen propiedades astringentes y antiinflamatorias, acción antioxidante, antihemorrágica; sin embargo, también son considerados sustancias antinutritivas. Los alcaloides tienen múltiple acción fisiológica como antiespasmódico, estimulante, sedante, hipnótico, emético, expectorante, antipirético, estimulante cardíaco, diurético, midriático, tónico, emenagogo, relajante muscular, antitumoral, etc. (Lock, 1997).

A los flavonoides se le utilizaron simultáneamente como colorantes de lana y actualmente se usan en la conservación de grasas o bebidas de frutas, por sus propiedades antioxidantes de algunas polihidroxi flavonas. También se usa como edulcorantes, insecticida (rotenona), etc.

CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

1.1. ANTECEDENTES

Con el avance de la ciencia y la tecnología, el mundo se enfrenta a enormes desafíos que no excluyen a los países de América Latina. Ante el reto de superar nuestras grandes dificultades, una fuente de esperanza y la más importante es nuestra biodiversidad, la cual se consolida como un factor importante que contribuirá al desarrollo de nuestros pueblos. El aislamiento y estudio de las sustancias naturales ha sido una preocupación central de las ciencias químicas, biológicas y farmacológicas por más de dos siglos y se conoce la elevada potencialidad de compuestos biológicamente activos que están por investigar en más de la mitad de las especies de plantas y animales a nivel mundial, que en su mayoría se encuentran en los trópicos (**Villegas L, 2005**).

La flora amazónica peruana constituye una de las mayores reservas de recursos fitoterapéuticos. En efecto, desde los primeros años del encuentro con los europeos, las propiedades curativas de las plantas medicinales peruanas atrajeron la atención de los recién llegados. En 1649 los jesuitas, en el libro "Shedula Romana", publican el primer informe sobre la "quina" o "cinchona" (*Cinchona officinalis*). De esta planta se obtienen diversos alcaloides fenólicos entre ellos la quinina, utilizada durante más de 300 años para curar la malaria.

El estudio fitoquímico demostró la presencia de muchos metabolitos secundarios, incluyendo sesquiterpenos, diterpenos, alcaloides, flavonoides, fenoles, lignanos, cumarinas y péptidos cíclicos.

A partir del 2013, se han reportado otras investigaciones, como la actividad antioxidantes de los compuestos fenólicos del extracto de la harina del almendro (Nithiyantham, 2013), y la cáscara de la semilla (Rao Fu, 2014). La jatrophidin I, un péptido cíclico aislado del látex, tuvo una actividad de inhibición moderada de la proteasa (Altri Wf, 2014). Es importante destacar el uso del aceite extraído (50% aproximadamente) de su semilla, lo cual tiene abundante gama-tocoferol, ácido oleico y ácido linoleico, es usado como biodisel (Rodrigues J, 2015), la afluencia de esteres de forbol compuestos altamente tóxicos y el número de metabolitos secundarios que están presentes en la planta hace que se tenga un específico interés en la industria energética **(Rakisht K.D, 2015, Edrisi S.A, 2015)**

Existe amplio estudio de esta especie, con revisiones efectuadas por Abdelgadir y Van Staden (2013), Brack E.A, (1999) desde 1960 a 2012 sobre etnobotánica, sobre la importancia química y sus aplicaciones biológicas, farmacológicas e industriales y por López y Pérez (2011), sobre su etnobotánica y composición fitoquímica etnofarmacología y toxicidad; por Pabón y Hernández-Rodríguez (2012), Pabon L.C. (2012).

1.2. BASES TEÓRICAS

***Jatropha curcas* (Piñón blanco)**

La *Jatropha curcas* conocido como piñón blanco en el Perú, pertenece a la familia de las Euforbiáceas, se encuentra distribuido desde América Central hasta Argentina, en el Perú en los valles cálidos de la Amazonía y la Costa.



Figura N°1: *Jatropha curcas* (Piñón blanco)

Fuente: https://es.wikipedia.org/wiki/Jatropha_curcas

Características Generales:

El género *Jatropha* pertenece a la tribu Jatrophenae, familia Euphorbiaceae y que contiene 170 especies conocidas. Arbusto denso o árbol pequeño de 3 - 5 m de altura, puede alcanzar 10 m en condiciones favorables, el sistema radicular constituye de una raíz principal y 4 raíces laterales poco profundas; las ramas son suaves y glabras. Corteza verde-bronce y exuda una látex translucido; hojas pecioladas, anchamente ovadas, levemente de 3 a 5 lobadas, abiertamente cordadas en la base con 5 nervaduras, pubescentes en las nervaduras del envés, de 5 a 15 cm de longitud; flores unisexuales, de

color amarillo verdosas, las femeninas tienen brácteas acuminadas, en las masculinas presentan brácteas aovadas y pedicelos pubescentes; los frutos son cápsulas ovoides de 3 – 4 cm de largo, ligeramente trilobitas, dividida en tres celdas. Las semillas son de tres por fruto, grandes, oblongas de cm de largo, color blanco con estrías oscuras y predominantemente reticulares. (Brack E.A, 1999, Abdelgadir H.A, 2013).

Taxonomía.

TAXONOMÍA	
Reino:	<i>Plantae</i>
Subreino:	<i>Tracheobionta</i>
División:	<i>Embryophyta</i>
Clase:	<i>Magnoliopsida</i>
Subclase:	<i>Rosidae</i>
Orden:	<i>Malpighiales</i>
Familia:	<i>Euphorbiaceae</i>
Subfamilia:	<i>Crotonoideae</i>
Tribu:	<i>Jatrophaeae</i>
Género:	<i>Jatropha</i>
Especie:	<i>Jatropha curcas</i>

Tabla N°1: Clasificación Taxonómica del *Jatropha curcas*

Fuente: https://es.wikipedia.org/wiki/Jatropha_curcas

Sinonimia:

Se conoce también como *Castiglonia lobata* R&P, *Curca purgans* Medik, *Curcas curcas*. (Brack E.A, 1999), (*Curcas adansonii* Endr., *Curcas drastica* Mart., *Curcas indica* A. Rich., *Curcas purgans* Medik., *Jatropha acerifolia* Salisb., *Jatropha afrocurcas* Pax, *Jatropha condor* Wall., *Jatropha edulis* Cerv., *Jatropha jucatanensis* Briq., *Manihot curcas* Crantz, *Ricinoides americana* Garsult, *Ricinus americanus* Mill., *Ricinus jarak* Thunb. (Lopez Saenz J.A, 2011).

Distribución:

La especie *J. curcas*, tiene su origen en el noreste de Suramérica y áreas secas de México, se cultiva como planta ornamental en África y Asia, especialmente en regiones tropical y sub-tropical; crece sobre condiciones de temperatura de 15 a 40°C y lluvias de 250 a 1200 mm por año.

Usos del piñón:

En América Central las hojas de la planta poseen actividad antiinflamatoria y tratamiento del reumatismo y el látex contra infecciones causadas por bacterias, hongos, picaduras de abejas y avispa (Pabon L.C, 20012). Según Abdelgadir y Van Staden (2013), el piñón se utiliza en todo el mundo como la medicina tradicional, muchas de ellas aún no han sido estudiadas científicamente, por eso su uso debe ser con sumo cuidado. Todas las partes del piñón son utilizadas en África central, la planta seca es aplicada como “penicilina” en El Congo. En Senegal,

Nigeria, Congo y África del Este la hoja, látex o planta seca es usada como hemostática. En Costa de Marfil las hojas asadas son trituradas luego en forma de pasta con saliva es aplicada a abscesos y heridas. Las hojas son usadas como agentes homeostáticas para sangrado de heridas producidas por cortes.

Composición Química:

Se han reportado compuestos del tamizaje fitoquímico como terpenos, péptidos cíclicos, alcaloides y lignanos. Fueron aislados diterpenos como esterres de forbol, rhamnafolonas, latiranes, pimaranes, dinorditerpenos y dosxipresumerinas de las semillas, raíces, aceite, partes aéreas de la planta, ramas y hojas. Sesquiterpenos y triterpenos del látex, ramas y raíces. Alcaloides de las hojas, semillas y torta de la semilla; así como lignanos y neolignanos de la semilla, raíces, partes aéreas. (Abdelgadir H.A, 2013, Pabon L.C, 2012).

Se aislaron flavonoides como el flavonoide glicosado I y II, nobiletina y tomentina de las raíces y parte aérea de la planta. Compuestos fenólicos como el 3-hidroxi-4- metoxibenzaldehido, ácido 3-metoxi-4-hidroxibenzoato, cafeoilaldehido y siringaldehído. Cumarinas y cumarinolignoides como el 6-metoxi-7-hidroxicumarina, 5-hidroxi-6,7-dimetoxicumarina, scopalatina, marmecina, propacina, jatrofina entre otros. (Abdelgadir H.A, 2013).

Según Abdelgadir y Van Staden (2013), el piñón se utiliza en todo el mundo como la medicina tradicional, muchas de ellas aún no han sido estudiadas científicamente, por eso su uso debe ser con sumo cuidado.

Todas las partes del piñón son utilizadas en África central, la planta seca es aplicada como “penicilina” en El Congo. En Senegal, Nigeria, Congo y África del Este la hoja, látex o planta seca es usado como hemostática. En Costa de Marfil las hojas asadas son trituradas luego en forma de pasta con saliva es aplicada a abscesos y heridas. Las hojas son usadas como agentes homeostáticas para sangrado de heridas producidas por cortes.

Actividad antioxidante:

Los extractos acuosos, etanólico, metanólico extraídos de las hojas muestran actividad antioxidante. (Abdelgadir H.A, 2013, Rakshit K.D, 2008, Can-Ya, 2010).

Antioxidante:

Son compuestos que disminuyen la velocidad) de oxidación controlando la formación de radicales libres, los cuales juegan un papel importante en enfermedades degenerativas como cáncer, cataratas, enfermedades neurodegenerativas, aterosclerosis, infecciones, enfermedades inflamatorias crónicas, diabetes, y enfermedades autoinmunes, entre otras. (Shahidi F,1995, Gutteridge J.M,2000).

Los antioxidantes que son derivados de las plantas por el lado fitoquímico, se pueden encontrar taninos, lignanos, estilbenos, cumarinas, quinonas, xantonas, ácidos fenólicos, flavones, flavonoles, catequinas, antocianinas y proantocianinas los cuales gracias a sus propiedades redox pueden reaccionar como donadores de hidrógenos y

de esta manera prevenir o inhibir el desarrollo de enfermedades degenerativas. (Marwah R.G,2007).

Los antioxidantes de igual modo se emplean en la industria de alimentos, cosmética, pinturas, aceites, polímeros y, en general, para proteger cualquier sustancia susceptible a la oxidación mediada por radicales libres. (Halliwell B, 1999).

En los alimentos la transformación de auto-oxidación y reproducción de la rancidez se da por los radicales libres como efecto de la peroxidación lipídica y en los sistemas vivos radicales libres atacan moléculas biológicas claves, produciendo muchas enfermedades degenerativas. (Suja K.P, 2004).

Los antioxidantes pueden actuar:

- Previniendo la formación de ROS.
- Interceptando el ataque de ROS.
- Reteniendo los metabolitos reactivos y transformándolos en moléculas menos reactivas.
- Favoreciendo la restauración la reparación del daño causado por ROS.
- Sosteniendo un ambiente favorable para la actuación de otros antioxidantes.
- Ampliando la resistencia de las dianas biológicas sensibles al ataque de ROS.

De acuerdo al tipo de acción, los antioxidantes se clasifican en primarios, secundarios o terciarios:

- **Primarios:** Dificultan la germinación de radicales libres, reprimen la reacción en cadena de los radicales libres. Principalmente de las especies reactivas de oxígeno Dificultan la formación de radicales libres, detienen la reacción en cadena de los radicales libres, principalmente de las especies reactivas del oxígeno (ROS) o son quelantes de metales de transición, y actúan como captadores de estos ROS.
- **Secundarios:** Interrumpen la reacción de propagación de los radicales libres o desplazan las especies reactivas del oxígeno (ácido ascórbico, carotenoides, glutatión y la mayoría de las enzimas antioxidantes).
- **Terciarios:** Reparar el agravio causado a las moléculas por los radicales libres o eliminan aquéllas que se han estropeado.

En el organismo humano los radicales libres están vigilados por medio de un amplio espectro de antioxidantes de origen endógeno (enzimas antioxidantes, glutatión, albúmina, transferrina, ácido úrico, bilirrubina) y exógenos a través de la dieta (vitamina E y C, carotenoides, selenio, compuestos fenólicos).

Estos engloban un vasto grupo de fitoquímicos, que presentan en su estructura un anillo aromático con por lo menos un hidroxilo (Rice - Evans, 1996; Wang et al, 1996) y que, por poseer esta configuración, actúan como agentes reductores capaces de interrumpir la reacción de

oxidación por dos maneras: por la donación de electrones o átomos de hidrogeno a los radicales libres, convirtiéndolos en productos estables, o por su complejación con metales presentes en el medio. (Satué-García 1997; Villano, 2007).

El primordial argumento para el uso de un antioxidante es para extender la vida útil de los productos alimenticios, disminuir los desechos y las carencias nutricionales al inhibir y retrasar la oxidación. Sin embargo, los antioxidantes no pueden mejorar la calidad de un producto alimenticio ya oxidado. (Sherwin, E.R, 1978, Coppen, P.P 1983).

RADICALES LIBRES

Los radicales libres son todas aquellas especies químicas, cargadas o no, que en su estructura atómica muestran un electrón impar en el orbital externo, concediendo una configuración espacial que genera gran inestabilidad, señalado por el punto situado a la derecha del símbolo. Adquieren una estructura birradicálica, son muy reactivos, tienen una vida media corta, por lo que operan cercano al sitio en que se forman y son difíciles de dosificar. (Cheesman KH, 1998, Romero Alvira D, 1998). A mínimas concentraciones los radicales libres son indispensables para el buen funcionamiento celular pudiendo obrar como segundos mensajeros estimulando la proliferación celular y/o actuando como mediadores para la activación de las células. No obstante, un exceso de los mismos puede acumularse hasta niveles tóxicos dando como consecuencia que se produzcan diversas acciones sobre el metabolismo de los principios inmediatos, que pueden ser origen del daño celular.

La suficiencia que tenga cada radical libre para comportarse como agente oxidante está determinada por factores como su reactividad, especificidad, selectividad y difusibilidad. Son encargados del daño oxidativo de macromoléculas biológicas como el DNA, lípidos, carbohidratos y proteínas. Participan en los mecanismos fisiopatológicos de muchas enfermedades, como algunos tipos de cáncer, diabetes, patologías cardiovasculares, procesos reumáticos, patologías gastroentéricas, afecciones broncopulmonares o procesos neurodegenerativos. Igualmente están incluidos en procesos fisiológicos como por ejemplo el envejecimiento, el daño causado por el ejercicio físico agotador y otros.

Las primordiales especies reactivas del oxígeno o sustancias prooxidantes son:

- Radical hidroxilo (OH)
- Peróxido de hidrógeno (H_2O_2) Anión superóxido (O_2^-)
- Oxígeno singlete (1O_2)
- Oxígeno nítrico (NO)
- Peróxido (ROO)
- Semiquinona (Q)
- Ozono (O_3)

Existen algunas circunstancias en que también se producen radicales libres como son:

- Los componentes del humo del cigarro.

- Contaminantes ambientales.
- Radiaciones.
- Luz ultravioleta,
- Compuestos tóxicos.
- Dietas desbalanceadas o pobres.
- Dietas hipercalóricas y altas en grasas.
- Ejercicio o trabajo extenuante.

ESTRÉS OXIDATIVO

No es el estrés al que comúnmente las personas son expuestas por el trabajo, las presiones o los problemas que enfrentan día con día si no el producto de la acción que tienen los radicales libres sobre las células que componen el cuerpo humano. Un radical libre es un átomo o molécula que contiene un electrón desapareado en su orbital exterior, dicho electrón confiere alta reactividad oxidante por ser muy voluble, por lo que reacciona al instante ante otras sustancias que estén cercanas, la principal molécula creadora de radicales libres es la del oxígeno. (Gutiérrez Salinas, J, 2004).

Lo que resulta contradictorio tomando en cuenta que el oxígeno es la base de la vida debido a que los seres humanos son organismos aeróbicos, resulta ilógico el hecho de que el oxígeno siendo tan sustancial para la sobrevivencia de dichos organismos, sean la causa de daños en el mismo, pero esta acto surge debido a que el oxígeno al entrar al organismo participa en una serie de reacciones de óxido-reducción complejas en las que se producen algunas especies derivadas

de este que son reactivas y se convierten en lo que son los radicales libres que son nombrados ERO (especies reactivas del oxígeno), la mitocondria es el fundamental productor de las ERO, ya que la respiración celular se constata específicamente a este nivel, como se sabe el 90% del total del oxígeno inhalado se consume en la mitocondria y aproximadamente el 2% del oxígeno reducido se transforma en el radical superóxido, estas especies son las que primordialmente contribuyen al estrés oxidativo, que ha sido relacionado con varias enfermedades como la aterosclerosis, la enfermedad de Parkinson, Alzheimer, derrame cerebral, artritis, enfermedades inflamatorias crónicas, cáncer, y entre otras enfermedades degenerativas.(Lini Huo, 2011).

La acción que los ERO tienen en el cuerpo humano ha incrementado debido a que el mundo y la forma de vida ha dado un gran giro, ya que las personas se encuentran expuestas de todo tipo de contaminación, que estas mismas han creado sin ninguna conciencia además del gran cambio en la alimentación y en ciertos hábitos, todo esto afecta la manera en que el organismo responde a circunstancias adversas así como su buen funcionamiento. Por lo que los radicales libres son influenciados por factores ambientales externos, como: los componentes del humo del cigarro, contaminantes ambientales, radiaciones, luz ultravioleta, compuestos tóxicos, dietas desbalanceadas o pobres, dietas hipercalóricas y altas en grasas, ejercicio o trabajo extenuante. La exposición de la piel a la luz UV inicia una reacción foto-oxidativa que afecta el estado antioxidante y aumenta el nivel celular de las especies

reactivas del oxígeno (ERO), acompañado por la activación de muchas vías de señalización ROS-sensible. Esto afecta la capacidad de la piel para protegerse de la generación excesiva de ROS como efecto del estrés oxidativo aumentado (Mohammad Abu Zaid, 2007).

PRO – OXIDANTE

Es conveniente tener en cuenta que los compuestos antioxidantes pueden mostrar un comportamiento prooxidante bajo ciertas condiciones. (Nieto, G, 2011) Dicha actividad prooxidante puede acelerar el daño a las moléculas tales como ADN, carbohidratos o proteínas. (Aruoma, O.I, 1997).

COMPUESTOS FENÓLICOS

Los fenoles son metabolitos secundarios ampliamente distribuidos en el reino vegetal. Se localizan en todas las partes de las plantas y su concentración es variable a lo largo del ciclo vegetativo. Estos compuestos participan de diversas funciones, tales como la asimilación de nutrientes, la síntesis proteica, la actividad enzimática, la fotosíntesis, la formación de componentes estructurales, la alelopatía y la defensa ante los factores adversos del ambiente.

Los compuestos fenólicos se refieren a un grupo de sustancias que poseen en común un anillo aromático con uno o más sustituyentes hidroxilos, y que ocurren frecuentemente como glucósidos, combinados con unidades de azúcar. Son relativamente polares y tienden a ser solubles en agua. Dada la naturaleza aromática de este compuesto

fenólico, ellos muestran intensa absorción en la región UV del espectro, siendo este método espectral especialmente importante para su identificación y análisis cuantitativo (Lock S. O, 1994).

