

UNIVERSIDAD SAN PEDRO
FACULTAD DE MEDICINA HUMANA
PROGRAMA DE FARMACIA Y BIOQUIMICA



**Efecto cicatrizante del aceite de *Copaifera paupera*
(Copaiba) en ratas.**

Tesis para obtener el título de Químico Farmacéutico

Autoras:

Castro Chávez Milenka Madeleyne
Lozano Rodríguez Marjorie Jamine

Asesora:

Torres Solano Carol Giovanna

Chimbote – Perú

2020

i.-Palabras clave

Tema	Fitoquímica
Especialidad	Farmacología

Keywords

Subject	Phytochemistry
Speciality	Pharmacology

Línea de investigación	Recursos naturales y terapéuticos
Área	Ciencias médicas y de la salud
Subárea	Medicina básica
Disciplina	Farmacología y farmacia

ii.- Título

**Efecto cicatrizante del aceite de *Copaifera paupera*
(Copaiba) en ratas**

.

iii.- Resumen

El presente proyecto tuvo como objetivo evaluar el efecto cicatrizante del aceite de *Copaiba paupera* (copaiba) sobre heridas superficiales en *ratas albinas*, el estudio fue de tipo analítico, experimental, pre-clínico y se desarrolló en los Laboratorios de farmacología y fitoquímica, de la Facultad de Medicina Humana, de la Universidad San Pedro. La muestra estuvo conformada por 30 ratas albinas cepa Holtzman, divididos en cinco grupos de seis ratas cada uno donde el 1° recibió SSF 2 mL/Kg, el 2° trimicot y los grupos 3°, 4° y 5° aceite de copaiba en concentraciones de 10, 50 y 100% respectivamente, se siguió el método de test de cicatrización, donde a las ratas se les realizó dos cortes de 1 cm en la región escapular, se aplicaron los tratamientos por vía tópica diariamente, por un período de 07 días, al octavo día las ratas fueron sacrificados y se midió la fuerza de tensión con un dinamómetro. Se evidenció que el aceite contiene regular cantidad de esteroides triterpénicos, y elevada solubilidad en polisorbato de sodio 80°. También se demostró mayor efecto cicatrizante con concentraciones del 100% (90.90%). Por lo tanto, se concluye que el aceite de *Copaiba paupera* posee efecto cicatrizante en ratas con heridas superficiales.

Palabras clave: Actividad cicatrizante, aceite, *Copaiba paupera*, *Ratas albinas*.

iv.-Abstract

The present project aimed to evaluate the healing effect of *Copaiba paupera* (copaiba) oil on superficial wounds in albino rats, the study was analytical, experimental, pre-clinical and developed in the Pharmacology and Phytochemical Laboratories of the Faculty of Human Medicine, from the San Pedro University. The sample consisted of 30 *Holtzman* strain albino rats, divided into five groups of six rats each where the 1st received SSF 2 mL / Kg, the 2nd trimicot and the 3rd, 4th and 5th groups copaiba oil in concentrations of 10, 50 and 100% respectively, the healing test method was followed, where the rats were made two cuts of 1 cm in the scapular region, the treatments were applied topically daily, for a period of 07 days, on the eighth day the rats were sacrificed and the tensile force was measured with a dynamometer. It was evidenced that the oil contains a regular amount of triterpenic steroids, and high solubility in sodium polysorbate 80 °. A greater healing effect was also demonstrated with concentrations of 100% (90.90%). Therefore, it is concluded that *Copaiba paupera* oil has a healing effect in rats with superficial wounds.

Key words: Healing activity, oil, *Copaiba paupera*, Albino rats.

INDICE	Pág.
Palabras clave.....	i
Título de la investigación.....	ii
Resumen.....	iii
Abstract.....	i.v
Índice	v
Introducción.....	01
Antecedentes y fundamentación científica.....	01
Justificación de la investigación.....	06
Problema	10
Marco Referencial.....	10
Hipótesis.....	17
Objetivos.....	17
Metodología.....	18
Tipo y Diseño de investigación.....	18
Población y Muestra.....	19
Técnicas e instrumentos de investigación.....	19
Resultados.....	27
Análisis y Discusión.....	33
Conclusiones.....	35
Recomendaciones.....	36
Agradecimientos.....	37
Referencias Bibliográficas.....	38
Anexos.....	43

I. Introducción

1.1. Antecedentes y fundamentación científica.

Amorin et al. (2017) evaluaron la capacidad de cicatrización de la oleorresina obtenida del árbol de *Copaifera paupera*, su mecanismo de acción e identificaron sus componentes mayoritarios; se utilizaron ratones diabéticos Swiss Webster los cuales fueron tratados tópicamente con la oleorresina (100, 150 y 200 mg/kg) por 14 días consecutivos después de que se realizó una escisión en la parte posterior de los ratones. Las citoquinas, la retracción de la herida y la evaluación histológica se realizaron a los 3, 7 y 10 días (para citoquinas); 0, 3, 7, 10 y 14 días (para la retracción de la herida); y 7 y 14 días (para evaluación histológica). Las evaluaciones histológicas demostraron que el tratamiento con dosis más altas resultó en un mejor resultado y cierre de la herida, así como también niveles más altos de deposición de colágeno e índices de reepitelización incluso en comparación con el grupo tratado con colagenasa. La composición de la oleorresina de *C. paupera* se determinó mediante análisis GC-MS, el sesquiterpeno α -copaeno fue el componente principal, representando el 22.9%, seguido por el ácido diterpeno hardwickiic (8.1%) y kaur-16-eno (6.5%). Los sesquiterpenos y diterpenos identificados de la oleorresina correspondieron a 60.2 y 25.4%, respectivamente. El tratamiento con oleorresina de *Copaifera paupera* demostró que es incluso mejor que un ungüento usado habitualmente para mejorar la cicatrización de heridas, lo que sugiere que esta oleorresina es una opción para el uso en pacientes diabéticos.

Mendoza & Chávez (2019) investigaron el efecto cicatrizante del gel elaborado a partir de la combinación del aceite de *copaifera paupera* (copaiba) y el extracto metanólico del látex de *ficus insípida willd* (ojé) en heridas inducidas en ratones albinos, mediante un estudio experimental comparativo en 42 ratones albinos divididos en 7 grupos de 6 ratones cada uno. Encontraron que la proporción óptima (30:70)

Copaifera paupera - Ficus insípida del gel elaborado a partir del aceite de Copaifera paupera (copaiba) y el extracto metanólico del látex de Ficus insípida Willd (ojé) influyó en el efecto cicatrizante en heridas inducidas en ratones albinos.

Huamán (2019) en su investigación “Comparación del efecto cicatrizante de Copaifera paupera (Hersog) Dwyer (Aceite de Copaiba), Croton lechleri Müell. Arg. (Sangre de Grado) y Kil AG en heridas inducidas en el lomo de ratones de laboratorio, en Puerto Maldonado – Perú”, mediante un estudio experimental con 60 ratones *Mus musculus* Balb C con peso promedio de 29.78 gr. y distribuidos al azar en 5 grupos (Sangre de Grado, Aceite de Copaiba, Kil AG, testigo y piel intacta) de 12 ratones a los que se les realizó en su lomo una incisión de 1 cm con bisturí y se les aplicó los tratamientos. A los 10 días se midió la fuerza de tensión de la cicatrización con un dinamómetro, encontrando un mayor efecto cicatrizante con *Copaifera paupera*. (Herzog) Dwyer (Aceite de Copaiba).

