

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



CUANTIFICACION DE FENOLES TOTALES EN DIEZ FRUTOS DE ESPECIES  
VEGETALES PERTENECIENTES A LA FLORA SALVADOREÑA

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR  
MONICA MELISSA RIVAS JIMENEZ

PARA OPTAR AL GRADO DE  
LICENCIADA EN QUIMICA Y FARMACIA

MAYO 2019

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**

**RECTOR**

MAESTRO ROGER ARMANDO ARIAS ALVARADO

**SECRETARIO GENERAL**

MAESTRO CRISTOBAL HERNAN RIOS BENITEZ

**FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA**

**DECANO**

LIC. SALVADOR CASTILLO AREVALO

**SECRETARIO**

MAE. ROBERTO EDUARDO GARCIA ERAZO

**DIRECCION DE PROCESOS DE GRADUACION**

**DIRECTORA GENERAL**

MSc. Cecilia Haydee Gallardo de Velásquez

**TRIBUNAL CALIFICADOR**

**ASESORA DE AREA EN INDUSTRIA EN ALIMENTOS Y TOXICOLOGIA**

MsD. Nancy Zuleyma González Sosa

**ASESORA DE AREA EN APROVECHAMIENTO DE RECURSOS NATURALES**

Licda. Rina Antonieta Toledo Mendoza

**DOCENTES ASESORES**

MSc. Morena Lizette Martínez de Diaz

Dr. Marvin José Núñez Rivas

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco a Dios todopoderoso y a su Santa Madre por haber cuidado de mí y al mismo tiempo haberme otorgado la sabiduría necesaria para culminar con mucha satisfacción mis estudios. A toda mi familia, quienes me apoyaron y supieron brindarme su ayuda moral y material durante este proceso académico.

Agradezco al personal del Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, donde adquirí gran experiencia y me siento orgullosa de haber colaborado en sus actividades. Al Dr. Marvin J. Núñez y MSc. Morena Martínez por haber depositado su confianza en mí, compartirme parte de sus conocimientos y dedicar el tiempo necesario para que esta investigación se llevara a cabo de la mejor manera. A la Licda. Rina Toledo y MsD. Ana Miriam Santamaría de Campos, quienes siempre me brindaron palabras de apoyo y su ayuda cuando lo necesité. Al Lic. Ulises G. Castillo por otorgarme su valiosa colaboración durante la investigación.

Agradezco al personal del Laboratorio de Toxinas Marinas: Lic. Óscar Armando Amaya y Licda. Cesiah Rebeca Quintanilla por haber colaborado durante el proceso de la investigación.

Al Ing. Sergio Armando Maravilla animarme cada día. A todo el personal de la Facultad de Química y Farmacia por formar profesionales de gran valor. A MsD. Nancy González y MSc. Cecilia Gallardo por haber sido parte fundamental de este proceso. A Licda. Rosario Cruz en quien encontré una valiosa amiga que siempre estuvo al pendiente y me brindó su apoyo.

Finalmente agradezco a mis amigos, compañeros, docentes y todas las personas que con su valiosa ayuda participaron directa o indirectamente en el desarrollo de esta investigación.

## DEDICATORIA

A mis padres Gerbert Salvador Rivas Flores y Ana Elisa Jiménez de Rivas quienes fueron parte fundamental en este proceso y que a pesar de cualquier situación o dificultad supieron poner toda su confianza en mí y ayudarme con todo lo que estuvo a su alcance.

A mis amados hijos, Kristopher y Alexis quienes con tanto amor y siempre con sus bellas sonrisas me han sabido comprender a pesar de que no fue nada fácil para ellos, sin duda alguna este gran esfuerzo lo hice por ellos.

A mis hermanos Fernando y Guillermo por tantas pláticas, diversión y bellos momentos, porque me motivaron a ser un ejemplo para ellos y de quienes siempre estaré orgullosa.

A mi abuelita Consuelito, que aunque no se encuentre conmigo físicamente la llevo siempre en mi corazón y su amor y enseñanzas siempre estarán en mí. A mis abuelitos Guillermo y Ermelinda, que cada noche oraron por mí para que aunque estuviera lejos de casa nada malo me pasara.

A mi novio, Ricardo Reyes quien me ayudó a recobrar la confianza en mí misma, me ayudó a estudiar y en quién encontré además un gran amigo. A su familia, por la ayuda y hospitalidad que en algún momento me brindaron, que me hacían sentir como en casa.

“No recuerden ni piensen más en las cosas del pasado, yo voy a hacer algo nuevo y ya he empezado a hacerlo”

## INDICE

	<b>N° Pag.</b>
RESUMEN	
CAPITULO I	ixx
1.0 INTRODUCCION	xx
CAPITULO II	22
2.0 OBJETIVOS	23
CAPITULO III	24
3.0 MARCO TEORICO	25
3.1 Procesos biológicos relacionados a la actividad antioxidante	25
3.2 Sistema de defensa antioxidante del organismo	30
3.3 Metabolitos secundarios con actividad antioxidantes	31
3.3.1 Fenoles	31
3.3.1.1 Fenoles simples	35
3.3.1.2 Benzoquinonas	36
3.3.1.3 Ácidos fenólicos	37
3.3.1.5 Ácido hidroxicinámico	38
3.3.1.5 Cromonas	39
3.3.1.6 Cumarinas	39
3.3.1.7 Isocumarinas	40
3.3.1.8 Naftoquinonas	40
3.3.1.9 Xantonas	41
3.3.1.10 Estilbenos y antraquinonas	42
3.3.1.11 Taninos condensados	43
3.3.1.12 Flavonoides e isoflavonoides	44
3.3.2 Carotenoides	46
3.4 Cuantificación de fenoles totales	47
3.5 Proceso de liofilización	48

3.6	Análisis estadístico de datos	50
3.6.1	Análisis de varianza de un factor	50
3.7	Generalidades de las especies en estudio	53
3.7.1	<i>Licania platypus</i> (Hemsl.) Pittier	53
3.7.2	<i>Gonolobus taylorianus</i> W.D. Stevens & Montiel	55
3.7.3	<i>Chrysobalanus icaco</i> L.	56
3.7.4	<i>Passiflora platyloba</i> Killip	58
3.7.5	<i>Annona purpurea</i> Moc. & Sessé ex Dunal	59
3.7.6	<i>Annona diversifolia</i> Saff	61
3.7.7	<i>Spondias purpurea</i> L.	63
	CAPITULO IV	67
4.0	DISEÑO METODOLOGICO	68
4.1	Tipo de estudio	68
4.2	Investigación bibliográfica	68
4.3	Investigación de campo	69
4.4	Parte experimental	73
	CAPITULO V	80
5.0	RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS	81
5.1	Recolección e identificación botánica de cada fruto a analizar	81
5.1.2	Recolección e identificación de especies	81
5.1.2	Obtención de los extractos acuosos y cálculo de rendimiento de los liofilizados	88
5.2	Cuantificación de fenoles totales mediante el método Folin-Ciocalteu en los diez frutos en estudio	97
5.3	Análisis estadístico para determinar las diferencias entre los resultados de cuantificación de fenoles totales de los diez frutos en estudio	104
5.4	Análisis de varianza para la determinación de diferencia estadísticamente significativa entre los resultados de	

cuantificación de fenoles totales de las variedades pertenecientes a la especie <i>Spondias purpurea</i> y al género <i>Annona</i> del presente estudio	108
5.4.1 ANOVA del contenido de fenoles totales en las variedades pertenecientes a la especie <i>Spondias purpurea</i>	108
5.4.2 ANOVA del contenido de fenoles totales en las variedades pertenecientes al género <i>Annona</i>	110
CAPITULO VI	114
6.0 CONCLUSIONES	115
CAPITULO VII	117
7.0 RECOMENDACIONES	118
BIBLIOGRAFIA	
GLOSARIO	
ANEXOS	

## INDICE DE FIGURAS

<b>Figura N°</b>		<b>Pag.</b>
1	Estructura química de un fenol.	36
2	Estructura química de compuestos fenólicos simples.	36
3	Oxidación y reducción de cromonas.	37
4.	Ácidos hidroxicinámicos de mayor recurrencia en la naturaleza.	38
5	Estructura química de una cromona.	39
6	Estructura química de una cumarina.	40
7	Estructura química de una isocumarina.	40
8	Estructura química de una naftoquinona.	41
9	Estructura química de una xantona.	42
10	Estructura química de un estilbeno.	42
11	Estructura química de una antraquinona.	43
12	Estructura química de un flavonoide.	44
13	Características de la especie <i>Licania platypus</i> "Sunza".	53
14	Características de la especie <i>Gonolobus taylorianus</i> "Cuchamper".	55
15	Características de la especie <i>Chrysobalanus icaco</i> "Icaco".	56
16	Características de la especie <i>Passiflora platyloba</i> "Granadilla de huesito".	58
17	Características de la especie <i>Annona purpurea</i> "Cincuya".	59
18	Características de la especie <i>Annona diversifolia</i> .	61
19	<i>Annona diversifolia</i> , variedades: "Anona blanca" y "Anona rosada".	61
20	Características de la especie <i>Spondias purpurea</i> .	63
21	<i>Spondias purpurea</i> , variedad "Jocote tronador".	64
22	<i>Spondias purpurea</i> , variedad "Jocote chapín".	64

23	<i>Spondias purpurea</i> , variedad "Jocote de corona".	64
24	Esquema de trabajo para la cuantificación de fenoles totales.	78
25	Recolección de especies para la investigación.	82
26	Ubicación de especies recolectadas representadas en el mapa de El Salvador, zona occidental y central.	83
27	Muestra de <i>Passiflora platyloba</i> "Granadilla de huesito" para el herbario del MUHNES.	84
28	Recolección de especie <i>Spondias purpurea</i> "Jocote chapín".	87
29	Arilo y semillas del fruto de <i>Passiflora platyloba</i> "Granadilla de huesito".	88
30	Preparación del extracto acuoso del fruto de <i>Passiflora platyloba</i> "Granadilla de huesito".	89
31	Proceso de liofilización del extracto acuoso.	90
32	Extracto liofilizado de <i>Passiflora platyloba</i> "Granadilla de huesito".	91
33	Gráfico de barras de los porcentajes de rendimiento de los extractos liofilizados.	93
34	Coloración de soluciones estándar al reaccionar con la solución Folin-Ciocalteu 2N.	97
35	Curva de calibración para cuantificación de fenoles totales.	98
36	Preparación de cubetas para el Espectrofotómetro UV-Vis.	99
37	Gráfico de barras de la cuantificación de fenoles totales de los frutos.	104

## INDICE DE TABLAS

<b>Tabla N°</b>		<b>Pag.</b>
1	Sitios y mecanismos de acción de algunas antioxidantes.	28
2	Clasificación de los compuestos fenólicos.	35
3	Frutos de especies salvadoreñas a analizar.	70
4	Características de las especies frutales a estudiar.	72
5	Detalles de recolección e identificación de especies.	85
6	Resultados del proceso de liofilización.	92
7	ANOVA para el porcentaje de rendimiento de la obtención de extractos liofilizados.	94
8	Prueba de múltiples rangos para el rendimiento de la obtención de extractos liofilizados.	95
9	Resultados de cuantificación de fenoles totales en diez frutos de especies vegetales pertenecientes a la flora salvadoreña.	100
10	Resultados de cuantificación de fenoles totales de un extracto liofilizado del fruto de <i>Annona diversifolia</i> "Anona blanca".	103
11	ANOVA para resultados de cuantificación de fenoles totales para los frutos de la investigación.	105
12	Prueba de múltiples rangos para los resultados de cuantificación de fenoles totales para los frutos de la investigación.	106
13	ANOVA para los resultados de cuantificación de fenoles totales en variedades de la especie <i>Spondias purpurea</i> .	108
14	Prueba de múltiples rangos para los resultados de cuantificación de fenoles totales para los frutos de variedades de <i>Spondias purpurea</i> .	109
15	ANOVA para los resultados de cuantificación de fenoles totales en frutos de especies del género <i>Annona</i> .	110

16 Prueba de múltiples rangos de los resultados de cuantificación de fenoles totales para los frutos de las especies del género *Annona*.

111

## INDICE DE ANEXOS

### Anexo N°

- 1 Diseño de etiqueta de recolección de especies.
- 2 Esquemas representativos de procedimiento experimental.
- 3 Descripción de reactivos, cristalería, material y equipo a utilizar en la cuantificación de fenoles totales.
- 4 Equipo liofilizador Labconco Freezone.
- 5 Cálculo para la preparación de soluciones estándar para la realización de la curva de calibración.
- 6 Preparación de solución de Carbonato de Sodio 10.75% m/v.
- 7 Esquema general de la investigación.
- 8 Cuadro resumen del proceso general de cuantificación de fenoles totales para un fruto.
- 9 Resultados de cuantificación de fenoles totales en diez frutos de especies vegetales pertenecientes a la flora salvadoreña.

## ABREVIATURAS

<b>Abr.</b>	Abril
<b>CV</b>	Coeficiente de variación
<b>DPPH</b>	Radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo
<b>Dic.</b>	Diciembre
<b>ECNT</b>	Enfermedad crónica no transmisible
<b>Ene.</b>	Enero
<b>EROs</b>	Especies reactivas del Oxígeno.
<b>GPS</b>	Global Positioning System = Sistema de posicionamiento global
<b>Jul.</b>	Julio
<b>Jun.</b>	Junio
<b>LIPN</b>	Laboratorio de Investigación en Productos Naturales
<b>Mar.</b>	Marzo
<b>May.</b>	Mayo
<b>Mpio.</b>	Municipio
<b>MUHNES</b>	Museo de Historia Natural de El Salvador
<b>N</b>	Norte
<b>Nov.</b>	Noviembre
<b>O</b>	Oeste
<b>Oct.</b>	Octubre
<b>OMS</b>	Organización Mundial de la Salud
<b>RL</b>	Radical libre
<b>Sept.</b>	Septiembre
<b>SICA</b>	Sistema de la Integración Centroamericana

**SIC-UES**    Secretaría de Investigaciones Científicas de la Universidad de El Salvador

**UV-Vis**     Ultravioleta-Visible

## **SIMBOLOGÍAS**

<b>°C</b>	Grados Celsius
<b>g</b>	Gramos
<b>Kg</b>	Kilogramo
<b>L</b>	Litro
<b>mBar</b>	Milibar
<b>mL</b>	Mililitro
<b>mg</b>	Miligramos
<b>m/v</b>	Masa/Volumen (Medida de concentración)
<b>N</b>	Normal (Medida de concentración)
<b>Pa</b>	Pascales
<b>μL</b>	Microlitros

## RESUMEN

La presente investigación tuvo como finalidad cuantificar los fenoles totales utilizando el método Folin-Ciocalteu en los extractos acuosos liofilizados de los frutos pertenecientes a las especies: *Licania platypus* "Sunza", *Gonolobus taylorianus* "Cuchamper", *Chrysobalanus icaco* "Icaco", *Passiflora platyloba* "Granadilla de huesito", *Annona purpurea* "Cincuya", *Annona diversifolia* en sus variedades: "Anona blanca" y "Anona rosada" y la especie *Spondias purpurea* variedades: "Jocote tronador", "Jocote chapín" y "Jocote de corona", dichas especies fueron recolectadas y debidamente identificadas por un profesional botánico. A partir de los resultados se realizó el análisis de varianza para determinar si existe diferencia entre el contenido de fenoles de los frutos en estudio. La investigación fue llevada a cabo durante los meses de mayo a octubre en el Laboratorio de Investigación en Productos Naturales, ubicado en la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.

Según los resultados, los frutos con mayor cantidad de fenoles totales son los de *Annona diversifolia* en sus variedades "Anona blanca" y "Anona rosada", seguidos de los frutos de *Spondias purpurea* en sus variedades "Jocote chapín" y "Jocote tronador". Al establecer la comparación entre los frutos pertenecientes al género *Annona*, el fruto de "Anona rosada" presentó la mayor cantidad de fenoles totales y el que menor cantidad presentó fue el de *Annona purpurea* "Cincuya". La comparación entre los frutos de la especie *Spondias purpurea*, demostró que el fruto de "Jocote tronador" es el que mayor cantidad de fenoles posee, mientras que el "Jocote de corona" los presentó en menor cantidad.

Debido a que el efecto antioxidante está ligado a varios tipos de metabolitos secundarios, es importante continuar con la evaluación de la actividad antioxidante de los frutos, para proponer con mayor certeza su consumo y utilización a nivel de la industria farmacéutica y cosmética.

**CAPITULO I**  
**INTRODUCCION**

## 1.0 INTRODUCCION

Por sus condiciones agroecológicas, Mesoamérica y en particular los países del Sistema de la Integración Centroamericana (SICA) son productores naturales de frutas tropicales y subtropicales debido al clima favorable que poseen estas zonas, alimentos que cada vez tienen más demanda dentro y fuera de la región.

El aumento de las enfermedades crónicas no transmisibles (ECNT) relacionadas con la alimentación, ha conducido a un mayor interés por estudiar la relación alimentación y salud. Se ha demostrado una menor incidencia de estas con patrones alimentarios que involucran un alto consumo de frutas y verduras, lo que ha motivado a investigar las propiedades químicas de estos alimentos.

Los frutos son consumidos por su valor nutricional y terapéutico, y juegan un rol importante en la economía de los países porque son reconocidos por el contenido de vitaminas y minerales que aportan a la dieta humana, además contienen metabolitos secundarios que se relacionan directamente con la actividad antioxidante.

El organismo humano cuenta con sistemas antioxidantes endógenos y exógenos, estos últimos provienen de la dieta unos son de tipo nutriente y otros no nutrientes. En la naturaleza solo los vegetales sintetizan antioxidantes, pero no todos los producen en la misma cantidad y tipo.

El propósito de este estudio es cuantificar el contenido de fenoles totales por el método Folin-Ciocalteu en diez frutos que se cultivan, cosechan y consumen en El Salvador, determinando la reducción del radical de una sustancia, por la adición de la muestra que contiene metabolitos secundarios con actividad

antioxidante evaluando esta capacidad con una metodología la cual proporciona una idea del contenido total de fenoles presentes en un fruto.

Durante los meses de enero a mayo se inició la investigación bibliográfica realizando búsquedas en el Proyecto de Flora Mesoamericana perteneciente al Jardín Botánico de Missouri, se programaron visitas a los herbarios del Museo de Historia Natural de El Salvador para determinar la ubicación geográfica de las especies, posteriormente se llevó a cabo la identificación botánica de los frutos a estudiar.

Las muestras recolectadas fueron trasladadas al Laboratorio de Investigación en Productos Naturales de la Facultad de Química y Farmacia, lugar en el que se llevó a cabo la obtención de los extractos acuosos. Durante los meses de junio a agosto, los extractos fueron sometidos al proceso de liofilización en el Laboratorio de Toxinas Marinas de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas, así fue posible realizar la cuantificación de fenoles totales presentes en cada fruto. Se procedió con la tabulación y discusión de resultados en un período comprendido de septiembre a octubre, además se realizó un estudio estadístico sobre el análisis de varianza, evaluando si existe diferencia estadísticamente significativa entre los resultados.

El presente estudio contribuyó al proyecto de investigación denominado: “Determinación de la actividad antioxidante de frutos no tradicionales de la flora salvadoreña”, que consiste en la evaluación de ciertas frutas realizando la cuantificación de fenoles totales y carotenoides y su capacidad antioxidante por el método DPPH, el cual fue impulsado por la Secretaría de Investigaciones Científicas de la Universidad de El Salvador (SIC-UES).