Los fenoles están asociados al color, las características sensoriales (sabor, astringencia, dureza), las características nutritivas y las propiedades antioxidantes de los alimentos de origen vegetal. La característica antioxidante de los fenoles se debe a la reactividad del grupo fenol. (Robbins, R, 2003, Kähkönen María, 2001).

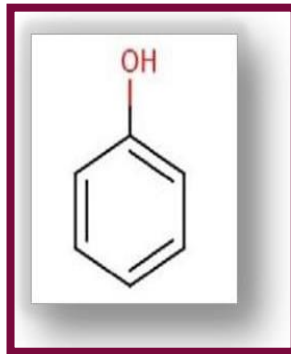


Figura N°2: Estructura básica del Fenol

Fuente: <http://cienciasdejoseleg.blogspot.pe/2011/12/nomenclatura-de-grupos-hidroxilo-unidos.html>

Cuantificación de compuestos fenólicos:

Existen varias técnicas analíticas para la cuantificación y/o identificación de compuestos fenólicos que incluyen técnicas cromatográficas como son la cromatografía de capa fina (TCL), la cromatografía de gases (CG) y la de líquidos de alta resolución (HPLC) (Escarpa y González, 2001), y también se encuentran las técnicas espectrofotométricas (Martínez Valverde et al., 2000).

Técnicas espectrofotométricas:

Los métodos espectrofotométricos no son nuevos en el campo de la química analítica y hasta hoy en día son usados frecuentemente para la determinación de polifenoles (Escarpa y González, 2001). Entre este tipo de técnicas, los métodos usados comúnmente para determinar polifenoles en alimentos destacan el ensayo de la vainillina para la determinación de compuestos flavan-3-ol, dihidrochalconas y proantocianidinas que tienen una unión simple en la posición 2,3 y poseen grupos hidroxilos en la posición meta del anillo B (MartínezValverde et al., 2000) y el ensayo de Folin-Ciocalteu para la cuantificación de polifenoles totales, esta técnica llegó a ser la más utilizada para determinar de manera cuantitativa a los polifenoles. Este método consiste básicamente en generar cierto color a través de la adición del reactivo de Folin- Ciocalteu en un medio alcalino a una determinada muestra.

Swain y Goldstein (1964), utilizaron diversos métodos espectrofométricos, y en base a la utilización, recomendaron el ensayo de Folin-Ciocalteu como el reactivo más conveniente para la determinación espectrofotométrica de polifenoles totales (Escarpa y González, 2001). En base a lo recomendado, se resolvió utilizar en la determinación de fenoles en los extractos de *E. precatoria* y *E. Oleracea*.

Ensayos ultravioleta:

Se han realizado numerosos estudios para desarrollar técnicas rápidas de cuantificación de compuestos fenólicos mediante ensayos

ultravioletas. Cada grupo de compuestos fenólicos se caracteriza por tener una o varias absorbancias máximas a distintas longitudes de onda dentro del espectro ultravioleta. Así, los fenoles simples tienen una absorbancia máxima entre 220 y 280 nm, mientras que los compuestos fenólicos relacionados presentan una amplia variación en la longitud de onda a la cual presentan una absorbancia máxima (Martínez-Valverde *et al.*, 2000).

Determinación de fenoles totales:

El método espectrofotométrico desarrollado por Folin y Ciocalteu (1927) (Sellappan *et al.*, 2002) y modificado por Singleton y Rossi (1965), para la determinación de fenoles totales, se fundamenta en su carácter reductor y es el más empleado. Se utiliza como reactivo una mezcla de ácidos fosfowolfrámico y fosfomolibdico en medio básico, que se reducen al oxidar los compuestos fenólicos, originando óxidos azules de wolframio (W_8O_{23}) y molibdeno (Mo_8O_{23}). La absorbancia del color azul desarrollado se mide a 765 nm, los resultados se expresan en mg de ácido gálico por 100 g de muestra.

FLAVONOIDES

Los flavonoides se ubican principalmente en las hojas y en el exterior de las plantas, (Hertog *Mgl*, 1996) aportando parte del sabor y del color; la mayoría son solubles en agua y no son sintetizados por el cuerpo humano ni producidos sintéticamente. Los usos de los flavonoides

dependen de su forma de combinarse; cada planta contiene una única combinación de flavonoides. (Schieber, A, 2001).

Los flavonoides son pigmentos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas, la polución ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos, etc. El organismo humano no puede producir estas sustancias químicas protectoras, por lo que deben obtenerse mediante la alimentación o en forma de suplementos. Están ampliamente distribuidos en plantas, frutas, verduras y en diversas bebidas y representan componentes sustanciales de la parte no energética de la dieta humana. (Aherne Sa y O'brien, 2002).

Estos compuestos fueron descubiertos por el premio Nobel Szent-György, quien en 1930 aisló de la cáscara del limón una sustancia, la citrina, que regulaba la permeabilidad de los capilares. Los flavonoides se denominaron en un principio vitamina P (por permeabilidad) y también vitamina C (porque se comprobó que algunos flavonoides tenían propiedades similares a la vitamina C). Sin embargo, el hecho de que los flavonoides fueran vitaminas no pudo ser confirmado, y ambas denominaciones se abandonaron alrededor de 1950. (Singleton V. L, 1981).

Los flavonoides contienen en su estructura química un número variable de grupos hidroxilo fenólicos y excelentes propiedades de quelación del hierro y otros metales de transición, lo que les confiere una gran capacidad antioxidante. (Havsteen B, 1983, Peres W, 1994) .Por ello, desempeñan un papel esencial en la protección frente a los fenómenos

de daño oxidativo, y tienen efectos terapéuticos en un elevado número de patologías, incluyendo la cardiopatía isquémica, la aterosclerosis o el cáncer. (Pace Asciak C. R, 1995, Jang M, 1997).

Como características generales de estos compuestos debemos señalar su solubilidad en agua y en etanol, su carácter fenólico y su intensa absorción en la región ultravioleta y visible del espectro debido a la presencia de sistema aromático y conjugado.

Una clasificación preliminar del tipo de flavonoide en un extracto de planta, puede hacerse basado inicialmente en un estudio de sus propiedades de solubilidad y de comportamiento ante reacciones de color; esto, seguido por un examen y/o del extracto hidrolizado.

La separación puede hacerse por procedimientos cromatográficos, y la identificación de los componentes individuales por comparaciones cromatográficas y espectroscopia con compuestos estándares o con la literatura. (Lock S. O, 1994)

Características generales de los flavonoides:

Las características generales de estos compuestos son:

- Solubilidad en agua y en etanol.
- Carácter fenólico.
- Intensa absorción en la región ultravioleta y visible del espectro debido a la presencia de sistema aromático y conjugado (Lock So, 1997).

Propiedades de los flavonoides:

Sus propiedades antiradicales libres se dirigen fundamentalmente hacia los radicales hidroxilo y superóxido, especies altamente reactivas implicadas en el inicio de la cadena de peroxidación lipídica (Jovanovic S. V, 1998) y se ha descrito su capacidad de modificar la síntesis de eicosanoides (con respuestas anti-prostanoide y anti-inflamatoria), de prevenir la agregación plaquetaria (efectos antitrombóticos) y de proteger a las lipoproteínas baja densidad de la oxidación (prevención de la placa de ateroma). (Yang K, 2000, Stahl W, 2002).

Además de sus conocidos efectos antioxidantes, los flavonoides presentan otras propiedades que incluyen la estimulación de las comunicaciones a través de las uniones en hendidura, el impacto sobre la regulación del crecimiento celular y la inducción de enzimas de detoxificación tales como las monooxigenasas dependientes de citocromo P-450, entre otras. (Stahl W, 2002).

Como características generales de estos compuestos debemos señalar su solubilidad en agua y en etanol, su carácter fenólico y su intensa absorción en la región ultravioleta y visible del espectro debido a la presencia de sistema aromático y conjugado.

En la actualidad se han descubierto más de 600 flavonoides y todos ellos tienen un papel muy importante en la alimentación humana, porque presentan propiedades medicinales muy interesantes.

Las propiedades más resaltantes son: actúan como antioxidantes, anticancerosas y cardiotónicas, poseen fragilidad capilar, son antitrombóticas, disminución del colesterol, protegen al hígado y al estómago, actúan también como antiinflamatorias y analgésicas antimicrobianas. (Botanical On Line, 1999).

Estructura química de los flavonoides:

Los flavonoides tienen una estructura de anillos formada por 15 carbonos (C₆-C₃-C₆), que consiste en dos anillos aromáticos (A y B) que contienen generalmente grupos hidroxilos, unidos por una cadena lineal de 3 carbonos como se muestra en la figura 3. En algunos casos, el anillo heterocíclico C ocurre en forma abierta. (Schieber, A, 2001, Friedli G, 2003).

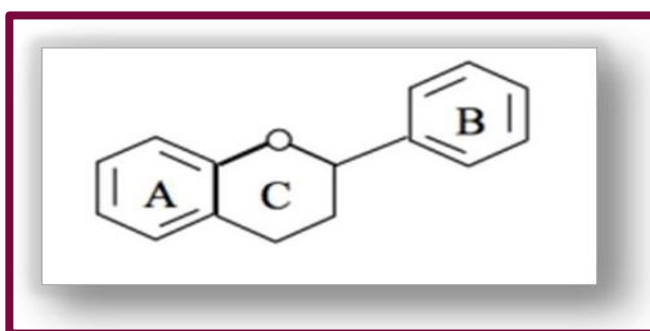


Figura N°3: Estructura básica de un flavonoide
(Ochoa y Ayala 2004)

Los átomos de carbono en los anillos C y A se numeran del 2 al 8, y los del anillo B desde el 2' al 6' (fig. 3). (Kuhnau J, 1976) La actividad de los flavonoides como antioxidantes depende de las propiedades redox de sus grupos hidroxifenólicos y de la relación estructural entre las diferentes partes de la estructura química. (Bors W, 1990) Esta estructura básica permite una multitud de patrones de sustitución y variaciones en el anillo C. En función de sus características estructurales se pueden clasificar en:

- 1) Flavanos, como la catequina, con un grupo -OH en posición 3 del anillo.
- 2) Flavonoles, representados por la quercitina, que posee un grupo

carbonilo en posición 4 y un grupo -OH en posición 3 del anillo C.

- 3) Flavonas, como la diosmetina, que poseen un grupo carbonilo en posición 4 del anillo C y carecen del grupo hidroxilo en posición C3.
- 4) Antocianidinas, que tienen unido el grupo -OH en posición 3 pero además poseen un doble enlace entre los carbonos 3 y 4 del anillo C.

Tres características estructurales son importantes para su función:

- a) La presencia en el anillo B de la estructura catecol u O-dihidroxi;
- b) La presencia de un doble enlace en posición 2,3.
- c) La presencia de grupos hidroxilo en posición 3 y 5. (Letan A, 1966)

La quercitina presenta las tres características, mientras que la catequina solo presenta la segunda y la diosmetina la primera.

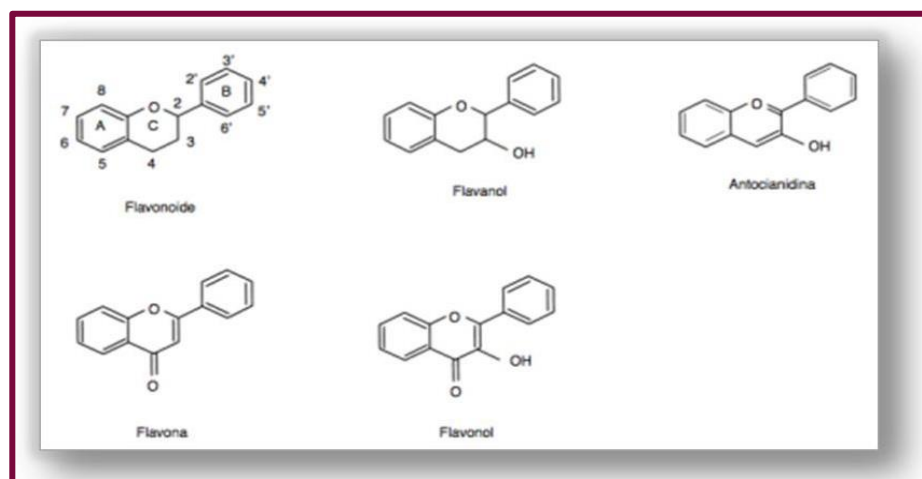


Figura N°4: Flavonoides, Estructura básica y tipos (Martínez et al. 2002)

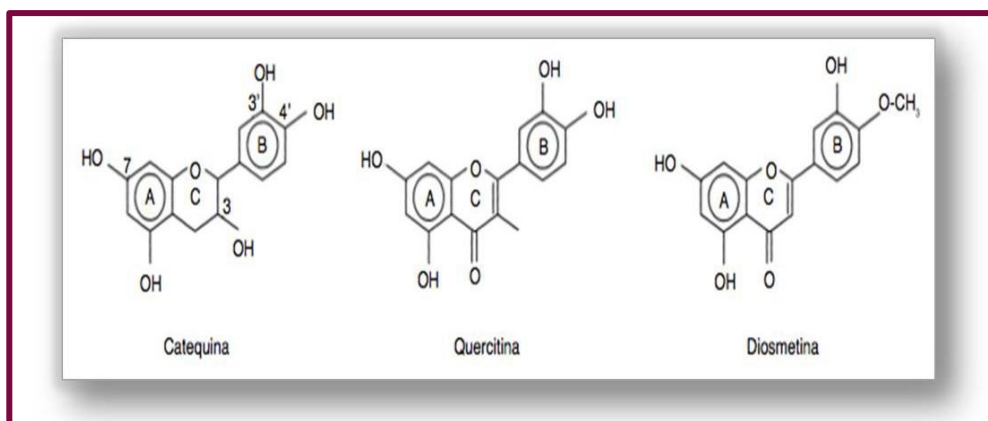


Figura N°5: Características estructurales de los principales tipos de flavonoides (Martínez et al. 2002)

Determinación de flavonoides:

La identificación, cuantificación y extracción de los flavonoides ha despertado un gran interés debido a que se ha encontrado que poseen propiedades benéficas para la salud del ser humano, tales como actividades anticancerígenas, antiinflamatorias, antivirales, antialérgicas, protección contra enfermedades del corazón y propiedades antioxidantes ya que retardan los cambios oxidativos en los alimentos, mejorando así la calidad y el valor nutricional de estos. Todos estos efectos en la salud atraen la atención de incorporar estos compuestos a los productos alimenticios. (Kang H. J., 2006).

Una manera sencilla de cuantificar la concentración de flavonoides en especies vegetales se basa el método espectrofotométrico UV-Vis. Indicado por Sotero y García (2009) donde se realiza lecturas a 474 nm del extracto etanólico previamente diluido usando agua destilada como blanco, usando quercetina como patrón de flavonoides y expresando los resultados en mg de quercetina/100 g de muestra.

Esta técnica es muy usada tanto para identificar el tipo de flavonoide como el modelo de oxigenación, los espectros de los flavonoides son determinados usualmente en solución metanólica. El espectro típicamente consiste en dos máximos de absorción en los rangos: 240-285 nm (Banda II, BII) y 300-550 nm (Banda I, BI). (Look S, 1994).

TANINOS

Químicamente son metabolitos secundarios de las plantas, fenólicos, no nitrogenados, solubles en agua y no en alcohol ni solventes orgánicos. Se extraen de las plantas con agua o con una mezcla de agua y alcohol, que luego se decanta y se deja evaporar a baja temperatura hasta obtener el producto final. Los taninos tienen un ligero olor característico, sabor amargo y astringente, y su color va desde el amarillo hasta el castaño oscuro. (Fenema O., 1993).

Características de los taninos:

Compuestos químicos no cristalizables cuyas soluciones acuosas son coloidales, de reacción ácida y sabor astringente, se precipitan con gelatina, albúmina y alcaloides en solución.

Dan coloraciones negro azuladas o verdosas con sales férricas y producen un color rojo intenso con ferrocianuro de potasio y amoniaco. Precipitan a las proteínas en solución y se combinan con ellas, haciéndolas resistentes a las enzimas proteolíticas, ésta propiedad se denominada astringencia. (Badui D, 1993).

Funciones de los taninos:

Los taninos pueden inactivar las enzimas digestivas de los herbívoros y crear complejos agregados de taninos y proteínas de plantas que son difíciles de digerir. La alta cantidad de residuos de prolina le otorga a estas proteínas una conformación muy flexible y abierta, y un alto grado de hidrofobia que facilita su unión con los taninos (Corder J, 2001).

Los taninos de las plantas también funcionan como defensas contra los microorganismos. Por ejemplo, el corazón de madera muerta de muchos árboles contiene altas concentraciones de taninos que ayudan a prevenir el desmoronamiento por ataques de hongos y bacterias patógenos. (Corder J, 2001).

Propiedades de los taninos:

Los taninos tienen las propiedades de curación de heridas y cuidado de la piel, detención de la diarrea, actúan como antioxidantes y antibacterianas, son antídotos contra los venenos y reducen el colesterol (Fenema O, 1993).

Estructura química de los taninos:

En la figura N°6 podemos observar la estructura de un tanino.

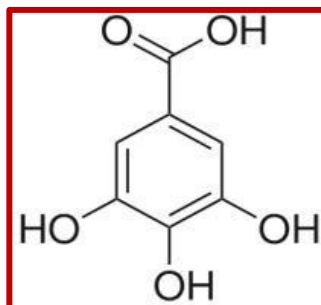


Figura N°6: Estructura de un tanino

Fuente: Fenema, 1993.

Clasificación de los taninos:

Los taninos se han dividido en dos grupos: los hidrolizables y los no hidrolizables:

a) Los taninos hidrolizables o hidrosolubles: son polímeros heterogéneos formados por ácidos fenólicos, en particular ácido gálico, y azúcares simples. Son más pequeños que los taninos condensados y son hidrolizados con más facilidad, sólo basta ácido diluido para lograrlo. Los núcleos bencénicos están unidos por medio de átomos de oxígeno y dan coloración azul con FeCl_3 , no precipitan con soluciones de bromo. (Badui D, 1993).

En la Figura N°7 podemos observar la estructura del ácido gálico que es un tanino hidrolizable.

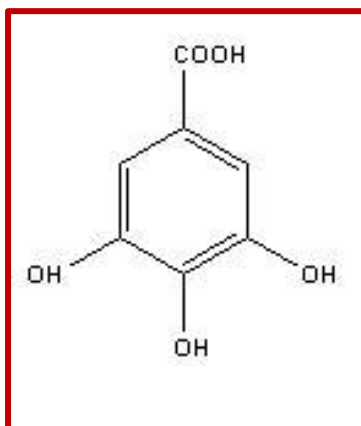


Figura N°7: Estructura ácido gálico

Fuente: Badui, 1993

b) Los taninos no hidrolizables o condensados: Son polímeros de un flavonoide llamado antocianidina. Es común encontrarlos en la madera de las plantas leñosas. Dan coloración verde con FeCl_3 y se precipitan con soluciones de bromo.

En la Figura N°8 podemos observar la estructura de un tanino no hidrolizable.

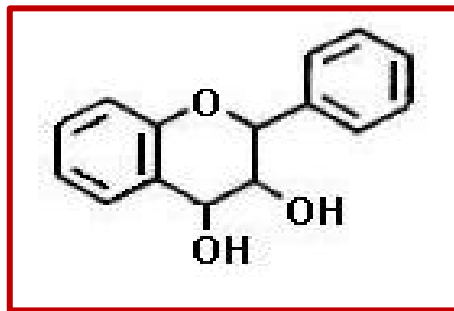


Figura N°8: Estructura flavan-3,4-diol

Fuente: Badui, 1993

Determinación de los taninos:

El método de la vainillina se usa ampliamente para la cuantificación de proantocianidinas (taninos condensados) en frutas y granos. El ensayo de la vainillina es específico para flavan-3-ol, dihidrochalconas y proantocianinas, las cuales tienen un enlace simple en la posición 2,3 y poseen grupos hidroxilos en la posición meta del anillo B. La catequina es un flavan-3-ol monomérico frecuentemente usado como un estándar en el ensayo de la vainillina.