García (2015) en su tesis cuyo objetivo fue determinar la efectividad del *Copaifera officinalis* en la cicatrización de heridas cutáneas provocadas en ratones de laboratorio, mediante un estudio experimental en 60 ratones divididos en 3 grupos de 20 cada uno (un experimental y 2 controles), en el que se aplicó el aceite de copaiba sobre las heridas provocadas, concluyó que el aceite de copaiba es eficiente y seguro debido a que se redujo el tiempo de cicatrización de la herida sobre todo con tratamiento de cada 12 horas

Francia (2015) realizó una investigación cuyo objetivo fue determinar la actividad antimicrobiana “in vitro” del aceite de *Copaifera paupera* frente a las bacterias patógenas: *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923). El tipo de estudio que se utilizó fue descriptivo, observacional y de corte transversal. Se usó la metodología de difusión

en disco de Kirby-Bauer. Como resultado se logró un efecto antimicrobiano correcto con la cepa de *P. aeruginosa*. Además, se concluyó que el Aceite de Copaiba logró un efecto antimicrobiano a considerar sólo para la cepa de *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), para la cepa de *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) y *Escherichia coli* (ATCC 25922) no se logró un resultado satisfactorio, ya que se halló resistencia en estas cepas.

Chanca (2014) en su investigación para evaluar el efecto del achiote, cocona y copaiba y el tiempo de cicatrización en ratones albinos, mediante un estudio experimental con 30 ratones distribuidos al azar en tres grupos, a los que se les realizó un corte con bisturí, previa anestesia, de 3 cm en la parte dorsal, en donde se aplicó 0.2 ml de solución natural de cada producto y se evaluó su efecto cicatrizante. Se encontró que el mejor efecto cicatrizante se obtuvo con el achiote (12 días), y menos efectiva la copaiba y la cocona (17 y 15 días, respectivamente).

Bocanegra (2009), desarrolló un estudio el cual tuvo como objetivo dar a conocer la susceptibilidad bacteriana in vitro del *Enterococcus faecalis* frente a diferentes concentraciones de aceite fundamental de *Copaifera officinalis* (copaiba) en comparación con hipoclorito de sodio al 2.5%. El tipo de estudio que utilizó fue experimental comparativo. La muestra estuvo constituida por 90 repeticiones realizadas (con aceite esencial de copaiba a diferentes concentraciones o con hipoclorito de sodio al 2.5%) en cada placa Petri, además de la cepa de *Enterococcus faecalis*. Se obtuvo como resultado que la susceptibilidad bacteriana in vitro del *Enterococcus faecalis* frente al aceite esencial de *Copaifera officinalis* (copaiba) al 100%, 75% y 50% fue mayor en comparación con hipoclorito de sodio al 2.5%. A través de este estudio se concluyó que la cepa *Enterococcus faecalis* fue susceptible frente a todas las concentraciones de aceite esencial de *Copaifera officinalis* (copaiba) y

esta susceptibilidad fue directamente proporcional a la concentración utilizada.

En una investigación sobre el efecto citoprotector y antisecretor del aceite de *Copaifera officinalis* en lesiones gástricas inducidas en ratas. Obtuvieron los siguientes resultados: el Aceite de Copaiba presento 100% de efecto citoprotector y el Omeprazol 97.8 %. Estos resultados fueron corroborados con análisis histopatológicos, demostrándose experimentalmente la efectividad al 100% del Aceite de Copaiba (Arroyo et al., 2009).

La región de Madre de Dios, está en pleno desarrollo en el ámbito de investigación, pero aún no existe reportes emitidos que hacen referencia a la comparación del efecto cicatrizante de *Copaifera paupera* (Hersog) Dwyer (Aceite de Copaiba) y *Croton lechleri* Müell. Arg. (Sangre de grado) y un cicatrizante comercial de uso veterinario

1.2. Justificación de la investigación

Las heridas ocupan un porcentaje elevado en las demandas de los servicios de urgencias, tanto hospitalario como extra hospitalario. Son lesiones producidas por el efecto de un agente externo que actúa de manera brusca sobre una parte de nuestro organismo, provocando una rotura de la superficie cutánea o mucosa, una discontinuidad en el epitelio que lo reviste (García et al., 2019).

Las heridas infectadas son la mayor causa de morbilidad en el paciente quirúrgico. Se reporta que, en hospitales de todo el mundo, las infecciones de herida operatoria se ubican en primer lugar, con un 24% de los casos; y la infección en el sitio quirúrgico es la segunda causa con tasa promedio de 3.8% de acuerdo a las características propias de cada institución (Hernández & Orrala, 2013).

Con el aumento de las esperanzas de vida de la población, se ha incrementado la prevalencia de las heridas cutáneas agudas y crónicas que

presentan problemas de cicatrización. Las cirugías, laceraciones, accidentes, infecciones, quemaduras, úlceras por presión, venosas o diabéticas son algunas de las principales causas de aumento cuyo tratamiento supone un elevado costo (BioTech, 2017).

Lima et al. (2016) consideran que alrededor del mundo se ejecutan 234 millones de cirugías por año, con la mayoría de las heridas quirúrgicas resultando en cicatrización por primera intención. Las heridas quirúrgicas de primera intención pueden transformarse en complejas cuando presentan complicaciones como por ejemplo: infección, seroma y hematoma que causan dehiscencia, requiriendo cicatrización por segunda intención. La incidencia de herida quirúrgica compleja detallada en libros varía de 0,5% a 3,0% en adultos y 10,0% en ancianos, con la mortalidad variando de 10,0% a 45,0%. Inclusive, el número de nuevos casos de herida quirúrgica compleja se mantiene estable desde los años 1950, a pesar de los avances científicos acontecidos en el último siglo.

La situación de las heridas agudas en el Perú se ve reflejada en la investigación que la Dirección General de Epidemiología llevó a cabo entre los años 2009 y 2012, en donde un total de 15 679 infecciones intrahospitalarias, las cuales fueron informadas por los establecimientos de salud que son parte del sistema de vigilancia epidemiológica de infecciones intrahospitalarias (SVEIHH), 4 548, es decir el 30 por ciento, se debieron a infecciones de herida operatorio (Navarro, 2016). Además, según el Estudio Nacional de prevalencia de Infecciones Hospitalarias llevado a cabo en el año 2015 por Quispe Z. menciona que en el tercer puesto de prevalencia se encuentran las heridas quirúrgicas luego de las neumonías y las infecciones al torrente sanguíneo (OMS, 2018).

De seguir el problema en el país se desencadenaría una crisis de salud, ya que al no cicatrizar correctamente las heridas tanto quirúrgicas como no quirúrgicas estas heridas podrían infectarse y/o no suturar adecuadamente lo que conllevaría a un mayor problema, siendo éste en algunos casos la causa de muerte del paciente.

Con esta investigación se desea incentivar el estudio de nuevos productos naturales que aporten principios farmacológicos para ser utilizadas como una alternativa terapéutica.

Según la OMS (2018), la medicina tradicional se usa extensamente y está incrementando de manera considerable, se considera que el 80% y el 40% de la población de África y China respectivamente, utilizan la medicina tradicional con el fin de satisfacer sus necesidades sanitarias. Además, en Asia y América Latina, la población continúa el uso de la medicina tradicional como producto de creencias culturales. Entretanto el uso de la medicina complementaria y opcional (MCA) en países desarrollados se realiza de manera más habitual. El porcentaje de población que usa la MCA por lo menos una vez es de un 48% en Australia, un 70% en Canadá, un 42% en EE UU, un 38% en Bélgica y un 75% en Francia.

Peña & Paco (2016) mencionan que, en América del Sur, se conoce que precisamente 70% de la población chilena y 40% de la población colombiana consumen medicina clásica. En la situación peruana, un estudio ejecutado en un hospital de Lima de cuarto nivel descubrió que cerca de 70% de pacientes utilizó alguna medicina tradicional. Una exploración realizada en los años 1980, en barrios marginales de Lima, descubrió que 57% de los encuestados manifestaba una disposición conveniente hacia la medicina tradicional.