**CAPITULO II**  
**OBJETIVOS**

## **2.0 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo general**

Cuantificar los fenoles totales en diez frutos de especies vegetales pertenecientes a la flora salvadoreña.

### **2.2 Objetivos específicos**

- 2.2.1 Realizar la recolección e identificación botánica de cada fruto a analizar.
- 2.2.2 Determinar los fenoles totales mediante el método Folin-Ciocalteu en los diez frutos en estudio.
- 2.2.3 Establecer mediante el análisis estadístico las diferencias entre los resultados de cuantificación de fenoles totales de los diez frutos en estudio.
- 2.2.4 Aplicar el análisis de varianza para determinar si existe diferencia estadísticamente significativa entre los resultados de cuantificación de fenoles totales de las variedades pertenecientes a la especie *Spondias purpurea* y al género *Annona* del presente estudio.

**CAPITULO III**  
**MARCO TEORICO**

### 3.0 MARCO TEORICO

#### 3.1 Procesos biológicos relacionados a la actividad antioxidante.

##### 3.1.1 Oxidantes biológicos.

Un radical libre (RL) o especie reactiva de Oxígeno (ERO), es considerada aquella molécula capaz de existir de forma independiente y que en su estructura atómica presenta un electrón desapareado o impar en el orbital externo, dándole una configuración que genera una alta inestabilidad. Como consecuencia, son altamente reactivos lo que hace que tengan una vida media del orden de milisegundos, aunque varía según el tipo de radical libre.<sup>(39)</sup>

En la molécula de Oxígeno se conocen las siguientes especies reactivas:

- $O_2^-$  Anión Superóxido.
- $H_2O_2$  Peróxido de Hidrógeno.
- $OH^\cdot$  Radical Hidróxido.

Sin embargo, el  $H_2O_2$  no se considera estrictamente un radical libre, pero por su capacidad de generar el  $OH^\cdot$  en presencia de metales se considera como tal.

Todos los seres vivos que utilizan  $O_2$  para liberación de energía generan RL. A bajas concentraciones los radicales libres son necesarios para el buen funcionamiento celular, pudiendo actuar como segundos mensajeros estimulando la proliferación celular y/o actuando como mediadores para la activación de las células. Sin embargo, un exceso de los mismos puede acumularse hasta niveles tóxicos dando como resultado la producción de diversas acciones sobre el metabolismo de los principios inmediatos, que pueden ser origen del daño celular.<sup>(3)</sup>

La capacidad que tenga cada radical libre para actuar como agente oxidante está determinada por factores como su reactividad, especificidad, selectividad y difusibilidad. Los RL son responsables del daño oxidativo de macromoléculas biológicas como el ADN, 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. También están implicados en procesos fisiológicos como el envejecimiento, el daño causado por el ejercicio físico agotador, entre otros.

### **3.1.2 Antioxidantes**

Desde el punto de vista biológico un antioxidante es cualquier sustancia que al presentarse en menor concentración comparada a la de aquellos sustratos oxidables, disminuyen o previenen significativamente la oxidación de dicho sustrato. Un antioxidante puede ser considerado como cualquier molécula que retarde o prevenga la acción de los agentes oxidantes.<sup>(33)</sup>

Los antioxidantes ayudan a prevenir la degradación de biomoléculas como proteínas, lípidos de membrana, carbohidratos y ácidos nucleicos, así como el ataque de los radicales libres sobre dichas moléculas biológicas. Los radicales libres son compuestos con un electrón desapareado que puede ser especialmente destructivo en las áreas electrónicamente densas de la célula, como el ADN y la membrana celular.<sup>(48)</sup>

Un radical libre es considerado como un agente oxidante, y se genera cuando una molécula pierde un electrón, quedando de esta manera con un electrón desapareado, lo cual provoca inestabilidad en la molécula o átomo esta molécula tratará de estabilizarse de nuevo buscando un electrón. La formación de radicales

libres en los sistemas humanos es muy problemático, debido a que muchas moléculas de nuestro cuerpo participan en las funciones fisiológicas normales del organismo. Muchas de las moléculas que se encuentran en contacto con los radicales libres terminan siendo destruidas o dañadas.<sup>(14)</sup>

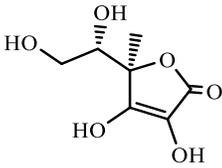
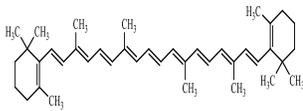
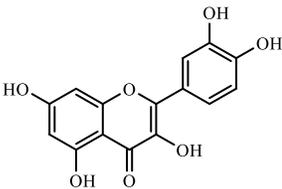
Los agentes antioxidantes suministran preferentemente el átomo de hidrógeno necesario al radical libre para restablecer su estructura electrónica, durante el proceso, el antioxidante extrae la energía que de otra forma estaría disponible para la formación de un nuevo radical libre, lo que perpetuaría una reacción en cadena.

Los compuestos antioxidantes encontrados en frutas y verduras, como la vitamina C, los carotenoides y compuestos fenólicos, son químicamente diversos y se encuentran en diferentes tejidos de plantas y células; pueden diferir en tamaño, solubilidad y susceptibilidad a la oxidación. De igual manera, también poseen un mecanismo de acción diferente para lograr su efecto antioxidante dentro del organismo.<sup>(28)</sup>

Los antioxidantes pueden actuar de diferentes maneras: previniendo la formación de ERO, interceptando el ataque de ERO, secuestrando los metabolitos reactivos y convirtiéndolos en moléculas menos reactivas, facilitando la reparación del daño causado por ERO, manteniendo un ambiente favorable para la actuación de otros antioxidantes y amplificando la resistencia de las dianas biológicas sensibles al ataque de ERO.

Como puede observarse en la Tabla N°1, las propiedades antioxidantes de la vitamina C, los carotenoides y compuestos fenólicos, resultan de sus propias estructuras con abundancia en electrones, en forma de dobles enlaces o grupos hidroxilos.<sup>(28)</sup>

Tabla N°1. Sitios y mecanismos de acción de algunas antioxidantes.<sup>(28)</sup>

Grupo anti-oxidante	Estructura representativa	Mecanismo antioxidante	Sitios de acción
Vitamina C		Donación directa de electrones. Reducción enzimática. Neutralizando especies reactivas de oxígeno.	Grupos OH vecinales.
Carotenoides		Donación de electrones. Neutralización de especies reactivas de oxígeno.	Dobles enlaces conjugados.
Compuestos Fenólicos		Donación de electrones. Quelación de iones metálicos. Ahorro de Ácido ascórbico. Neutralización de especies reactivas de oxígeno.	Grupos OH vecinales. Dobles enlaces conjugados.

### 3.1.3 Estrés oxidativo

Se conoce como estrés oxidativo a los efectos morbosos debidos al desequilibrio entre la acción de agentes oxidantes sobre las células y la respuesta antioxidante de estas. El estrés oxidativo se define como una situación en la que existe tanto un aumento en la velocidad de generación de especies reactivas del Oxígeno como una disminución de los sistemas de defensa, lo que resulta en una mayor concentración, en estado estacionario, de ERO. Es en esta situación de estrés oxidativo en la que se manifiestan las lesiones que producen los radicales libres.

Las especies reactivas de Oxígeno reaccionan químicamente con lípidos, proteínas, carbohidratos y ADN al interior de las células y con ciertos componentes de la matriz extracelular, por lo que pueden desencadenar un daño irreversible que, si es muy extenso, puede llevar incluso a la muerte celular.

Entre los radicales libres, por su importancia, están algunas especies reactivas de oxígeno (ERO) y los lipoperóxidos o peróxidos lipídicos.

Las ERO con alto potencial reactivo oxidante son: el anión súper óxido ( $O^{2-}$ ), el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) y el radical hidroxilo ( $OH\bullet$ ). Por su parte, los lipoperóxidos ( $R-COO\bullet$ ) son moléculas de ácidos grasos en las que el grupo hidroxilo de la formación carboxilo se halla en un estado de singulete activado, confiriéndole propiedades de radical libre.<sup>(8)</sup>

El mecanismo oxidante de los radicales libres está íntimamente ligado a su génesis, la cual sigue una secuencia de reacciones en cadena. En estas reacciones, una molécula previamente alterada (con un electrón sin aparear), y por tanto muy reactiva, es capaz de reaccionar con otra molécula no reactiva, induciendo en esta última la formación de un radical libre listo para iniciar un nuevo ataque nucleofílico, y así de manera sucesiva. La cadena de reacciones terminaría si, en medio de la aleatoriedad del evento, se encontrasen dos moléculas altamente reactivas, anulándose la potencialidad nucleofílica del ataque.

Los lipoperóxidos se originan, a su vez, a partir del ataque de radicales libres de ERO a las biomembranas, en un proceso morboso conocido como peroxidación lipídica, el cual es también responsable del deterioro progresivo que sufren los alimentos cuando se produce la rancidez de las grasas.

Los efectos deletéreos se inician por los radicales libres ( $ROO\bullet$ ,  $RO\bullet$ ,  $HO\bullet$ ) producidos durante la formación de peróxidos a partir de ácidos grasos (radicales peroxilo) que contienen enlaces dobles interrumpidos entre grupos metilenos, es decir, los presentes en los ácidos grasos poliinsaturados que se encuentran tanto en membranas biológicas como en los alimentos.

La agresión de estas especies reactivas (tanto las del Oxígeno como los lipoperóxidos) en las biomembranas constituye la esencia del daño en el estrés oxidativo, porque desestabiliza la estructura y función de la célula y sus organelos, debido a que puede constituir causa, en unos casos, y consecuencia en otros de la activación de señalizaciones para la autodestrucción de membranas y muerte celular (apoptosis).<sup>(8)</sup>

### **3.2 Sistema de defensa antioxidante del organismo.**

Los organismos aerobios disponen de una batería de defensas antioxidantes para protegerse frente a la producción de radicales libres. Un antioxidante puede definirse como cualquier sustancia que, presente a bajas concentraciones comparadas con las del sustrato, retrasa significativamente o previene la oxidación de dicho sustrato. El término “sustrato oxidable” incluye todo tipo de biomoléculas: glúcidos, lípidos, proteínas y ADN.<sup>(37)</sup>

Esencialmente las defensas antioxidantes se dividen en dos grandes grupos: enzimáticos y no enzimáticos.

- Los procesos enzimáticos, están presentes en el organismo de los seres vivos y protegen frente a los radicales libres producidos durante el metabolismo, dentro de estos, existen 3 principales:
  - Superóxido dismutasa (SOD), cataliza la dismutación de superóxido en oxígeno y peróxido de hidrógeno. Debido a esto es una importante defensa antioxidante en la mayoría de las células expuestas al oxígeno.
  - Catalasa (CAT), es una enzima que cataliza la descomposición del peróxido de hidrógeno en agua.

- Glutación Peroxidasa (GPX), que también contribuye a la eliminación de peróxido de hidrógeno, pero a diferencia de la CAT que usa el peróxido de hidrógeno como dador de electrones, utiliza el glutati6n reducido. Tiene como principal funci6n proteger al organismo del efecto degradante de los hidroper6xidos de forma end6gena.
- Los procesos no enzimáticos, est6n presentes en la dieta ingerida por los seres vivos, sobre todo en las frutas y verduras. Su principal característica es que son sustancias capaces de neutralizar un 6nico radical libre por mol6cula y solo actúan a concentraciones elevadas.<sup>(37)</sup>

Debido a que las defensas antioxidantes end6genas son inadecuadas para prevenir el daño por completo, se han realizado diferentes esfuerzos para aumentar el uso de antioxidantes naturales provenientes de la alimentaci6n del ser humano, presentes en frutas y verduras. Por ejemplo, en este contexto, los antioxidantes naturales como los flavonoides est6n demostrando ser inhibidores eficientes del proceso oxidativo y parecen ser una mejor opci6n terap6utica que los tradicionales (vitaminas C y E, y  $\beta$ -caroteno) en varios modelos de envejecimiento y lesiones *in vitro* e *in vivo*.<sup>(22)</sup>

### **3.3 Metabolitos secundarios con actividad antioxidantes.**

#### **3.3.1 Fenoles**

Los fenoles son un gran grupo de compuestos presentes en la naturaleza que poseen anillos aromáticos con sustituyentes hidroxilos. Estos compuestos son en su mayoría potentes antioxidantes por su estructura química (donador de H<sup>+</sup> o electrones) necesarios para el funcionamiento de las células vegetales los cuales se encuentran en frutas y verduras, por ejemplo, manzanas y cebollas, y en bebidas como té y vino.

Los fenoles son importantes para la fisiología de las plantas pues contribuyen a la resistencia de microorganismos e insectos y ayudan a preservar su integridad por su continua exposición a estresantes ambientales, incluyendo radiaciones ultravioletas y relativamente altas temperaturas. Cantidades significativas de sustancias fenólicas activas están presentes en la dieta humana.

El conocimiento de la biodisponibilidad y los niveles sanguíneos e hísticos de fenoles es importante en la extrapolación de estudios en líneas celulares a modelos animales y humanos. Hoy se reconoce que una fracción de los fenoles es capturada por las células de la mucosa del sistema alimentario proximal, y ellos o sus metabolitos son detectados en el plasma a concentraciones micromolares varias horas después de su administración por vía oral y pueden estar envueltos directamente en las defensas antioxidantes *in vivo*.

Estos compuestos están distribuidos en todo el reino vegetal, siendo la forma más frecuente de encontrarlos en la naturaleza conjugados con uno o más residuos de azúcar unidos a los grupos hidroxilo, aunque en algunos casos se pueden producir uniones directas entre una molécula de azúcar y un carbono aromático.<sup>(25)</sup>

La presencia de fenoles en las plantas es muy variada, dependiendo de la especie vegetal, variedad, parte de la planta considerada, condiciones agroclimáticas del cultivo, así como aspectos tecnológicos relacionados con el procesado y conservación de productos que los contienen.

La principal razón que ha hecho que el estudio de los compuestos fenólicos haya sido objeto de numerosas investigaciones en los últimos años es su contribución a la mejora de la salud. En los últimos años se han acumulado evidencias que algunos compuestos fenólicos ingeridos con la dieta habitual pueden tener

implicaciones sobre la salud humana, concretamente en la reducción de enfermedades cardiovasculares y de algunos tipos de cáncer. De hecho, desde 1990, organizaciones como la OMS recomiendan un consumo diario de compuestos antioxidantes, principalmente a través de las frutas y verduras, con el fin de prevenir o atenuar patologías asociadas al estrés oxidativo célula.<sup>(55)</sup>

Una gran proporción de los fenoles probablemente no son absorbidos a nivel de la luz intestinal pero bien ellos o sus productos de degradación bacteriana se concentran a nivel del íleon o del intestino grueso donde pueden ejercer interacciones beneficiosas con las células de la mucosa del intestino distal, pues aunque los fenoles no tienen una función conocida en la nutrición, muchos de ellos tienen propiedades antioxidantes, antimutagénicas, anticarcinogénicas y antiinflamatorias, que resultan útiles en la prevención de enfermedades y en la protección del genoma, particularmente para las células epiteliales intestinales, unos de los tejidos más proliferativos del cuerpo humano.<sup>(60)</sup>

Otra característica de los fenoles o compuestos fenólicos es que muchos son clasificados como metabolitos secundarios de las plantas, aquellos productos biosintetizados en las plantas que poseen la característica biológica de ser productos secundarios de su metabolismo. En general, los fenoles son sintetizados por una de dos vías biosintéticas: la ruta del ácido shikímico o la vía del ácido mevalónico (o por las dos, por ejemplo, los flavonoides).

Algunos fenoles pueden ser solubles en solventes orgánicos, otros son glucósidos o ácidos carboxílicos y por lo tanto son solubles en agua, y otros son polímeros muy grandes e insolubles.

Este grupo también juega una variedad muy heterogénea de roles en las plantas, los cuales son atribuidos en general a los productos secundarios de las plantas:

muchos son productos de defensa ante herbívoros y patógenos, otros pueden proveer soporte mecánico a la planta, otros actúan atrayendo polinizadores o dispersores de frutos, algunos de ellos absorben la radiación ultravioleta, o actúan como agentes alelopáticos.

Los compuestos fenólicos de las plantas son sintetizados por muchas vías distintas y por lo tanto también son un grupo heterogéneo desde el punto de vista metabólico, pero dos vías básicas están involucradas: la vía del ácido shikímico y la vía del ácido mevalónico.

La ruta del ácido shikímico participa en la biosíntesis de la mayoría de los fenoles de las plantas superiores. Uno de los productos de esta vía es la fenilalanina, de la que se deriva la mayoría de los fenoles. La fenilalanina, es un aminoácido esencial que es parte del metabolismo primario de las plantas y animales, entra al metabolismo secundario cuando la enzima fenilalanina amonio liasa (PAL) cataliza la eliminación de un amonio convirtiendo a la fenilalanina en ácido cinámico.

La vía del ácido mevalónico es una importante fuente de fenoles en bacterias y hongos, y en las plantas superiores existe, aunque no es tan utilizada como en aquellos. Su sustrato es el acetil coenzima A, que junto con la vía del ácido shikímico participa en la biosíntesis de los flavonoides, la lignina y otros compuestos fenólicos.

Existen diversas formas de clasificación de este tipo de compuestos, una de las formas más comúnmente utilizadas se basa en el número de carbonos que posee el compuesto. Los compuestos fenólicos también pueden ser clasificados en función del número de grupos fenólicos que poseen. A continuación, se muestra un ejemplo de clasificación enunciada por Harborne (Tabla N°2).

Tabla N°2. Clasificación de los compuestos fenólicos.

Átomos de carbono	Esqueleto	Clase
6	C <sub>6</sub>	Fenoles simples y Benzoquinonas
7	C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub>	Ácidos fenólicos
9	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub>	Ácido hidroxicinámico, cromonas, cumarinas, isocumarinas y polipropenos
10	C <sub>6</sub> -C <sub>4</sub>	Naftoquinonas
13	C <sub>6</sub> -C <sub>1</sub> -C <sub>6</sub>	Xantonas
14	C <sub>6</sub> -C <sub>2</sub> -C <sub>6</sub>	Estilbenos y Antraquinonas
15	C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub>	Flavonoides e Isoflavonoides
n	(C <sub>6</sub> ) <sub>n</sub>	Catecolmelaninas
	(C <sub>6</sub> -C <sub>3</sub> -C <sub>6</sub> ) <sub>n</sub>	Taninos condensados

A continuación, se detalla una descripción breve de los principales tipos de compuestos fenólicos para comprender sus características y funciones principales.