El metanol, disolvente usado para el ensayo de la vainillina, puede afectar la cinética de reacción de la catequina y taninos con vainillina diferencialmente.

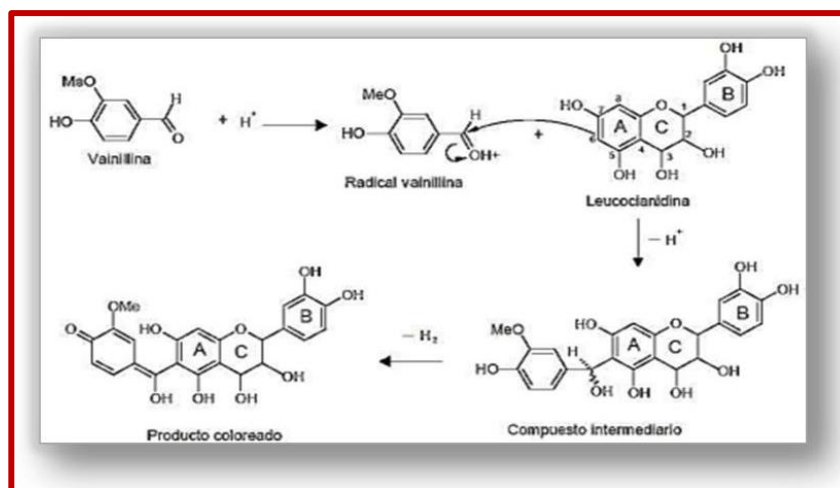


Figura N°9: Mecanismo de reacción de vainillina con taninos.

Fuente: Shahidi y Naczk, 1995.

El ensayo de la vainillina en metanol es más sensible para los taninos poliméricos que para los flavan-3-oles monoméricos. Este ensayo es generalmente reconocido como un método útil para la detección y cuantificación de taninos condensados en plantas debido a su sensibilidad, especificidad y simplicidad. Sin embargo, debe ser considerada la posibilidad de interferencias con dihidrochalconas y antocianinas. El método se puede usar para cuantificar taninos condensados en un intervalo de 5-500 μg con precisión y exactitud mayores a 1 μg cuando la concentración óptima de reactantes y disolventes son elegidos. (Shahidi F, 1995).

Este método se basa en la condensación de la vainillina con proantocianinas en una solución acidificada. La vainillina protonada, un electrófilo débil, reacciona con el anillo del flavonoide en la posición 6 u 8. El producto de esta reacción se deshidrata fácilmente para dar un color rosa ligero a un intenso rojo cereza. La estabilidad del color del aducto vainillina-tanino puede incrementarse cuando la luz es excluida y

la temperatura de reacción es controlada y entonces se obtienen resultados exactos y reproducibles. (Shahidi F., 1995).

ANTOCIANINAS

Las antocianinas representan los principales pigmentos solubles en agua visibles al ojo humano. Estos pigmentos son responsables de la gama de colores que abarcan desde el rojo hasta el azul en varias frutas, vegetales y cereales, y se encuentran acumulados en las vacuolas de la célula. (Wagner GJ, 1982) Las antocianinas están presentes en diferentes órganos de las plantas, tales como frutas, flores, tallos, hojas y raíces. (Brouillard R, 1982) Sin embargo, en ciertas especies, las antocianinas son localizadas en regiones discretas de la vacuola celular, llamadas antocianoplastos. (Pecket R.C., 1980).

Pertenecen al grupo de los flavonoides y su estructura básica es un núcleo de flavón, el cual consta de dos anillos aromáticos unidos por una unidad de tres carbonos (Figura 10). Químicamente las antocianinas son glucósidos de las antocianidinas, es decir, están constituidas por una molécula de antocianidina, que es la aglicona, a la que se le une un azúcar por medio de un enlace β -glucosídico. La estructura química básica de estas agliconas es el ión flavilio, (Badui DS, 2006) también llamado 2-fenil- benzopirilio, (Wong D, 1995. que consta de dos grupos aromáticos: un benzopirilio (A) y un anillo fenólico (B); el flavilio normalmente funciona como un catión. (Badui D.S., 2006).

De todas las antocianidinas que actualmente se conocen (aproximadamente 20), las más importantes son la pelargonidina,

delfinidina, cianidina, petunidina, peonidina y malvidina, nombres que derivan de la fuente vegetal de donde se aislaron por primera vez, Las tres primeras son más frecuentes en frutos, en tanto que el resto lo son en flores; la combinación de éstas con los diferentes azúcares genera aproximadamente 150 antocianinas. Los carbohidratos que comúnmente se encuentran son la glucosa y la ramnosa, seguidos de la galactosa, xilosa y la arabinosa, ocasionalmente, la gentobiosa, la rutinosa y la soforosa.

El color de las antocianinas depende de varios factores intrínsecos, como son los sustituyentes químicos que contenga y la posición de los mismos en el gupo flavilio; por ejemplo, si se aumentan los hidroxilos del anillo fenólico se intensifica el color azul, mientras que la introducción de metóxilos provoca la formación del color rojo. (Badui D.S., 2006) Las antocianinas son interesantes por dos razones. La primera por su impacto sobre las características sensoriales de los alimentos, las cuales pueden influenciar su comportamiento tecnológico durante el procesamiento de alimentos, y la segunda, por su implicación en la salud humana través de diferentes. (De pascual-Teresa S, 2008) Las antocianinas son de interés particular para la industria de colorantes alimenticios debido a su capacidad para impartir colores atractivos. (Konczack I, 2004).

Son sensibles a las variaciones de pH, a pH 3 el pigmento está presente como sales de flavilo de color rojo, a pH 8 es color violeta y a pH 11 es de color azul. Las antocianinas juegan un rol importante en la producción de vinos, siendo la “enocianina” responsable del color que se utilizan

para intensificar el color de los vinos y en colorantes de alimentos como jugos, jamones y licores.

Determinación de antocianinas:

La técnica empleada más comúnmente hoy en día es la cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa (RP-HPLC) puesto que esta permite la separación simultánea, la identificación y cuantificación de los compuestos de antocianinas sin requerir pureza excesiva de los extractos. (Escribano-Bailon MT, 2004) Las columnas (diámetro interno 4.6 mm y largo 100-300 mm) son usualmente mantenidas a temperatura ambiente, y los sistemas de elusión son binarios, usando solventes acidificados acuosos tales como ácido acético, ácido perclórico o ácido fórmico en un solvente orgánico tal como metanol o acetonitrilo. (Zhang Y, 2004, Horbowicz M, 2008) Las antocianinas separadas son detectadas y cuantificadas a 525 nm y la identificación de antocianinas está basada en los tiempos de retención correspondientes y espectros ultravioleta- visibles (UV-Vis) comparado con la de los estándares auténticos puros tales como delfinidina-3-glucósido, delfinidina-3-rutinósido, cianidina-3-glucósido, cianidina-3, galactósido, cianidina-3-rutinósido, peonidina-3-glucósido, petunidina-3- glucósido, pelargonidina-3-glucósido y cloruro de cianidina que están comercialmente disponibles.

El contenido total de antocianinas es calculado en $\mu\text{g/g}$ usando una curva estándar para cianidina-3-glucósido o delfinidina-3- glucósido (las antocianinas más comunes en granos). (Abdel-Aal ES, 2003) Los

espectros de absorción UV-Vis de una antocianina puede proveer información sobre la naturaleza de la antocianidina, modelo de glucosilación y posiblemente de acilación. (Costa C T, 2000) Las antocianinas tienen un rango de absorción amplio al final del azul del espectro visible con una absorción máxima observada en las regiones de 500-535 nm. (Abdel-Aal ES, 2006) En adición, la electroforesis capilar (CE) ha sido usada para separar los compuestos iónicos de antocianinas por su carga. (Castaneda-ovando, 2009) El uso de la CE en la separación de antocianinas es bastante nueva, pero promisoría debido a la alta hidrosolubilidad de estos compuestos.

La CE ha sido empleada para la determinación cuantitativa de antocianinas en vino como una alternativa de la RP-HPLC. (Saenz-lopez R, 2003).

3.1. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS BÁSICOS

- ❖ **Látex:** Sustancia orgánica de consistencia pastosa, pegajosa, transparente o translúcida, que se solidifica en contacto con el aire; es de origen vegetal o se obtiene artificialmente mediante reacciones de polimerización. (<https://definicion.de/resina/>)
- ❖ **Antioxidante:** Son compuestos capaces de retrasar o prevenir los procesos de autooxidación, utilizadas para conservar los alimentos al retardar el deterioro, la rancidez o decoloración debido a la oxidación (Dziezak, 1986).

- ❖ **Estrés oxidativo:** Es el producto de la acción que tienen los radicales libres sobre las células que componen el cuerpo humano. (Gutiérrez Salinas, J., 2004).
- ❖ **Radicales libres:** Son especies químicas que pueden ser cargadas o no, muy reactivos que tienen una vida media corta, por lo que operan cercano al sitio en que se forman y son difíciles de dosificar. (Cheesman KH, 1998, Romero Alvira D., 1998).
- ❖ **Compuestos fenólicos:** Son un grupo de sustancias que poseen en común un anillo aromático con uno o más sustituyentes hidroxilos, incluyendo sus derivados funcionales, que ocurren frecuentemente como glucósidos, combinados con unidades de azúcar, ellos muestran intensa absorción en la región UV del espectro, siendo este método espectral especialmente importante para su identificación y análisis cuantitativo (Lock S. O., 1994).
- ❖ **Taninos:** Químicamente son metabolitos secundarios de las plantas, fenólicos, no nitrogenados, solubles en agua y no en alcohol ni solventes orgánicos. (Fenema O., 1993).
- ❖ **Flavonoides:** son pigmentos naturales presentes en los vegetales y que protegen al organismo del daño producido por agentes oxidantes, como los rayos ultravioletas, la polución ambiental, sustancias químicas presentes en los alimentos, etc. Están ampliamente distribuidos en plantas, frutas, verduras y en diversas bebidas y representan componentes sustanciales de la parte no energética de la dieta humana. (Aherne Sa y O'brien, 2002).

- ❖ **Antocianinas:** Son glucósidos de las antocianidinas, es decir, están constituidas por una molécula de antocianidina, que es la aglicona, a la que se le une un azúcar por medio de un enlace β -glucosídico. La estructura química básica de estas agliconas es el ión flavilio, (Badui DS, 2006) también llamado 2-fenil- benzopirilio, (Wong D, 1995. que consta de dos grupos aromáticos: un benzopirilio (A) y un anillo fenólico (B); el flavilio normalmente funciona como un catión. (Badui D. S., 2006).
- ❖ **La espectrofotometría:** Es un método científico utilizado para medir cuánta luz absorbe una sustancia química, midiendo la intensidad de la luz cuando un haz luminoso pasa a través de la solución muestra, basándose en la Ley de Beer-Lambert.
- ❖ **La absorbancia (A):** Las interacciones electromagnéticas con la materia provocan la absorbancia o emisión de energía EMR a través de la transición de los electrones entre niveles cuánticos o discretos de energía, vibraciones de enlaces, rotaciones moleculares y transición de electrones entre orbitales de átomos y moléculas. La absorbancia es adimensional y generalmente se presenta con mínimo tres decimales, algunos instrumentos permiten obtenerla con cuatro decimales. (Manfred, 1999).
- ❖ **La longitud de onda:** Es la distancia entre dos compresiones o enrarecimientos consecutivos. Las longitudes de onda más cortas del espectro visible corresponden a la luz violeta y las más largas a la luz roja y entre estos extremos se encuentran todos los colores del

arco iris. La longitud de onda escogida se conoce como longitud de onda analítica. (Manfred, 1999).

- ❖ **Curva espectral:** Indica las características de absorción de dicha sustancia con relación a la longitud de onda. En muchas ocasiones la curva espectral se presenta como Absorbancia vs longitud de onda y el espectro se denomina espectro de absorción, o en función de la transmitancia, denominándose el espectro, espectro de transmisión. (Manfred, 1999).

CAPÍTULO II: HIPÓTESIS Y VARIABLES

2.1. FORMULACIÓN DE LA HIPÓTESIS

2.1.1. Hipótesis General

Los metabolitos secundarios de la especie *Jatropha curcas* (piñón blanco) tienen compuestos que actúan como antioxidantes y contienen compuestos fenólicos como fenoles totales, antocianidinas, flavonoides y taninos.

2.2. VARIABLES Y SU OPERACIONALIZACIÓN

2.2.1. Variables

- **Variables Independientes:** Compuestos fenólicos.
- **Variables dependientes:** Actividad antioxidante.

2.2.2. Operacionalización de las variables

Tabla N°2: Definiciones operacionales de las variables

VARIABLE	DEFINICIÓN	TIPO POR SU NATURALEZA	INDICADOR	ESCALA DE MEDICIÓN	CATEGORIAS	VALORES DE LAS CATEGORIAS	MEDIO DE VERIFICACION
DEPENDIENTES							
- Concentración del principio Bioactivo - Antioxidante.	Concentración capaz de capturar radicales libres presentes, causados por agentes químicos produciendo una inhibición de la oxidación de compuestos químicos presentes en el organismo.	Cualitativa	- Porcentaje de inhibición de radicales libres - Concentración Inhibitoria (CI50) de Actividad Antioxidante al 50%	Nominal	Positivo Negativo	>50 >-50%	Espectros y datos obtenidos en Excel
- Compuestos fenólicos: fenoles totales, flavonoides, antocianina y taninos	Concentración de tipos de compuestos que pueden tener capacidad de Actividad Antioxidante.	Cuantitativa	- Nivel de absorbancia del extracto o fracción a longitudes de onda que absorbe cada tipo de compuesto.	Discreta	Bajo Medio Alto	< 5mg 5mg < 20mg >21mg	Espectros y datos obtenidos en Excel
INDEPENDIENTES							
- Extracto de la matriz. - Hojas - Látex	Producto obtenido mediante el método de extracción con etanol de las hojas y látex del piñón blanco.	Cualitativa	- Concentración a 6 mg/ml - Concentración a 12 mg/ml)	Nominal	Bajo Medio Bajo	<0.01% 0.01%<0.1% >1.0%	Reportes del laboratorio

CAPÍTULO III: METODOLOGÍA

El presente trabajo se efectuó en el Laboratorio de Ingeniería de Alimentos de la Facultad de Industrias Alimentarias de la Universidad Nacional de la Amazonía Peruana, en la ciudad de Iquitos, provincia de Maynas, región Loreto.

3.1. TIPO Y DISEÑO

El método a emplearse es experimental-descriptivo.

Diseño para la Actividad antioxidante.

Se aplicará un diseño factorial completamente aleatorizado con dos variables o factores, de los cuales F1 tiene un nivel y F2 tiene dos niveles.

Cada uno de los tratamientos tendrá tres repeticiones.

F1 = Tipo de Extracto

- Extracto etanólico

F2 = tipo compuestos.

A = Capacidad antioxidante

B = Tipo de compuesto (fenoles totales, flavonoides, antocianinas y taninos)

Por lo tanto, se tendrá el siguiente diseño:

1 x 2 = 2 tratamientos

2 x 3 repeticiones = 6 experimentos

3.2. DISEÑO MUESTRAL

Los análisis serán utilizando las correspondientes reactivos específico para cada análisis.

3.3. PROCEDIMIENTO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

3.3.1. Recolección de la Muestra Vegetal y obtención de extractos etanólico.

La especie *Jatropha curcas* (piñón blanco) fue recolectada en el Centro Experimental de Plantas Medicinales de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la UNAP, esta especie está siendo trabajada agronómicamente para su cultivo en gran escala.

El extracto etanólico se obtuvo mediante el diagrama de la Figura N°10.

Materia Prima: Se recolectó todas las matrices vegetales como la hoja y látex en forma individual, solo se utilizó un kilogramo de la hoja y 300 ml de látex de la planta en el mes de enero del 2016.

Secado y Pulverizado: Una vez lavado y seleccionado, se procedió al secado a temperatura ambiente entre 25-30°C, a la sombra, posteriormente se pulverizó y redujo a pequeños tamaños.

Extracción: Para la determinación de Antioxidantes fue extraído con Etanol Absoluto al 1% de ácido fórmico, exento de la luz.

Concentración: Se realizó en un rotavapor a 60°C, -750 mbar y 65 rpm hasta la obtención de los extractos respectivos y en condiciones especiales exentos de la luz.

Molienda: Una vez secado a medio ambiente, se procedió a la molienda hasta reducirlo a polvo.

Extractos: Se almacenaron en envases trilaminados para evitar la exposición que podría afectar los principios activos.

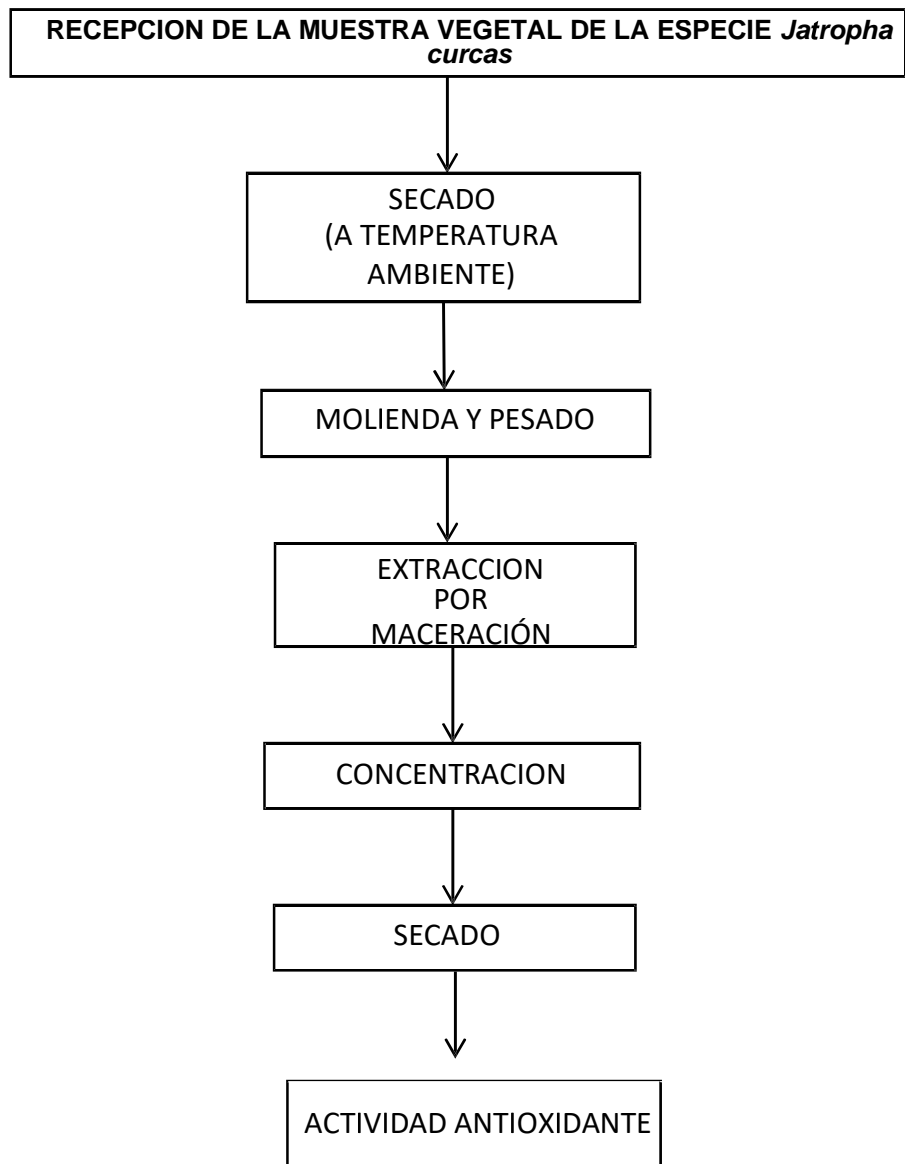


Figura N°10: Obtención del extracto Etanólico y determinación de antioxidantes de la *Jatropha curcas*

3.4. PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE LOS DATOS

3.4.1. Equipos y materiales.

Hoja y látex de la especie *Jatropha curcas* (piñón blanco):

Las plantas serán recolectadas en el Centro Experimental de Plantas Medicinales de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la UNAP en Zúngaro Cocha, Distrito de San Juan Bautista, provincia de Maynas. La parte experimental se hará en los laboratorios de Ingeniería de Alimentos, Físico-química de la Facultad de Ingeniería de Alimentos de la UNAP. Las partes a ser analizadas serán hoja y látex.