Luján et al. (2016) mencionan que la medicina alternativa y complementaria (MAC) tiene algunas ventajas frente a la medicina común, como son su fácil acceso económico, bajo riesgo (si es usada adecuadamente), visión holística, humanitaria e individualizada del paciente, y mejor efecto terapéutico y calmante en enfermedades crónicas y terminales.

El estudio tiene como finalidad ofrecer un régimen alterno para los inconvenientes de cicatrización, además contribuirá a la existencia de una

prueba científica que respalde la efectividad del aceite de *Copaifera paupera* (copaiba) proveniente de la selva peruana, disminuyendo el costo.

1.3. Problema

¿El aceite de *Copaifera paupera* (Copaiba) tendrá efecto cicatrizante al administrarlo por vía tópica sobre heridas superficiales inducidas en ratas?

1.4 Marco Referencial

1.4.1. Cicatrización

1.4.1.1. Definición (Woodley, 2016)

La cicatrización es un proceso dinámico, interactivo y complejo, en el cual participan mediadores solubles extracelulares, células sanguíneas, células de la matriz tisular, y del parénquima.

El proceso incluye una serie de procesos: la migración celular proliferación, diferenciación y formación de matriz extracelular incluidas también las interacciones célula-célula y célula-Matriz.

Proceso de cicatrización secuencia de eventos bioquímicos complejos y ordenados que ocurren en respuesta a las lesiones tisulares y conducen a la reconstrucción del mismo.

Fases de la cicatrización: coagulación, inflamatoria, proliferativa y de maduración.

1.4.1.2. Características

Proceso de cicatrización en piel: La cicatrización es un proceso biológico, físico-químico y celular cuya finalidad es favorecer la recuperación funcional de los tejidos que han sido lesionados. Todas las heridas sin importar del tipo que sean siguen el mismo proceso de cicatrización, que se caracteriza por presentar las siguientes fases (Carranza & Huamanchaqui, 2017).

Fases de la coagulación (Guarín-Corredor et al., 2013).

Fase I –Coagulación: mencionan que esta fase inicia inmediatamente después de presentarse la lesión y se altera la integridad del tejido; tiene una duración de hasta 15 minutos. Su objetivo principal es evitar la pérdida de fluido sanguíneo mediante el cese de la hemorragia y la formación del coágulo, protegiendo así el sistema vascular y la función de los órganos vitales. El coágulo formado tiene funciones específicas tanto de activación celular como de mediación y andamiaje para las células que promueven la fase de inflamación y regeneración del tejido

Fase II- Inflamatoria: Esta fase tiene su inicio hacia el minuto 16 y presenta una duración de hasta seis días; se presenta como respuesta protectora e intenta destruir o aislar aquellos agentes que representen peligro para el tejido, ya que sin dicha remoción de las células afectadas no se dará inicio a la formación de nuevo tejido mediante la activación de queratinocitos y fibroblastos

Fase III – Proliferación: Es la tercera etapa dentro del proceso de cicatrización, derivada del proceso de inflamación y precursora de la fase de maduración; se inicia hacia el tercer día y dura aproximadamente de 15 a 20 días. El objetivo de esta fase es generar una barrera protectora, con el fin de aumentar los procesos regenerativos y evitar el ingreso de

agentes nocivos; se caracteriza por la activación de dos grandes procesos: angiogénesis y migración de fibroblastos, los cuales facilitan la formación de una matriz extracelular (MEC) provisional, que proporciona un andamiaje para la migración celular y la síntesis de una MEC madura.

Fase IV – Maduración: Esta fase se caracteriza por la formación, organización y resistencia que obtiene el tejido al formar la cicatriz, lo cual se obtiene de la contracción de la herida generada por los miofibroblastos y la organización de los paquetes de colágeno; esta inicia simultáneamente con la síntesis de la matriz extracelular en la fase de proliferación y puede durar entre uno y dos años, dependiendo la extensión y características de la lesión.

1.4.1.3. Tipos de cicatrización (Proaño, 2017).

- **Por Primera Intención:**

Es una forma de cicatrización primaria que se observa en las heridas operatorias y las heridas incisas. Este proceso requiere de las siguientes condiciones:

 - Ausencia de infección de la herida Hemostasia perfecta
 - Afrontamiento correcto de sus bordes
 - Ajuste por planos anatómicos de la herida durante la sutura.
- **Por Segunda Intención**
 - Ésta ocurre en forma lenta y a expensas de un tejido de granulación bien definido, dejando como vestigio una cicatriz larga, retraída y antiestética. Por lo general

ocurre cuando hay pérdida de sustancia o dificultad para afrontar los bordes de una herida o también cuando existe un compromiso infeccioso en la herida.

- Por Tercera Intención
 - Así denominada cuando reunimos las dos superficies de una herida, en fase de granulación, con una sutura secundaria.
- Por Cuarta Intención
 - Cuando aceleramos la cura de una herida por medio de injertos cutáneos.

1.4.2. Copaiba (Leandro, 2015).

El nombre “Copaiba” es la denominación que comúnmente se utiliza para todo el género de *copaifera*, éste tiene un origen indígena: “Cupa-yba” que significa “árbol de depósito”, esto debido a las virtudes medicinales que los nativos le atribuyeron.

El árbol tiene un tronco de aspecto oscuro y áspero al tacto. Sus hojas son pecioladas y alternas. Además sus flores son hermafroditas y dan un fruto que contienen una sola semilla, la cual tiene forma ovalada, de cubierta dura y color oscuro casi negro. Cada 5 años ocurre la fructificación del Copaiba.

Una de las partes más aprovechables del árbol de copaiba es la madera. Ya que resistente al ataque de hongos y fácil de trabajar entre sus principales usos se encuentran: producción de parquet, muebles, canoas, entre otros. La oleorresina de copaiba, la cual erróneamente se denomina como aceite de copaiba, es un exudado compuesto de ácidos resinosos y compuestos volátiles. Es extraída del tronco del árbol, es

aromática y fluida que al contacto con el aire se espesa; además presenta una diversa gama de colores la cual varía según especie y esta va desde un transparente, amarillo a marrón claro.

La descripción taxonómica de copaiba según Cronquist (1988):

REINO: Plantae

DIVISIÓN: Magnoliophyta

CLASE: Equisetopsida

SUBCLASE: Magnoliidae

ORDEN: Fabales

FAMILIA: Fabaceae Lindl.

GÉNERO: Copaifera L.

ESPECIE: *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer

Nombre común: “Copaiba”, “Copaifera”.

Los constituyentes principales del látex de copaiba son los diterpenos y sesquiterpenos, de los cuales su composición varía dependiendo de las especies, al menos 38 sesquiterpenos han sido identificados: de estos 35 fueron hallados en las oleorresinas de *C. duckei*, *C. paupera*, *C. piresii*, *C. pubiflora*, *C. reticulada*: ciclozativeno, 7 – episesquithujene, cyperene, cis Bfarneseno, guaia-6,9-dien, epi-B-santalene(E)—farneseno, sesquisabi nene, 4,5-diepiaristolochene, germacreno A, trans-cadina-1,4- dieno, Bchamigrene, cis-B-guaiene; viridiflorene, y-gurjuneno, y-curcumeno, epicubebol, valenceno, trans-B-guaiene, (E,E)-&-farneseno, (Z)-&-bisaboleno, &- bulnesene, B-curcumeno, (Z)-y-bisaboleno, 7-epi-&selineno, transcadina-

1,4- dieno,(E)-y-bisaboleno, glubolol, humeleno epóxido, epicubenol, cubenol, epi-&- muurolol y la epi-B-bisabolol. Los sesquiterpenos principales que se encuentran en las oleorresinas de copaiba son: β -cariofileno, óxido de cariofileno, α -humuleno, δ - cadineno, α -cadinol, α -cubebene, α - y β -selinene, β -elemene, α -copaene,trans- α , bergamotene y β -bisabolene, el ácido kaurénico se encuentra presente en la oleorresina del árbol de copaiba. Según un estudio realizado por Van Vuuren SF30, el compuesto diterpenoide que contiene la oleorresina del árbol de copaiba: el ácido kaurénico tiene actividad antibacteriana frente a *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* y *Bacillus subtilis* (Machaca, 2015).