### 3.3.1.1 Fenoles simples

Los fenoles vegetales abarcan una amplia gama de metabolitos secundarios que se sintetizan a partir de carbohidratos a través de la vía del shikimato. Esta es la ruta biosintética a los aminoácidos aromáticos y es exclusivo para microorganismos y plantas. Por lo tanto, los compuestos fenólicos se encuentran en todas las frutas y verduras en prácticamente todas las partes de la planta, pero con distribución cuantitativa que varían entre los diferentes tejidos de la planta y dentro de diferentes poblaciones de la misma especie, además es sabido, que en la mayoría de las ocasiones se encuentran en mayor cantidad en los frutos maduros de ciertas especies. El componente fenólico de las plantas constituye una mezcla compleja, y solo un pequeño número de plantas han sido examinadas sistemáticamente para su contenido fenólico.<sup>(49)</sup>

Para comprender la estructura química de los compuestos fenólicos se inicia reconociendo la estructura química base de un fenol (Figura N°1), el fenol se compone de un anillo aromático (fenil) unido a un grupo hidroxilo (OH). La presencia del anillo aromático hace que los ácidos débiles, generen un efecto inductivo en el hidrógeno del grupo hidroxilo. El anillo aromático juega un papel importante en las propiedades antioxidantes.<sup>(42)</sup>

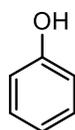


Figura N°1. Estructura química de un fenol.

Los fenoles simples, son compuestos que tienen dos grupos hidroxilo en las posiciones 1,2, 1,3 o 1,4 o tres grupos hidroxilo en las posiciones 1,3,5 o 1,2,3 en el anillo aromático, tal como se observa en la Figura N°2.

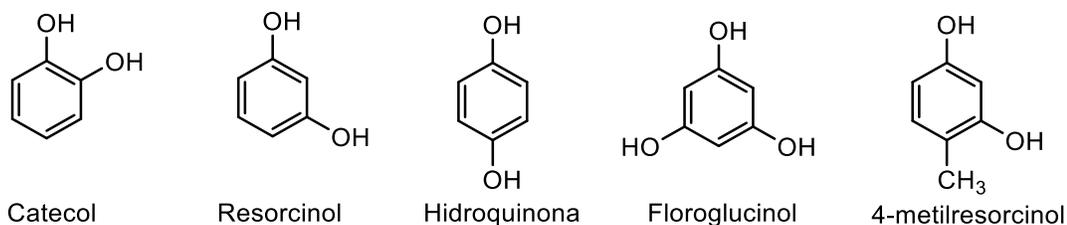


Figura N°2. Estructuras químicas de compuestos fenólicos simples.

### 3.3.1.2 Benzoquinonas.

Las benzoquinonas provienen de la reducción de las quinonas, las cuales son dicetonas insaturadas que por reducción se convierten en fenoles, que a su vez fácilmente se regeneran por oxidación como se muestran en la Figura N°3. Las benzoquinonas provienen de la ruta del acetato.

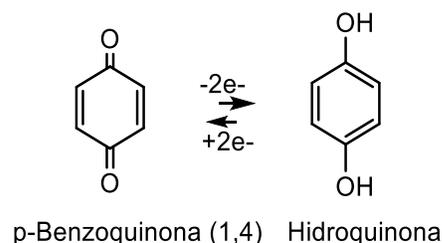


Figura N°3. Oxidación y reducción de benzoquinonas.

Las benzoquinonas son pigmentos de color amarillo que con frecuencia se encuentran en los hongos, los artrópodos y en las plantas superiores. Otro grupo de benzoquinonas son los metabolitos elaborados por los hongos, como la espinulosina, el ácido polipóricos, la fumigatina. Las plantas superiores también producen pigmentos benzoquinónicos, por ejemplo: la embelina, cartamina, primina, perezona.

Las benzoquinonas son ampliamente utilizadas como agentes oxidantes y poseen potencial anticancerígeno.<sup>(52)</sup>

### 3.3.1.3 Ácidos fenólicos.

Los ácidos fenólicos son metabolitos secundarios ampliamente distribuidos en el reino vegetal, se clasifican en ácidos hidroxibenzoicos y ácidos hidroxicinámicos.<sup>(50; 57)</sup> Una de las principales propiedades biológicas de estos compuestos es su alta actividad antioxidante, que se debe a su estructura química, que contiene un núcleo fenólico y una cadena lateral insaturada que les permite formar un radical fenoxilo estabilizado por resonancia, el cual tiene actividad como agente secuestrador de radicales libres.<sup>(1; 55)</sup> Por lo que los ácidos fenólicos están relacionados con la protección del ADN y los lípidos de la membrana celular contra las especies reactivas de oxígeno, sugiriéndose su uso como agentes preventivos de enfermedades ligadas al estrés oxidativo.<sup>(29; 67)</sup>

### 3.3.1.5 Ácido hidroxicinámico.

Formados básicamente por un anillo aromático, un grupo alifático y un ácido carboxílico en el extremo. Son denominados hidroxicinámicos por la sustitución del grupo -OH en el anillo aromático y son agentes oxidantes (Figura N°4).

Los ácidos hidroxicinámicos constituyen un amplio grupo de sustancias químicas, dentro de sus principales funciones en las células vegetales están las de actuar como metabolito para el crecimiento y reproducción de las plantas, además participan como agentes protectores frente a la acción de patógenos como parte de su mecanismo de defensa, además presentan propiedades de gran beneficio para el humano como actividades anticancerígenas, antiinflamatorias y antioxidantes.

La distribución de los ácidos hidroxicinámicos en los tejidos y células vegetales varían considerablemente situándose en el interior de las células principalmente contenidos en la pared celular, los cuales están ligados a ella por unión tipo éster, tal es el caso del ácido ferúlico y ácido p-cumárico que han sido encontrados en la pared celular de muchas especies de plantas. Sin embargo, existen reportes que demuestran que estos compuestos fenólicos se encuentran de manera libre en numerosas plantas y subproductos agroindustriales en cantidades significantes, principalmente el ácido cafeico y el p-cumárico.<sup>(21)</sup>

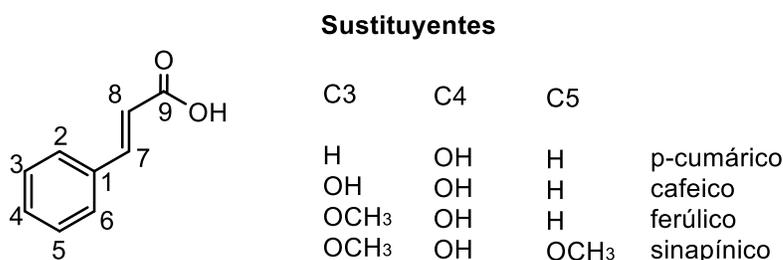


Figura N°4. Ácidos hidroxicinámicos de mayor recurrencia en la naturaleza.

### 3.3.1.5 Cromonas

Las cromonas son una clase de compuestos químicos caracterizados por la su estructura 1,4 benzopirona (Figura N°5). Es un derivado de benzopirano sustituido con un grupo cetona en el anillo de pirano.

Como drogas usadas en medicina clínica son clasificados como estabilizadores de mastocitos: su principal actividad es evitar la liberación de mediadores inflamatorios de los mastocitos.<sup>(16)</sup>

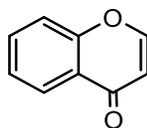


Figura N°5. Estructura química de una cromona.

### 3.3.1.6 Cumarinas

Las cumarinas conocidas también como benzopironas, son una familia de compuestos de origen natural y sintético que han suscitado desde mucho tiempo un gran interés debido a sus posibles aplicaciones biológicas. En las plantas se pueden encontrar en general en las raíces, las hojas, los frutos y las flores. Estructuralmente son lactonas del ácido o-hidróxi-cinámico (2H-1-benzopiran-2-onas) siendo el representante más simple de la cumarina (Figura N°6).

Las cumarinas se encuentran distribuidas predominantemente en angiospermas, siendo las estructuras más simples y encontradas. Las familias más citadas en la literatura por el contenido de cumarinas son: Asteraceae, Rutaceae, Thymeleaceae, Apiaceae, Oleaceae, Moraceae y Fabaceae. Las cumarinas pueden ser encontradas en todas las partes de una planta frecuentemente como mezclas.

Debido a la gran variedad estructural de estas moléculas son muchas las propiedades farmacológicas asociadas a dicho anillo, entre estas se encuentran: actividades antimicrobianas, antiinflamatorias, antiespasmódicas, antivirales, antihelmínticas, antioxidantes, o inhibidoras enzimáticas. Existen además derivados tricíclicos o tetracíclicos de cumarinas que se comportan como intercalantes del ADN y, por tanto, tienen interés como antitumorales o bien como agentes fotoquimioterápicos en el tratamiento del psoriasis.<sup>(54)</sup>

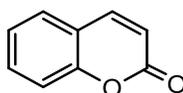


Figura N°6. Estructura química de una cumarina.

### 3.3.1.7 Isocumarinas.

Compuestos que difieren de las Cumarinas en las posiciones invertidas de los oxígenos del anillo y de la cetona, de tal forma que el Oxígeno cetónico se encuentra en la posición 1 de la molécula (Figura N°7). Se conocen pocos ejemplos de esta clase. Son estables en medio ácido, pero con álcali se abre el anillo lactónico.

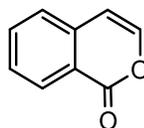


Figura N°7. Estructura química de una isocumarina.

### 3.3.1.8 Naftoquinonas.

Las naftoquinonas son pigmentos naturales, que tienen como característica estructural poseer dos grupos carbonilo en las posiciones 1,4 y con menor

frecuencia en 1,2 ó 1,3 en el anillo del naftaleno, de donde deriva su nombre común (Figura N°8). En la naturaleza se presentan con grupos hidroxilo y/o metilo como sustituyentes, además de encontrarse en forma libre o condensada con diversos monosacáridos. La distribución de las naftoquinonas es amplia, ya que se han aislado de plantas, hongos, bacterias, e inclusive de animales. Sin embargo, se encuentran en mayor proporción en plantas superiores de determinadas familias de Angiospermas como: Ebenaceae, Droseraceae, Bignoniaceae, Verbenaceae, Plumbaginaceae, Juglandaceae, etc.

Además de las propiedades tintóreas de las naftoquinonas y sus derivados, se han descrito importantes actividades biológicas destacándolas como agentes antiparasitarios, antibacterianos, antifúngicos y anticancerígenos. Debido a lo anteriormente señalado, las naftoquinonas han sido sujeto de estudio por diversos grupos de investigación.<sup>(32)</sup>

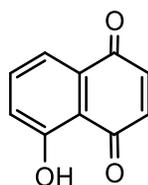


Figura N°8. Estructura química de una naftoquinona.

### 3.3.1.9 Xantonas

Las xantonas son pigmentos amarillos de origen fenólico restringidas a pocas familias de plantas superiores y algunos hongos y líquenes. Son una clase de compuestos activos biológicamente que poseen numerosas propiedades antioxidantes.

Las xantonas, están muy relacionadas con la biosíntesis de los flavonoides por ser compuestos fenólicos (Figura N°9).

Químicamente hablando, son moléculas planas de 6 carbonos conjugadas en un sistema de anillos de varios sustituyentes en ellos. El esqueleto de las xantonas consiste en dos anillos de benceno unidos por un grupo carbonilo y oxígeno. Cada anillo está fusionado de manera que no es posible su rotación. Este único esqueleto junto con el tipo y posición del sustituyente químico definen las propiedades específicas de las xantonas.

Las xantonas poseen un número grande de aplicaciones farmacológicas y bioactividades, que han sido utilizados como agentes protectores cardiovasculares y, además, promotores antitumorales.

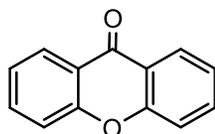


Figura N°9. Estructura química de una xantona.

### 3.3.1.10 Estilbenos y antraquinonas

El estilbeno es un hidrocarburo aromático, de fórmula  $C_{14}H_{12}$ , (Figura N°10) del que existen dos formas isómeras: el trans-1,2-difeniletieno (E-estilbeno) y el cis-1,2-difeniletieno (Z-estilbeno). Con el mismo término de “estilbenos” se designan también a los derivados hidroxilo y alcoxi del estilbeno simple, así como sus formas heterósido (glicósido) y polímeros. A esta familia pertenecen los fenoles naturales presentes en muchas familias de plantas superiores.

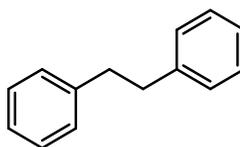


Figura N°10. Estructura química de un estilbeno.

Las antraquinonas, son la clase más grande de quinonas naturales. Estas tienen el sistema tricíclico del antraceno, sin embargo, poseen el anillo central oxidado como se muestra en la Figura N°11, lo cual permite diferenciar los distintos tipos de derivados antracénicos. Otra característica importante de las antraquinonas es que poseen en las posiciones 1 y 8 siempre un OH.

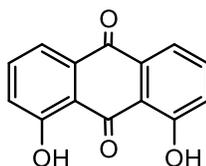


Figura N°11. Estructura química de una antraquinona.

Por lo general, en las plantas, se encuentran unidos a moléculas de azúcar y sus núcleos tienen sustituyentes en diferentes posiciones. Las formas libres, en la mayoría de las ocasiones son sólidos coloreados en tonos amarillos, anaranjados y rojizos. Se caracterizan por tener poder laxante, efecto colagogo, hidragogo, antimicrobiano, anticancerígeno y antiparasitario.

### 3.3.1.11 Taninos condensados

Los taninos son compuestos hidrosolubles con estructura fenólica, capaces de precipitar ciertas macromoléculas (proteínas, alcaloides, celulosa y gelatina). Esta capacidad para precipitarlas es la base de sus propiedades principales: su capacidad de curtir la piel y su poder astringente. Pueden clasificarse en taninos condensados y taninos hidrolizables.

Las moléculas de los taninos condensados son más resistentes a la ruptura que los taninos hidrolizables y parecen ser intermediarios en su biosíntesis las catequinas y los flavan-3,4-dioles, relacionados con los pigmentos flavonoides.

Se encuentran distribuidos en las dicotiledóneas y pueden sufrir hidrólisis ácida liberando el azúcar y el ácido gálico o elálgico.

### 3.3.1.12 Flavonoides e isoflavonoides.

Los flavonoides son un gran grupo de productos naturales que están muy extendidos en plantas superiores, pero también se encuentran en algunas plantas inferiores, incluidas las algas. Los flavonoides se dividen en dos categorías principales según si el anillo heterocíclico es insaturado o no. Cuando la insaturación está presente, como en las antocianinas, flavonas y flavonoles, la molécula es plana. Los flavonoides saturados, es decir los flavanones y flavanos tienen uno o más centros quirales.<sup>(51)</sup>

La actividad de los flavonoides como antioxidantes depende de las propiedades de reducción y oxidación de sus grupos hidroxifenólicos y de la relación estructural entre las diferentes partes de la estructura química. Esta estructura básica permite una multitud de patrones de sustitución y variaciones en el anillo C como se muestra en la Figura N°12.

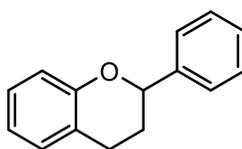


Figura N°12. Estructura química de un flavonoide.

En función de sus características estructurales, los flavonoides se pueden clasificar en:

- Flvanos, como la catequina, con un grupo -OH en posición 3 del anillo C.

- Flavonoles, representados por la quercitina, que posee un grupo carbonilo en posición 4 y un grupo -OH en posición 3 del anillo C.
- Flavonas, como la diosmetina, que poseen un grupo carbonilo en posición 4 del anillo C y carecen del grupo hidroxilo en posición C<sub>3</sub>.
- Antocianinas o 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.

Los flavonoides se encuentran en frutas, verduras, semillas y flores, así como en cerveza, vino, té verde, té negro y soja, los cuales son consumidos en la dieta humana de forma habitual y también pueden utilizarse en forma de suplementos nutricionales, junto con ciertas vitaminas y minerales. Poseen muchas propiedades, entre las principales tenemos aquellos que les confieren actividad antiinflamatoria, antimicrobiana, antitrombótica, antialérgica, antitumorales, anticancerígena y antioxidante. De esta última, principalmente, radica su función en el sistema nervioso, pues se ha visto relación de protección en enfermedades neurodegenerativas.<sup>(5)</sup>

Las antocianinas pertenecen a un gran y muy distribuido grupo de metabolitos secundarios, que se conocen colectivamente como flavonoides. Las antocianinas naturales más comunes son las 3-O-glicosidos y las 3,5 di-O-glicósidos.

Las antocianinas son los componentes que otorgan a las plantas colores rojos, azules, morados, particularmente en partes como frutos, flores y hojas. Estos pigmentos fueron consumidos por los hombres a lo largo de incontables generaciones sin causar aparentemente ningún efecto tóxico.

El interés por las antocianinas se ha incrementado debido a su potencial uso como colorantes naturales y por sus potenciales beneficios en la salud.

Últimamente, la seguridad de los pigmentos sintéticos ha sido cuestionada, conduciendo a la reducción en el número de colorantes permitidos.

Las antocianinas son pigmentos solubles en agua, lo que facilita su incorporación en los sistemas acuosos alimentarios, estas cualidades hacen que estos colorantes naturales sean atractivos como pigmentos naturales inocuos con considerable potencial en la industria alimentaria de productos con un rango de pH ácido.

Además de su color, se ha reportado que las antocianinas tienen beneficios para la salud como potentes antioxidantes y pueden incrementar la agudeza visual. Se ha observado también que poseen actividad antineoplásica, vasotónica, vasoprotectora, antiinflamatoria y hepatoprotectoras.<sup>(9)</sup>

Los isoflavonoides se basan en el esqueleto 3-fenilcromano que es biogénicamente derivado por una migración de arilo de un precursor de flavanona. Ellos tienen una muy distribución limitada en el reino vegetal y están casi totalmente restringidos a la subfamilia Papilionoideacea de las leguminosas.

Se encuentran muy ocasionalmente en alrededor de 18 familias de angiospermas y hay casos aislados en musgos y gimnospermas. La clase más grande de isoflavonoides son las isoflavonas. Hay estructuras simples como la Genisteina, pero también una gran cantidad de derivados prenilados.<sup>(51)</sup>

### **3.3.2 Carotenoides**

Los carotenoides son pigmentos liposolubles que se encuentran distribuidos ampliamente en la naturaleza y están conformados por moléculas orgánicas. Son considerados compuestos indispensables para la vida, fundamentalmente debido

a las funciones que llevan a cabo en relación con la fotosíntesis (captación de luz, foto protección).

Generalmente, los carotenoides correspondientes a los alimentos son los C<sub>40</sub> terpenoides con 8 unidades de isopreno, con uniones de cola y cabeza en la parte exterior y cola-cola en la parte interna. En el centro de estos compuestos se encuentran un gran número de enlaces dobles que constituyen el cromóforo, el cual les da la propiedad de absorber la luz y determinar la estructura molecular y actividad química. Debido a esta característica estructural, los carotenoides son conocidos por poseer propiedades de atrapamiento de radicales libres, lo que consecuentemente los hace sensibles al oxígeno, luz y calor.

Todos los carotenoides son derivados del licopeno, el primero que se biosintetiza; a partir de éste y por reacciones de ciclación se obtienen los demás pigmentos. Para el ser humano, estos pigmentos tienen aplicaciones importantes en la industria alimentaria y a nivel de salud. Son ampliamente utilizados como colorantes para alimentos, obteniéndose colores amarillo, anaranjado y rojo. A nivel de salud, por ejemplo, el  $\alpha$  y  $\beta$ -caroteno se utilizan como fuente de vitamina A, además ayudan a prevenir enfermedades cardíacas e inclusive el cáncer.