Equipos:

Los equipos utilizados en el trabajo de investigación se muestran en la Tabla N°4.

Tabla N°3: Equipos de laboratorio

N°	EQUIPOS/MATERIALES	MARCA	MODELO	PROCEDENCIA
01	BALANZA ANALITICA Max= 320 g	SARTORIUS	CP324S	ALEMANIA
02	ESPECTOFOTÓMETRO UV- VISIBLE	THERMO SPECTRONIC	GENESYS 6	USA
03	VORTEX	MCR	VM - 1000	-
04	CAMPANA EXTRACTORA	C4	CEX 180	COLOMBIA
05	MICROPIPETAS 10 - 100 µl	11120618	DragonLab	EEUU
06	CELDA DE CUARZO UV-VISIBLE	-	-	-
07	ROTAVAPOR	BÜCHI	R - 205	ALEMANA
08	ESTUFA DE AIRE CALIENTE	HOT AIR OVEN	DSO-500D	TAIWAN
09	REFRIGERADOR	-	-	-
10	BALANZA DE PLATILLOS CAP. 1 KG	-	-	-
11	PROBETAS 10 ML	-	-	-
12	PROBETAS 100 ML	-	-	-
13	PROBETAS 250 ML	-	-	-
14	PIPETA VOLUMETRICAS 1 ML	-	-	-
15	EMBUDOS	-	-	-
16	BURETA 25 ML	-	-	-
17	BURETA 50 ML	-	-	-
18	MATRAZ ERLLENMEYER	-	-	-
19	MORTERO Y PILON	-	-	-
20	FIOLAS 10 ML COLOR AMBAR	-	-	-
21	MATRAZ AFORADO 50 ML	-	-	-
22	CRISOLES	-	-	-
23	PIPETA GRADUADA 50 ML	-	-	-

Reactivos

Los reactivos utilizados se muestran en la Tabla N°4.

Tabla N°4: Reactivos usados

N°	REACTIVO	% PUREZA	MARCA
01	HIDRÓXIDO DE SODIO A.C.S.	97	SPECTRUM
02	NITRATO DE ALUMINIO	-	SPECTRUM
03	ÁCIDO FORMICO	95-97	MERCK
04	FOLIN CIOCALTEU	-	MERCK
05	ACIDO GALICO	99.9	MERCK
06	VAINILLINA	99	SIGMA ®
07	CARBONATO DE SODIO ANHIDRO A.C.S.	99.87	QUIMICA MEYER ®
08	ETANOL AR	99.7 – 100	LOBACHEMIE
09	METANOL ABSOLUTO	≥ 99.7	MERCK
10	ACIDO FORMICO	98-100	MERCK
11	ACIDO CLORHIDRICO	37	SIGMA ®
12	CLORURO DE POTASIO	99.5	SIGMA ®
13	ACETATO DE SODIO	99.5	MERCK
14	ACETATO DE POTASIO	99	LOBACHEMIE
15	DPPH	93	MERCK

3.4.2. Evaluación de la actividad antioxidante por el método 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH).

La determinación de Actividad Antioxidante (AA) fue siguiendo el método de (Brand-Williams *et al*, 1995):

Preparación de la muestra: 50 g del extracto etanólico seco, se diluyo y aforo a 10 ml con metanol consiguiendo una concentración de 5mg/ml, constituyéndose la solución patrón, a partir de esta dilución se prepararon concentraciones a 0.5; 0. 25; 0.1; 0.05 y 0.01 mg/ml, tomando alícuotas de 1ml (0.5 mg/ml); 0.5 ml (0.25 mg/ml); 0.2 ml (0.1 mg/ml);) 0.1 ml (0.05 mg/ml); 0.02 ml (0.01mg/ml) y aforando a 10 ml con metanol ,dejar reposar durante 30 minutos protegido de la luz.

Preparación de la solución de DPPH: Se preparó la solución stock de 1mMol de DPPH en metanol al 95%, a partir de la esta se preparó la solución de trabajo de 0.1 mMoles de DPPH (también usado como blanco). Se agregó a una cubeta de poliestireno de 1 ml 0.025 μ l de cada una de las diferentes concentraciones del extracto etanólico y se agregó 0.975 μ l de 0.1 mMol de DPPH. Posteriormente fueron realizadas las lecturas de las absorbancias en el espectrofotómetro UV/Vis a una longitud de onda (λ) de 517 nm, leídas a intervalos de 30 segundos durante 5 minutos y realizadas por triplicado.

La inhibición del secuestro del radical DPPH por soluciones crecientes de los extractos, fue determinada por la expresión siguiente:

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

Dónde: **Ac**, es la absorbancia del control 0.1 mm de DPPH), y **Am**, es la absorbancia de la muestra (solución creciente de los extractos) en tiempo n.

3.4.3. Preparación del extracto etanólico.

El extracto etanólico se reconstituyó con metanol absoluto al 50 % acidificado al 1% con ácido fórmico, para las respectivas diluciones y los ensayos subsiguientes.

3.4.4. Determinación de fenoles totales.

La metodología empleada fue de Singleton y Rossi (1965), modificada por Vela y Cuzcano (2015), para la cual se preparó una solución patrón de 0.1 mg/ml de ácido gálico. Se prepararon las diluciones para obtener la curva patrón (0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.1 mg/ml).

A 200 μ l del extracto etanólico (p/v) reconstituido del látex y hoja por triplicado, se le agregaron 1.5 ml de agua destilada, 100 μ l de reactivo de Folin-Ciocalteu, después de 5 minutos se agregaron 200 μ l de solución de carbonato de sodio al 20%, se dejó reposar por 30 minutos a temperatura ambiente protegido de la luz. El blanco se prepara simultáneamente del mismo modo pero sustituyendo la solución del extracto etanólico por metanol acidificado.

Posteriormente se midió la absorbancia a $\lambda = 765$ nm

La concentración de fenoles se calcula con base en la curva de calibración y se expresó como mg equivalentes de ácido gálico/ml.

3.4.5. Determinación de antocianinas, por el método pH diferencial.

La metodología empleada fue la de Sotero y García (2009): La antocianina experimenta una transformación reversible con los cambios de pH manifestado por un llamativo cambio en la absorbancia. La forma oxonium predomina a pH 1 y el hemiacetal a pH 4.5. El pH diferencial es un método basado en la presencia

de pigmentos degradables polimerizados y de otros compuestos interferentes.

3.4.5.1. Procedimiento:

Se prepararon dos diluciones de las muestras, una con el Buffer de cloruro de potasio pH 1 y otra con el Buffer de acetato de sodio pH 4.5, llevándolas a un volumen de 3 ml, se esperó 15 minutos a que las diluciones se equilibraran y se realizó un barrido en el espectrofotómetro de $\lambda = 400$ a 700 nm, esperando una absorbancia de la muestra entre 0.1 y 1.2 y utilizando como blanco agua destilada.

Para la obtención de la concentración de antocianina se utiliza la fórmula de pH diferencial:

$$A = (A_{\lambda \text{ vis-máx.}} - A_{\lambda 700})_{\text{pH 1}} - (A_{\lambda \text{ vis-máx.}} - A_{\lambda 700})_{\text{pH 4.5}}$$

En donde $A_{\lambda \text{ vis-máx.}}$ es la lectura del pico más alto a pH 1 y pH 4.5, y $A_{\lambda 700}$, es la lectura a $\lambda = 700$ nm, tanto para pH 1 como pH 4.5 para calcular la concentración en la muestra original se sigue la siguiente fórmula:

$$\text{Antocianina monomérica (mg/ 100 g)} = (A * PM * FD * 100) / (\epsilon * L)$$

Donde:

A = absorbancia

PM = Peso molecular, 449.2 g/mol FD = Factor de dilución

ϵ = Coeficiente de extinción molar, 26900 g/mol*cm

L = Longitud de la celda.

3.4.6. Determinación de flavonoides.

La metodología empleada fue la de Sotero y García (2009) con algunas modificaciones, realizándose mediante la lectura de la absorbancia a $\lambda = 374$ nm, del extracto etanólico reconstituido. A 3ml del extracto etanólico, por triplicado, y utilizando agua destilada como blanco. Para realizar los cálculos del contenido de flavonoides totales, se utiliza el coeficiente de extinción molar de la quercetina como patrón ($\epsilon = 78,66$ g/mol*cm).

$$\text{Flavonoides totales (mg/ 100 g)} = (\text{Abs} * \text{FD} * 100) / (\epsilon * \text{W})$$

Abs = Absorbancia

FD = Factor de dilución ϵ = coeficiente de extinción molar

W = Peso de la muestra

En algunos casos la presencia de flavonoides es tan alta que se mide en g/100 g de muestra.

3.4.7. Determinación de flavonoides.

La metodología empleada fue la de Gutiérrez *et al* (2000), Se le agrego 100 μ l del extracto etanólico, 200 μ l del acetato de potasio 1M, 200 μ l de nitrato de aluminio al 10%, completar el volumen con metanol acidificado con ácido fórmico al 1%, dejar reposar 30 minutos en temperatura ambiente protegiendo de la luz; se realizó la lectura de la absorbancia a $\lambda=415$ nm y utilizando como blanco metanol acidificado con ácido fórmico al 1%.

3.4.8. Determinación taninos.

La metodología empleada fue la de Valls *et al* (2000), mezclar 1 ml del extracto con 5 ml de mezcla de vainillina (50 ml de 1 g de vainillina en 100 ml de metanol y 50 ml de ácido fórmico 8 % en MeOH). El blanco se prepara simultáneamente del mismo modo, pero sustituyendo el extracto por ácido fórmico 8 % en MeOH. Se efectúa la lectura de absorbancia a $\lambda=500$ nm, homogenizar y dejar en reposo 30 minutos protegidos de la luz. El calibrado se realiza con soluciones de (+)-catequina (20, 40, 60, 80, 100 μ g/ml).

3.4.9. Análisis de datos para la determinación de la actividad antioxidante.

Los espectrogramas y los datos obtenidos de los UV-Vis, fueron interpretados de acuerdo a la teoría de la actividad antioxidante, fenoles totales, taninos (catequinas y proantocianidoles),

antocianinas, flavonoides y carotenos; los datos numéricos fueron procesados en la hoja de cálculo Excel 2010.

3.5. ASPECTOS ÉTICOS

Las matrices utilizadas solo fueron para análisis de sus componentes, en ningún momento se manipuló en la parte genética.

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

4.1. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LA ESPECIE *Jatropha curcas* (PIÑÓN BLANCO).

4.1.1. Extracción Etanólica de las diferentes partes de *Jatropha curcas*.

En la Cuadro N°1, se puede observar las cantidades extraídas con Etanol Absoluto y ácido fórmico al 1%.

Cuadro N°1: Extractos para la determinación antioxidante de la hoja y el látex de la especie *Jatropha curcas* (piñón blanco)

Parte de la planta	Cantidad de materia seca (g)	Extracto etanolico (g)
Hojas	100	11.00
Látex	100	80.00

4.2. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LA JATROPHA CURCAS.

4.2.1. Actividad Antioxidante de la Hoja de la *Jatropha curcas*.

Cuadro N°2: Promedio de lecturas del espectrofotómetro de la hoja del piñón blanco

Promedios de AA de la hoja del piñón blanco						
CONCENTRACIONES [mg / ml]	5	0.5	0.25	0.1	0.05	0.01
PROMEDIO DE ABSORCION (A°)	0.016	0.086	0.101	0.122	0.135	0.145
INHIBICIÓN (%)	90.02	46.26	36.94	23.75	15.81	9.78

En la Cuadro N.º 2, se observa el promedio de 30 lecturas realizadas 3 veces consecutivas cada 30 segundos realizados a la hoja del piñón, observamos que la mayor AA fue a 5 mg/ml, de 90.02% y la menor a 0.01 mg/ml con 9.78%.

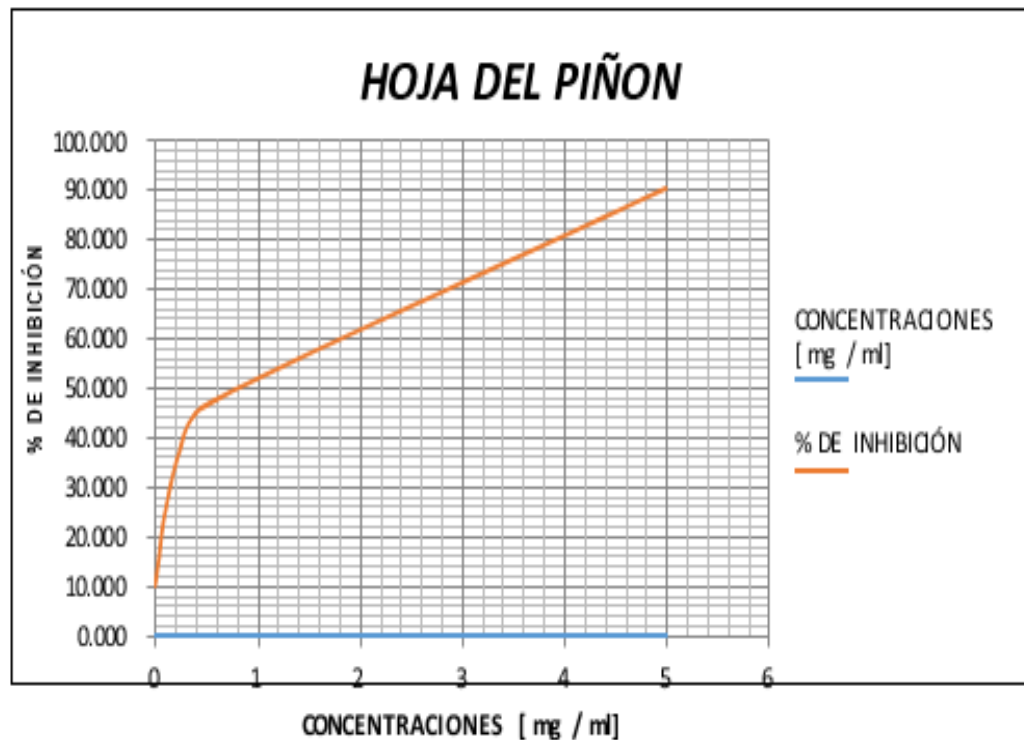


Figura N°11: Curva de inhibición de las concentraciones del extracto etanolito de la hoja del piñón blanco

En la Figura N°11 se observa que la tendencia de la AA de la hoja del piñón es de crecimiento continuo es decir que a mayor cantidad de extracto mayor es la capacidad inhibitoria, se muestra una elevada capacidad de captura de radicales libres.

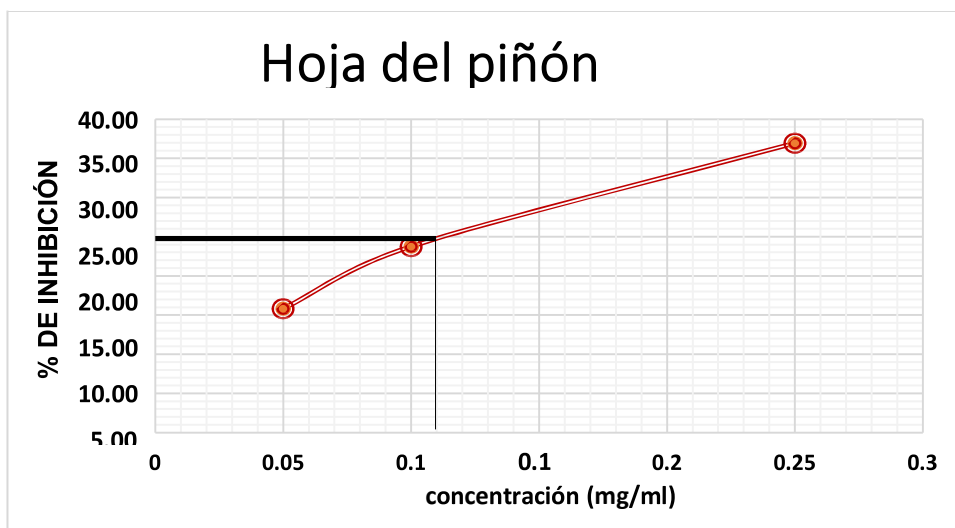


Figura N°12: Concentración mínima al 25% de AA de la hoja de piñón

En la Figura N°12 se puede observar que la concentración mínima inhibitoria al 25% es de 0.12 mg/ml, la hoja muestra una elevadísima AA y comienza con una cantidad muy pequeña de extracto.

4.2.2. Actividad Antioxidante del Látex de la *Jatropha curcas*.

Cuadro N°3: Promedio de lecturas del espectrofotómetro del látex del piñón blanco

Promedios del látex de AA del piñón blanco						
CONCENTRACIONES [mg / ml]	5	0.5	0.25	0.1	0.05	0.01
PROMEDIO DE ABSORCIÓN A°	0.016	0.206	0.312	0.320	0.332	0.350
% DE INHIBICIÓN	95.48	42.95	13.45	11.23	7.87	2.72

En el Cuadro N°3, se observa el promedio de 30 lecturas realizadas 3 veces consecutivas cada 30 segundos realizados del látex del piñón, observamos que la mayor AA fue a 5 mg/ml, de 95.48% y la menor a 0.01 mg/m con 2.72%.

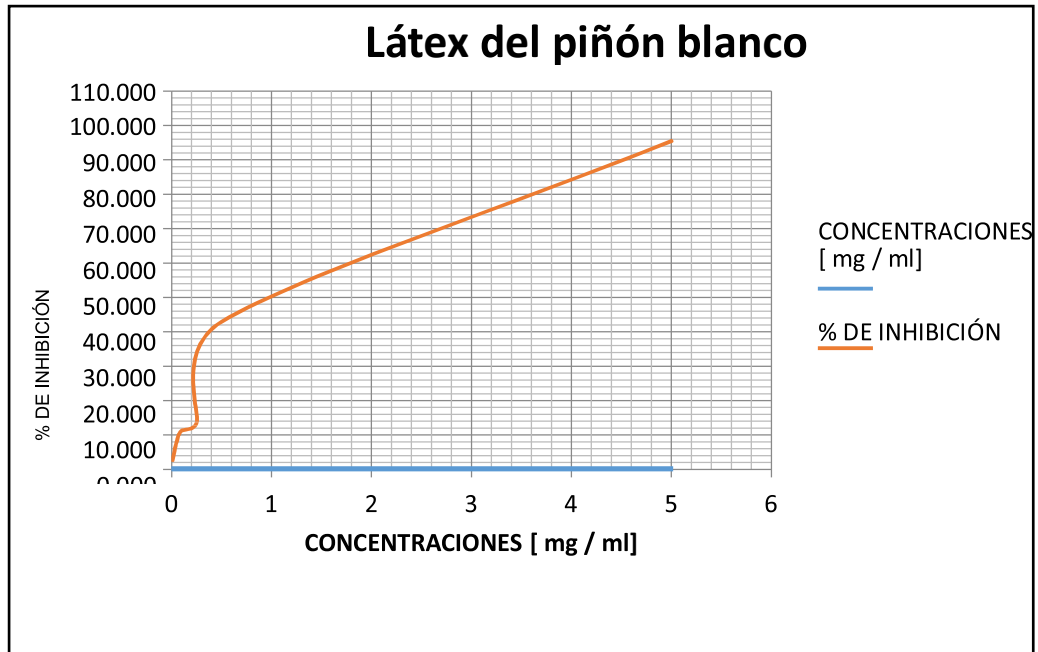


Figura N°13. Concentración mínima al 95% de AA del látex de piñón blanco

En la Figura N°13 se observa que la tendencia de la AA del látex del piñón es de crecimiento continuo es decir que a mayor cantidad de extracto mayor es la capacidad inhibitoria, se observa la mayor capacidad de captura de radicales libres del piñón blanco.