El árbol de la especie *Copaifera paupera* (Herzog) Dwyer, mide aproximadamente entre 30 a 35 metros de alto, oriundo de la selva baja, con un olor pronunciado. Sus hojas son compuestas pinnadas de foliolos alternos, glabras, subcordadas y pequeñas, de un color verde negruzcas al secar; con nerviaciones reticuladas, intrincadas en el haz y el envés, con estípulas pequeñas y caducas. Sus flores son blancas, pequeñas, sésiles, fraganciosas, con espigas no ramosas en ramas laterales; sépalos cuatro, unidos en la base, imbricados, sin pétalos; androceo de diez estambres libres con anteras versátiles; ovario hirsuto, brevemente estípitado, el estilo filiforme encorvado con estigma truncado o capitado. Fruto en vainas glabras subsésiles, pequeñas, usualmente con una sola semilla oscura con arilo amarillo naranja (Machaca, 2015).

1.5. Hipótesis

El aceite de *Copaifera paupera* (Copaiba) al ser administrado por vía tópica posee efecto cicatrizante al ser aplicado sobre heridas superficiales inducidas en ratas.

1.6. Objetivos

Objetivo general:

Determinar el efecto cicatrizante del aceite de *Copaifera paupera* (Copaiba) en ratas.

Objetivos específicos:

Identificar cualitativamente la presencia de diversos grupos químicos en el aceite de *Copaifera paupera* (Copaiba), por medio de ensayos químicos correspondientes.

Describir la capacidad de miscibilidad del aceite de *Copaifera paupera* (Copaiba) en determinados compuestos químicos.

Determinar el efecto cicatrizante del aceite de *Copaifera paupera* (Copaiba) en ratas en concentraciones de 10%, 50% y 100%.

II. METODOLOGÍA

2.1 Tipo y diseño de investigación

2.1.1 Tipo

El diseño del estudio fue de tipo analítico-experimental, aleatorizado, completo, pre-clínico *in vivo*.

2.1.2 Diseño

La presente investigación buscó determinar el efecto cicatrizante del aceite *Copaifera paupera* (Copaiba), en ratas, teniendo en cuenta el siguiente diseño experimental:

Grupos	tratamientos
Grupo I	corte + Solución suero fisiológico 2 mL/Kg
Grupo II	corte + Trimicot (Clotrimazol 2%, gentamicina 0.1%, betemetasona 0.01%).
Grupo III	Corte + aceite 10%
Grupo IV	Corte + aceite 50%
Grupo V	Corte + aceite 100%

2.2 Población y muestra

2.2.1 Población:

- Población₁: Ratas albinas
- Población₂: *Copaifera paupera* (Copaiba)

2.2.2 Muestra:

- Muestra₁: Ratas albinas Cepa Holtzman: 30 unidades
- Muestra₂: Aceite de *Copaifera pauoera* (Copaiba): 250 mL.

2.3. Técnicas e instrumentos de investigación:

2.3.1. Obtención de la muestra vegetal:

La muestra vegetal (aceite de copaiba) fue obtenida del mercado de la chacra a la olla, ubicado en el distrito de Chimbote, Provincia de Santa, Departamento de Ancash, y su procedencia fue del distrito de Tingo María.

2.3.2. Estudio fitoquímico preliminar del aceite de *Copaiba paupera* (Copaiba).

El estudio fitoquímico del aceite de copaiba se realizó en el laboratorio de farmacología de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad San Pedro, al cual se le practicó, las reacciones de Dragendorff y Mayer (alcaloides), Shinoda (flavonoides), cloruro férrico (compuestos fenólicos), gelatina (taninos), ninhidrina (aminoácidos), Burtranger (quinonas) y ácido sulfúrico alfa naftol (glicósidos) (Lock de Ugaz, 2017).

2.3.2.1. Fundamento: permite determinar cualitativamente los principales grupos químicos presentes en una planta, consiste en la extracción de la planta con solventes apropiados y la aplicación de reacción de color y precipitación.

2.3.2.2.Procedimiento:

a) Identificación de Alcaloides

Ensayo de Dragendorff

Se colocó 1 mL del extracto en un tubo de ensayo, luego se añadió 3 gotas del reactivo de Dragendorff, y se procedió a observar considerándose positivo la formación de un precipitado rojo ladrillo.

Ensayo de Mayer

Se colocó 1 mL del extracto en un tubo de ensayo, a continuación, se añadió 3 gotas del Reactivo de Mayer y se procedió a observar considerándose positivo la formación de un precipitado blanco.

Ensayo de Wagner

Se colocó 1 mL del extracto en un tubo de ensayo, a continuación, se añadió 3 gotas del Reactivo de Wagner y se procedió a observar considerándose positivo la formación de un precipitado café.

b) Identificación de Flavonoides

Ensayo de Shinoda

Se colocó 1 mL del extracto en un tubo de ensayo, luego se agregó limadura de magnesio seguido de 3 gotas de ácido clorhídrico concentrado y se procedió a observar considerándose positivo si la reacción es de rojo oscuro intenso.

c) Identificación de compuestos fenólicos y/o taninos

Ensayo de Cloruro Férrico (FeCl_3)

Se colocó 1 mL del extracto en un tubo de ensayo, a continuación, se agregó 3 gotas del reactivo FeCl_3 al 10% y se procedió a observar considerándose positivo la aparición de coloración verde oscuro.

d) Identificación de triterpenoides y/o esteroides

Ensayo de Liebermann-Burchard

Se colocó 1 mL del extracto en un tubo de ensayo, a continuación se agregó 5 gotas de ácido acético seguido de 5 gotas de anhídrido acético, luego se agregó 1 gota de ácido sulfúrico y se procedió a observar

considerándose positivo para triterpenoides una coloración rojo-marrón y para esteroides la presencia de anillo color verde.

e) Identificación de Quinonas

Ensayo de Borntrager

Se colocó 1 mL del extracto en un tubo de ensayo, a continuación, se agregó 5 gotas del reactivo de Borntrager y se procedió a observar considerándose positivo si la reacción es de color rojo intenso o rosado oscuro.

f) Identificación de Azúcares reductores

Se colocó 1 mL del extracto en un tubo de ensayo, primero se mezcló Fehling A + Fehling B y luego se añadió a la muestra. Considerándose positivo un precipitado rojo.

g) Identificación de Saponinas

Se colocó 1 mL extracto en un tubo de ensayo y se diluyó con 5 veces su volumen en agua y se agitó la mezcla fuertemente durante 2 minutos. Considerándose positivo la aparición de espuma de 2mm de altura en la superficie y si persistió por más de 2 minutos.