Entre las actividades biológicas que se les atribuyen a los carotenoides se encuentran su acción antioxidante, diferenciación celular, comunicación intercelular, inhibición de mutagénesis e intervención en la respuesta inmune.<sup>(11)</sup>

### **3.4 Cuantificación de fenoles totales.**

Entre las mediciones realizadas en estudios de química ecológica, la determinación del contenido total de compuestos fenólicos ocupa un lugar preponderante. Las técnicas empleadas permiten cuantificar el contenido de

hidroxilos fenólicos presentes en el material a analizar (extractos), independientemente de la naturaleza de cada componente presente.

En la actualidad, la cuantificación de los fenoles totales es llevada a cabo mediante dos técnicas: el método de Folin-Ciocalteu (el más empleado) y el método de Price y Butler. Ambos métodos se fundamentan en reacciones de óxido reducción.<sup>(2)</sup>

El método de Folin-Ciocalteu se basa en la capacidad de los fenoles para reaccionar con agentes oxidantes. El reactivo de Folin-Ciocalteu contiene molibdato y tungstato sódico, que reaccionan con cualquier tipo de fenol, formando complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico. La transferencia de electrones a pH básico reduce los complejos fosfomolibdico-fosfotúngstico en óxidos, cromógenos de color azul intenso, de tungsteno ( $W_8O_{23}$ ) y molibdeno ( $Mo_8O_{23}$ ), siendo proporcional este color al número de grupos hidroxilo de la molécula.<sup>(24)</sup>

En el método de Price y Butler, también el ión fenolato es oxidado mientras que el ion férrico ( $Fe^{3+}$ ) es reducido a ión ferroso ( $Fe^{2+}$ ) que se detecta mediante la formación de un complejo azul con el reactivo ferrocianuro de potasio. El complejo formado de fórmula  $Fe_4[Fe(CN)_6]_3$  se conoce con el nombre de azul de Prusia.<sup>(2)</sup>

### **3.5 Proceso de liofilización.**

La liofilización es un proceso de conservación mediante sublimación, utilizado con el fin de reducir las pérdidas de los componentes volátiles o termosensibles. Es el más noble proceso de conservación de productos biológicos conocidos, porque aúna los dos métodos más fiables de conservación: la congelación y la

deshidratación. Sin conservantes o productos químicos, es el proceso más adecuado para preservar células, enzimas, vacunas, virus, levaduras, sueros, derivados sanguíneos, algas, así como frutas, vegetales, carnes, peces y alimentos en general. En este proceso de secado los productos obtenidos no se ven alterados en sus propiedades y se rehidratan fácilmente.

La liofilización no altera la estructura fisicoquímica del material, pero permite su conservación indefinida sin cadena de frío, con menos del 15% de humedad y alta estabilidad microbiológica. A diferencia de lo que ocurre en el secado por calor, con la liofilización en alimentos el congelamiento es mínimo, el aspecto, la textura y el sabor y el aroma no se pierden, se intensifican y se mantienen las características nutricionales. Es ideal para conservar productos alimenticios, farmacéuticos y biológicos, que no deben calentarse ni siquiera a temperaturas elevadas.

T.A. Jennings (1993) define la liofilización como un proceso de estabilización en el cual el material primero se congela y se concentra el solvente, comúnmente el agua, reduciéndolo mediante sublimación y desorción, a niveles que nos sostendrán más el crecimiento biológico o las reacciones químicas.

Además, se define la liofilización como una forma de secado en frío, que sirve para conservar sin daño los materiales biológicos. El producto se conserva con muy bajo peso y a temperatura ambiente, manteniendo estables todas sus propiedades al rehidratarse.

La liofilización involucra varias etapas:

- Congelación (y acondicionamiento en algunos casos) a bajas temperaturas.

- Secado por sublimación del hielo (o del solvente congelado), generalmente a presiones muy bajas, existen dos etapas: etapa primaria y etapa secundaria de secado.
- Almacenamiento de producto seco en condiciones controladas.

En la liofilización, el material original está construido por un núcleo central de material congelado. A medida que el hielo se sublima, el plano de sublimación, que se inicia en la superficie exterior, penetra al interior dejando atrás una corteza porosa de material ya seco. El calor latente de sublimación del hielo procede por conducción a través de la corteza del material seco. El vapor de agua que se forma se transfiere a través de la capa de material seco. El agua congelada se sublima a menos de 0°C y a una presión de 627 Pa o menos, por lo tanto, las transferencias de calor y de masa se verifican simultáneamente. El tiempo total de secado debe ser lo suficientemente largo como para que el contenido final de humedad sea inferior al 5% en peso, y evitar así la degradación del producto final durante su almacenamiento.

Generalmente al liofilizar adecuadamente un material, se puede almacenar por períodos muy largos con reducciones muy bajas de sus características organolépticas, físicas, químicas y biológicas.<sup>(46)</sup>

### **3.6 Análisis estadístico de datos.**

#### **3.6.1 Análisis de varianza de un factor.<sup>(31)</sup>**

Con frecuencia se requiere evaluar diferencias entre varias poblaciones, a las que para este caso se asignará el nombre de “grupos”, estos grupos en ciertas ocasiones pertenecen a un factor de interés (variable independiente), los grupos se definen asignando diferentes niveles (variable dependiente) al factor, por ejemplo: Un factor como “Temperatura de secado” tendrá diferentes niveles

numéricos (40°, 39°, 43°, 41° C), por lo tanto el análisis de varianza en un sentido señalará si las medias entre dos o más grupos son similares o diferentes.

En ANOVA de un factor existen ciertas condiciones que deben cumplirse:

- Solo se relacionan dos variables: Una variable dependiente y una independiente (factor).
- La variable dependiente es cuantitativa, mientras que la variable independiente es categórica (nominal u ordinal).

#### **3.6.1.1 Prueba F para la diferencia de dos medias.**<sup>(31)</sup>

Al aplicar ANOVA de un factor, se calcula un estadístico o test denominado F y su significación. El cálculo del estadístico F es algo complejo de entender, lo que hace es dividir la variación entre los grupos por la variación dentro de los grupos, si las medias entre los grupos varían mucho y la media dentro de un grupo varía poco, es decir, los grupos son heterogéneos entre ellos y similares internamente, el valor F será más alto y, por tanto, las variables estarán relacionadas.

La Interpretación de la prueba de F se realiza de la siguiente manera:

Si el estadístico F es menor de 0.05 es que las variables están relacionadas y, por lo tanto, no hay diferencias significativas entre los grupos. Cuanto más alto sea F, más están relacionadas las variables, lo que significa que las medias de la variable dependiente difieren o varían mucho entre los grupos de la variable independiente.

Sin embargo, si en algún caso existe un valor de F mayor a 0.05, con ANOVA no se hace posible determinar cuáles medias son diferentes.

Si se desea determinar cuáles medias son significativamente diferentes de otras, se realiza utilizando el Método de Múltiples Rangos o también conocido como Método de Tukey-Kramer.

### **3.6.1.2 Comparaciones múltiples: Procedimiento Tukey-Kramer o de múltiples rangos.<sup>(31)</sup>**

Una vez se ha determinado que existe diferencia estadísticamente significativa entre los grupos, es posible determinar cuáles medias son diferentes a otras, utilizando la prueba de Múltiples Rangos.

El procedimiento de múltiples rangos o Procedimiento Tukey-Kramer permite hacer comparaciones simultáneamente entre todos los grupos. En primer lugar, se calculan las diferencias entre todas las medias, después, se calcula un rango crítico, si los tamaños de muestra difieren, se calcula un rango crítico para cada pareja comparada de medias de muestra. Por último, se compara cada una de las medias contra sus correspondientes rangos críticos. Se declara a un par como significativamente diferente, si la diferencia absoluta en las medias de muestra es mayor que el rango crítico.

Con el uso del programa “Statgraphics Centurion XVI versión 16.2.04” se vuelve mucho más fácil el manejo estadístico de los datos, lo cual es más conveniente en el caso de las investigaciones científicas donde los resultados son requeridos con prontitud. El análisis de varianza aplicado con dicho programa proporciona además de los resultados, la interpretación de las pruebas, además de sugerencias que pueden contribuir a la interpretación estadística que se realiza.

### 3.7 Generalidades de las especies en estudio

#### 3.7.1 *Licania platypus* (Hemsl.) Pittier



Figura N°13. Características de la especie *Licania platypus* “Sunza”. (Imagen propiedad del Jardín Botánico de Missouri<sup>(61)</sup>)

**Familia:** Chrysobalanaceae.

**Nombre común:** “Sunza”, “Zunzo”, “Zapote mechudo” y “Zunza” (El Salvador) “Urraco”, “Sunco” (Honduras).

**Descripción botánica:** Árbol mediano o grande, algunas veces logra una altura de 50 m, la corteza es pálida, los tallos con la corteza interna rojiza, hojas simples y alternas. Inflorescencia a lo largo y ancho de la panícula o racimo, antes de la floración proporciona temporalmente grandes brácteas púrpuras, panículas terminales, con pétalos blancos. Frutos muy largos y pesados globo- ovoide, de 15 a 20 cm de largo, 10 a 14 cm de ancho, café oscuro y algunas veces verrucoso, cubierto con blancas lenticelas (poros en la corteza), mesocarpo amarillo, jugoso, dulce, algunas veces fibroso; usualmente una semilla, ovada-oblonga, comprimida, de 6 a 6 cm de largo, y 4 a 4.5 de ancho.<sup>(20; 61)</sup>

**Distribución:** Del Sur de México al norte de Colombia. Es una especie introducida en Filipinas, Hawái y Estados Unidos (Florida).

**Fenología:** En Nicaragua, florece de marzo a diciembre y fructifica todo el año. En Guatemala, las flores se producen de marzo a diciembre y los frutos todo el año. En Costa Rica, las flores han sido observadas de enero a septiembre y los frutos en abril, julio y noviembre. En El Salvador, fructifica todo el año.

**Usos Etnobotánicos:** En Honduras es usada para tratar diarrea y disentería; también es usada para el tratamiento del dolor de estómago. La parte que utilizan es la corteza y la semilla. Tradicionalmente, en América Central se han utilizado diversas partes de la planta para ciertos problemas de salud, especialmente gastrointestinales.<sup>(41)</sup> En Tabasco, México, se utiliza para curar el “confelo”, que es una enfermedad de la mujer que ha abortado. Por otro lado, en Puebla (México), se emplea contra padecimientos gastrointestinales, tales como “soltura” (diarrea), disentería e inflamación del estómago.<sup>(7)</sup> Es una planta muy usada como ornamento.

**Composición Química:** Por el momento, no se reportan metabolitos secundarios aislados del fruto de *Licania platypus*.

**Toxicidad:** No se reportan estudios de toxicidad en ratones con extractos de esta especie, sin embargo, existe un estudio realizado con especies del género *Licania*, que muestra la actividad molusquicida: de las especies estudiadas, los extractos metanólicos de las hojas de *Licania carii*, *Licania pittieri* y *Licania pyrifolia* tienen una alta actividad tóxica hacia caracoles, sin embargo una baja toxicidad frente a peces.<sup>(10)</sup>

### 3.7.2 *Gonolobus taylorianus* W.D. Stevens & Montiel.



Figura N°14. Características de la especie *Gonolobus taylorianus* "Cuchamper".  
(Imagen propiedad del Jardín Botánico de Missouri<sup>(61)</sup>)

**Familia:** Asclepiadaceae

**Nombre común:** "Cuchamper" y "Guchamper" (El Salvador).

**Descripción botánica:** Liana, los tallos glabrescentes, con secreción lechosa (látex). Hojas simples, opuestas. Inflorescencias racimos axilares, glabras, flores pediceladas, sépalos verdes, pétalos con densos tricomas cortos y glandulares, púrpura, café o verde. Frutos alados, verdes o verde amarillento al madurar, con muchas semillas, cada una con un mechón de pelos apicales.<sup>(13)</sup>

**Distribución:** En El Salvador, se ha registrado en los departamentos de Ahuachapán, La Libertad, La Paz, San Salvador, Santa Ana y Sonsonate.

**Fenología:** En El Salvador florece de julio a septiembre y fructifica de enero a marzo.

**Usos Etnobotánicos:** No se reportan hasta el momento.<sup>(13)</sup>

**Composición Química:** No se reportan metabolitos secundarios aislados del fruto de *Gonolobus taylorianus*.

**Toxicidad:** Todas las partes de esta planta, sobre todo las semillas y el látex, son venenosas. Contiene varios alcaloides que se usan en medicina y como insecticida.<sup>(13)</sup>

### 3.7.3 *Chrysobalanus icaco* L.



Figura N°15. Características de la especie *Chrysobalanus icaco* "Icaco". (Imagen propiedad del Jardín Botánico de Missouri<sub>(61)</sub>)

**Familia:** Chrysobalanaceae

**Nombre común:** "Icaco"

**Descripción botánica:** Arbusto o árbol, 2–6 m de altura, los tallos glabros. Hojas simples, alternas, láminas de 2–8 x 1,2–6 cm, orbiculares a ovado elípticas, el ápice redondeado a emarginado, la base obtusa, el borde entero, glabras, cortamente pecioladas. Inflorescencias cimas axilares o terminales, de 2–3 cm de largo, flores pequeñas, blancas o verdosas; sépalos pubescentes. Frutos drupas de 2–5 cm de largo, ovadas a obovadas, rojas, púrpura a casi negras cuando maduran, con una semilla.<sup>(13; 61)</sup>

**Distribución:** De México y las Antillas a Brasil. También en estados Unidos (Florida) y África Occidental.

**Fenología:** Florece y fructifica durante todo el año.

**Usos Etnobotánicos:** Se ha utilizado como ornamental y para cercas vivas, mientras que la madera se puede utilizar como leña y para la fabricación de muebles. Artesanalmente, las semillas se usan para elaborar collares y las hojas para hacer un colorante negro. La semilla tiene un alto contenido de aceite, por lo que se utiliza en la elaboración de velas. Entre sus propiedades medicinales, se ha registrado como antiséptico, antiviral, vasodilatador y antidiarreico.<sup>(13)</sup>

**Composición Química:** Antocianinas, fenoles: flavonoles y flavonas; carotenoides, minerales como Sodio, Potasio, Magnesio, Calcio y Hierro. <sup>(62, 63, 64)</sup>

**Toxicidad:** No se reportan estudios sobre esta especie hasta este momento. Sin embargo, ciertas especies pertenecientes a la familia Chrysobalanaceae han demostrado poseer toxicidad a ciertos tipos de peces y humanos.<sup>(10)</sup>

### 3.7.4 *Passiflora platyloba* Killip.



Figura N°16. Características de la especie *Passiflora platyloba* "Granadilla de huesito". (Imagen propiedad del Jardín Botánico de Missouri<sub>(61)</sub>)

**Familia:** Passifloraceae

**Nombre común:** "Granadilla de huesito", "Granadilla ácida" y "Granadilla montesa".

**Descripción botánica:** Bejuco trepador con zarcillos. Hojas en forma de ala de murciélago. Flores fragantes, morados con blanco. Fruto redondo color verde, posee semillas con arilo abundante. <sup>(60)</sup>

**Distribución:** Centroamérica: Panamá, Costa Rica, Nicaragua, El Salvador y Guatemala.

**Fenología:** En El Salvador fructifica todo el año.

**Usos Etnobotánicos:** No se reportan usos para esta especie, sin embargo, existen reportes sobre especies de la familia Passifloraceae: En Brasil, cierta especie, conocida como "Maracuya" se ha utilizado como ansiolítico, sedante, diurético y analgésico. En México, la raíz ha sido utilizada como sedante y vermífugo. *Passiflora quadrangularis* Linn. "Granadilla de frescos" se utiliza en

todo el Caribe como sedante y para dolores de cabeza. La decocción de las hojas se toma para la presión arterial alta y la diabetes.<sup>(15)</sup>

**Composición Química:** Fenoles: flavonoides y flavonas. Se reportan especies de la familia Passifloraceae que contienen alcaloides, cumarinas, carotenoides, antocianinas y minerales como: Hierro, Magnesio, Sodio, Potasio y Calcio.<sup>(15)</sup>

**Toxicidad:** No se reportan estudios de toxicidad para esta especie, sin embargo, a causa de la aparición de constituyentes cianogénicos en las especies de *Passiflora*, no se puede descartar su toxicidad. Las hojas de *Passiflora edulis* ha demostrado toxicidad hepatobiliar y pancreática en animales y humanos.<sup>(15)</sup>

### 3.7.5 *Annona purpurea* Moc. & Sessé ex Dunal.



Figura N°17. Características de la especie *Annona purpurea* "Cincuya". (Imagen propiedad del Jardín Botánico de Missouri<sup>(61)</sup>)

**Familia:** Annonaceae

**Nombre común:** "Cincuya", "Sincuya" y "Sincuyo" (El Salvador).

**Descripción botánica:** Árbol, hasta 10 m de altura. Hojas simples, alternas, ampliamente obovadas a elíptico-obovadas, el ápice acuminado, la base obtusa, pubescentes por el envés, cortamente pecioladas. Flores solitarias ferrugíneo-tomentosas, pétalos rojo-morado, sépalos ovados. Frutos esféricos, con crestas cónicas en la superficie exterior, verdes, tornándose amarillos al madurar, con muchas semillas cubiertas por una pulpa amarilla o anaranjada.<sup>(13; 66)</sup>

**Distribución:** De México a Venezuela, es una especie introducida en Filipinas y puerto Rico. En El Salvador se ha reportado ubicarse en: Santa Ana, Chalatenango, La Libertad, Cuscatlán, San Miguel, La Unión, Usulután, Sonsonate, Ahuachapán y La Paz.

**Fenología:** En Panamá, florece y fructifica de mayo a octubre. En Costa Rica, las flores se han observado en febrero, abril, mayo, julio, septiembre y octubre y los frutos en junio, julio y septiembre.

**Usos Etnobotánicos:** El empleo medicinal de diversas partes de la planta es sumamente variado, en México el jugo del fruto se usa como remedio para la fiebre y las frialdades, la disentería, diarrea y congestión, así como para aliviar la ictericia.

**Composición Química:** Flavonoides, alcaloides, compuestos triterpénicos y acetogeninas.<sup>(12)</sup>

**Toxicidad:** En El Salvador las semillas son señaladas como tóxicas. Se reporta que en Panamá usan las semillas para ejecutar criminales. En Guatemala y en Costa Rica la gente del medio rural señala que el fruto es malsano porque a veces causa diarrea a quien lo consume. Los extractos de hojas y de corteza de A.