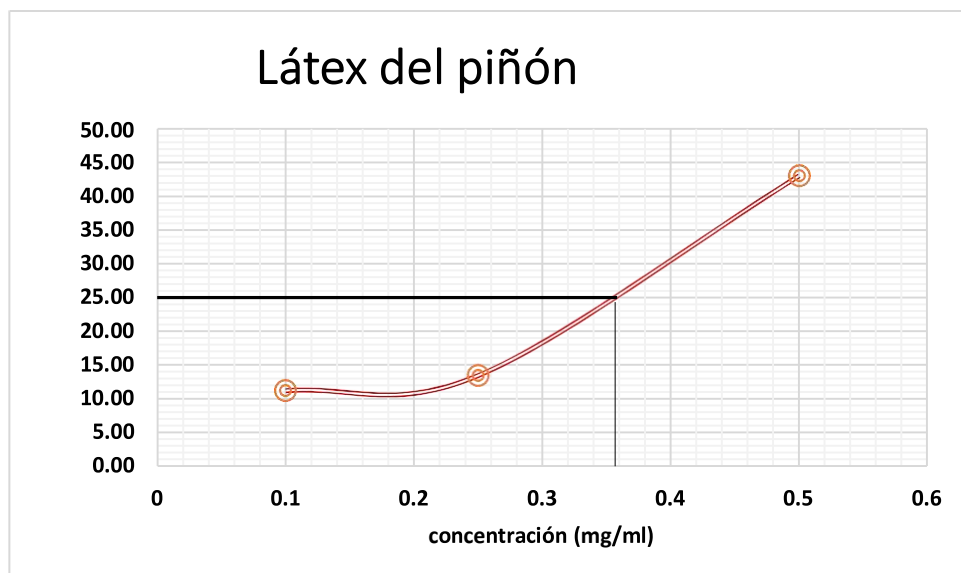


Figura N°14: Concentración mínima al 25% de AA del látex de piñón blanco

En la Figura N°14 se puede observar que la concentración mínima inhibitoria al 25% es de 0.36 mg/ml, el látex muestra una elevadísima AA y comienza con una cantidad muy pequeña de extracto.

4.3. DETERMINACION DE COMPUESTOS FENOLICOS DEL EXTRACTO ETANOLICO DE ESPECIE *Jatropha curcas* (PIÑÓN BLANCO).

La determinación de compuestos fenólicos fue a través de las diferentes ecuaciones de la metodología para las antocianinas y flavonoides por Sotero y García (2009).

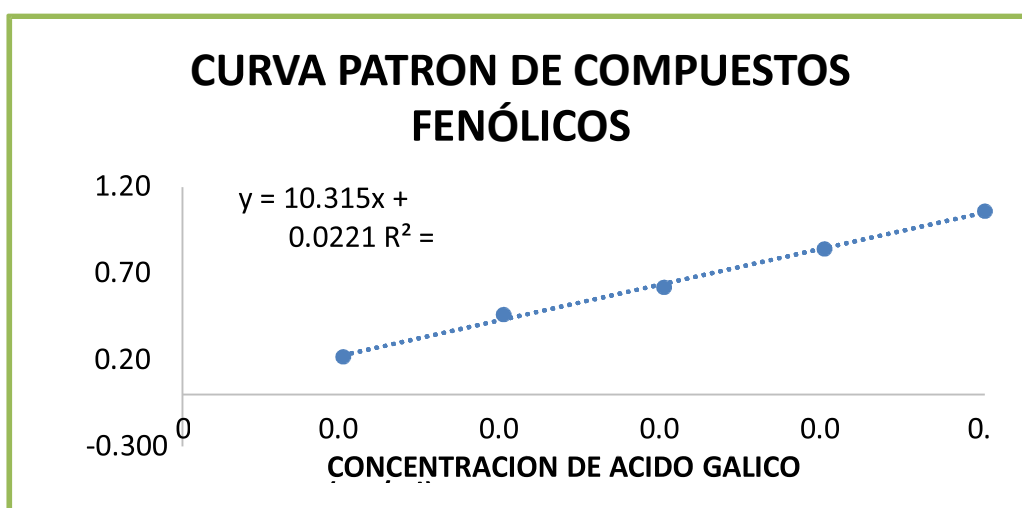


Figura N°15: Curva padrón de ácido gálico para cálculo de fenoles totales

En la determinación de fenoles totales se empleó la curva que se muestra en la Figura N°15 donde la concentración del ácido gálico que va a concentraciones de 0.02, 0.04, 0.06, 0.08 y 0.1 mg/ml ($y = 10.315x + 0.0221$; $R^2 = 0.9967$) y la absorbancia respectiva medida a una $\lambda = 765$ nm.

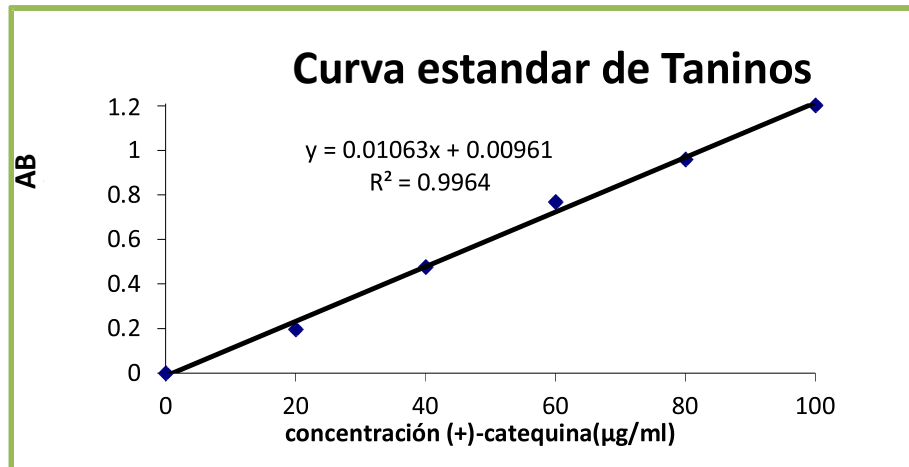


Figura N°16: Curva estándar de taninos par cálculo de Taninos

Para la determinación de taninos la metodología empleada fue la de Valls *et al* (2000) y fueron cuantificados mediante la ecuación de la curva estándar de taninos obtenido en las mismas condiciones que se obtuvieron de las muestras tal como se observa en la Figura N°16, donde las concentraciones de 20, 40, 60, 80, 100 μg/ml ($y = 0.01063x + 0.00961$; $R^2 = 0.9964$) y la absorbancia respectiva medida a una $\lambda = 500$ nm.

COMPUESTOS FENOLICOS DE LA HOJA DE *Jatropha curcas* (PIÑÓN BLANCO)

Cuadro N°4: Resumen del contenido de fenoles totales (FT), taninos, antocianinas y flavonoides presentes en la hoja del piñón blanco

Muestra de la hoja de piñón blanco	concentración FT		concentración taninos		Concentración de Antocianinas		Concentración de Flavonoides	
	mg GAE/100 g de muestra original	±	mg (+)-catequina/100 g de muestra original	±	mg Cianidina-3-glucosido/100 g muestra original	±	g quercetina/100 g de muestra original	±
TOTAL	1,568.53	1.30	3.95	-	14.33	0.38	4.23	-

En el cuadro N°4 se puede observar las cantidades promedios de los diferentes compuestos fenólicos determinados en la hoja del piñón blanco como FT con 1568.53 ± 1.30 mgGAE/100 g de muestra original, taninos con 3.95 ± 0.0 mg (+)-catequina/100 g de muestra original, Antocianinas con 14.33 ± 0.38 mg Cianidina-3-glucosido/100 g muestra original y Flavonoides con 4.23 g quercetina/100 g de muestra original.

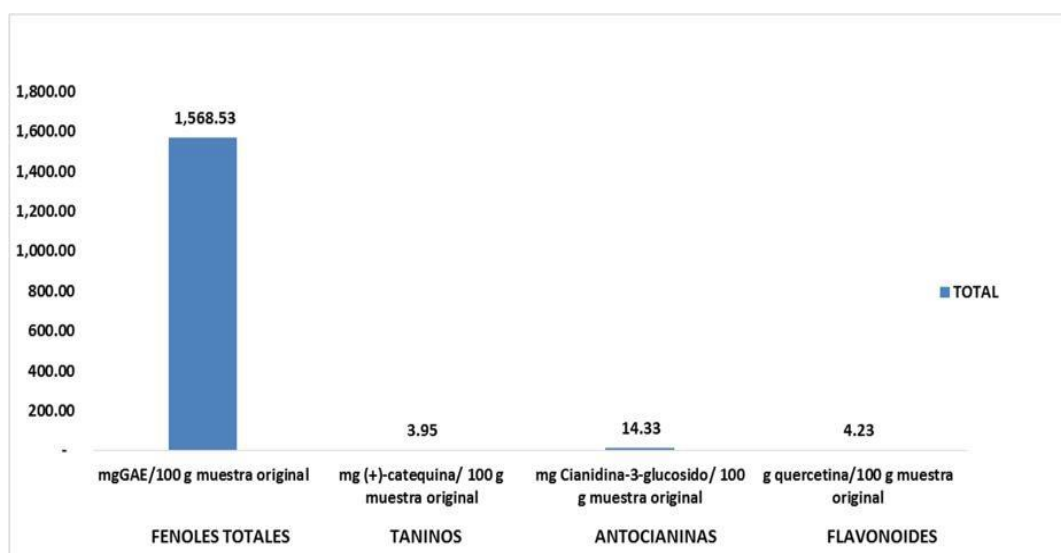


Figura N°17: Compuestos fenólicos presentes en la hoja del piñón blanco

En la Figura N°17, se tiene cantidades significativas flavonoides y FT, cantidad considerable de antocianinas y de taninos en la hoja del piñón blanco, la Actividad Antioxidante (AA) puede ser responsabilidad de estos metabolitos secundarios de FT y flavonoides.

Del extracto etanolico de las hojas se encontraron 27.33 µg/mg de polifenóles totales, (El Diwani G, 2009) el extracto metanolico se encontraron 38.8±2.14 mg/g de muestra seca de fenoles totales y 1.4±0.12 mg/g de muestra seca de flavonoides, (Oskoueian, 2011). Los valores reportados son mayores a los encontrados, sin embargo, la presencia de flavonoides es una cantidad mucho más elevada en el presente trabajo.

4.3.1. Compuestos Fenolicos del Látex de *Jatropha Curcas* (Piñón Blanco).

Cuadro N°5: Resumen del contenido de fenoles totales (FT), taninos, antocianinas y flavonoides presentes en el látex del piñón blanco

Muestra del látex de Piñón Blanco	concentración FT		concentración taninos		Concentración de Antocianinas		Concentración de Flavonoides	
	mg GAE/100 g de muestra original	±	mg (+)-catequina/100 g de muestra original	±	mg Cianidina-3-glucosido/100 g muestra original	±	g quercetina/100 g de muestra original	±
Látex PB	2,943.91	1.55	0.59	-	45.42	11.06	1.84	0

En el Cuadro N°5 se puede observar las cantidades promedios de los diferentes compuestos fenólicos determinados en el látex del piñón blanco como FT con 2943.91 ± 1.55 mgGAE/100 g de muestra original, taninos con 0.59 ± 0.0 mg (+)-catequina/100 g de muestra original, Antocianinas con 45.42 ± 11.06 mg Cianidina-3-glucosido/100 g muestra original y Flavonoides con 1.84 ± 0.0 g quercetina/100 g de muestra original.

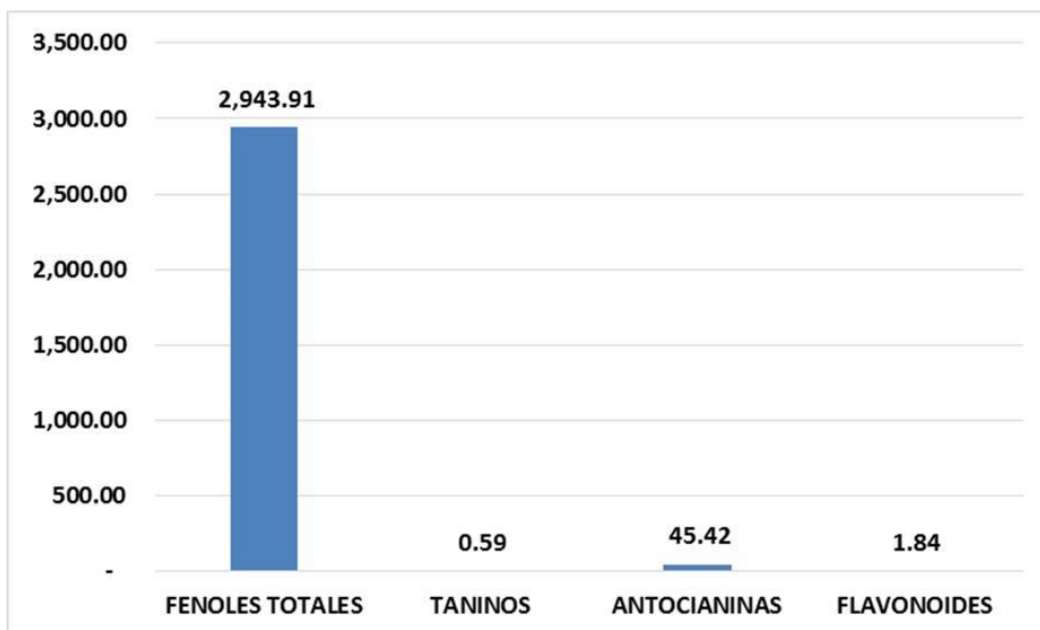


Figura N°18: Compuestos fenólicos presentes en el látex del piñón blanco

En la Figura N°18 se tiene cantidades significativas FT y flavonoides, cantidad significativa de antocianinas y pequeña de taninos en el látex del piñón blanco, la Actividad Antioxidante (AA) puede ser responsabilidad de estos metabolitos secundarios de FT y flavonoides reportó presencia de fenoles totales en un $26.0 \pm 0.91 \text{ mg/g}$ de muestra seca y de flavonoides totales de 16.3 mg/g de muestra seca, valores similares a lo encontrado en el presente trabajo.

Los flavonoides son metabolitos secundarios con muchas actividades farmacológicas como el anticancerígenos, antivirales, antitóxicos y actividad hepatoprotectora, fueron aislado el flavonoide glucósido I, flavonoide glucósido II, nobiletina y tomentina, (Abdelgadir H, 2013) así como también, apigenina, vitexina e isovitexina. (Pabon L, 2012)

Los compuestos fenólicos están presentes en todas las plantas y son considerados constituyentes biológicamente activos, estos compuestos son antitromboticas y con acción antiinflamatoria, inhibe o es antagónica del factor de actividad plaquetaria (PAF), fueron aislados el 3-hidroxi-4-metoxibenzaldehido, 3-metoxi-4-hidroxibenzoato de la raíz, cafeoilaldehido y siringaldehido de la semilla. (Abdelgadir H, 2013)

Las cumarinas son metabolitos secundarios que están presentes semillas, frutas, flores, raíces, hojas y estambres, son usadas en varias desordenes de la piel como eczema, psoriasis; fueron identificados los compuestos tomentina, 5-hidroxi-6,7-dimetoxicumarina, 6- metoxi-7-hidroxicumarina y el ácido 2, 3, 7-trimetoxi-8-O- β -D-glucósido gálico. (Abdelgadir H, 2013)

CAPÍTULO V: DISCUSIÓN

La actividad de antioxidante (AA) de la hoja de la *Jatropha curcas* se observa que la mayor AA fue a 5 mg/ml, y 90.02% de capacidad antioxidante (CA) y la menor AA 0.01 mg/m con 9.78% de CA, nos da entender que mayor cantidad de extracto mayor es la capacidad inhibidora, lo cual muestra una elevada capacidad de captura de radicales libres.

La concentración mínima inhibidora al 25% es de 0.12 mg/ml, la hoja muestra una elevadísima AA en pequeñas cantidades de extracto. En trabajos publicados de la *J. curcas* recolectada en Egipto mostró una AA de 92.4% de CA (El Diwani G, 2009) y una recolectada en Malasia con altísima AA con un IC₅₀ de 6.8 ± 2.71 µg/ml y captura del radical libre con óxido nítrico de un IC₅₀ de $93.5.0 \pm 3.5$ µg/ml, (Oskoueian E, 2011) estos datos muestran que la hoja de piñon blanco es similar a los resultados que logramos obtener de nuestro piñon blanco.

En la actividad antioxidante del látex de la *Jatropha curcas* se observa que la mayor AA fue a 5 mg/ml, de 95.48% CA y la menor a 0.01 mg/ml con 2.72% CA, fue un crecimiento continuo es decir que a mayor cantidad de extracto, mayor es la capacidad inhibitoria, donde se observa la mayor capacidad de captura de radicales libres del piñon blanco.

En el látex del piñon blanco la concentración mínima inhibitoria al 25% es de 0.36 mg/ml, el látex muestra una elevadísima Actividad Antioxidante y comienza con una cantidad muy pequeña de extracto. La información recolectada en Malasia, indica que la *J. curcas* salió con altísima AA de 93% aproximadamente con un IC₅₀ de 5.9 ± 3.26 µg/ml y captura del radical libre

con óxido nítrico de un IC50 de $29.7 \pm 0.95 \mu\text{g/ml}$, (Oskoueian E, 2011) estos datos muestran que nuestros resultados tienen una similitud con sus resultados.

Las cantidades promedios de los diferentes compuestos fenólicos determinados en la hoja del piñón blanco como FT con $1568.53 \pm 1.30 \text{ mgGAE/100 g}$ de muestra original, taninos con $3.95 \pm 0.0 \text{ mg (+)-catequina/100 g}$ de muestra original, Antocianinas con $14.33 \pm 0.38 \text{ mg Cianidina-3-glucosido/100 g}$ muestra original y Flavonoides con $4.23 \text{ g quercetina/100 g}$ de muestra original,

Se tiene cantidades significativas de flavonoides y FT, cantidad considerable de antocianinas y de taninos en la hoja del piñón blanco.

En cuanto al látex de piñón blanco se observó las cantidades promedios de los diferentes compuestos fenólicos determinados en el látex del piñón blanco, la Actividad Antioxidante (AA) puede ser responsabilidad de estos metabolitos secundarios de FT y flavonoides.

Del extracto etanólico de las hojas se encontraron $27.33 \mu\text{g/mg}$ de polifenóles totales, (El Diwani G, 2009) el extracto metanolico se encontraron $38.8 \pm 2.14 \text{ mg/g}$ de muestra seca de fenoles totales y $1.4 \pm 0.12 \text{ mg/g}$ de muestra seca de flavonoides, (Oskoueian, 2011). Los valores reportados son mayores a los encontrados, sin embargo, la presencia de flavonoides es una cantidad mucho más elevada en el presente trabajo.