2.3.3. Test de miscibilidad del aceite de *Copaifera paupera* (copaiba).

Para la determinación de la miscibilidad del aceite de copaiba, se distribuyeron 0.5 mL del látex de de aceite de *Copaifera paupera*

en siete tubos de ensayo, los cuales fueron enumerados respectivamente y se ensayaron los siguientes disolventes:

N°	Disolvente
1	Agua
2	Eter
3	Etanol
4	Tween 80

2.3.4. Determinación del efecto cicatrizante del aceite de *Copaifera paupera* (copaiba) (Vaisberg, 1997).

Para determinar el efecto analgésico, se utilizaron 3° ratas albinas cepa Holtzman 180 ± 20 g de peso corporal. Las cuales procedieron del bioterio del Instituto Nacional de Salud (Lima-Chorrillos), las cuales fueron aclimatadas 7 días antes de la experimentación y fueron alojados en jaulas metálicas con alimento balanceado en pellets (ratonina) y agua a libertad a temperaturas 25 ± 1 °C, con 12 horas ciclo luz / oscuridad y humedad relativa aproximadamente 60%, luego se distribuyeron de manera aleatoria en 7 grupos de seis ratas cada grupo.

Todos los especímenes fueron depilados 24h antes de realizar dos cortes en la región escapular, en un área de 1cm^2 , que incluyó piel y tejido celular subcutáneo.

En la primera fase de la investigación, se aplicó diariamente, por un período de 07 días, el aceite en concentraciones de 10, 50 y 100% en las heridas abiertas y bajo el efecto anestésico, con 50 mg/kg de pentobarbital sódico en grupos de seis animales para

cada concentración, y se calculó el porcentaje de eficacia de cicatrización usando la fórmula en varios días:

$$\%C = \frac{GE - GC}{GC} \times 100$$

%C: Porcentaje de cicatrización

GC: Grupo control negativo

GE: Grupo experimental

Se observó el tiempo de aparición, caída de la costra y cicatrización del área durante todo el período experimental. Al finalizar el tratamiento, los animales fueron sacrificados mediante sobredosis de anestesia pentobarbital sódico 100 mg/kg e inmediatamente se realizaron las pruebas de resistencia a la tensión planteada por Vaisberg. Luego se comparó el efecto cicatrizante de las formulaciones con mejores resultados frente a placebo (solución suero fisiológico) y el fármaco patrón (trimicot), utilizando la prueba de resistencia a la tensión (gramos de arena necesarios para abrir una herida).

2.4 Procesamiento y análisis de la información

Los datos fueron expresaron como valor medio \pm error estándar de la media (EE), límite superior e inferior, análisis de varianza ANOVA, los valores fueron estadísticamente significativos con el valor $p < 0,05$. Utilizándose el Programa estadístico SPSS, versión libre para Windows.

III. RESULTADOS

Tabla 1. Marcha fitoquímica del aceite de *Copaifera paupera* (Copaiba).

Reacción de Identificación	Metabolito Secundario	Cantidad
Gelatina	Taninos	-
Tricloruro férrico	Compuestos Fenólicos	-
Mayer	Alcaloides	-
Hidróxido de sodio	Quinonas	-
Liebermann	Esteroides y triterpenos	++
Shinoda	Flavonoides	-

Leyenda:

(+++)= *Abundante cantidad;*

(++)= *Regular cantidad o positivo,*

(+)= *Poca cantidad o trazas;*

(-)= *Ausencia.*

Tabla 2. Datos obtenidos al evaluar el efecto cicatrizante del aceite de *Copaifera paupera* (Copaiba) en ratas.

Tratamiento	Valor medio	Error estandar	Intervalo confianza 95%	
			Inferior	Superior
SSF 2 mL/Kg	29.50	1.69	24	34
Trimicot	73	1.32	70	79
Copaiba 10%	38.66	1.31	35	44
Copaiba 50%	56.16	1.92	51	62
Copaiba 100%	60.33	1.02	58	65

Tabla 3. Evaluación de la solubilidad del aceite de *Copaifera paupera* (Copaiba).

N°	Disolvente	Solubilidad
1	Agua	-
2	Eter	+
3	Etanol	+
4	Tween 80	+++

Donde:

(-)= insoluble,

(+)=poco soluble,

(++)=relativamente soluble,

(+++)=soluble.

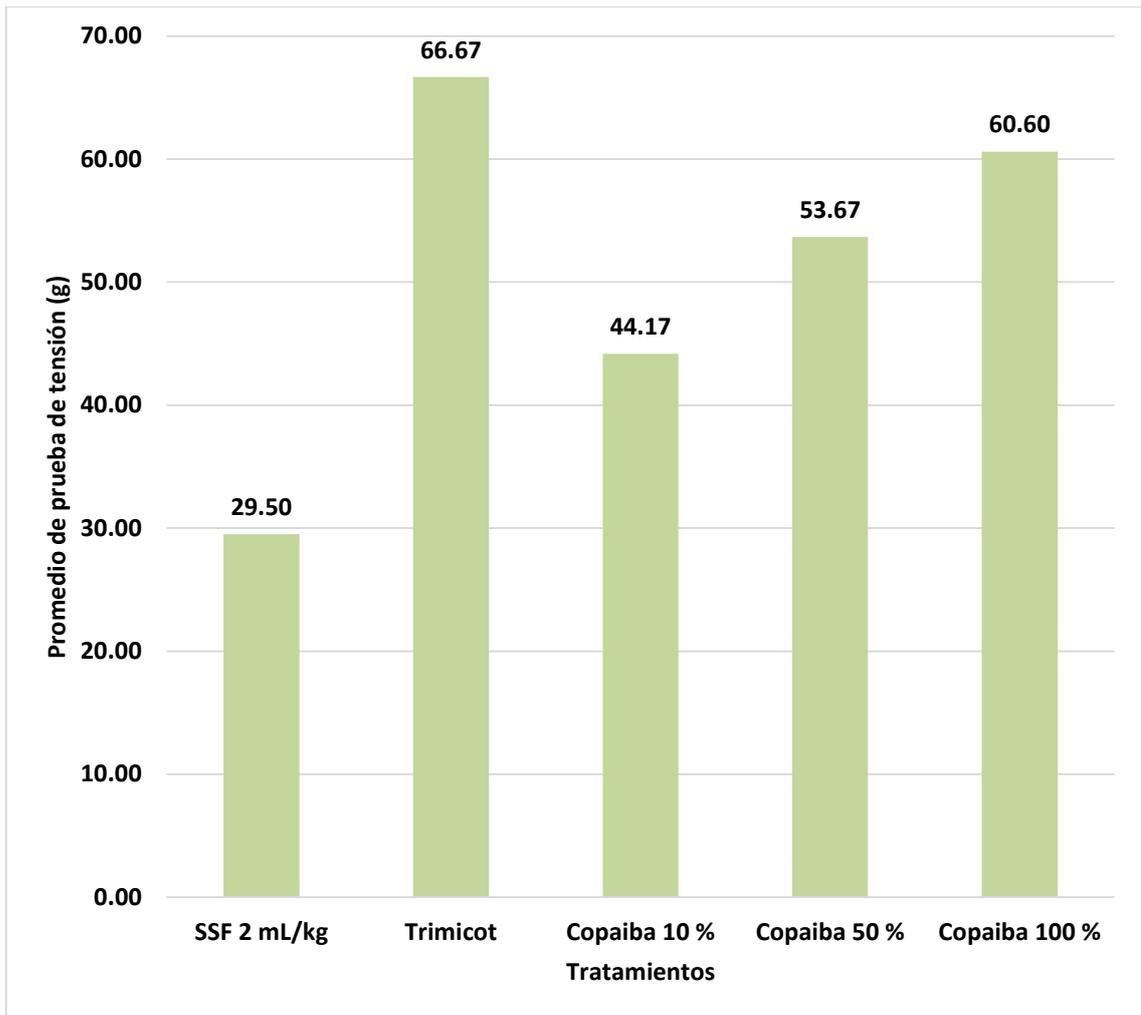


Figura 1. Valor medio de las masas de la resistencia a la tensión al evaluar el efecto cicatrizante del aceite de *Copaiba pauera* (Copaiba) en ratas.