*purpurea* muestran fuerte toxicidad sobre el crustáceo *Artemia salina* y sobre larvas del mosquito de la fiebre amarilla *Aedes aegypti*; en ratones causaron una disminución significativa de los niveles de glucosa en sangre; las evaluaciones farmacológicas en gatos y ratas anestesiados mostraron un efecto cardiotónico.<sup>(23)</sup>

### 3.7.6 *Annona diversifolia* Saff.

Variedades: "Anona blanca" y "Anona rosada"

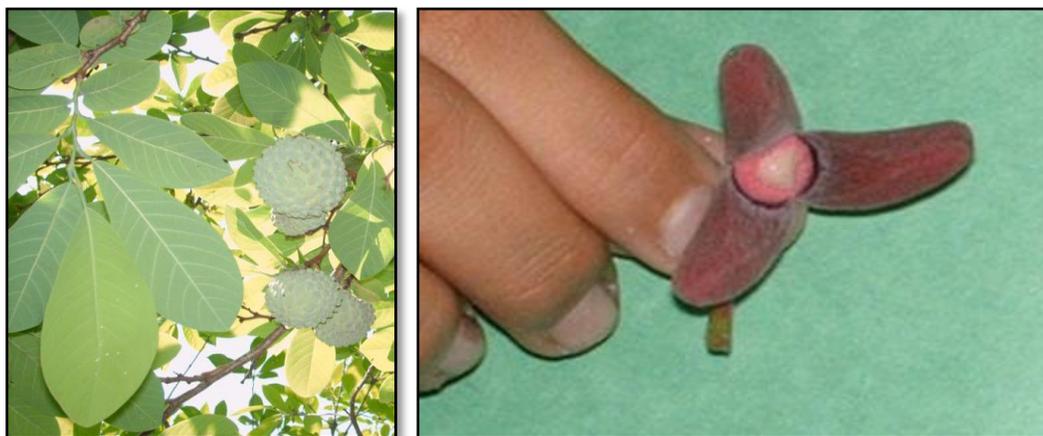


Figura N°18. Características de la especie *Annona diversifolia*. (Imagen propiedad de Pérez Campos, A. M., & García Villalta, J. E<sup>(43)</sup>)



Figura N°19. *Annona diversifolia*, variedades: "Anona blanca" y "Anona rosada"

**Familia:** Annonaceae

**Nombre común:** “Anona”, “Ilama” o “Papause”.

**Descripción botánica:** Árbol de porte bajo, generalmente con un eje central dominante y con ramificaciones desde la base. Posee gran diversidad en el tamaño y forma de sus hojas, hay hojas grandes de 27 cm de largo por 15 cm de ancho y hojas pequeñas de 10 cm de largo por 5 cm de ancho. Las hojas son ovales, glabras, con brácteas deciduas y con una apariencia polvosa en el envés de las hojas. Las flores tienen tres pétalos externos de longitud y de color diferente según la variedad. Fruto de forma ovoide a elipsoidal, con carpelos prominentes, color verde cuando esta inmaduro y rosado-grisáceo (“Anona rosada”) cuando está maduro, y verde-grisáceo (“Anona blanca”); la textura de cáscara es lisa con 70-130 protuberancias por fruto, la consistencia de la pulpa es suave, de olor muy agradable, de sabor dulce, y puede superar las 2.5 lb de peso, contiene un promedio de 70 semillas.<sup>(61)</sup>

**Distribución:** La distribución de las especies neotropicales se extiende desde el norte de México, el sur de Florida, Centro América, Las islas Caribe, y parte de Suramérica; en el Viejo mundo, el género *Annona*, es representado solo por unas cuantas especies, que se distribuyen por el cinturón de sabanas de África, desde Senegal, hasta Sudáfrica.<sup>(6)</sup>

**Fenología:** La época de fructificación de la “Anona” comienza a finales de julio y se extiende hasta septiembre.

**Usos Etnobotánicos:** Del extracto de las semillas pulverizadas, se puede obtener insecticida muy eficaz contra los piojos. De los brotes fértiles se extrae una infusión que se le administra a las mujeres a la hora del parto, pues se cree

que estimula las contracciones uterinas facilitando de esta forma el proceso de alumbramiento. Sirve también para aliviar los procesos febriles al administrarse una decocción de las hojas maduras del árbol. La cáscara es utilizada por la población, pues al ser triturada y aplicada sobre las zafaduras, se cree que acelera el proceso de encallamiento óseo, la cáscara también sirve para aliviar los dolores de muela al ser preparada en infusión.<sup>(6)</sup>

**Composición Química:** Acetogeninas, alcaloides, aceites esenciales, flavonoides y terpenoides.<sup>(44)</sup>

**Toxicidad:** Las semillas de este fruto poseen acetogenina, que actúan sobre la respiración mitocondrial disminuyendo la movilidad y el crecimiento antes de la muerte celular. Se ha demostrado ser tóxicas frente al “Gorgojo común del frijol” *Zabrotes subfasciatus*.<sup>(6)</sup>

### 3.7.7 *Spondias purpurea* L.

Variedades: “Jocote tronador”, “Jocote chapín” y “Jocote de corona”



Figura N°20. Características de la especie *Spondias purpurea*. (Imagen propiedad del Jardín Botánico de Missouri<sup>(61)</sup>)



Figura N°21. *Spondias purpurea*, variedad "Jocote tronador".



Figura N°22. *Spondias purpurea*, variedad "Jocote chapín".



Figura N°23. *Spondias purpurea*, variedad "Jocote de corona".  
(Imágenes propiedad del LIPN)

**Familia:** Anacardiaceae

**Nombre común:** “Jocote” “Cocota” y “Ciruela de huesito”.

**Descripción botánica:** Es un árbol alto muy ramificado de corteza gruesa y rugosa. Las hojas son pinnadas con 10 a 20 pares de folíolos alternos y elípticas. Las flores se desarrollan en panículas axilares en ocasiones en ramas viejas. El fruto es una drupa elipsoidal color rojo, vino o amarillo con un epicarpo firme y liso. Su mesocarpo dependiendo del estado de madurez es ácida o dulce. El endocarpo es el que ocupa la mayor parte del fruto, es duro a semejanza de la madera. Posee una pulpa jugosa de color amarillo, con un sabor y aroma agradable.<sup>(13; 61)</sup>

**Distribución:** Las áreas potenciales para su establecimiento, se encuentran principalmente en las faldas y sectores aledaños de los volcanes de Izalco, Santa Ana, San Salvador, San Vicente, San Miguel y algunos sectores de la cordillera de Metapán-Alotepeque, Tacapa- Chinameca y partes altas de la zona de Cacahuatique en El Salvador.

**Fenología:** En El Salvador la época de cosecha es julio, agosto y septiembre.

**Usos Etnobotánicos:** La decocción de la fruta se utiliza para lavar las heridas y curar dolores en la boca. Con la fruta también se elabora un sirope que alivia la diarrea crónica. La decocción de la corteza astringente es un remedio para las úlceras, la disentería y la hinchazón causada por los gases intestinales en infantes. La decocción de las hojas y de la corteza se emplea como febrífugo. La resina del árbol se mezcla con el jugo de la “Piña” o de la “Guanábana” para tratar la ictericia. La raíz se usa para tratar erupciones acompañadas de dolor de

cabeza y cuello. Esta especie también se utiliza para enfermedades del intestino y la vejiga y contra la sarna.<sup>(13)</sup>

**Composición Química:** Fenoles, flavonoides, carotenoides, ácido ascórbico, sesquiterpenos, monoterpenos, taninos y saponinas, minerales como Sodio, Zinc, Calcio y Magnesio.<sup>(53; 63)</sup>

**Toxicidad:** Comer el fruto en grandes cantidades causa diarrea y disturbios gastrointestinales. Los extractos acuosos y etanólicos (500 ppm) no son tóxicos a peces del género *Mollinesia*. El extracto de hojas (12 -13 mL) administrados a cobayos provoca aborto, aunque sin consecuencias de salud de la hembra. Según ciertas investigaciones de la actividad diurética esta planta, no posee efecto tóxico agudo, en animales de experimentación a las dosis de 1,2,3,4 y 5 g/kg de peso.<sup>(36)</sup>

**CAPITULO IV**  
**DISEÑO METODOLOGICO**

## 4.0 DISEÑO METODOLOGICO

### 4.1 Tipo de estudio

**Retrospectivo**, se tomó como base un estudio anterior en el cual se determinó la cantidad de carotenoides totales de ocho frutos pertenecientes a la flora salvadoreña comercializadas en la zona metropolitana de San Salvador.

**Experimental**, se llevó a cabo la realización de los extractos acuosos de diez frutos de especies vegetales pertenecientes a la flora salvadoreña en el Laboratorio de Investigación en Productos Naturales (LIPN) de la Facultad de Química y Farmacia. Posteriormente, se realizó el proceso de liofilización de los extractos acuosos en el Laboratorio de Toxinas Marinas perteneciente a la Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas. Una vez obtenidos los extractos acuosos liofilizados, se realizó la cuantificación de fenoles totales como metabolitos con efecto antioxidante nuevamente en el Laboratorio de Investigación en Productos Naturales, ambos laboratorios pertenecientes a la Universidad de El Salvador.

### 4.2 Investigación bibliográfica

Se realizaron consultas en libros y publicaciones de revistas científicas en las siguientes bibliotecas:

- Dr. Benjamín Orozco de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.
- Central de la Universidad de El Salvador.
- Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador.

- Universidad Salvadoreña Alberto Masferrer.
  
- Revistas científicas. Ej: Journal of Ethnopharmacology, Critical Reviews in Toxicology, Latin American Journal of Pharmacy, International Journal of Molecular Sciences, entre otras.
  
- Internet.
  
- Se utilizó la página web del Jardín Botánico de Missouri que contiene el proyecto de Flora Mesoamericana.
  
- En la búsqueda de información botánica de las especies en estudio, se programaron visitas con cita previa a los herbarios del Museo de Historia Natural de El Salvador (MUHNES).

### **4.3 Investigación de campo**

#### **Universo:**

Especies frutales conocidas y consumidas por la población salvadoreña<sup>(38)</sup>.

#### **Muestra:**

Diez frutos consumidos en El Salvador (Tabla N°3), elegidos tomando en consideración la disponibilidad de recolección del material vegetal.

En la búsqueda de información botánica de las especies en estudio, se programaron visitas con cita previa al Herbario del Museo de Historia Natural de El Salvador (MUHNES) para realizar la búsqueda de la ubicación de las especies en El Salvador y su período de fructificación.

Tabla N°3. Frutos de especies salvadoreñas a analizar.

No.	Nombre científico	Familia botánica	Nombre común	Figura representativa
1.	<i>Licania platypus</i>	Chrysobalanacea	"Sunza"	
2.	<i>Gonolobus taylorianus</i>	Apocynaceae	"Cuchamper"	
3.	<i>Chrysobalanus icaco</i>	Chrysobalanacea	"Icaco"	
4.	<i>Passiflora platyloba</i>	Passifloraceae	"Granadilla de huesito"	
5.	<i>Annona purpurea</i>	Annonaceae	"Cincuya"	

(Las imágenes contenidas en la Tabla N°3 son propiedad del LIPN)

(Tabla N°3. Continuación)

6.	<i>Annona diversifolia</i>	Annonaceae	“Anona blanca”	
7.	<i>Annona diversifolia</i>	Annonaceae	“Anona rosada”	
8.	<i>Spondias purpurea</i>	Anacardiaceae	“Jocote tronador”	
9.	<i>Spondias purpurea</i>	Anacardiaceae	“Jocote chapín”	
10	<i>Spondias purpurea</i>	Anacardiaceae	“Jocote de corona”	

(Las imágenes contenidas en la Tabla N°3 son propiedad del LIPN)

### Recolección e Identificación del material vegetal:

La recolección de los frutos se realizó de acuerdo con el periodo de fructificación de las especies propuestas de la Tabla N°3. En el viaje de recolección colaboró la curadora del Herbario del Museo de Historia Natural de El Salvador quien obtiene una muestra completa de cada especie vegetal para posteriormente

identificarla y asignar un número de voucher, de esta manera establecer reproducibilidad si se desea continuar con el estudio.

Se colectó una cantidad aproximada de 1 Kg de cada fruto de las 10 especies elegidas para el estudio, en el grado de madurez que lo consume la población. Las muestras recolectadas se trasladaron al Laboratorio de Investigación en Productos Naturales, contenidas en bolsas con capacidad de 5 lb, a cada especie recolectada le fue asignada una viñeta de identificación (Anexo N°1), la cual contenía los datos necesarios para corroborar y asegurar su identificación durante su traslado y almacenamiento. Las muestras fueron transportadas en recipientes herméticos con el debido cuidado para evitar que los frutos pudieran seguir llevando a cabo el proceso de maduración y no sufrieran degradación, se colocó hielo para mantener la temperatura en un rango de 5° a 10 °C, al llegar al Laboratorio de Investigación en Productos Naturales las muestras recolectadas fueron lavadas con agua destilada y a continuación si los frutos no fueron inmediatamente utilizados para su fraccionamiento y posterior extracción se colocaron en el ultracongelador a una temperatura de -20° C.

Tabla N°4. Características de las especies frutales a estudiar.

No.	Nombre científico	Parte comestible	Período de fructificación	Lugar de recolección
1	<i>Licania platypus</i>	Mesocarpo del fruto	Todo el año	Mpio. de Santa Ana, Santa Ana
2	<i>Gonolobus taylorianus</i>	Mesocarpo del fruto	ene. – mar.	Mpio. de Santo Tomás, San Salvador
3	<i>Chrysobalanus icaco</i>	Exocarpo y mesocarpo del fruto	jul. – oct.	Mpio. de Santo Tomás, San Salvador
4	<i>Passiflora platyloba</i>	Arilo y encocarpo del fruto	jul. - ago.	Campus UES, San Salvador

(Tabla N°4. Continuación)

5	<i>Annona purpurea</i>	Mesocarpo del fruto	jun. - sept.	Mpio. de Santo Tomás, San Salvador
6	<i>Annona diversifolia</i>	Mesocarpo del fruto	jun. - sept.	Cantón El Jocotón, Mpio. de Coatepeque, Santa Ana
7	<i>Annona diversifolia</i>	Mesocarpo del fruto	jun. - sept.	Cantón El Jocotón, Mpio. de Coatepeque, Santa Ana
8	<i>Spondias purpurea</i>	Exocarpo y mesocarpo del fruto	jul. - sept.	Cantón El Jocotón, Mpio. de Coatepeque, Santa Ana
9	<i>Spondias purpurea</i>	Exocarpo y mesocarpo del fruto	jul. - sept.	Cantón El Jocotón, Mpio. de Coatepeque, Santa Ana
10	<i>Spondias purpurea</i>	Exocarpo y mesocarpo del fruto	jul. - sept.	Cantón Las Lajas, Mpio. de Izalco, Sonsonate

#### 4.4 Parte experimental.

Todos los procedimientos que a continuación se detallan, deben ser realizados en ausencia de luz y a una temperatura de 20 °C.

Los esquemas representativos de cada procedimiento se detallan en el Anexo N°2. La descripción de los reactivos, cristalería, material y equipo utilizar se encuentra detallada en el Anexo N°3.

#### ***Preparación del extracto de la parte comestible del fruto.***<sup>(34)</sup>

Si los frutos han sido previamente lavados y congelados, sacarlos del ultracongelador 30 minutos antes de la preparación de los extractos acuosos.

***Preparación previa:***

1. Lavar cuidadosamente los frutos con agua bidestilada si no se realizó después de la recolección de los frutos.
2. Separar la parte comestible del fruto y fraccionarla con un cuchillo de porcelana.

***Preparación de los extractos acuosos:***

1. Preparar tres extractos acuosos de cada fruto en una concentración del 10% m/v, utilizando como solvente agua bidestilada.
2. Proceder a sonicar la mezcla anterior por 30 minutos en un baño ultrasonido VWR (Modelo 97043-988), verificando que la temperatura no sobrepase los 20° C.
3. Filtrar el extracto obtenido en papel Whatman poro grueso.
4. Recibir el extracto en frascos protegidos de la luz.
5. Almacenar los extractos acuosos en un ultracongelador a una temperatura de -20 °C
6. Congelar durante por lo menos 24 horas para posteriormente llevar a cabo el proceso de liofilización.
7. Repetir la extracción por triplicado para cada fruto.

***Proceso de liofilización del extracto acuoso.***<sup>(34)</sup>

Los extractos acuosos congelados fueron liofilizados en un equipo marca LABCONCO Freezone Modelo 7740030 (Anexo N°4) ubicado en el Laboratorio de Toxinas Marinas de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemática de la Universidad de El Salvador.

1. Encender y programar el liofilizador con por lo menos 30 minutos antes de anticipación.
2. Liofilizar por un periodo de 48 horas, con la precaución de mantener los frascos cubiertos de la luz.
3. Almacenar los extractos liofilizados en un desecador debidamente protegido de la luz.

### **Cuantificación de Fenoles Totales por el método Folin-Ciocalteu.** <sup>(34)</sup>

#### ***Preparación de soluciones de trabajo***

Las siguientes soluciones de trabajo se prepararán a una concentración de 1mg/mL.

1. Pesar la cantidad necesaria de extracto liofilizado para preparar una solución de 1 mg/mL.
2. Utilizar agua bidestilada para disolver el extracto.
3. Preparar tres soluciones de trabajo para cada extracto liofilizado.

#### ***Preparación de la curva de calibración***

Preparar una solución madre de ácido gálico de la siguiente manera:

1. Pesar 2.0 mg de estándar de ácido gálico en un beaker de capacidad de 10 mL haciendo uso de una balanza analítica.
2. Disolver completamente el ácido gálico utilizando agua bidestilada.
3. Trasladar la solución a un balón volumétrico de 10.0 mL clase A.
4. Aforar el contenido del balón volumétrico con agua bidestilada.

### ***Preparación de soluciones estándar***

A partir de la solución madre se prepara una curva de calibración con las siguientes concentraciones de ácido gálico: 100.00 µg/mL, 75.00 µg/mL, 50.00 µg/mL, 25.00 µg/mL, 12.50 µg/mL, 6.25 µg/mL, 3.12 µg/mL 0.00 µg/mL). Realizar las soluciones en el orden de menor a mayor concentración. Los cálculos para realizar las diluciones se presentan en el Anexo N°5.

### ***Preparación de blanco***

Agregar a una cubeta descartable para UV-Vis los siguientes reactivos:

- 560 µl de agua bidestilada.
- 40 µL de solución Folin-Ciocalteu 2N.

Nota: Preservar esa cubeta, ya que posteriormente se agregará la solución de Carbonato de Sodio 10.75% m/v

### **Cuantificación de fenoles totales.**

La preparación de la solución de Carbonato de Sodio 10.75 % m/v se detalla en el Anexo N°6.

### ***Preparación de muestras y estándares de trabajo***

Preparar las muestras y estándares de la siguiente manera:

1. Agregar 80 µL de cada solución de trabajo y estándares a su cubeta correspondiente.

2. Agregar 400  $\mu\text{L}$  de agua bidestilada a cada cubeta que contiene las soluciones de trabajo y estándares.
3. Agregar 40  $\mu\text{L}$  de solución Folin-Ciocalteu 2N a cada cubeta correspondiente a las muestras a analizar y estándares.
4. Agregar 480  $\mu\text{L}$  de una solución de carbonato de sodio al 10.75% m/v a cada solución de trabajo, estándares y al blanco.
5. Incubar durante 30 minutos.

### ***Medición de absorbancias en espectrofotómetro UV-Vis***

1. Encender y programar el Espectrofotómetro UV-Vis.
2. Realizar las lecturas a una longitud de onda de 760 nm.

El equipo proporciona los datos de concentración como mg equivalentes de ácido gálico / mL de solución de trabajo.



El esquema general de trabajo, desde la recolección de los frutos hasta la lectura en el espectrofotómetro UV-Vis se detalla en el Anexo N°7.

### **Procesamiento de datos.**

Al obtener los resultados de cuantificación de fenoles totales presentes en cada solución de trabajo, se procedió a tabular los datos utilizando el programa Microsoft Excel, con el cual se diseñó una hoja de cálculo para obtener el promedio de fenoles totales por solución de trabajo con su respectiva desviación estándar y coeficiente de variación, el cual se estableció con un límite del 10% por lo que un dato fuera de este porcentaje fue descartado y realizado nuevamente. Es necesario realizar cálculos que determinen el contenido total de fenoles por cada 100 g de fruto, utilizando esta hoja de cálculo fue posible obtener el resultado final de concentración de fenoles totales por fruto de una manera más conveniente.