Se puede observar las cantidades promedios de los diferentes compuestos fenólicos determinados en el látex del piñón blanco como FT con $2943.91 \pm 1.55 \text{ mgGAE/100 g}$ de muestra original, taninos con $0.59 \pm 0.0 \text{ mg (+)-catequina/100 g}$ de muestra original, Antocianinas con $45.42 \pm 11.06 \text{ mg}$

Cianidina-3-glucosido/100 g muestra original y Flavonoides con 1.84 ± 0.0 g quercetina/100 g de muestra original.

Se puede observar que hay cantidades significativas FT y flavonoides, cantidad significativa de antocianinas y pequeña de taninos en el látex del piñón blanco, planteamos que la Actividad Antioxidante (AA) puede ser responsable de los metabolitos secundarios presentes como Fenoles Totales y flavonoides.

CAPÍTULO VI: CONCLUSIONES

La especie *Jatropha curcas* (piñón blanco) del Centro Experimental de Zúngaro Cocha de la Facultad de Ciencias Agronómicas contiene metabolitos secundarios como fenoles, flavonoides, taninos en cantidades abundantes, que pueden ser responsables de una alta Actividad Antioxidante.

La Actividad Antioxidante de la especie *Jatropha curcas* es considerada como alta captura de radical libre del extracto etanólico del látex con el inicio de la actividad a 0.36 mg/ml, las hojas a de 0.12 mg/ml.

La evaluación de compuestos fenólicos determinó la presencia de grandes cantidades de flavonoides en todas las partes de la planta, la presencia significativa de fenoles totales, se encontraron solamente presencia significativa de antocianinas en las hojas.

CAPÍTULO VII: RECOMENDACIONES

Seguir investigando la actividad biológica del piñón blanco con pruebas bioguiadas por la atribución de cura de varias enfermedades y dolencias como aparecen en la literatura y la etnobotánica.

Realizar pruebas biológicas y farmacéuticas con los diferentes extractos de las diferentes matrices del piñón blanco, para prevenir enfermedades degenerativas.

Incentivar la investigación de especies vegetales en busca alternativas a la medicina científica y dar un valor agregado a las plantas medicinales que se usan en la Amazonía.

Encontrar nuevos protocolos para la determinación de la actividad biológica que se adecuen a las condiciones de la materia prima y enfermedades endémicas que tenemos en nuestro país.

CAPÍTULO VIII: FUENTES DE INFORMACIÓN

1. KUHNAU J. World Rev. Nutr. **24**. 1976. 117.
2. LOCK S O. **Investigación Fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales**. Fondo Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú. 2da.ed. Lima- Peru.1994. 300 p.
3. LOCK S O. **Colorantes Naturales**. Fondo Editorial de PUC. Lima-Perú. 1997. 274 p.
4. BRACK E A. **Diccionario enciclopédico de plantas útiles del Perú**. PNUD.1999. 556p.
5. VILLEGAS L. **La investigación y el desarrollo integral de la biodiversidad en el Perú**. Facultad de Ciencias y Filosofía. Universidad Peruana Cayetano Heredia.2005.
6. ABDELGADIR H.A. y VAN STADEN j. **Ethnobotany, ethnopharmacology and toxicity of *Jatropha curcas* L. (Euphorbiaceae): a review**. South African of Botany. N. 88. 2013. pp 204-208.
7. RAKSHIT K.D., DARUKESHWARA J., RATHINA RAJ K., NARASIMHAMURTHY K., SAIBABA P. BHAGYA S. **Toxicity studies of detoxified *jatropha meal (Jatropha curcas)* in rats**. Food and Chemical Toxicology V.46. 2008. pp 3621-3625.
8. NITHIYANANTHAM S., SIDDHURAJU P., FRANCIS G. **A promising approach to enhance the total phenolic content and antioxidant activity of raw and processed *Jatropha curcas* L. kernel meal extracts**. Industrial Crops and Products. V. 43. 2013. pp 265-270.

9. RAO FU, YUTING ZHANG, YIRAN GUO, FENGXIA LIU, FANG CHEN. **Determination of phenolic contents and antioxidant activities of extracts of *Jatropha curcas* L. seed shell, a by product, a new source of natural antioxidant.** Industrial Crops and Products. V. 58. 2014. pp 265-270.
10. RODRIGUES J. MIRANDA I., FURQUIM L. GOMINHO J, VASCONCELOS M., BARRADAS G., PEREIRA H., BIANCHI-DE-AGUIAR F. **Storage stability of *Jatropha curcas* L. oil naturally rich in gamma-tocopherol.** Industrial Crops and Products. V. 64. 2015. pp 188-193
11. EDRISI S.A., DUBEY R.K., TRIPATHI V. BAKSHI M., SRIVASTAVA P., JAMIL S., SINGH H.G., SINGH N., ABHILASH P.C. ***Jatropha curcas* L.: A crucified plant waiting for resurgence.** Renewable and Sustainable Energy Reviews. V. 41. 2015. pp 855-862.
12. LOPEZ SAENZ J.A., PEREZ SOTO J. Potencial etnomedicinal de dos especies tropicales del género *Jatropha* L. Medicina Naturista. V.5, N. 1. pp 8-12.
13. PABON L.C., HERNANDEZ-RODRIGUEZ P. **Importancia química de *Jatropha curcas* y sus aplicaciones biológicas, farmacológicas e industriales.** Artículo de Revisión. Revista Cubana de Plantas Medicinales. 2012. V.17. N. 2. pp. 194-209.
14. RAKSHIT K.D., DARUKESHWARA J., RATHINA RAJ K., NARASIMHAMURTHY K. SAIBABA P., BHAGYA S. **Toxicity studies of detoxified *Jatropha* meal (*Jatropha curcas*) in rats.** Food and Chemical Toxicology. N. 46, 2008. Pp. 3621-3625.

15. CAN-YA L., RAKSHIT K.D., JIAN-XIN L., JIAN-MIN Lv, MAKKAR H.P.S., BECKER K. Food and Chemical Toxicology. N.48. 2010. pp. 620-625.
16. SHAHIDI F., NACZK M. **Phenolic Compounds in Fruits and Vegetables. In: Food Phenolics, Sources, Chemistry.** Technomic Publishing Co. Inc.: Lancaster, PA. 1995. pp. 75-107
17. GUTTERIDGE J.M., HALLIWELL B. **Free radicals and antioxidants in the year 2000: A historical look to the future.** Annals of the New York Academy of Sciences. 2000. V. 899: 136-147.
18. MARWAH R.G., FATOPE M.O., MAHROOQI R.A., VARMA G.B., ABADI H.A., KHAMIS S., BURTAMANI-AL. **Antioxidant capacity of some edible and wound healing plants in Oman.** Food chemistry. 2007. 101:465-470.
19. HALLIWELL B. AND GUTTERIDGE J. M. C. **Free Radicals in Biology and Medicine.** Tercera Edición. Nueva York. Oxford University Press. 1999. pp. 617-783.
20. SUJA K.P., JAYALEKSHMY A., ARUMUGHAN C. **Free radical Scavenging behavior of Antioxidant Compounds of Sesame (Sesamum indicum L.) in DPPH• System.** Journal of agricultural and food chemistry. 2004. 52: 912-915.
21. SATUÉ-GARCIA, M.T.; HEINOMEN, M.; FRANKEL, E.N. **Anthocyanin as antioxidants on human low-density lipoprotein and lecithin-liposome systems.** Journal of Agriculture and Food Chemistry, Easton. 1997. v. 45, n. 9, p. 3362-3367.
22. VILLANO, D.; FERNÁNDEZ-PACHÓN, M.S.; MOYÁ, M.L.; TRONCOSO, A.M.; GARCIA PADILLA, M.C. **Radical scavenging**

- ability of polyphenolic compounds towards DPPH free radical.**
Talanta, New York. 2007. v. 71, n. 1, p. 230-235.
23. SHERWIN, E.R. **La oxidación y antioxidantes en el tratamiento de la gasa y el aceite.** J. Am. Chem Oil. Soc. 1978. 55: 809-814.
 24. COPPEN, P.P. **El uso de antioxidantes, en rancidez en los Alimentos,** Allen, JC y Hamilton, RJ, Eds., Applied Science Publishing Company, Londres. 1983. 67-87.
 25. CHEESMAN KH, SLATER TF. **Free Radicals in Medicine.** Br Med Bull. 1998. 49:118-21.
 26. ROMERO ALVIRA D, BUENO GÓMEZ J. **Radicales libres del oxígeno y antioxidantes en medicina.** Editorial Rev Clin Española 1998. 184 (7):345-6.
 27. GUTIÉRREZ SALINAS, J., MORALES GONZÁLEZ, J.A. **Producción de radicales libres derivados del oxígeno y el daño al hepatocito.** Rev. Medicina Interna de México. 2004. V. 20, N. 4, julio-agosto.
 28. LINI HUO, RUMEI LU, PEIYUAN LI, YANFANG LIAO, RUI CHEN, CHAOCHENG DENG, CHENGSHENG LU, XIANGYONG WEIA AND YAOHUA LIA. **Antioxidant activity, total phenolic, and total flavonoid of extracts from the stems of *Jasminum nervosum* Lour.** Gasas y aceites. 2011. 62 (2), abril-junio, 149-154.
 29. MOHAMMAD ABU ZAID, FARRUKH AFAQ, DEEBA N. SYED, MARK DREHER AND HASAN MUKHTAR. **Inhibition of UVB-mediated oxidative stress and markers of photoaging in immortalized HaCaT keratinocytes by pomegranate polyphenol extract POMx.** Photochemistry and Photobiology. 2007. 83, 882–888.

30. NIETO, G., HUVAERE, K., SKIBSTED, L.H. **Antioxidant activity of rosemary and thyme by-products and synergism with added antioxidant in a liposome system.** Eur. Food. Res. Technol. 2011. 233: 11-18.
31. ARUOMA, O. I., HALLIWELL, B., WILLIAMSON, G. **In vitro methods for characterizing potential prooxidant and antioxidant actions of nonnutritive substances in plant foods.** In **Antioxidant Methodology.** ARUOMA, O. I., CUPPETT, S. I., Eds.; AOCS Press: Champaign, 1997. IL. 173-204.
32. ROBBINS, R. **Phenolic acids in foods: an overview of analytical methodology.** J. Agric. Food Chem. 2003. Vol. 51, 2866-2887.
33. KÄHKÖNEN MARJA, ANU I. COPIA, MARINA HEINONEN. **Berry phenolic and their Antioxidant activity.** J. Agric. Food Chem. 2001. Vol. 49, 4076 – 4082.
34. HERTOGL MGL, HOLLMAN PCH Y PUTTE VAN DE B. **Content of potentially anticarcinogenic flavonoids of tea, infusions, wines, and fruit juices.** J Agric Food Chem. 1996. 41:1242-1246.
35. SCHIEBER, A., STINTZING, F.C., CARLE, R. **By- products of plant food processing as a source of functional compounds-recent developments.** Tends in Food Science & Technology (12). 2001. pp. 401-413.
36. AHERNE SA Y O'BRIEN NM. **Dietary flavonols: chemistry, food content, and metabolism.** Nutrition. 2002. 18:75-81.
37. SINGLETON VL. **Flavonoids.** En: CHILDESTER CO, MRAK EM, STEWART GF (EDS.): **Advances in Food Research.** New York: Academic

- Press. 1981. 149-242.
38. HAVSTEEN B. **Flavonoids. A class of natural products of high pharmacological potency.** Biochem Pharmacol. 1983. 32:1141-1148.
 39. PERES W. **Radicais Livres em níveis biológicos.** Ed. Universidade Católica de Pelotas, Brasil. 1994. 49-81.
 40. PACE ASCIAK CR, HAHN S, DIAMANDIS EP, SOLEAS G Y GOLDBERG DM. **The red wine phenolics trans resveratrol and quercetin block human platelet aggregation in eicosanoid synthesis: implication for protection against coronary heart disease.** Clin Chim Acta. 1995. 235:207-219.
 41. JANG M, CAI L, UDEANI GO. **Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes.** Science. 1997. 275:218-221.
 42. JOVANOVIC SV, STEENKEN S, SIMIC MG, HARA Y. **Antioxidant properties of flavonoids: reduction potentials and electron transfer reactions of flavonoid radicals.** En: Rice Evans C, Parker L (eds.): Flavonoids in health and disease. Marcel Dekker, Nueva York. 1998. 137-161.
 43. YANG K, LAMPRECHT SA, LIU Y. Chemoprevention studies of the flavonoids quercetin and rutin in normal and azoxymethane-treated mouse colon. Carcinogenesis. 2000. 21:1655-1660.
 44. BOTANICAL ON LINE. Disponible en: <http://www.botanical-online.com/medicinalesflavonoides.htm>. 1999.
 45. Friedli G.. Friedli Enterprises [online]. [visitado en abril, 2003]. Disponible: <<http://www.friedli.com/herbs/phytochem/flavonoids.html>>.2003

46. BORS W, HELLER W, CHRISTA M. **Flavonoids as antioxidants: determination of radical-scavenging efficiencies. Methods Enzymol.** 1990.186:343-355.
47. LETAN A. **The relation of structure to antioxidant activity of quercitin and some of its derivates.** J Food Sci. 1966. 31:518- 523.
48. MARTÍNEZ-FLÓREZ S., GONZÁLES-GALLEGO J., CULEBRAS J.M., TUÑÓN M.J. **Los Flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes.** Nutr. Hosp. XVII (6). 2002. P 271-278.
49. KANG, H.J., CHAWLA, S. P., J. O. C., KWON, J.H., BYUN, M.W. Studies on the development of functional powder from citrus peel, Bioresource Technology. 2006. 97: 614-620.
50. SOTERO S. V. E., GARCIA DE SOTERO D. E. **Manual de análisis Químico de Alimentos**, 1° Edición, Edit, CONCYTEC, Iquitos-Perú, 2009. pp. 7-8
51. FENEMA O. **Química de los Alimentos.** 2ª Ed. España. Editorial Acribia S.A. 1993. 918 p
52. BADUI D. **Química de alimentos.** 2ª Reimpresion. Mexico. Editorial Alhambra.1993. 226 p.
53. CORDER, J. Douthwaite, DM Lees. **Endothelin-1 synthesis reduced by red wine.**
Nature. 2001. Disponible en: <http://es.wikipedia.org/wiki/Tanino>
54. SHAHIDI F., NACZK M. **Food phenolics: Sources, chemistry, effects and Applications.** Technomic publishing. Inc. 1995. p. 247-260
55. WAGNER GJ. **Cellular and Subcellular Location in Plant Metabolism.** In: CREASY L, HRAZDINA G. editors. **Recent advances**

- in Phytochemistry.** New York: Plenum Press. 1982. p. 1-45.
56. BROUILLARD R. **Chemical Structure of Anthocyanins.** En **Anthocyanins as Food Colors.** P. Markakis (ed.), pp 1-38. Academic Press. 1982.
 57. PECKET R. C. Y SMALL C. J. **Occurrence, Location and Development of Anthocyanoplasts.** *Phytochemistry.* 1980. 19:2571-2576.
 58. BADUI D. S. **Química de los Alimentos.** Editorial Pearson Educación, México. 2006.
 59. WONG D. **Química de los Alimentos: mecanismos y teoría.** Editorial Acribia, S. España. 1995.
 60. DE PASCUAL-TERESA S., SÁNCHEZ-BALLESTA M.T. **Anthocyanins: from plant to health.** *Phytochemical Review.* 2008. 7:281-299
 61. KONCZACK I. Y ZHANG W. **Anthocyanins-more than Nature's Colours.** *Journal Biomedical and Biotechnology.* 2004. 5:239-240
 62. ESCRIBANO-BAILON M. T., BEULGA-SANTOS C. Y RIVAS-GONZALO J. C. **Anthocyanins in Cereals.** *Journal Chromatography.* 2004. 1054:129-141.
 63. ZHANG Y., JAYAPRAKASAM B., SEERAM N. P., OLSON L. K., DEWITT D. Y NAIR M.G. **Insulin Secretion and Cyclooxygenase Enzyme Inhibition by Cabernet Sauvignon Grape Skin Compounds.** *Journal Agricultural and Food Chemistry.* 2004.52:228-233.
 64. HORBOWICZ M. KOSSON R., GZESIUK A. Y DEBSKI H. **Anthocyanins of Fruits and Vegetables-their occurrence, analysis**

- and role in human nutrition.** Vegetables Crops Research Bulletin. 2008. 68:5-22.
65. ABDEL-AAL E-S. Y HUCL P. **Composition and Stability of Anthocyanins in Blue- gained Wheat.** Journal Agricultural and Food Chemistry. 2003. 51:2174-2180.
66. COSTA C.T., HORTOND. Y MARGOLIS S.A. **Analysis of Anthocyanins in Foods by Liquid Chromatogafy, Liquid Chromatogafy- mass Spectrometry and Capillary Electrophoresis.** Journal Chromatogaphy. 2000. 881:403-410.
67. ABDEL-AAL E-S., YOUNG C., RABALSKI I. **Anthocyanin Composition in Black, Blue, Pink, Purple and Red Cereal Gains.** Journal Agricultural and Food Chemistry. 2006. 54:4696- 4704.
68. CASTANEDA-OVANDO A., PACHECO-HERNÁNDEZ L., PAEZ-HERNÁNDEZ E., RODRÍGUEZ J. A. Y GALÁN-VIDAL C. A. **Chemical Studies of Anthocyanins: a review.** Food Chemistry. 2009. 113:859-871.
69. SAENZ-LOPEZ R., FERNANDEZ-ZURBANO P., TENA M. T. **Developmentandvalidationofacapillaryzoneelectrophoresis method for the quantitative determination of anthocyanin in wine.** Journal of Chromatogaphy. 2003. 990:247-258.
70. OSKOU EIAN, E., ABULLAH, N., SAAD, W.Z., OMAR, A., AHMED, S., KUAN, W.B., ZOLKIFLI, N.A., HENDRA, R., HO, Y.W., 2. **Antioxidant, anti-inflammatory and anticancer activities of methanolic extracts from *Jatropha curcas* Linn.** Journal of Medicinal Plant Research. 2011, V.5, 49–57.

71. NITHIYANANTHAM S., SIDDHURAJU P. FRANCIS G. **A promissng approach to ehance the total phenolic content and antioxidant activity of raw and processed *Jatropha curcas* L. kernel meal extracts.** Industrial cops and Products. 43. 2013. pp 261-269
72. OSKOUUEIAN E., ABULLAH N., SAAD W.Z., OMAR A., AHMED S., KUAN W.B., ZOLKIFLI N.A., HENDRA R., HO Y.W. **Antioxidant, anti-inflammatory and anticancer activities of methanolic extracts from *Jatropha curcas* Linn.** Journal of Medicinal Plant Research. 2011 V.5, 49–57.
73. MARTÍNEZ-VALVERDE I., PERIAGO M.J., ROS G. 2000. Significado nutricional de los compuestos fenólicos de la dieta. Arch. Latinoamer. Nutr. 50, 5-18.
74. ESCARPA A, GONZALEZ M.C. 2001. An Overview of Analytical Chemistry of Phenolic compounds in food. Crit. Rev. Anal. Chem. 31, 57–139.
75. SWAIN T.; GOLDSTEIN J.L. 1964. Methods in Polyphenol Chemistry. Pergamon Press, Oxford, 131-146.
76. FOLIN, C; CIOCALTEAU, V. 1927. Tيروسine and Typtophan determination in proteins. J. Biol. Chem. 73, 627-650
77. SELLAPPAN, S.; AKOH, C.C.; KREWER, G. 2002. Phenolic compounds and antioxidant capacityof Georgia-Grown blueberries and blackberries. J. Agric. Food Chem., 50, 2432-2438.
78. SINGLETON, V. and ROSSI, J. 1965. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. Am J Enol Vitic. Vo. 16. p. 144-158.

79. BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. AND BERSET, C. 1995. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensm Wiss Technology*. 28. 25-30.
80. VELA P, R. S.; CUZCANO P. J. M. 2015. Evaluación Bromatológica y de Antioxidantes fenólicos presentes en la pulpa de Euterpe precatoria Mart. y Euterpe oleracea Mart. (Huasaí). Tesis graduación sin publicar, Universidad Nacional de la Amazonia Peruana. Iquitos-Perú. Pág. 47-48.
81. SOTERO S. V. E., GARCIA DE SOTERO D. E. 2009. Manual de análisis Químico de Alimentos, 1° Edición, Edit, CONCYTEC, Iquitos-Perú, Pág. 78.
82. GUTIÉRREZ GAITÉN. Y. I., MIRANDA MARTINEZ M., VARONA TORRES N., RODRIGUEZ A. P. 2000. Validacion de 2 metodos espectrofotométricos para la cuantificacion de taninos y flavonoides (quercetina) en Psidium guajaba, L. *Revista Cubana de Farmacia*, v. 34, n. 1, p. 50-55

ANEXOS

Anexo N°1

Cálculo de la captura de radicales libres por el método del DPPH de la hoja y látex del piñón blanco (promedio de 30 medidas).

Número de Lecturas	Promedio Solución DPPH (1mM)	Extracto etanolico hoja de piñón blanco (muestra-seca)					
		Concentraciones					
		5 mg/ml	0.5 mg/ml	0.25 mg/ml	0.1 mg/ml	0.05 mg/ml	0.01 mg/ml
1	0.161	0.016	0.141	0.100	0.120	0.136	0.142
2	0.161	0.016	0.116	0.100	0.120	0.135	0.142
3	0.160	0.016	0.101	0.103	0.120	0.135	0.142
4	0.160	0.016	0.088	0.100	0.122	0.135	0.143
5	0.160	0.016	0.077	0.100	0.122	0.136	0.147
6	0.160	0.016	0.065	0.100	0.122	0.136	0.148
7	0.160	0.016	0.053	0.103	0.124	0.135	0.147
8	0.160	0.016	0.044	0.101	0.124	0.134	0.146
9	0.160	0.016	0.145	0.101	0.124	0.134	0.145
10	0.160	0.016	0.030	0.103	0.124	0.134	0.145
Promedio	0.160	0.016	0.086	0.101	0.122	0.135	0.145
Porcentaje de Inhibición,		90.02	46.26	36.94	23.75	15.81	9.78

Número de Lecturas	Promedio Solución DPPH (1mM)	Extracto del látex del piñón blanco (muestra-seca)					
		5 mg/ml	0.5 mg/ml	0.25 mg/ml	0.1 mg/ml	0.05 mg/ml	0.01 mg/ml
1	0.360	0.002	0.233	0.332	0.318	0.330	0.350
2	0.360	0.021	0.228	0.320	0.328	0.330	0.350
3	0.361	0.023	0.225	0.322	0.329	0.330	0.350
4	0.361	0.019	0.199	0.320	0.328	0.331	0.350
5	0.360	0.019	0.197	0.318	0.327	0.331	0.350
6	0.360	0.019	0.196	0.302	0.325	0.331	0.350
7	0.360	0.015	0.195	0.300	0.318	0.331	0.351
8	0.360	0.015	0.195	0.296	0.315	0.335	0.351
9	0.360	0.015	0.194	0.306	0.306	0.335	0.351
10	0.360	0.015	0.193	0.301	0.305	0.335	0.351
Promedio	0.360	0.016	0.206	0.312	0.320	0.332	0.350
Porcentaje de Inhibición,		95.48	42.95	13.45	11.23	7.87	2.72

Anexo N°2
Datos obtenidos para la captura de radicales libres a diferentes
concentraciones del látex del piñón blanco

Nombre de muestra, Factor Dilución, 570 nm, (0.01 LÁTEX DEL PIÑÓN BLANCO)
..1,1,0.268,
..2,1,0.266,
..3,1,0.264,
..4,1,0.26,
..5,1,0.26,
..6,1,0.259,
..7,1,0.258,
..8,1,0.257,
..9,1,0.257,
..10,1,0.256,
..11,1,0.256,
..12,1,0.255,
..13,1,0.255,
..14,1,0.255,
..15,1,0.255,
..16,1,0.255,
..17,1,0.254,
..18,1,0.255,
..19,1,0.254,
..20,1,0.254,
..21,1,0.254,
..22,1,0.253,
..23,1,0.253,
..24,1,0.253,
..25,1,0.253,
..26,1,0.253,
..27,1,0.253,
..28,1,0.252,
..29,1,0.252,
..30,1,0.252,
..31,1,0.252,
..32,1,0.252,
..33,1,0.252,

Nombre de muestra, Factor Dilución, 570 nm, (0.01 LÁTEX DEL PIÑON BLANCO)
..1,1,0.327,
..2,1,0.326,
..3,1,0.326,
..4,1,0.326,
..5,1,0.329,
..6,1,0.329,
..7,1,0.329,
..8,1,0.329,
..9,1,0.328,
..10,1,0.327,
..11,1,0.328,
..12,1,0.328,
..13,1,0.327,
..14,1,0.327,
..15,1,0.327,
..16,1,0.325,
..17,1,0.325,
..18,1,0.324,
..19,1,0.321,
..20,1,0.322,
..21,1,0.311,
..22,1,0.315,
..23,1,0.315,
..24,1,0.316,
..25,1,0.309,
..26,1,0.31,
..27,1,0.309,
..28,1,0.307,
..29,1,0.306,
..30,1,0.307,
..31,1,0.311,
..32,1,0.31,
..33,1,0.308,

Nombre de muestra, Factor Dilución, 570 nm, (0.5 LÁTEX DEL PIÑON BLANCO)
..1,1,0.343,
..2,1,0.343,
..3,1,0.344,
..4,1,0.34,
..5,1,0.34,
..6,1,0.34,
..7,1,0.339,
..8,1,0.339,
..9,1,0.338,
..10,1,0.332,
..11,1,0.333,
..12,1,0.334,
..13,1,0.334,
..14,1,0.332,
..15,1,0.33,
..16,1,0.33,
..17,1,0.331,
..18,1,0.332,
..19,1,0.332,
..20,1,0.332,
..21,1,0.331,
..22,1,0.326,
..23,1,0.323,
..24,1,0.321,
..25,1,0.319,
..26,1,0.319,
..27,1,0.316,
..28,1,0.306,
..29,1,0.307,
..30,1,0.308,
..31,1,0.309,
..32,1,0.309,

Nombre de muestra, Factor Dilución, 570 nm, (LÁTEX DEL PIÑON BLANCO 0.25)
...1,1,0.332,
...2,1,0.332,
...3,1,0.332,
...4,1,0.322,
...5,1,0.32,
...6,1,0.319,
...7,1,0.32,
...8,1,0.322,
...9,1,0.323,
...10,1,0.321,
...11,1,0.32,
...12,1,0.319,
...13,1,0.319,
...14,1,0.318,
...15,1,0.318,
...16,1,0.305,
...17,1,0.302,
...18,1,0.3,
...19,1,0.301,
...20,1,0.3,
...21,1,0.299,
...22,1,0.295,
...23,1,0.296,
...24,1,0.297,
...25,1,0.306,
...26,1,0.306,
...27,1,0.306,
...28,1,0.301,
...29,1,0.301,
...30,1,0.301,
...31,1,0.303,
...32,1,0.303,
...33,1,0.304,

Nombre de muestra, Factor Dilución, 570 nm, (LÁTEX DEL PIÑÓN BLANCO AL 0.5)
..1,1,0.233,
...2,1,0.23,
...3,1,0.228,
...4,1,0.228,
...5,1,0.226,
...6,1,0.226,
...7,1,0.225,
...8,1,0.2,
...9,1,0.199,
...10,1,0.199,
...11,1,0.197,
...12,1,0.197,
...13,1,0.197,
...14,1,0.197,
...15,1,0.197,
...16,1,0.196,
...17,1,0.196,
...18,1,0.195,
...19,1,0.195,
...20,1,0.196,
...21,1,0.196,
...22,1,0.195,
...23,1,0.195,
...24,1,0.195,
...25,1,0.194,
...26,1,0.194,
...27,1,0.194,
...28,1,0.193,
...29,1,0.193,
...30,1,0.193,
...31,1,0.193,
...32,1,0.193,
...33,1,0.193,

Anexo N°3

Datos para la obtención de fenoles totales del látex del piñón blanco

Nombre de muestra, Factor Dilución, 765 nm, (FENOLES TOTALES DE LATEX DEL PIÑÓN BLANCO)
,,,,1,1,1.915,
,,,,2,1,1.914,
,,,,3,1,1.918,
,,,,4,1,1.921,
,,,,5,1,1.919,
,,,,6,1,1.92,
,,,,7,1,1.925,
,,,,8,1,1.922,
,,,,9,1,1.925,
,,,,10,1,1.923,

Anexo N°4

Datos para la obtención de flavonoides del látex del piñón blanco

Nombre de muestra, Factor Dilución, 415 nm, (FLAVONOIDES DEL LATEX DEL PIÑÓN BLANCO)
....1,1,0.003,
....2,1,0.003,
....3,1,0.003,
....4,1,0.003,
....5,1,0.003,
....6,1,0.003,
....7,1,0.003,
....8,1,0.003,
....9,1,0.003,

Anexo N°5

Datos para la obtención de taninos del látex del piñón blanco

Nombre de muestra, Factor Dilución, 500 nm, (TANINOS MUESTRA DEL LATEX DEL PIÑÓN BLANCO)
.....1,1,-0.093,
.....2,1,-0.093,
.....3,1,-0.093,
.....4,1,-0.093,
.....5,1,-0.093,
.....6,1,-0.092,
.....7,1,-0.092,
.....8,1,-0.092,

Anexo N°6

Datos para la obtención de antocianinas del látex del piñón blanco

Nombre de muestra, Factor Dilución, 700 nm (P.H 1) (LATEX DEL PIÑÓN BLANCO – ANTOCIANINAS)
...1,1,0.041,
...2,1,0.04,
...3,1,0.04,
...4,1,0.04,
...5,1,0.04,
...6,1,0.04,
...7,1,0.041,
...8,1,0.04,
Nombre de muestra, Factor Dilución, 700 nm, (P.H 4.5) (LATEX DEL PIÑÓN BLANCO – ANTOCIANINAS)
.....1,1,0.224,
.....2,1,0.224,
.....3,1,0.223,
.....4,1,0.224,
.....5,1,0.224,
.....6,1,0.224,
.....7,1,0.224,
.....8,1,0.224,
.....9,1,0.224,

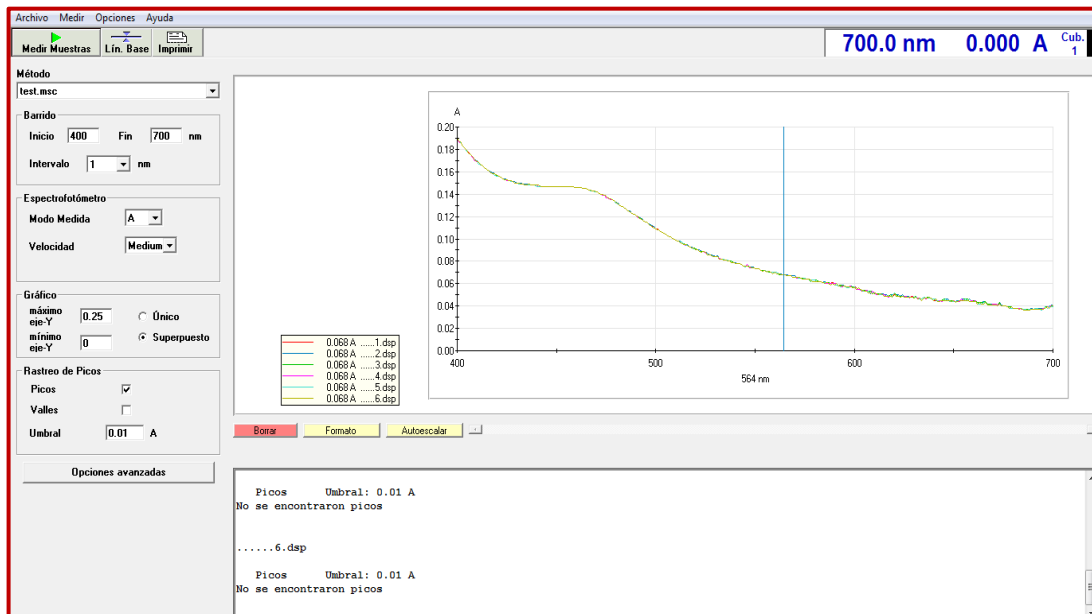


FIGURA DEL ESPECTRO DEL BARRIDO DEL LATEX DEL PIÑON BLANCO A pH 1

Anexo N°7

Datos para la obtención de antocianinas de la hoja del piñón blanco

Nombre de muestra, Factor Dilución, 700 nm, (ANTOCIANINAS DE LA HOJA DEL PIÑÓN BLANCO)
piñón blanco ph 1...1,1,0.41,
piñón blanco ph 1...2,1,0.415,
piñón blanco ph 1...3,1,0.418,
piñón blanco ph 1...4,1,0.421,
piñón blanco ph 1...5,1,0.418,
piñón blanco ph 1...6,1,0.412,

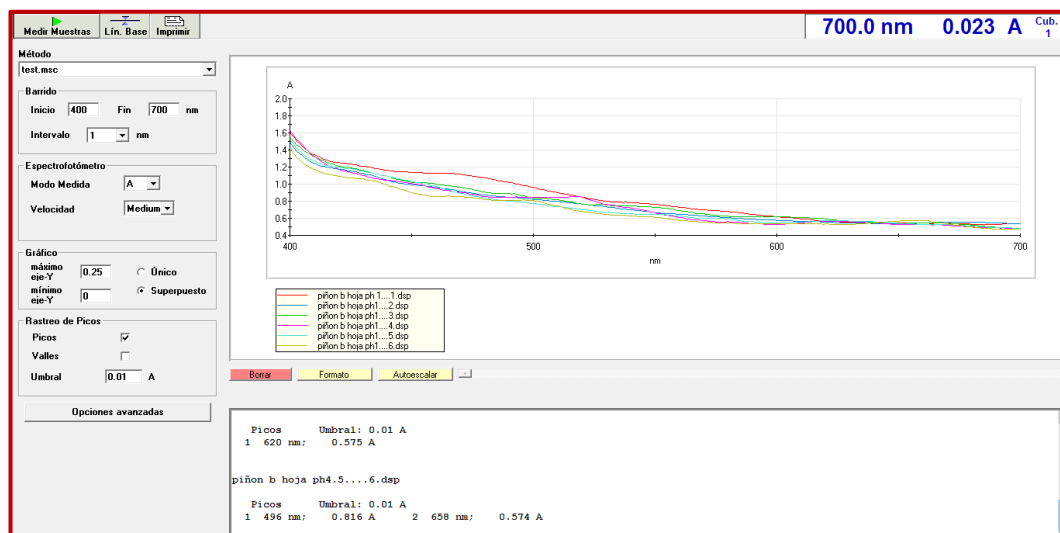
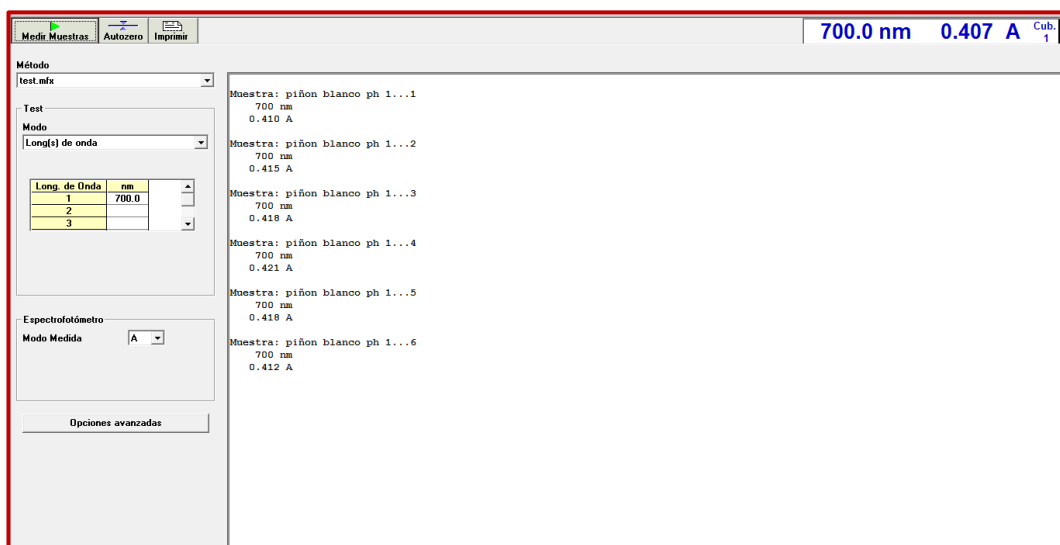


FIGURA DEL ESPECTRO DEL BARRIDO DE LA HOJA DEL PIÑÓN BLANCO A pH 1

Nombre de muestra, Factor Dilución, 700 nm, (P.H 4.5) ANTOCIANINAS DE LA HOJA DEL PIÑÓN BLANCO

hoja de piñon blanco ph 4.5...1,1,0.4,

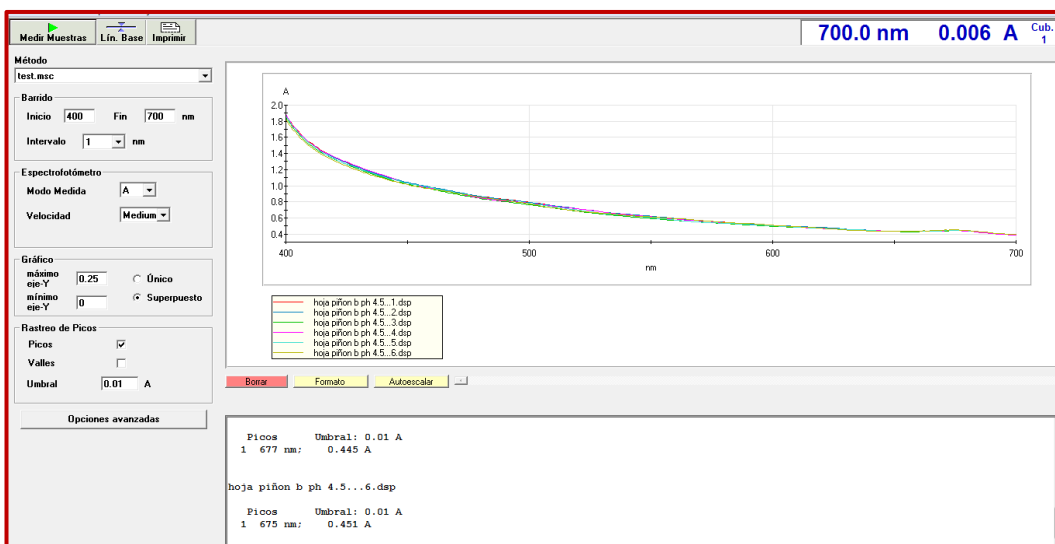
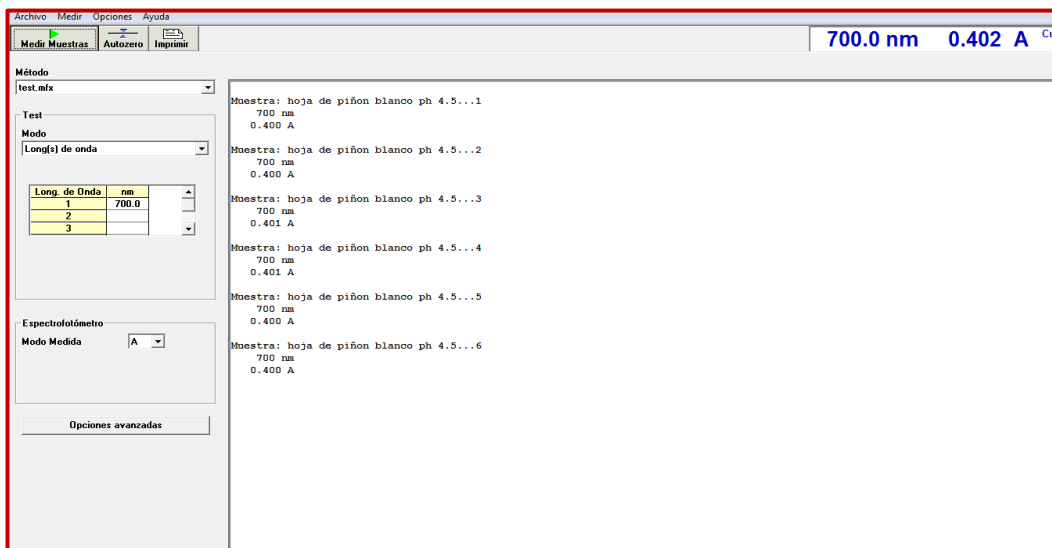
hoja de piñon blanco ph 4.5...2,1,0.4,

hoja de piñon blanco ph 4.5...3,1,0.401,

hoja de piñon blanco ph 4.5...4,1,0.401,

hoja de piñon blanco ph 4.5...5,1,0.4,

hoja de piñon blanco ph 4.5...6,1,0.4,



ESPECTRO DEL BARRIDO DE LA HOJA DEL PIÑÓN BLANCO A pH 4.5

Anexo N°8

Datos para obtener en diferentes concentraciones del DPPH de la hoja del piñón blanco