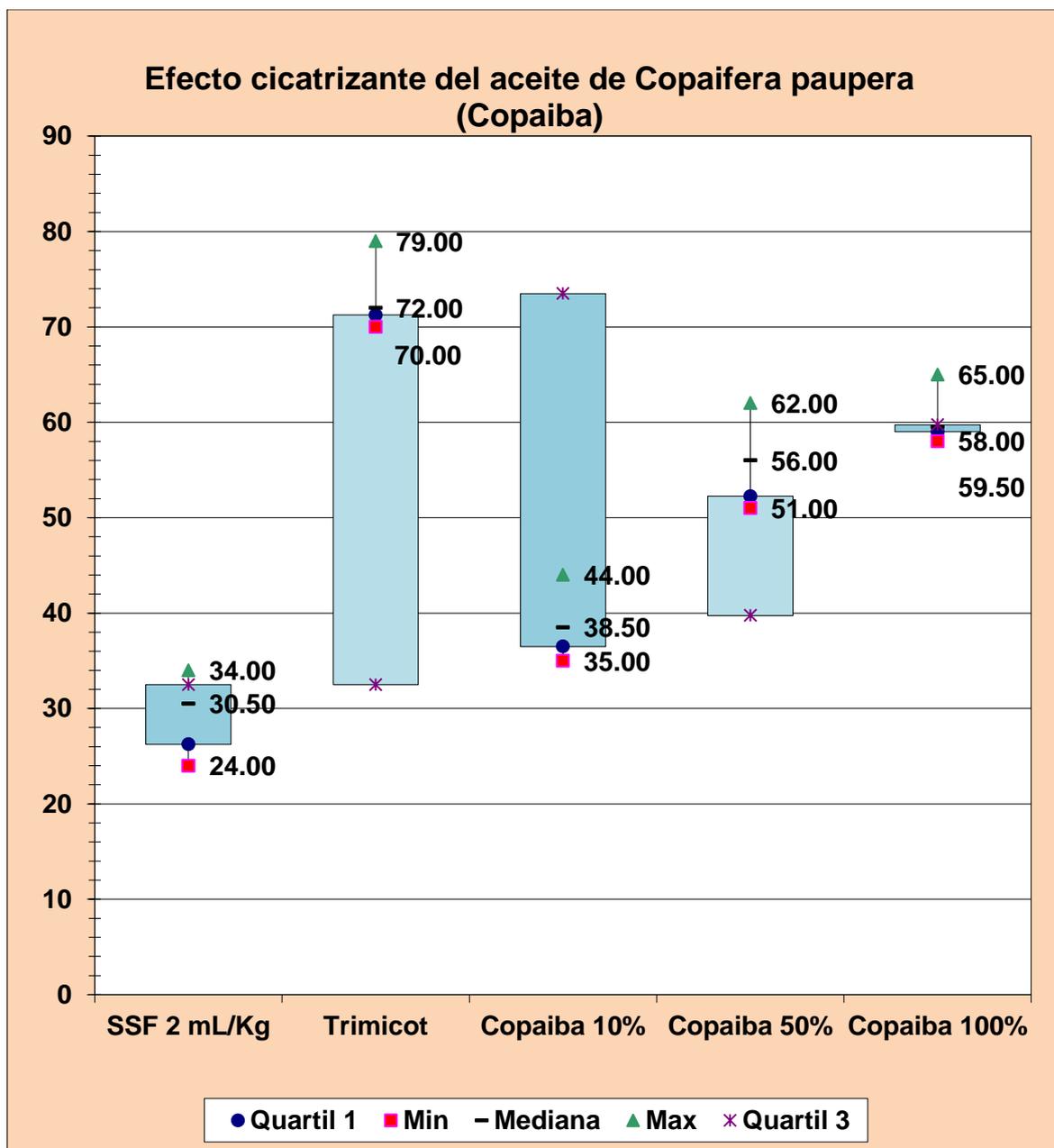


Figura 2. Diagrama de cajas del valor medio de las masas de la resistencia a la tensión al evaluar el efecto cicatrizante del aceite de *Copaiba pauera* (Copaiba) en ratas

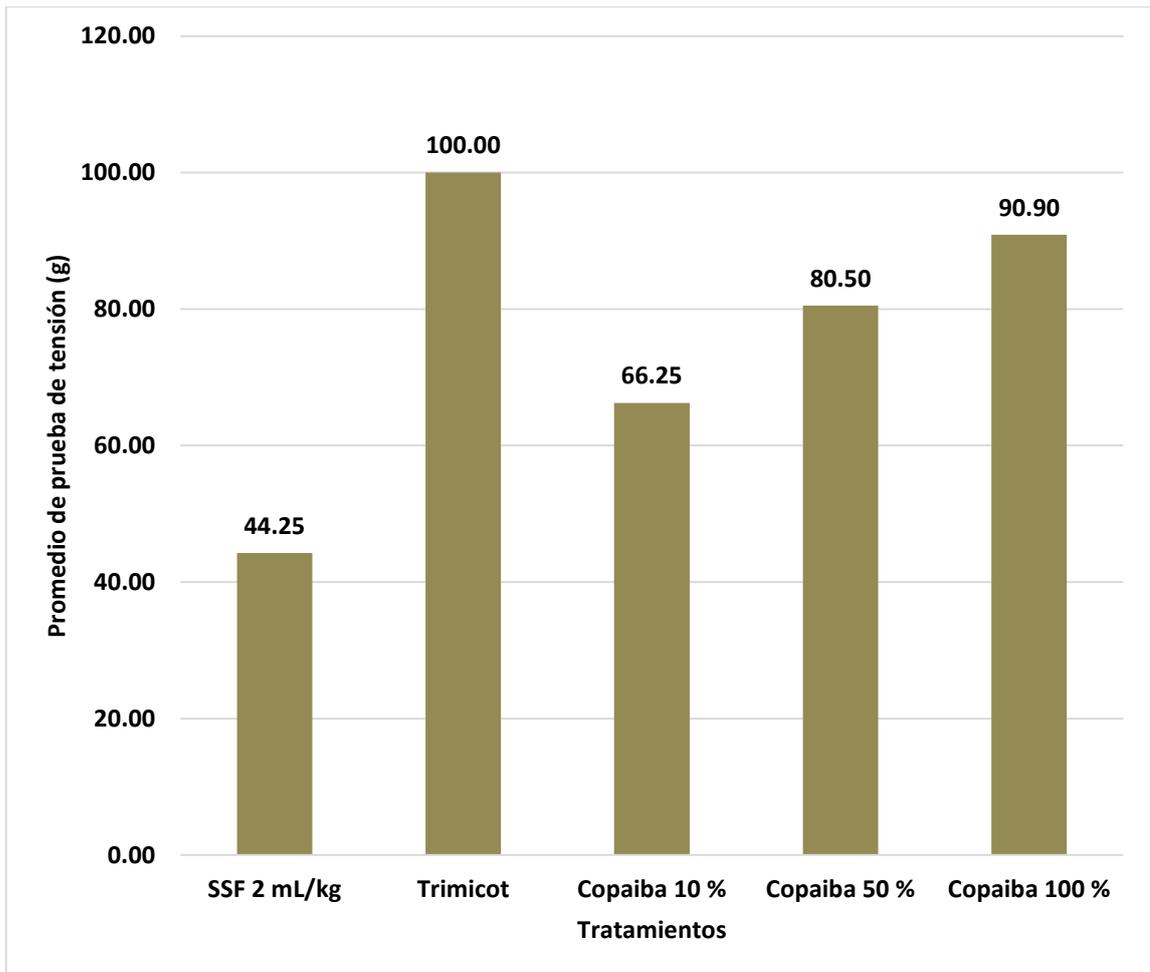


Figura 3. Porcentaje del efecto cicatrizante de las masas de la resistencia a la tensión al evaluar el efecto cicatrizante del aceite de *Copaiba pauera* (Copaiba) en ratas

IV. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN

El estudio fitoquímico del aceite de *Copaiba paupera* (copaiba) ha evidenciado la presencia de esteroides triterpénicos en regular cantidad (++) (Tabla 1); lo que se confirma con el estudio de Arroyo et al (2009).