### **Análisis estadístico.**<sup>(34)</sup>

Con los resultados de porcentaje de rendimiento de los extractos liofilizados, se realizó el análisis de varianza (ANOVA) para evaluar las diferencias de los resultados en cuanto a la cantidad de extracto liofilizado que proporcionan. Una vez obtenido el resultado final de contenido de fenoles totales presente en cada fruto, se realizó el mismo análisis entre los resultados de los diez frutos, también entre los frutos pertenecientes al género *Annona* y los frutos pertenecientes a la especie *Spondias purpurea*. El análisis se realizó con ayuda del programa Statgraphics Centurion XVI versión 16.2.04 y el análisis de varianza para evaluar la dispersión que existe en los resultados.

**CAPITULO V**  
**RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS**

## **5.0 RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS**

### **5.1 Recolección e identificación botánica de cada fruto a analizar.**

#### **5.1.2 Recolección e identificación de especies.**

Con el fin de plasmar de manera gráfica la ubicación de las zonas de recolecta de los frutos, se realizó una representación del mapa de El Salvador (Figura N°26), donde se encuentran localizados los lugares en los que se colectaron las especies vegetales.

Fue posible realizar el mapa de ubicación, gracias a que al momento de llevar a cabo la recolección de los frutos se hizo uso de un Sistema de Posicionamiento Global (GPS por sus siglas en inglés) para obtener las coordenadas en forma de grados sexagesimales, es decir, según grados (°), minutos (') y segundos (") como se detalla en la Tabla N°5.

En la figura N°26 se observa el acceso que se tuvo a lugares pertenecientes a la zona central y occidental del país. De acuerdo con la ubicación de la recolección de los frutos, se identificaron con un marcador de diferente color. Durante la recolección se incluyeron los municipios de Santa Ana y Coatepeque en el departamento de Santa Ana; el municipio de Izalco en el departamento de Sonsonate; además de los municipios de Mejicanos y Santo Tomás en el departamento de San Salvador.

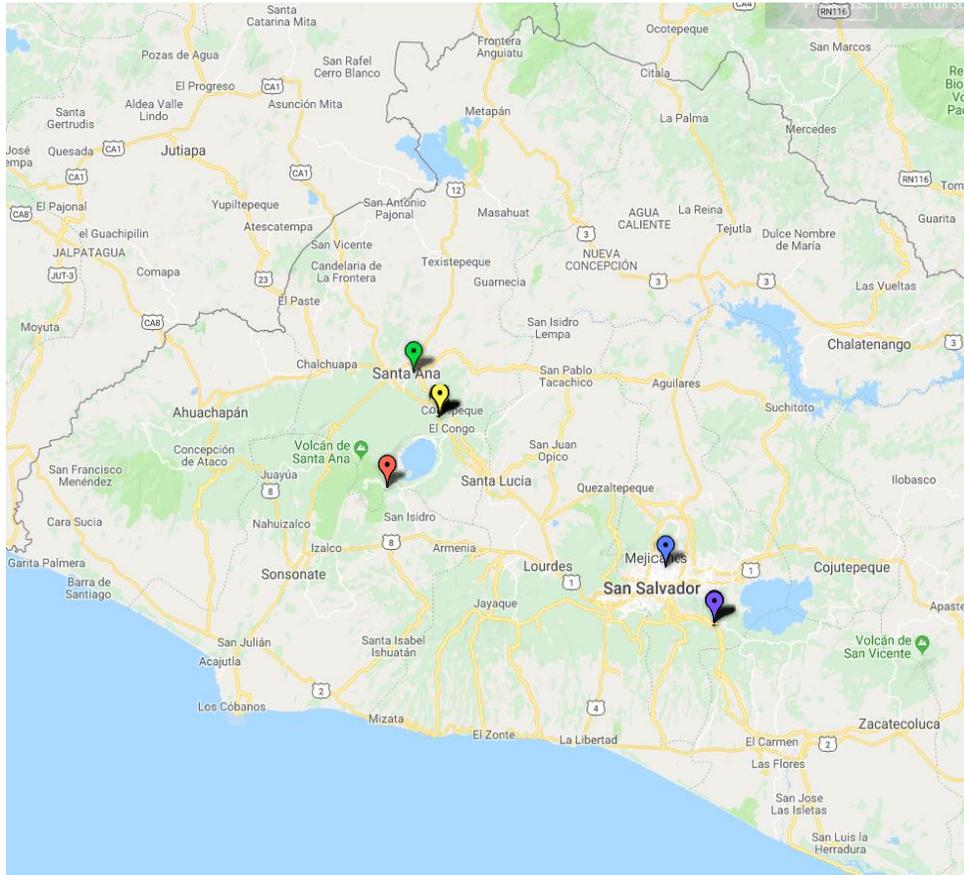
Con la representación de la ubicación de las zonas de recolección, es posible observar de mejor manera la diversidad de lugares en los que pueden encontrarse disponibles los frutos, lo cual proporciona la idea del fácil acceso a estos, por lo que su obtención para el consumo humano no se ve limitado y es

una gran ventaja para poder consumir los frutos y aprovechar sus propiedades alimenticias.

La recolección de las especies vegetales no solamente involucra coleccionar los frutos, es importante además recopilar la información que va a contribuir al respaldo de la investigación, por esta razón es necesario reportar la ubicación de las especies, ya que es una información que puede servir en futuras investigaciones que pretendan continuar con la identificación de metabolitos secundarios o la determinación de la actividad antioxidante en los frutos del presente estudio.



Figura N°25. Recolección de especies para la investigación.  
(Imágenes propiedad del LIPN)



**Ubicación de especies**

- Licania platypus* “Sunza”
- Gonolobus taylorianus* “Cuchamper”
- Chrysobalanus icaco* “Icaco”
- Passiflora platyloba* “Granadilla de huesito”
- Annona purpurea* “Cincuya”
- Annona diversifolia* “Anona blanca”
- Annona diversifolia* “Anona rosada”
- Spondias purpurea* “Jocote tronador”
- Spondias purpurea* “Jocote chapín”
- Spondias purpurea* “Jocote de corona”



Figura N°26. Ubicación de especies recolectadas representadas en el mapa de El Salvador, zona occidental y central. (Imágenes propiedad del LIPN).

Las muestras completas de cada especie vegetal fueron identificadas por la curadora del Herbario del Museo de Historia Natural de El Salvador: Lic. Jenny Menjívar, para lo cual seleccionó una muestra representativa de la planta, un fragmento con las suficientes hojas que permitiera observar su disposición y su ramificación y que además posea flores para la identificación inequívoca de su familia botánica. La Figura N°27 muestra una especie vegetal colectada para su identificación.



Figura N°27. Muestra de *Passiflora platyloba* "Granadilla de huesito" para el herbario del MUHNES. (Imágenes propiedad del LIPN)

Es importante que, para la recolección de plantas se cuente con el apoyo de un botánico profesional capaz de identificar las especies, con esto se logra que los resultados obtenidos en la investigación posean veracidad de lo asignado. Es necesario preparar adecuadamente los órganos de la especie vegetal, verificar su conservación y colocación en el herbario para disponer de un material de referencia para futuras investigaciones. El respaldo de esta investigación está plasmado como un número de Voucher para cada especie como se muestra en la Tabla N°5 y corresponde a un espécimen con el que fueron realizadas pruebas experimentales que contribuirán a la literatura científica.

Tabla N°5. Detalles de recolección e identificación de especies.

N°	Nombre científico	Familia botánica	Nombre común	Lugar y fecha de recolección	Coordenadas	Número de voucher
1	<i>Licania platypus</i> (Hemsl.) Pittier	Chrysobalanaceae	“Sunza”	Municipio de Santa Ana, Santa Ana; 6/08/2018	13° 43' 10.49" N 89° 12' 2.04" O	J. Menjívar et al. 4589
2	<i>Gonolobus taylorianus</i> W.D. Stevens & Montiel	Apocynaceae	“Cuchamper”	Municipio de Santo Tomás, San Salvador; 5/06/2018	13° 38' 33.99" N 89° 7' 51.99" O	J. Menjívar et al. 4590
3	<i>Chrysobalanus icaco</i> L.	Chrysobalanaceae	“Icaco”	Municipio de Santo Tomás, San Salvador; 27/05/18	13° 38' 33" N 89° 7' 52" O	J. Menjívar et al. 4591
4	<i>Passiflora platyloba</i> Killip	Passifloraceae	“Granadilla de huesito”	Universidad de El Salvador, San Salvador; 24/05/18	13° 43' 10.49" N 89° 12' 2.04" O	J. Menjívar et al. 4592
5	<i>Annona purpurea</i> Moc. & Sessé ex Dunal	Annonaceae	“Cincuya”	Municipio de Santo Tomás, San Salvador; 18/09/18	13° 38' 35" N 89° 7' 49" O	J. Menjívar et al. 4593
6	<i>Annona diversifolia</i> Saff	Annonaceae	“Anona blanca”	Cantón El Jocotón, Municipio de Coatepeque, Santa Ana; 22/05/18	13° 55' 9.38" N 89° 31' 5.79" O	J. Menjívar et al. 4594

(Tabla N°5. Continuación)

7	<i>Annona diversifolia</i> Saff	Annonaceae	"Anona rosada"	Cantón El Jocotón, Municipio de Coatepeque, Santa Ana; 22/05/18	13° 55' 9.38" N 89° 31' 5.78" O	J. Menjívar et al. 4594
8	<i>Spondias purpurea</i> L.	Anacardiaceae	"Jocote tronador"	Cantón El Jocotón, Municipio de Coatepeque, Santa Ana; 11/08/18	13° 55' 10.23" N 89° 31' 7.23" O	J. Menjívar et al. 4595
9	<i>Spondias purpurea</i> L.	Anacardiaceae	"Jocote chapín"	Cantón El Jocotón, Municipio de Coatepeque, Santa Ana; 11/08/18	13° 55' 9.22" N 89° 31' 6.36" O	J. Menjívar et al. 4641
10	<i>Spondias purpurea</i> L.	Anacardiaceae	"Jocote de corona"	Cantón Las Lajas, Municipio de Izalco, Sonsonate; 24/09/18	13° 49' 34" N 89° 35' 41" O	J. Menjívar et al. 4642

Durante la recolección, se mantuvieron ciertas condiciones que fueron importantes para que los frutos permanecieran en un buen estado, ayudando a retardar su proceso de maduración. Los frutos recolectados fueron identificados con ciertos datos importantes, entre los cuales se encuentran: nombre común, nombre científico, órgano recolectado, fecha de recolecta, lugar de recolecta, persona que lo recolectó, coordenadas de ubicación, entre otros (Anexo N°1). Los frutos fueron trasladados al Laboratorio de Investigación en Productos Naturales en recipientes herméticos conteniendo hielo para mantenerlos a temperatura adecuada y evitar su degradación.



Figura N°28. Recolección de especie *Spondias purpurea* "Jocote chapín".  
(Imágenes propiedad del LIPN)

Los frutos recolectados, fueron lavados con agua destilada y posteriormente almacenados en el equipo ultracongelador a una temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$ , considerando no almacenar más de un mes, para su posterior utilización en la elaboración del extracto acuoso.

Las precauciones en el traslado del material vegetal desde su recolección hasta su almacenamiento, como proteger de la luz solar y mantener los frutos recolectados a bajas temperaturas, son de suma importancia para mantenerlos en buen estado, ya que con esto se detienen los cambios bioquímicos y fisiológicos en el fruto evitando ciertas reacciones enzimáticas que pueden afectar los resultados de la investigación.

### 5.1.2 Obtención de los extractos acuosos y cálculo de rendimiento de los liofilizados.

La obtención del extracto acuoso se llevó a cabo separando y fraccionando la parte comestible de cada fruto. La Figura N°29 presenta la especie *Passiflora platyloba* "Granadilla de huesito" y la parte utilizada para la elaboración del extracto acuoso, las cuales son el arilo y las semillas del fruto.

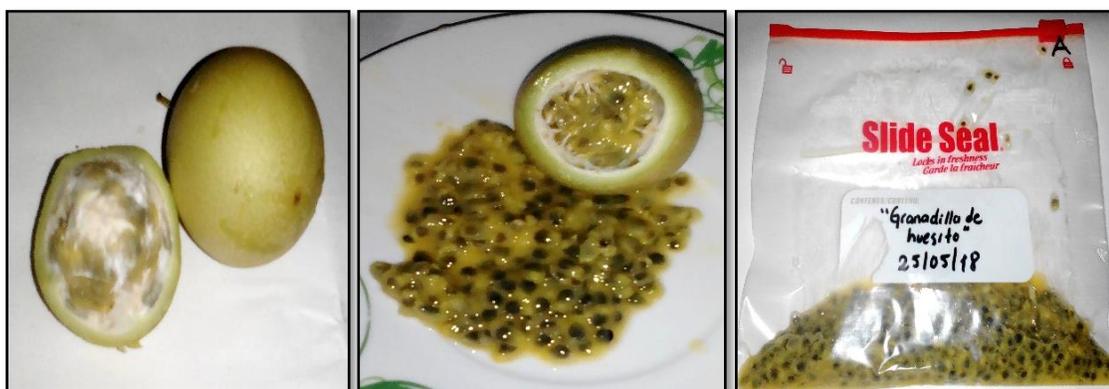


Figura N°29. Arilo y semillas del fruto de *Passiflora platyloba* "Granadilla de huesito". (Imágenes propiedad del LIPN)

Una vez separada la parte comestible del fruto, se hizo posible realizar el proceso de extracción, agregando agua bidestilada y sonicando durante 30 minutos (Figura N°30). El extracto obtenido fue filtrado y recibido en un frasco de vidrio, cubierto con papel aluminio y almacenado en el ultracongelador a temperatura de  $-20^{\circ}\text{C}$ , para después ser sometido al proceso de liofilización.



Figura N°30. Preparación del extracto acuoso del fruto de *Passiflora platyloba* "Granadilla de huesito". (Imágenes propiedad del LIPN)

Al obtener el extracto acuoso congelado, los frascos se trasladaron al Laboratorio de Toxinas Marinas ubicado en la Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas de la Universidad de El Salvador para poder llevar a cabo el proceso de liofilización (Figura N°31).

Fue de valiosa importancia que el equipo liofilizador se encontrara encendido durante por lo menos 30 minutos antes de colocar los extractos acuosos congelados, para que al alcanzar la temperatura de  $-50^{\circ}\text{C}$  se encontrara con un ambiente de manera uniforme y apto para llevar a cabo la liofilización. Las muestras de cada extracto se mantuvieron protegidas de la luz y fueron colocadas dentro del equipo liofilizador, para ser sometidas a este proceso durante 48 a 72 horas.

Los frascos con extracto liofilizado fueron pesados para evaluar el porcentaje de rendimiento de cada extracto el cual serviría para realizar el cálculo matemático del contenido de fenoles totales por cada 100 g de fruto.

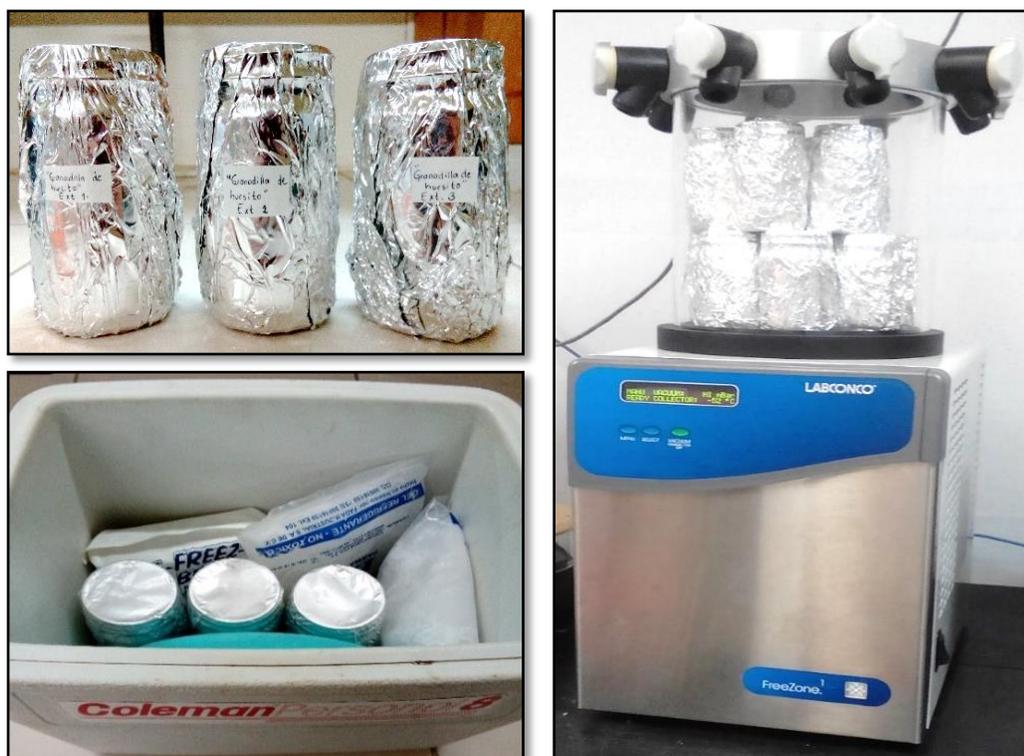


Figura N°31. Proceso de liofilización del extracto acuoso. (Imágenes propiedad del LIPN)

La Figura N°32 muestra el extracto liofilizado de “Granadilla de huesito”, como puede observarse este presenta consistencia totalmente sólida, sin embargo, estos extractos son muy susceptibles a captar humedad del ambiente por lo que es necesario mantenerlos fuera del desecador solamente el tiempo necesario y de esta manera poder evitar su degradación.

Es muy importante mencionar que la naturaleza de cada extracto liofilizado varía de acuerdo con el fruto del cual proviene, durante la investigación se obtuvieron extractos liofilizados con características diferentes, algunos extractos liofilizados

variaban desde un polvo suelto en el caso de los provenientes de frutos no tan dulces, hasta liofilizados de consistencia dura y pegajosa en el caso de los frutos más dulces.

Gracias al proceso de liofilización, fue posible evitar que los metabolitos secundarios con efecto antioxidante se degradaran, ya que la temperatura a la que fueron sometidos estuvo por debajo de aquella a la que muchas sustancias sufren cambios químicos; por otra parte, se redujo el peligro de contaminación microbiana con la pérdida total de agua, así el extracto pudo ser almacenado por más tiempo, constituyéndose en un extracto de larga estabilidad.



Figura N°32. Extracto liofilizado de *Passiflora platyloba* "Granadilla de huesito".  
(Imágenes propiedad del LIPN)

En la Tabla N°6 se detallan los resultados de la cantidad obtenida de todos los extractos realizados pertenecientes a cada fruto con su respectivo porcentaje de rendimiento. La diferencia en cuanto al rendimiento que existe en las cantidades de la obtención de extractos liofilizados se representa en la Figura N°33.

Tabla N°6. Resultados del proceso de liofilización.