Nombre de muestra, Factor Dilución, 517 nm, (DPPH HOJA DEL PIÑÓN BLANCO 0.01MG, ML)
piñón blanco 0.01 mg/ml 1,1,0.294,
piñón blanco 0.01 mg/ml 2,1,0.294,
piñón blanco 0.01 mg/ml 3,1,0.293,
piñón blanco 0.01 mg/ml 4,1,0.293,
piñón blanco 0.01 mg/ml 5,1,0.293,
piñón blanco 0.01 mg/ml 6,1,0.293,
piñón blanco 0.01 mg/ml 7,1,0.292,
piñón blanco 0.01 mg/ml 8,1,0.292,
piñón blanco 0.01 mg/ml 9,1,0.292,
piñón blanco 0.01 mg/ml 10,1,0.292,
piñón blanco 0.01 mg/ml 11,1,0.291,
piñón blanco 0.01 mg/ml 12,1,0.291,
piñón blanco 0.01 mg/ml 13,1,0.291,
piñón blanco 0.01 mg/ml 14,1,0.291,
piñón blanco 0.01 mg/ml 15,1,0.291,
piñón blanco 0.01 mg/ml 16,1,0.291,
piñón blanco 0.01 mg/ml 17,1,0.291,
piñón blanco 0.01 mg/ml 18,1,0.291,
piñón blanco 0.01 mg/ml 19,1,0.291,
piñón blanco 0.01 mg/ml 20,1,0.291,
piñón blanco 0.01 mg/ml 21,1,0.29,
piñón blanco 0.01 mg/ml 22,1,0.29,
piñón blanco 0.01 mg/ml 23,1,0.29,
piñón blanco 0.01 mg/ml 24,1,0.29,
piñón blanco 0.01 mg/ml 25,1,0.29,
piñón blanco 0.01 mg/ml 26,1,0.29,
piñón blanco 0.01 mg/ml 27,1,0.29,
piñón blanco 0.01 mg/ml 28,1,0.29,
piñón blanco 0.01 mg/ml 29,1,0.29,
piñón blanco 0.01 mg/ml 30,1,0.29,
piñón blanco 0.01 mg/ml 31,1,0.29,
piñón blanco 0.01 mg/ml 32,1,0.29,
piñón blanco 0.01 mg/ml 33,1,0.29,

Nombre de muestra, Factor Dilución, 517 nm, (DPPH HOJA DEL PIÑON BLANCO 0.1 MG, ML)
piñon b. 0.1 mg/ml 1,1,0.287,
piñon b. 0.1 mg/ml 2,1,0.284,
piñon b. 0.1 mg/ml 3,1,0.278,
piñon b. 0.1 mg/ml 4,1,0.277,
piñon b. 0.1 mg/ml 5,1,0.278,
piñon b. 0.1 mg/ml 6,1,0.279,
piñon b. 0.1 mg/ml 7,1,0.278,
piñon b. 0.1 mg/ml 8,1,0.278,
piñon b. 0.1 mg/ml 9,1,0.277,
piñon b. 0.1 mg/ml 10,1,0.273,
piñon b. 0.1 mg/ml 11,1,0.272,
piñon b. 0.1 mg/ml 12,1,0.272,
piñon b. 0.1 mg/ml 13,1,0.269,
piñon b. 0.1 mg/ml 14,1,0.269,
piñon b. 0.1 mg/ml 15,1,0.269,
piñon b. 0.1 mg/ml 16,1,0.266,
piñon b. 0.1 mg/ml 17,1,0.266,
piñon b. 0.1 mg/ml 18,1,0.266,
piñon b. 0.1 mg/ml 19,1,0.264,
piñon b. 0.1 mg/ml 20,1,0.263,
piñon b. 0.1 mg/ml 21,1,0.263,
piñon b. 0.1 mg/ml 22,1,0.261,
piñon b. 0.1 mg/ml 23,1,0.261,
piñon b. 0.1 mg/ml 24,1,0.261,
piñon b. 0.1 mg/ml 25,1,0.26,
piñon b. 0.1 mg/ml 26,1,0.26,
piñon b. 0.1 mg/ml 27,1,0.258,
piñon b. 0.1 mg/ml 28,1,0.258,
piñon b. 0.1 mg/ml 29,1,0.258,
piñon b. 0.1 mg/ml 30,1,0.258,
piñon b. 0.1 mg/ml 31,1,0.257,
piñon b. 0.1 mg/ml 32,1,0.257,
piñon b. 0.1 mg/ml 33,1,0.257,

Nombre de muestra, Factor Dilución, 517 nm, (DPPH HOJA DEL PIÑON BLANCO, 0.05 MG, ML)	
piñon b. 0.05 mg/ ml	1,1,0.258
piñon b. 0.05 mg/ ml	2,1,0.259,
piñon b. 0.05 mg/ ml	3,1,0.261,
piñon b. 0.05 mg/ ml	4,1,0.253,
piñon b. 0.05 mg/ ml	5,1,0.253,
piñon b. 0.05 mg/ ml	6,1,0.254,
piñon b. 0.05 mg/ ml	7,1,0.256,
piñon b. 0.05 mg/ ml	8,1,0.256,
piñon b. 0.05 mg/ ml	9,1,0.255,
piñon b. 0.05 mg/ ml	10,1,0.257,
piñon b. 0.05 mg/ ml	11,1,0.258,
piñon b. 0.05 mg/ ml	12,1,0.258,
piñon b. 0.05 mg/ ml	13,1,0.256,
piñon b. 0.05 mg/ ml	14,1,0.256,
piñon b. 0.05 mg/ ml	15,1,0.256,
piñon b. 0.05 mg/ ml	16,1,0.256,
piñon b. 0.05 mg/ ml	17,1,0.255,
piñon b. 0.05 mg/ ml	18,1,0.255,
piñon b. 0.05 mg/ ml	19,1,0.255,
piñon b. 0.05 mg/ ml	20,1,0.255,
piñon b. 0.05 mg/ ml	21,1,0.255,
piñon b. 0.05 mg/ ml	22,1,0.255,
piñon b. 0.05 mg/ ml	23,1,0.254,
piñon b. 0.05 mg/ ml	24,1,0.254,
piñon b. 0.05 mg/ ml	25,1,0.254,
piñon b. 0.05 mg/ ml	26,1,0.254,
piñon b. 0.05 mg/ ml	27,1,0.254,
piñon b. 0.05 mg/ ml	28,1,0.254,
piñon b. 0.05 mg/ ml	29,1,0.253,
piñon b. 0.05 mg/ ml	30,1,0.253,
piñon b. 0.05 mg/ ml	31,1,0.253,
piñon b. 0.05 mg/ ml	32,1,0.253,
piñon b. 0.05 mg/ ml	33,1,0.253,

Nombre de muestra, Factor Dilución, 517 nm, (DPPH HOJA DEL PIÑON BLANCO 0.5 MG, M)
piñon b. 0.5 mg/ml 1,1,0.142,
piñon b. 0.5 mg/ml 2,1,0.143,
piñon b. 0.5 mg/ml 3,1,0.139,
piñon b. 0.5 mg/ml 4,1,0.116,
piñon b. 0.5 mg/ml 5,1,0.116,
piñon b. 0.5 mg/ml 6,1,0.117,
piñon b. 0.5 mg/ml 7,1,0.102,
piñon b. 0.5 mg/ml 8,1,0.101,
piñon b. 0.5 mg/ml 9,1,0.1,
piñon b. 0.5 mg/ml 10,1,0.088,
piñon b. 0.5 mg/ml 11,1,0.088,
piñon b. 0.5 mg/ml 12,1,0.088,
piñon b. 0.5 mg/ml 13,1,0.078,
piñon b. 0.5 mg/ml 14,1,0.077,
piñon b. 0.5 mg/ml 15,1,0.076,
piñon b. 0.5 mg/ml 16,1,0.066,
piñon b. 0.5 mg/ml 17,1,0.065,
piñon b. 0.5 mg/ml 18,1,0.064,
piñon b. 0.5 mg/ml 19,1,0.054,
piñon b. 0.5 mg/ml 20,1,0.053,
piñon b. 0.5 mg/ml 21,1,0.053,
piñon b. 0.5 mg/ml 22,1,0.045,
piñon b. 0.5 mg/ml 23,1,0.044,
piñon b. 0.5 mg/ml 24,1,0.043,
piñon b. 0.5 mg/ml 25,1,0.037,
piñon b. 0.5 mg/ml 26,1,0.037,
piñon b. 0.5 mg/ml 27,1,0.036,
piñon b. 0.5 mg/ml 28,1,0.031,
piñon b. 0.5 mg/ml 29,1,0.03,
piñon b. 0.5 mg/ml 30,1,0.03,
piñon b. 0.5 mg/ml 31,1,0.024,
piñon b. 0.5 mg/ml 32,1,0.024,
piñon b. 0.5 mg/ml 33,1,0.024,

Nombre de muestra, Factor Dilución, 517 nm, (DPPH, HOJA DEL PIÑON BLANCO 5 MG/ML)
piñon b. 5 mg/ ml 1,1,0.06,
piñon b. 5 mg/ ml 2,1,0.058,
piñon b. 5 mg/ ml 3,1,0.058,
piñon b. 5 mg/ ml 4,1,0.043,
piñon b. 5 mg/ ml 5,1,0.042,
piñon b. 5 mg/ ml 6,1,0.041,
piñon b. 5 mg/ ml 7,1,0.035,
piñon b. 5 mg/ ml 8,1,0.036,
piñon b. 5 mg/ ml 9,1,0.034,
piñon b. 5 mg/ ml 10,1,0.033,
piñon b. 5 mg/ ml 11,1,0.032,
piñon b. 5 mg/ ml 12,1,0.032,
piñon b. 5 mg/ ml 13,1,0.031,
piñon b. 5 mg/ ml 14,1,0.031,
piñon b. 5 mg/ ml 15,1,0.031,
piñon b. 5 mg/ ml 16,1,0.031,
piñon b. 5 mg/ ml 17,1,0.031,
piñon b. 5 mg/ ml 18,1,0.031,
piñon b. 5 mg/ ml 19,1,0.031,
piñon b. 5 mg/ ml 20,1,0.031,
piñon b. 5 mg/ ml 21,1,0.031,
piñon b. 5 mg/ ml 22,1,0.031,
piñon b. 5 mg/ ml 23,1,0.031,
piñon b. 5 mg/ ml 24,1,0.031,
piñon b. 5 mg/ ml 25,1,0.031,
piñon b. 5 mg/ ml 26,1,0.031,
piñon b. 5 mg/ ml 27,1,0.031,
piñon b. 5 mg/ ml 28,1,0.031,
piñon b. 5 mg/ ml 29,1,0.031,
piñon b. 5 mg/ ml 30,1,0.031,
piñon b. 5 mg/ ml 31,1,0.031,
piñon b. 5 mg/ ml 32,1,0.031,
piñon b. 5 mg/ ml 33,1,0.031,

Anexo N°9
Control del DPPH de la hoja del piñón blanco

Nombre de muestra, Factor Dilución, 517 nm, (CONTROL DE DPPH HOJA PIÑÓN BLANCO)
control dpph 1,1,0.161,
control dpph 2,1,0.161,
control dpph 3,1,0.161,
control dpph 4,1,0.161,
control dpph 5,1,0.161,
control dpph 6,1,0.161,
control dpph 7,1,0.16,
control dpph 8,1,0.161,
control dpph 9,1,0.16,
control dpph 10,1,0.16,
control dpph 11,1,0.16,
control dpph 12,1,0.16,
control dpph 13,1,0.16,
control dpph 14,1,0.16,
control dpph 15,1,0.161,
control dpph 16,1,0.16,
control dpph 17,1,0.16,
control dpph 18,1,0.16,
control dpph 19,1,0.16,
control dpph 20,1,0.16,
control dpph 21,1,0.16,
control dpph 22,1,0.16,
control dpph 23,1,0.16,
control dpph 24,1,0.16,
control dpph 25,1,0.16,
control dpph 26,1,0.16,
control dpph 27,1,0.16,
control dpph 28,1,0.16,
control dpph 29,1,0.16,
control dpph 30,1,0.16,
control dpph 31,1,0.16,
control dpph 32,1,0.16,
control dpph 33,1,0.16,

Anexo N°10

Datos para la obtención de fenoles totales del piñón blanco

Nombre de muestra, Factor Dilución, 765 nm, (FENOLES TOTALES DE LA HOJA DEL PIÑÓN BLANCO)
piñón a hoja 80 mml...1,1,1.86,
piñón a hoja 80 mml...2,1,1.859,
piñón a hoja 80 mml...3,1,1.859,
piñón a hoja 80 mml...4,1,1.862,
piñón a hoja 80 mml...5,1,1.859,
piñón a hoja 80 mml...6,1,1.861,
piñón a hoja 80 mml...7,1,1.862,

Anexo N°11

Datos para la obtención de flavonoides del piñón blanco

Nombre de muestra, Factor Dilución, 415 nm, (FLAVONOIDES 415 NM DE LA HOJA DEL PIÑÓN BLANCO)
flavonoides 415nm p.blanco hoja 1,1,0.097,,
flavonoides 415nm p.blanco hoja 2,1,0.097,,
flavonoides 415nm p.blanco hoja 3,1,0.097,,
flavonoides 415nm p.blanco hoja 4,1,0.097,,
flavonoides 415nm p.blanco hoja 5,1,0.097,,
flavonoides 415nm p.blanco hoja 6,1,0.096,,
flavonoides 415nm p.blanco hoja 7,1,0.096,,
flavonoides 415nm p.blanco hoja 8,1,0.097,,
flavonoides 415nm p.blanco hoja 9,1,0.098,,
flavonoides 415nm p.blanco hoja 10,1,0.097,
0.1 g de muestra en 10 ml de metanol ac.

Anexo N°12

Datos para la obtención taninos de la hoja del piñón blanco

Nombre de muestra, Factor Dilución, 500 nm, (TANINOS DE LA HOJA DEL PIÑÓN BLANCO)
piñon blanco hoja 500 nm 1,1,0.26,,
piñon blanco hoja 500 nm 2,1,0.258,,
piñon blanco hoja 500 nm 3,1,0.258,,
piñon blanco hoja 500 nm 4,1,0.259,,
piñon blanco hoja 500 nm 5,1,0.259,,
piñon blanco hoja 500 nm 6,1,0.258,,
piñon blanco hoja 500 nm 7,1,0.259,,
piñon blanco hoja 500 nm 8,1,0.259,,
piñon blanco hoja 500 nm 9,1,0.259,,
piñon blanco hoja 500 nm 10,1,0.258,,
0.1 g de muestra en 20 ml de metanol ac.,,,,

Anexo N°13. Galería de fotos

Foto 1 y 2: Extracto seco de la hoja y látex de la *Jatropha Curcas* (piñón blanco)



Foto 1



Foto 2

Foto 3 y 4: Obtención del extracto etanólico de la hoja y látex de la *Jatropha Curcas* (piñón blanco)



Foto 3



Foto 4

Foto 5 y 6: Obtención de los extractos de la hoja y el látex de la *Jatropha Curcas* (piñón blanco) por concentración utilizando el rotavapor.



Foto 5



Foto 6

Foto 7, 8, 9 y 10: Elaboración del método de DPPH de la hoja y látex de la *Jatropha Curcas* (piñón blanco)



Foto 7

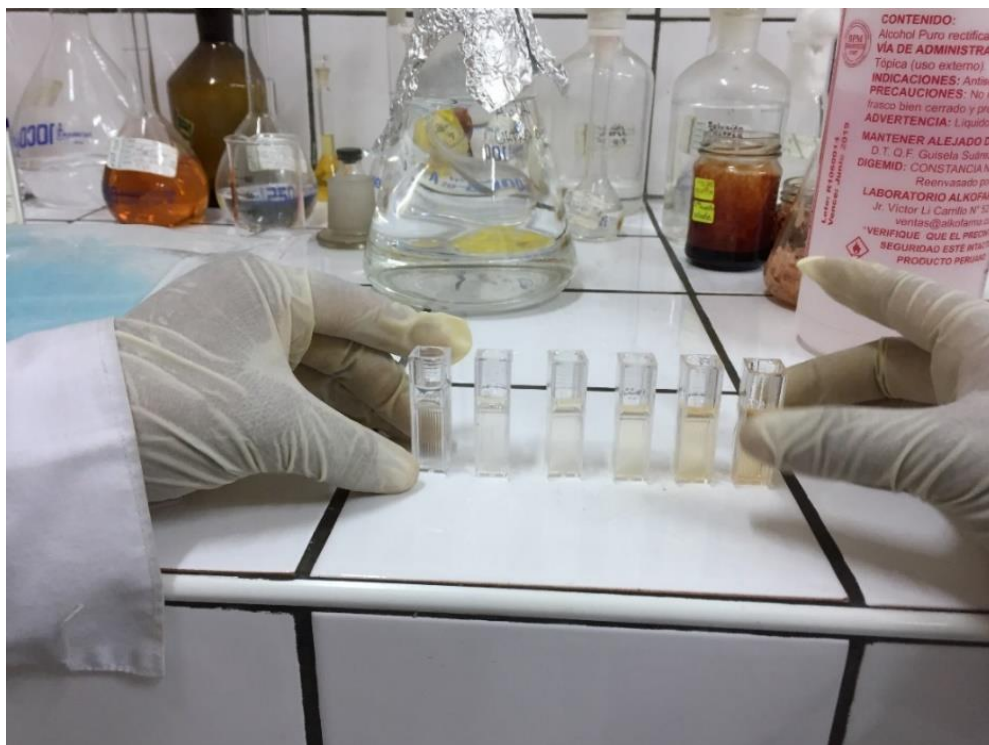


Foto 8



Foto 9



Foto 10