En la tabla 2 y en las figuras 1,2 y 3, se observan los resultados del efecto cicatrizante del aceite de *Copaiba paupera* (copaiba), donde se evidencia que conforme se incrementan las concentraciones de los extractos (10%, 50% y 100%), las masas promedias de la tensión para abrir heridas superficiales en ratas fueron de 44.17 gr., 53.67 gr. y 60.60 gr. respectivamente, así como los porcentajes de efecto cicatrizante aumentaron con la dosis 66.25% (10%), 80.50% (50%) y 90.90% (100%). A su vez también se observa que el porcentaje de efecto cicatrizante con el control negativo SSF 2mL/Kg fue de 44.25%, mientras que con el control positivo Trimicot fue del 100%, las tres concentraciones del aceite de copaiba ensayadas evidencian un efecto cicatrizante, sobre todo la que se aplica en dosis de copaiba 100%, cercana al de trimicot.

Se evaluó la solubilidad del aceite de *Copaiba paupera*, donde se evidencia que el aceite es insoluble en agua (-), poco soluble en alcohol y éter (+), y soluble en tween 80° (polisorbato de sodio 80°). (tabla 3).

El efecto cicatrizante del aceite de *Copaiba paupera* estaría mediado por la presencia de los terpenos, quienes desencadena una cascada de cuatro fases solapadas e interconectadas y dependientes de la activación y de la acción celular que estimulan el crecimiento, reparación y remodelación del tejido, lo que permite el restablecimiento de las características físicas, mecánicas y eléctricas que favorecen las condiciones normales del tejido. Así mismo estimulan a la migración de fibroblastos en la zona afectada (Arroyo et al., 2009).

V. CONCLUSIONES

Se realizó la marcha fitoquímica del aceite de *Copaiba paupera* (Copaiba), logrando identificar la presencia de esteroides triterpénicos en regular cantidad (++).

La evaluación de la solubilidad del aceite de *Copaiba paupera*, evidenció que es insoluble en agua, poco soluble en alcohol y éter (+), y soluble en polisorbato de sodio 80°.

Se evidenció que el aceite de *Copaiba paupera* en concentraciones de 10%, 50% y 100% presentaron efecto cicatrizante en la prueba tensión en heridas superficiales en ratas, siendo la mejor concentración pura (100%), con una eficacia cicatrizante de 90.90%, relativamente cercano al estándar farmacológico trimicot. Así mismo se evidenció un efecto cicatrizante de dosis respuesta, de manera escalonada del aceite de *Copaiba paupera*.

Se demostró que en condiciones experimentales el aceite *Copaiba paupera* (Copaiba) presenta efecto cicatrizante en ratas con heridas superficiales.

VI. RECOMENDACIONES

Realizar estudios fotoquímicos del aceite obtenidos de diferentes lugares geográficos, para evaluar la presencia de sus metabolitos secundarios y permita asociarle a una posible actividad farmacológica.

Realizar estudios anatomopatológicos de las muestras de piel para determinar mejor efecto cicatrizante.

Comparar el efecto cicatrizante con otras especies vegetales, así como con otros estándares farmacológicos de eficacia comprobada.

VII. AGRADECIMIENTO

A Dios, brindarnos la fortaleza para poder seguir adelante y estar siempre en esos momentos de incertidumbre.

A nuestros padres por ser apoyo fundamental en nuestras vidas y ejemplo de lucha y dedicación.

A mis familiares, amigos y docentes por sus enseñanzas y consejos que permitieron lograr este anhelado deseo.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alegría, S.F. (2017) Evaluación de la actividad cicatrizante, en ratas albinas, de la combinación de los preparados galénicos de Bixa orellana L. (Achiote), Ocimum campecheanum Mill. (Albahaca de monte) y Aloe vera L. (Sábila). Recuperado de repositorio de la biblioteca virtual en Saude. <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/biblio-911594>
- Amorim, J.L., Barros, J., Fernandes, A.C., Oliveira, E.G., Palmero, C., M., Palantinos, M.A., de Souza, A., Pinto, J.F., de Andrade, J.R., Benjamim, C.F., Basso, S.L., Nasciutti, L.E., & Dias, P. (2017). Wound healing properties of *Copaifera paupera* in diabetic mice. *PLoS ONE*, *12*(10), e0187380. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0187380>
- Arroyo, J., Almora, Y., Quino, M., Martínez, J., Condorhuamán, M., Flores, M., Bonilla, P. (2015). Efecto citoprotector y antiseptor del aceite de *Copaifera officinalis* en lesiones gástricas inducidas en ratas. *An Fac Med*. *70*(2):89-96.
- BioTech (2017). Nueva terapia regenerativa para mejorar la cicatrización de heridas agudas. Obtenido de: <http://biotech-spain.com/es/articulos/nueva-terapia-regenerativa-para-mejorar-la-cicatrizacion-de-heridas-agudas/>
- Bocanegra Arista, R.P. (2009). *Susceptibilidad bacteriana in vitro del Enterococcus faecalis frente a diferentes concentraciones de aceite esencial de Copaifera officinalis (copaiba) en comparación con hipoclorito de sodio al 2.5%*. Tesis de postgrado. Universidad Nacional de Trujillo-Perú.
- Borges, E.L., Pires Júnior, J.F., Silva Abreu, M.N., De Araujo Lima, V.L., Barbosa Silva, P.A., & Soares, S.M. (2016). Factors Associated With The Healing Of Complex Surgical Wounds In The Breast And Abdomen: Retrospective Cohort Study. *Rev. Latino-Am. Enfermagem*, *24*, e2811.
- Carranza, R., & Huamanchaqui, A. (2017). *Efecto cicatrizante de una crema a base de Solanum Tuberosum (Tocosh) y membrana testácea de huevo de*

- gallina en ratones albinos con lesiones por heridas punzo cortantes.*
Tesis de grado. Universidad Inca Garcilaso de la Vega. Lima-Perú.
- Chanca Coquil, A. (2014). *Efecto comparativo cicatrizante de Copaifera officinalis, Solanun sessiliforum Dunal y Bixa orellana L. en lesiones cutáneas de ratones albinos Mus musculus.* Tesis de pregrado. Universidad Los Andes. Huancayo-Perú.
- Cronquist, A. (1988). The evolution and classification of flowering plants. New York: The New York Botanical Garden, 555.
- CYTED. Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo. Proyecto X-I. (1995). Búsqueda de principios bioactivos de plantas de la región. Manual de técnicas de investigación; 220.
- Edmundo Flores, A. (2018). *Eficacia del gel de Aloe vera "SABILA" en la cicatrización de heridas superficiales inducidas en Cavia porcellus.* Tesis de pregrado. Universidad Cesar Vallejo. Trujillo-Perú.
http://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/25901/flores_ae.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Francia, J. (2015). Actividad antimicrobiana -in vitro- del aceite de Copaiba frente a bacterias patógenas. Lima; Instituto de Medicina Tropical Daniel Alcides Carrión
- García Alegre, E.J. (2015). *Efecto del aceite de copaiba (Copaifera Officinalis) en la cicatrización de heridas cutáneas provocadas en ratones de laboratorio.* Tesis de postgrado. Universidad Nacional Hermilio Valdizán. Huánuco-Perú.
- García, F., Gago, M., Chumilla, S., & Gaztelu, V. (2019). Nursing Management On Emergency Wound. *Gerokomos*. 24(3):132-139.
- Guarín-Corredor, C., Quiroga-Santamaría, P., & Landínez-Parra, N.S. (2013). Proceso de Cicatrización de heridas de piel, campos endógenos y su relación con las heridas crónicas. *Rev. Fac. Med.* 61(4), 441-448.