Especie vegetal	Nombre común	Número de extracto	Peso de extracto liofilizado (g)	Rendimiento (%)
<i>Licania platypus</i>	"Sunza"	1	1.3060	20.20
		2	1.6525	
		3	1.5857	
<i>Gonolobus taylorianus</i>	"Cuchamper"	1	0.1362	1.78
		2	0.1298	
		3	0.1339	
<i>Chrysobalanus icaco</i>	"Icaco"	1	0.3248	5.51
		2	0.4985	
		3	0.4159	
<i>Passiflora platyloba</i>	"Granadilla de huesito"	1	0.3831	5.08
		2	0.3796	
		3	0.3808	
<i>Annona purpurea</i>	"Cincuya"	1	0.4509	6.28
		2	0.4814	
		3	0.4798	
<i>Annona diversifolia</i>	"Anona blanca"	1	0.8923	11.62
		2	0.8370	
		3	0.8854	
<i>Annona diversifolia</i>	"Anona rosada"	1	0.7508	10.06
		2	0.7237	
		3	0.7894	
<i>Spondias purpurea</i>	"Jocote tronador"	1	0.9708	13.21
		2	1.0057	
		3	0.9954	
<i>Spondias purpurea</i>	"Jocote chapín"	1	1.0876	14.25
		2	1.0415	
		3	1.0763	
<i>Spondias purpurea</i>	"Jocote de corona"	1	0.9869	12.82
		2	0.9385	
		3	0.9598	

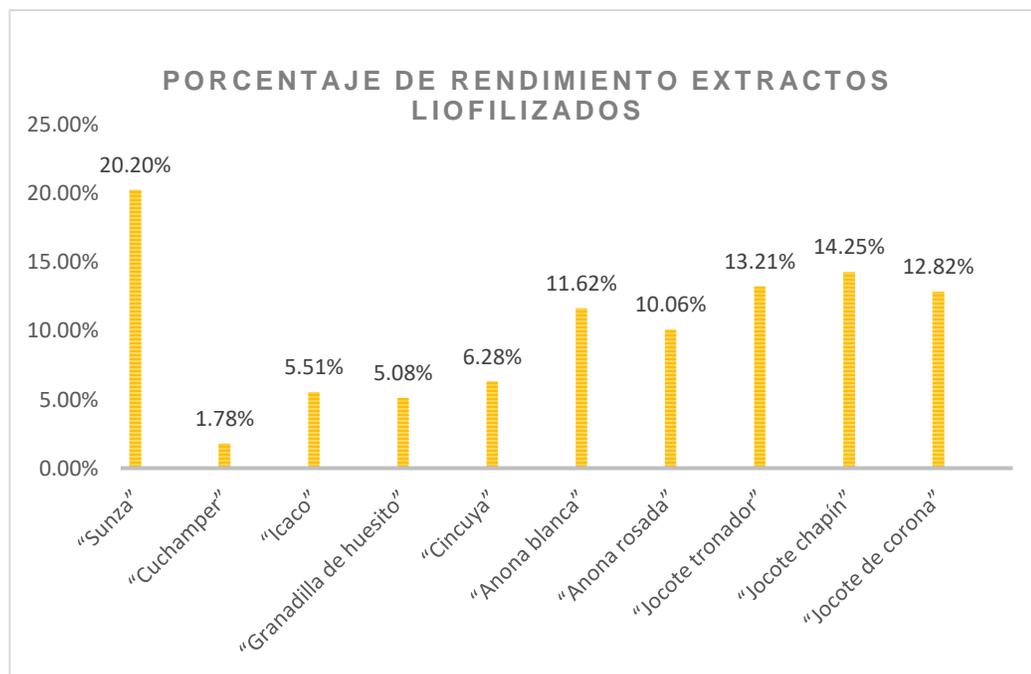


Figura N°33. Gráfico de los porcentajes de rendimiento de los extractos liofilizados.

Se realizó el análisis estadístico del rendimiento de obtención de los extractos liofilizados utilizando el análisis de varianza (ANOVA) con el programa "Statgraphics Centurion XVI versión 16.2.04" para verificar si existía diferencia estadísticamente significativa entre el porcentaje de rendimiento de los frutos, los resultados pueden observarse en la Tabla N°7.

La tabla ANOVA descompone la varianza del porcentaje de rendimiento en dos componentes: un componente entre grupos y un componente dentro de grupos. La razón F, que en este caso fue igual a 111.393, es el cociente entre el estimado entre grupos y el estimado dentro de grupos. Para este caso, debido a que el valor P de la prueba F fue menor que 0.05, puede afirmarse que existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de porcentaje de rendimiento entre cada nivel de frutos, estableciéndose con un nivel del 95.0% de confianza.

Tabla N°7. ANOVA para el porcentaje de rendimiento de la obtención de extractos liofilizados.

Fuente de las variaciones	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	4.5266	9	0.5029	111.39	0.0000
Intra grupos	0.0903	20	0.0045		
Total	4.6169	29			

Al verificar que sí existía una diferencia estadísticamente significativa entre los porcentajes de rendimiento de los extractos liofilizados, se volvió necesario realizar la prueba con el Procedimiento de Tukey-Kramer, mejor conocida como la prueba de múltiples rangos, tal prueba se encuentra representada en la Tabla N°8.

Con el procedimiento de múltiples rangos, se puede observar detalladamente cuáles frutos representan la diferencia en el porcentaje de rendimiento y de esta manera establecer cuáles frutos son semejantes en cuanto a la obtención del extracto y establecer un juicio sobre qué factores externos o internos influyen en la obtención de estos.

Se observó que no existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que comparten una misma columna de X's, a manera de ejemplo: al comparar los frutos de *Passiflora platyloba* "Granadilla de huesito", *Chrysobalanus icaco* "Icaco" y *Annona purpurea* "Cincuya" se observó que compartían la misma columna de X's por lo que se dice que son grupos homogéneos y por lo tanto, no existe diferencia significativa entre estos, lo contrario sucede si se compara el fruto de *Gonolobus taylorianus* "Cuchamper" con *Passiflora platyloba* "Granadilla de huesito", ya que se observa que no son grupos homogéneos por lo tanto si existe diferencia significativa por no compartir la misma columna de X's.

Tabla N°8. Prueba de múltiples rangos para el rendimiento de la obtención de extractos liofilizados.

Fruto	Extractos liofilizados	Promedio rendimiento (%)	Grupos Homogéneos					
<i>Gonolobus taylorianus</i> "Cuchamper"	3	1.78	X					
<i>Passiflora platyloba</i> "Granadilla de huesito"	3	5.08		X				
<i>Chrysobalanus icaco</i> "Icaco"	3	5.51		X				
<i>Annona purpurea</i> "Cincuya"	3	6.28		X				
<i>Annona diversifolia</i> "Anona rosada"	3	10.06			X			
<i>Annona diversifolia</i> "Anona blanca"	3	11.62				X		
<i>Spondias purpurea</i> "Jocote de corona"	3	12.82				X	X	
<i>Spondias purpurea</i> "Jocote tronador"	3	13.21					X	
<i>Spondias purpurea</i> "Jocote chapín"	3	14.25					X	
<i>Licania platypus</i> "Sunza"	3	20.20						X

Se observa que existe ciertas diferencias en el porcentaje de rendimiento de cada uno de los extractos, el fruto que obtuvo un mayor porcentaje de rendimiento fue el de la especie *Licania platypus* "Sunza", por otra parte, el fruto de *Gonolobus taylorianus* "Cuchamper" obtuvo la menor cantidad de extracto liofilizado.

Al analizar estadísticamente las diferencias que existen en la cantidad de extractos obtenidos para cada uno de los frutos, se observa que las especies *Gonolobus taylorianus* "Cuchamper", *Annona diversifolia* "Anona rosada" y

*Licania platypus* “Sunza” son las únicas que poseen diferencias significativas en la cantidad de extracto obtenida con respecto a las demás especies; es decir, la cantidad de extracto obtenido entre estas especies es muy diferente. Las especies *Passiflora platyloba* “Granadilla de huesito”, *Chrysobalanus icaco* “Icaco” y *Annona purpurea* “Cincuya” no poseen diferencia significativa en la cantidad de extracto liofilizado obtenido; lo que indica que, al establecer la comparación entre la cantidad de extracto obtenida a partir de estas especies, el rendimiento es similar. La obtención de extractos liofilizados entre los frutos de *Annona diversifolia* “Anona blanca” y *Spondias purpurea* “Jocote de corona” no posee diferencia, las cantidades de extracto obtenidas son similares. Lo mismo sucede para el grupo de frutos de *Spondias purpurea* y sus variedades: “Jocote de corona” “Jocote tronador” y “Jocote chapín” al no resultar con diferencia significativas en la cantidad obtenida de extractos, la razón de esta similitud podría radicar en que estas variedades de frutos pertenecen a una misma especie y probablemente contengan metabolitos secundarios similares y afines al solvente utilizado para la extracción.

Puede decirse entonces que la diferencia que existe en el porcentaje de rendimiento de la extracción podría deberse al tipo de metabolitos secundarios afines al solvente utilizado, los cuales varían según la naturaleza de cada especie, factores ambientales, época de recolección y zona geográfica.<sup>(45)</sup> Muchos factores internos y externos influyen en la composición química de las plantas los cuales en la mayoría de las ocasiones son difíciles de predecir.

Es muy importante tomar en cuenta la cantidad de extracto liofilizado que se obtiene, el cual contiene metabolitos secundarios de naturaleza hidrosoluble debido a que esta es la base para realizar los cálculos que determinan el contenido de fenoles totales en cada fruto fresco.

## 5.2 Cuantificación de fenoles totales mediante el método Folin-Ciocalteu en los diez frutos en estudio.

Para realizar la cuantificación de fenoles totales, fue necesario preparar las cubetas con soluciones estándar y las respectivas muestras con soluciones de trabajo para su lectura en el Espectrofotómetro Ultravioleta Visible, agregando la cantidad necesaria de solución estándar o muestra y los reactivos que se utilizan para que se lleve a cabo la reacción: solución Folin-Ciocalteu y solución de carbonato de sodio al 10.75% m/v, después de transcurridos 30 minutos, las cubetas fueron ingresadas al Espectrofotómetro Ultravioleta Visible leídas a una longitud de onda de 760 nm.

Para elaborar la curva de calibración, se preparó una solución madre de ácido gálico a una concentración de 0.2 mg/mL, a partir de esta solución se elaboraron las respectivas diluciones para obtener las soluciones estándar de concentración conocida de ácido gálico.

Al poner en contacto las soluciones estándar y los reactivos necesarios para provocar la reacción de óxido reducción, estas presentan una coloración azul característica, que se degrada en cuanto más diluida se encuentre, tal y como se puede apreciar en la Figura N°34.



Figura N°34. Coloración de soluciones estándar al reaccionar con la solución Folin-Ciocalteu 2N. (Imágenes propiedad del LIPN)

Las concentraciones de las soluciones estándar que se utilizaron fueron las siguientes: 100.00 µg/mL, 75.00 µg/mL, 50.00 µg/mL, 25.00 µg/mL, 12.50 µg/mL, 6.25 µg/mL, 3.12 µg/mL y 0.00. µg/mL. (Anexo N°5), dando una curva de calibración como la que se muestra en la Figura N°35.

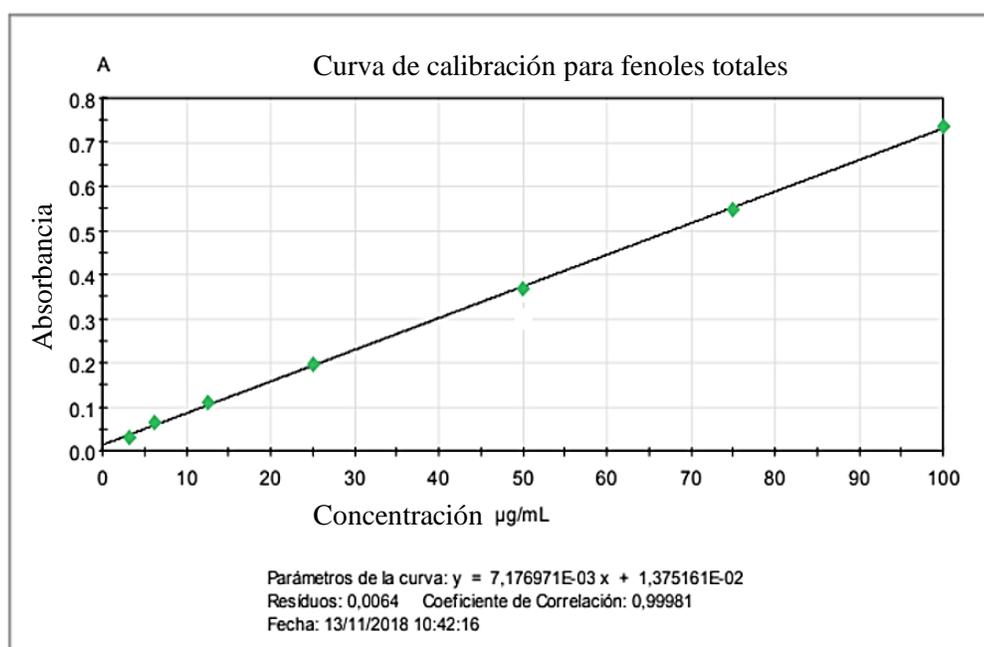


Figura N°35. Curva de calibración para cuantificación de fenoles totales.

Para cuantificar los fenoles totales en los frutos, se prepararon 3 cubetas para cada solución de trabajo, las cuales fueron preparadas con sus respectivos reactivos: 40 µL del reactivo Folin-Ciocalteu 2 N, 400 µL de agua bidestilada, 80 µL de solución de trabajo y 480 µL de solución de Carbonato de Sodio al 10.75% m/v y dejando reaccionar por 30 minutos. Las muestras fueron sometidas a la medición de absorbancia en el Espectrofotómetro Ultravioleta Visible. De la misma manera se elaboró un blanco para la cuantificación, el cual contenía todos los reactivos necesarios sin muestra.

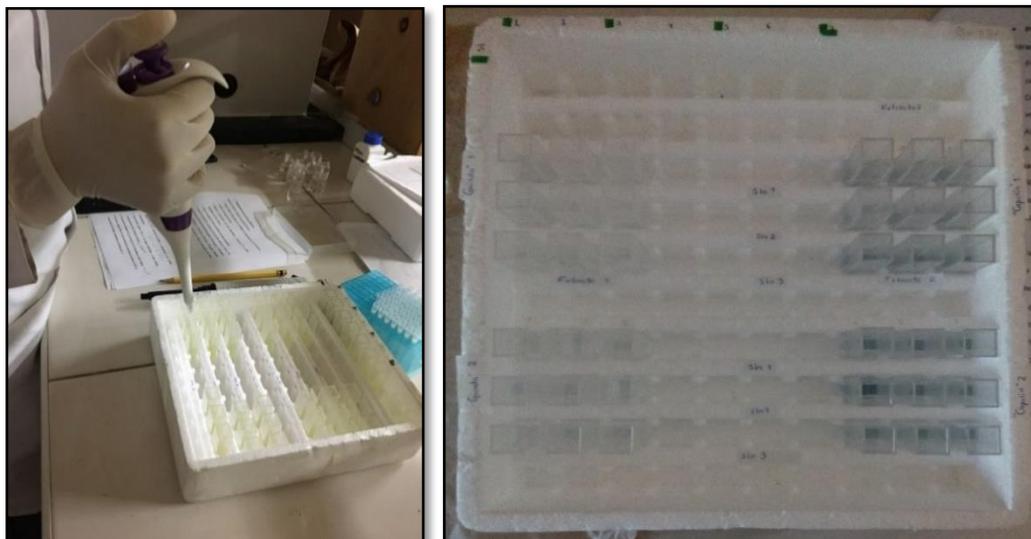


Figura N°36. Preparación de cubetas para el Espectrofotómetro UV-Vis.  
(Imágenes propiedad del LIPN)

Al medir las muestras, el Espectrofotómetro Ultravioleta Visible, proporcionó como resultado las absorbancias y concentraciones de cada cubeta en unidades de  $\mu\text{g/mL}$ .

Para decidir si los resultados son confiables y consecuentemente aceptar o no la validez de estos se utilizó el cálculo del Coeficiente de Variación (CV) con el programa Microsoft Excel utilizando como límite de CV un 10%, por lo que si al realizar los cálculos algún resultado sobrepasaba este límite se optaba por repetir el experimento.

A partir de los resultados de los promedios de concentración por solución de trabajo, se realizaron los cálculos para determinar la cantidad de fenoles totales como equivalente de miligramos de ácido gálico por cada 100 gramos de fruto fresco, relacionando la concentración de fenoles encontrada en la muestra, con la cantidad de extracto liofilizado obtenido por fruto y luego con la cantidad de fruto utilizado para la elaboración del extracto acuoso (Ver Anexo N°8).

Una vez realizado el análisis por triplicado se reporta el promedio de fenoles totales  $\pm$  la desviación estándar correspondiente, los resultados de los diez frutos del estudio se muestran a continuación en la Tabla N°9.

Tabla N°9. Resultados de cuantificación de fenoles totales en diez frutos de especies vegetales pertenecientes a la flora salvadoreña.

<b>Especie vegetal</b>	<b>Nombre común</b>	<b>Fenoles totales (mg) por cada 100 g de fruto fresco</b>
<i>Licania platypus</i>	“Sunza”	88.8367 $\pm$ 10.5421
<i>Gonolobus taylorianus</i>	“Cuchamper”	23.0129 $\pm$ 2.3669
<i>Chrysobalanus icaco</i>	“Icaco”	41.3478 $\pm$ 9.3140
<i>Passiflora platyloba</i>	“Granadilla de huesito”	22.2297 $\pm$ 2.4431
<i>Annona purpurea</i>	“Cincuya”	42.1942 $\pm$ 2.0807
<i>Annona diversifolia</i>	“Anona blanca”	169.0466 $\pm$ 1.6731
<i>Annona diversifolia</i>	“Anona rosada”	228.5080 $\pm$ 5.2255
<i>Spondias purpurea</i>	“Jocote tronador”	142.2419 $\pm$ 12.8406
<i>Spondias purpurea</i>	“Jocote chapín”	157.6471 $\pm$ 3.8607
<i>Spondias purpurea</i>	“Jocote de corona”	81.9043 $\pm$ 1.5678

La obtención de los resultados de la cuantificación de fenoles totales involucra etapas que son necesarias para llevar a cabo una investigación completa, el resumen de trabajo para un extracto liofilizado se muestra en el Anexo N°8. La etapa de la preparación previa abarca la identificación y recolección de cada uno de los frutos, así como también la preparación de los 3 extractos acuosos y su liofilización. La etapa de la cuantificación de fenoles totales como tal, involucra la preparación de las 3 soluciones de trabajo por cada extracto liofilizado, es decir 9 por cada uno de los frutos, con las cuales se realizó la lectura de su absorbancia con el espectrofotómetro UV-Vis. Con los datos obtenidos, se llevó a cabo la etapa del procesamiento de datos con su manejo estadístico para obtener el resultado de final de cada fruto.

Los resultados completos de cuantificación de fenoles totales para los diez frutos de la investigación se detallan en el Anexo N°9.