- Hernández Guerrero, M.I., & Orrala Domínguez, T.V. (2013). *Cuidados de enfermería en pacientes ambulatorios con heridas postquirúrgicas. servicio de Cirugía Menor. Hospital General Dr. Liborio Panchana 2012-2013*. Tesis de pregrado. Universidad Estatal Península de Santa Elena. La Libertad-Ecuador.
- Huamán Suarez, R.Y. (2019). *Comparación del efecto cicatrizante de Copaifera paupera (Hersog) Dwyer (Aceite de Copaiba), Croton lechleri Müell. Arg. (Sangre de Grado) y Kil AG en heridas inducidas en el lomo de ratones de laboratorio, en Puerto Maldonado – Perú*. Tesis de pregrado. Universidad Nacional Amazónica de Madre de Dios, Perú.
- Leandro, L.M., De Sousa, F., Barbosa, P., Neves, J., Da Silva J.A., Da Veiga-Junior, V.F. (2015). Chemistry and biological activities of terpenoids from copaiba (*Copaifera* spp.) oleoresins. *Molecules*, 17(4), 3866– 89.
- Lock, O. (2017). Generalidades sobre el análisis fitoquímico. En *Investigación Fitoquímica. Métodos en el Estudio de Productos Naturales* (3.^a ed.). Recuperado de:
http://167.249.11.60/anc_j28.1/index.php?option=com_content&view=article&id=333:3ra-edicion-del-libro-investigacion-fitoquimica-metodos-en-el-estudio-de-productos-naturales-de-a-t-dra-olga-lock&catid=61
- Luján, E., Lizarraga, Z., Mayor, A., Medrano, K., Medina, H., & Goicochea, S. (2014). El servicio de Medicina complementaria de EsSalud, una alternativa en el sistema de salud peruano. *Rev Med Hered*, 25(2)
- Machaca, S. (2015). *Efecto de Copaifera paupera en el aspecto clínico de la recuperación de la mucosa alveolar post exodoncia en pacientes atendidos en el essalud de Juliaca*. Universidad Andina Néstor Cáceres Velásquez.
- Mendoza, N.A., & Chávez, J.L. (2019). *Efecto cicatrizante del gel elaborado a partir de la combinación de aceite de Copaifera paupera (Copaiba) y el extracto metanólico del látex de Ficus insípida Willd (Ojé) en heridas*

inducidas en ratones albinos. Tesis de pregrado. Universidad Inca Garcilazo de Vega. Lima. Perú.

Nueva terapia regenerativa para mejorar la cicatrización de heridas agudas (2017). Noticia de la ciencia y la tecnología (Ncyt). Disponible en: <https://Noticiasdelaciencia.Com/Art/23332/Nueva-Terapia-Regenerativa>

Navarro, R. (2016). Incidencia de infecciones intrahospitalarias en establecimientos de salud, Lima. Perú.

Organización Mundial de la Salud (2018). Estrategia de la OMS sobre medicina tradicional 2015.

Peña, A., & Paco, O. (2016). Medicina Alternativa: Intento De Análisis. Rev UNMSM. *An Fac.Med.* 68(1):87.

Proaño, J. (2017). Comprobación del efecto cicatrizante de una crema a base de romero (*Rosmarinus officinalis*), Matico (*Piper aduncum*) y Cola de Caballo (*Equisetum Arvense*) En Heridas Inducidas En Ratones. Riobamba: Escuela Superior Politécnica De Chimborazo Facultad De Ciencias.

Ramírez, E. (2016). Aplicabilidad del aloe vera en heridas, quemaduras. (Tesis de pregrado). Recuperado de repositorio de la Universidad de Jaén. http://tauja.ujaen.es/bitstream/10953.1/2905/1/TFG._JAVIER_ZAFRA_RAMIREZ.

Woodley, D.T., Chen, J.D., Kim, J.P., Sarret, Y., Iwasaki, T., Kim, Y.H., O'Keefe, E.J.. (2016). Re-epithelization keratinocyte locomotion *dermatol clin.* 11(4):641-6.

IX. ANEXOS Anexo 01. Tabla de recolección de datos

Nro	Tratamientos	Tensión (gramos)
1	SSF 2 mL/kg	25
2	SSF 2 mL/kg	24
3	SSF 2 mL/kg	31
4	SSF 2 mL/kg	34
5	SSF 2 mL/kg	30
6	SSF 2 mL/kg	33
7	Trimicot	70
8	Trimicot	72
9	Trimicot	79
10	Trimicot	72
11	Trimicot	74
12	Trimicot	71
13	Copaiba 10 %	35
14	Copaiba 10 %	39
15	Copaiba 10 %	44
16	Copaiba 10 %	40
17	Copaiba 10 %	36
18	Copaiba 10 %	38
19	Copaiba 50 %	52
20	Copaiba 50 %	62
21	Copaiba 50 %	59
22	Copaiba 50 %	60
23	Copaiba 50 %	51
24	Copaiba 50 %	53
25	Copaiba 100 %	65
26	Copaiba 100 %	60
27	Copaiba 100 %	61
28	Copaiba 100 %	59
29	Copaiba 100 %	58
30	Copaiba 100 %	59

Anexo 02. Estadística descriptiva del promedio de las masa de tensión al evaluar el efecto cicatrizante del aceite de *Copaifera paupera* (Copaiba) en ratas.

<i>Estadística descriptiva</i>	<i>SSF</i> <i>2mL/Kg</i>	<i>Trimicot</i>	<i>Copaiba</i> <i>10%</i>	<i>Copaiba</i> <i>50%</i>	<i>Copaiba</i> <i>100%</i>	
Media	29.5	73	38.6666667	56.1666667	60.3333333	
Error típico	1.6881943	1.31656118	1.30809446	1.92209377	1.02198065	
Mediana	30.5	72	38.5	56	59.5	
Moda	#N/A	72	#N/A	#N/A	59	
Desviación estándar	4.13521463	3.2249031	3.20416396	4.70814896	2.50333111	
Varianza de la muestra	17.1	10.4	10.2666667	22.1666667	6.26666667	
	-			-		
Curtosis	1.72463322	2.78476331	0.68181818	2.61321725	2.84857402	
Coeficiente de asimetría	-	0.50910614	1.61006627	0.78023473	0.10220641	1.61486955
Rango	10	9	9	11	7	
Mínimo	24	70	35	51	58	
Máximo	34	79	44	62	65	
Suma	177	438	232	337	362	
Cuenta	6	6	6	6	6	

Anexo 03. Análisis de varianza (ANOVA) del promedio de las masa de tensión al evaluar el efecto cicatrizante del aceite de *Copaifera paupera* (Copaiba) en ratas.

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

<i>Grupos</i>	<i>Cuenta</i>	<i>Suma</i>	<i>Promedio</i>	<i>Varianza</i>
SSF 2 mL/Kg	6	177	29.5	17.1
Trimicot	6	438	73	10.4
Copaiba 10%	6	232	38.6666667	10.2666667
Copaiba 50%	6	337	56.1666667	22.1666667
Copaiba 100%	6	362	60.3333333	6.2666667

ANÁLISIS DE VARIANZA

<i>Origen de las variaciones</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Grados de libertad</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Valor crítico para F</i>
Entre grupos	7264.46667	4	1816.11667	137.168933	1.2687E-16	2.75871047
Dentro de los grupos	331	25	13.24			
Total	7595.46667	29				