Para tener un mejor control sobre las cubetas que contenían las soluciones de trabajo pertenecientes a cada extracto liofilizado, cada una fue codificada con la abreviatura de su nombre común además de 3 dígitos, que en el orden de izquierda a derecha significan lo siguiente:

- Primer dígito:

El extracto liofilizado al que pertenecen, los que en total fueron 3.

- Segundo dígito:

La solución a la que pertenecen, de las cuales se realizan 3 por cada extracto liofilizado.

- Tercer dígito:

La celda que se someterá a la lectura en el espectrofotómetro UV-Vis, las cuales son 3 por cada solución de trabajo.

A manera de ejemplo, el código "Ab 1 1 1" significa que la muestra pertenece al fruto de "Anona blanca", proviene del extracto liofilizado 1, solución de trabajo 1, celda número 1.

A continuación, se muestra un ejemplo de los cálculos para el fruto de "Anona blanca", utilizando los datos del extracto liofilizado 1, solución de trabajo 1 cuyos detalles se muestran en color gris en la Tabla N°10. Los datos necesarios para el cálculo son los siguientes:

- Cantidad de fruto para realizar extracto: 7.500 g

- Cantidad de extracto liofilizado obtenido: 892.3 mg
- Concentración de solución de trabajo: 1 mg/mL.
- Promedio de concentración de fenoles totales (equivalente a ácido gálico) para solución de trabajo: 13.997  $\mu\text{g/mL}$

Como primer paso, es necesario calcular la cantidad fenoles totales que se encuentra en el extracto liofilizado obtenido, los cuales se expresan como equivalentes de ácido gálico. Se sabe que la solución de trabajo posee un equivalente de 1 mL a 1 mg de muestra, por lo que para este ejemplo: 1 mg de extracto contiene 13.997  $\mu\text{g}$  de ácido gálico, por lo tanto, se investiga cuántos  $\mu\text{g}$  de ácido gálico hay en esta cantidad:

13.997  $\mu\text{g}$  de ácido gálico  $\longrightarrow$  1 mg de extracto

X  $\mu\text{g}$  de ácido gálico  $\longleftarrow$  892.3 mg de extracto

$$X = \frac{892.3 \text{ mg}}{1 \text{ mg}} * 13.997 \mu\text{g}$$

$$X = 12489.9 \mu\text{g} = 12.4899 \text{ mg de ácido gálico en extracto liofilizado}$$

Posteriormente, es necesario calcular el ácido gálico total que hay por cada 100 g de fruto fresco, relacionando la cantidad de ácido gálico que hay en el extracto liofilizado con la cantidad de fruto que se utilizó para realizar extracto:

12.6899 mg de ácido gálico  $\longrightarrow$  7.500 g de fruto fresco

X mg de ácido gálico  $\longleftarrow$  100 g de fruto fresco

$$X = \frac{12.6899 \text{ mg} * 100 \text{ g}}{7.500 \text{ g}}$$

$$X = 166.5230 \frac{\text{mg de ácido gálico}}{100 \text{ g FF}}$$

Los resultados de la cuantificación de cada solución de trabajo y de los tres extractos liofilizados fueron promediados, el resultado final se expresa como el promedio  $\pm$  la desviación estándar para todos los frutos analizados en la presente investigación.

Tabla N°10. Resultados de cuantificación de fenoles totales de un extracto liofilizado del fruto de *Annona diversifolia* "Anona blanca".

EL (mg)	892.3								
Mx	Ab 111	Ab 112	Ab 113	Ab 121	Ab 122	Ab 123	Ab 131	Ab 132	Ab 133
A	0.106	0.106	0.106	0.11	0.108	0.109	0.109	0.105	0.106
C (µg/ml)	14	14.01	13.98	14.56	14.32	14.35	14.35	13.86	13.98
C prom (µg/ml)	13.997			14.41			14.063		
S	0.0153			0.1308			0.2554		
CV	0.11%			0.91%			1.82%		
FT EL (mg)	12.4892			12.858			12.5487		
FT (mg)/100 g FF/sln	166.523			171.4406			167.3162		
FT (mg)/100 g FF	168.4266								

EL: Extracto liofilizado. Mx: Muestra. A: Absorbancia. C: Concentración, C prom: Concentración promedio. S: Desviación estándar. FT EL: fenoles totales en extracto liofilizado. FT: fenoles totales. Ab: "Anona blanca".

### 5.3 Análisis estadístico para determinar las diferencias entre los resultados de cuantificación de fenoles totales de los diez frutos en estudio.

A partir de los resultados obtenidos se elaboró un gráfico y así poder observar de mejor manera cuál de los frutos presentó un mayor contenido de fenoles totales. Tal y como puede observarse en la Figura N°37 notablemente, el fruto de *Annona diversifolia* en su variedad "Anona rosada" es el que presentó una mayor cantidad de fenoles para la investigación.

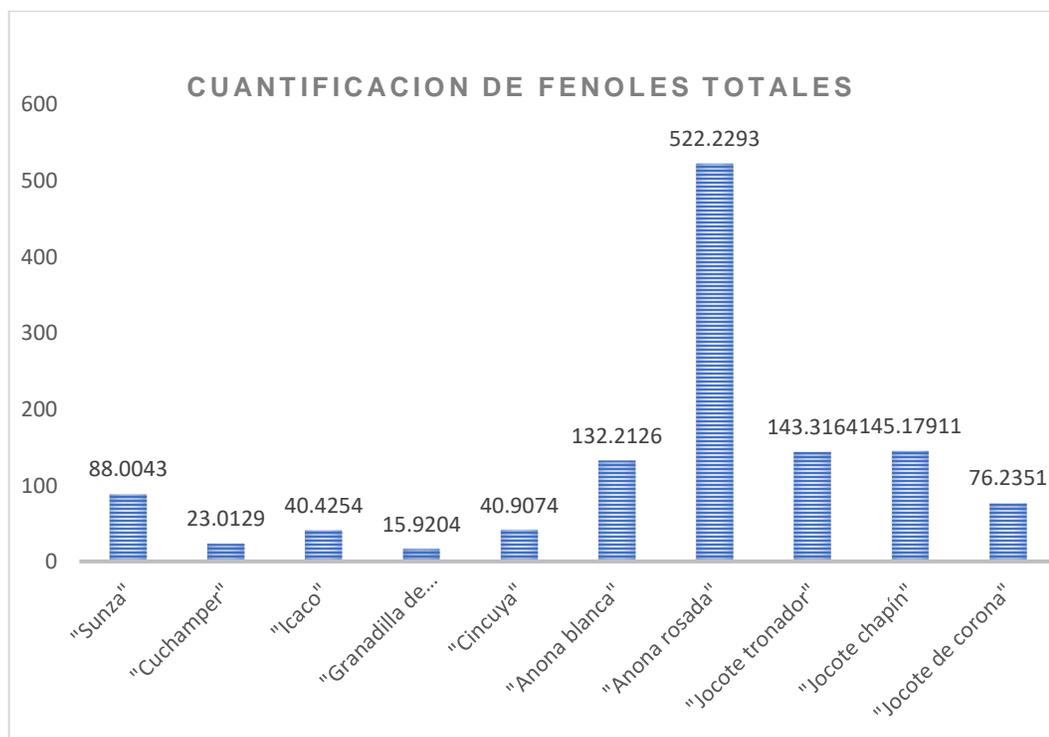


Figura N°37. Gráfico de cuantificación de fenoles totales de los frutos.

Al igual que en análisis anteriores, se utilizó el programa Statgraphics Centurion versión 16.2.04 para analizar los datos por ANOVA de un solo factor. Se realizó la comparación entre los resultados para establecer si existe una diferencia estadísticamente significativa entre estos y poder establecer con mayor

seguridad cuál de los frutos presenta una mayor cantidad de fenoles totales que otro.

Tabla N°11. ANOVA para resultados de cuantificación de fenoles totales para los frutos de la investigación.

Fuente de las variaciones	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	136792.	9	15199.1	354.34	0.0000
Intra grupos	857.874	20	42.8937		
Total	137650.	29			

La tabla N°11 representa el análisis de varianza de Fenoles Totales, muestra que el valor P de la prueba F es menor que 0.05, por lo tanto, si existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de Fenoles Totales entre un fruto y otro, con un nivel de confianza del 95.0%.

Después de realizar el análisis de varianza, se volvió necesario utilizar la prueba de múltiples rangos para verificar cuáles frutos son diferentes de otros en cuanto a su contenido de fenoles totales, dicha prueba se encuentra plasmada en la Tabla N°12, de esta manera se obtuvieron los grupos homogéneos del estudio, los cuales representan los frutos que poseen similares características en cuanto al contenido de fenoles totales. Se observó que no existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's.

Los pares de frutos que no muestran diferencias estadísticamente significativas, es decir, pertenecen a un mismo grupo homogéneo con un nivel del 95.0% de confianza fueron: *Passiflora platyloba* "Granadilla de huesito" y *Gonolobus taylorianus* "Cuchamper"; además de *Chrysobalanus icaco* "Icaco" y *Annona purpurea* "Cincuya"; también los frutos de *Spondias purpurea* "Jocote de corona" y *Licania platypus* "Sunza". Los frutos de *Spondias purpurea* en sus variedades:

“Jocote tronador” y “Jocote chapín”, *Annona diversifolia* y sus variedades: “Anona rosada” y “Anona blanca” si poseen una diferencia significativa entre ellos, lo que significa que no pertenecen a ningún grupo homogéneo.

Tabla N° 12. Prueba de múltiples rangos para los resultados de cuantificación de fenoles totales para los frutos de la investigación.

Nombre científico	Nombre común	Extractos analizados	Promedio PFT (mg/100 g FF)	Grupos Homogéneos																
				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10							
<i>Passiflora platyloba</i>	“Granadilla de huesito”	3	22.2297	X																
<i>Gonolobus taylorianus</i>	“Cuchamper”	3	23.0129	X																
<i>Chrysobalanus icaco</i>	“Icaco”	3	41.3478		X															
<i>Annona purpurea</i>	“Cincuya”	3	42.1942		X															
<i>Spondias purpurea</i>	“Jocote de corona”	3	81.9043			X														
<i>Licania platypus</i>	“Sunza”	3	88.8367			X														
<i>Spondias purpurea</i>	“Jocote tronador”	3	142.242				X													
<i>Spondias purpurea</i>	“Jocote chapín”	3	157.647					X												
<i>Annona diversifolia</i>	“Anona blanca”	3	169.047											X						
<i>Annona diversifolia</i>	“Anona rosada”	3	228.508																	X

A partir del análisis estadístico es posible decir que el fruto de “Anona rosada” es la que presenta un mayor contenido de fenoles totales de las especies analizadas, mientras que la “Granadilla de huesito” es la que menor cantidad posee. Por otra parte, no existe diferencia en el beneficio de consumir el fruto del “Cuchamper” o “Granadilla de huesito” con respecto a su contenido de fenoles totales, lo mismo sucede si se comparan el “Icaco” con la “Cincuya” y el “Jocote tronador” con la “Sunza” ya que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre estos pares de frutos.

El fruto que contiene una menor cantidad de fenoles totales en la presente investigación fue el de *Passiflora platyloba* “Granadilla de huesito”, sin embargo, dado que la capacidad antioxidante de los alimentos está determinada por una

mezcla de diferentes antioxidantes con diferentes mecanismos de acción entre los cuales existen interacciones sinérgicas, es necesario combinar más de un método para determinarla. Muchos estudios indican que el contenido de fenoles se encuentra fuertemente ligado a la actividad antioxidante, por lo que se vuelve conveniente realizar además de la cuantificación de fenoles totales, otros ensayos como la cuantificación de carotenoides totales o vitamina C que permitan indagar sobre la actividad antioxidante de este fruto. De esta manera, se logrará establecer un mejor juicio sobre los beneficios que el consumo de estos frutos proporciona, de ser positivo, podría utilizarse como incentivo para su cultivo y mayor comercialización además incentivar la fabricación de productos farmacéuticos y/o cosméticos utilizando como base extractos de este fruto, los cuales podrían ser de gran beneficio para la prevención de diversas enfermedades degenerativas.

Por el momento no se reporta en la bibliografía consultada información sobre el contenido de fenoles totales presentes en los frutos de *Licania platypus*, "Sunza", *Gonolobus taylorianus* "Cuchamper", *Chrysobalanus icaco* "Icaco", *Passiflora platyloba* "Granadilla de huesito" y *Annona purpurea* "Cincuya", la ausencia de esta información es clave, ya que podría decirse que la presente investigación es el primer estudio que cuantifica este tipo de metabolitos secundarios en los frutos mencionados.

**5.4 Análisis de varianza para la determinación de diferencia estadísticamente significativa entre los resultados de cuantificación de fenoles totales de las variedades pertenecientes a la especie *Spondias purpurea* y al género *Annona* del presente estudio.**

**5.4.1 ANOVA del contenido de fenoles totales en las variedades pertenecientes a la especie *Spondias purpurea*.**

Se realizó la comparación entre las variedades del fruto que pertenecen a la especie *Spondias purpurea*, para poder establecer un criterio sobre cuál variedad es más conveniente que otra en cuanto a la cantidad de fenoles totales que posean; se realizó ANOVA de un solo factor con un nivel del 95.0% de confianza, los resultados se muestran en la Tabla N°13.

Tabla N°13. ANOVA para los resultados de cuantificación de fenoles totales en variedades de la especie *Spondias purpurea*.

Fuente de las variaciones	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	9614.91	2	4807.46	79.14	0.0000
Intra grupos	364.491	6	60.7485		
Total	9979.4	8			

Al aplicar la prueba de múltiples rangos (Tabla N°14), se observó que no existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que compartan una misma columna de X's, lo cual significa que los frutos que no poseen una diferencia significativa son "Jocote tronador" y el "Jocote chapín" debido a que comparten la misma columna de X's; mientras que el fruto del "Jocote de corona" posee un valor menor de fenoles totales y con mayor diferencia significativa con respecto a las otras dos variedades.

Tabla N°14. Prueba de múltiples rangos para los resultados de cuantificación de fenoles totales para los frutos de variedades de *Spondias purpurea*.

Nombre científico	Nombre común	Extractos analizados	Promedio PFT	Grupos Homogéneos	
<i>Spondias purpurea</i>	“Jocote de corona”	3	81.9043	X	
<i>Spondias purpurea</i>	“Jocote tronador”	3	142.242		X
<i>Spondias purpurea</i>	“Jocote chapín”	3	157.647		X

El contenido de fenoles presentes entre las variedades de *Spondias purpurea* es muy diferente, por tanto, el consumo del fruto del “Jocote chapín” resultaría más beneficioso en cuanto a la ingesta de fenoles en comparación de las variedades de “Jocote tronador” y “Jocote de corona”.

Existen reportes previos de cuantificación de fenoles totales para la especie *Spondias purpurea* donde no se especifica la variedad estudiada, cuyos resultados son de 55.0<sup>(4)</sup> y 160 a 240 mg/100 g en fruto fresco,<sup>(35)</sup> razón por la cual, se vuelve difícil establecer una comparación entre cada una de las variedades con las reportadas previamente.

El fruto de esta especie vegetal es muy bien conocido y es consumido a menudo por la población en su época de fructificación ya sea crudo o cocido, con o sin cáscara y también en conservas y refrescos. El cultivo de *Spondias purpurea* puede ser utilizado como una alternativa en regiones con suelos degradados ya que puede ser cultivado en condiciones de poca precipitación pluvial, y en suelos pobres y pedregosos. Las frutas y otras partes del árbol de “Jocote” y especies relacionadas también se ha utilizado para el tratamiento de diversas dolencias como la diarrea, úlceras, aftas, disentería y distensión abdominal.<sup>(18)</sup>

En el país, es muy esperado el período de fructificación del “Jocote de corona”, buena parte de la población consume este fruto debido a que es muy carnoso y posee un sabor delicioso. Es sabido que es utilizado en diversos platillos únicos,

preparación de bebidas e incluso en la elaboración de mermelada. Sin embargo, el “Jocote chapín” y “Jocote tronador” podrían utilizarse con los mismos fines y de esta manera proporcionarían un mayor aporte beneficioso al organismo con su ingesta, ayudando a prevenir enfermedades causadas por el desequilibrio entre la producción de radicales libres y la respuesta antioxidante del organismo como aterosclerosis, insuficiencia renal, cáncer, diabetes, hipertensión arterial y envejecimiento prematuro.<sup>(17)</sup>

Al incentivar el cultivo y comercialización de esta especie, no solamente para el consumo sino también para su utilización como materia prima en la fabricación de tratamientos farmacéuticos o cosméticos preventivos, se beneficiaría el sector agrícola contribuyendo a la economía de muchas familias salvadoreñas.

#### **5.4.2 ANOVA del contenido de fenoles totales en las variedades pertenecientes al género *Annona*.**

Se estableció una comparación entre las especies pertenecientes al género *Annona*, las cuales son: *Annona purpurea*: “Cincuya” y *Annona diversifolia* en dos variedades cuyos nombres comunes son “Anona rosada” y “Anona blanca”, se utilizó el programa Statgraphics Centurion XVI versión 16.2.04 para analizar los datos por ANOVA de un solo factor con un nivel del 95.0% de confianza, los resultados se muestran a continuación en la Tabla N°15.

Tabla N°15. ANOVA para los resultados de cuantificación de fenoles totales en frutos de especies del género *Annona*.

<b>Fuente de las variaciones</b>	<b>Suma de Cuadrados</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Promedio de los cuadrados</b>	<b>Razón-F</b>	<b>Valor-P</b>
Entre grupos	54340.0	2	27170.0	2367.16	0.0000
Intra grupos	68.8674	6	11.4779		
Total	54408.9	8			

El valor P de la prueba F es menor que 0.05, por lo tanto, existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media del contenido de fenoles totales entre los frutos de las especies del género *Annona* pertenecientes al presente estudio.

Al aplicar la prueba de múltiples rangos (Tabla N°16), se observó que no existen diferencias estadísticamente significativas entre aquellos niveles que comparten una misma columna de X's, lo que significa que estos frutos poseen una diferencia estadísticamente significativa entre ellos. Es posible observar, que de las tres especies de *Annona*, la especie de "Anona rosada" es la que posee una mayor cantidad de fenoles totales, seguida de la "Anona blanca".

Tabla N°16. Prueba de múltiples rangos de los resultados de cuantificación de fenoles totales para los frutos de las especies del género *Annona*.

Nombre científico	Nombre común	Extractos analizados	Promedio PFT	Grupos Homogéneos		
<i>Annona purpurea</i>	"Cincuya"	3	42.1942	X		
<i>Annona diversifolia</i>	"Anona blanca"	3	169.047		X	
<i>Annona diversifolia</i>	"Anona rosada"	3	228.508			X

El consumo de "Anona rosada" proporcionaría mayores beneficios en cuanto a la ingesta de fenoles en comparación de la "Anona blanca" o "Cincuya", por lo que, si se trata de estos tres frutos, se volvería más recomendable el consumo o utilización de la "Anona rosada".

Normalmente, el fruto de *Annona purpurea* "Cincuya" se consume fresco en los lugares donde se encuentra, puede utilizarse para elaborar jugos o bebidas.<sup>(12)</sup> El uso que la población le da al fruto es el primer motivo para investigar qué metabolitos secundarios se encuentran relacionados a esta actividad.

Según la revisión bibliográfica, los frutos del género *Annona* contienen una cantidad considerable de compuestos fenólicos, estos compuestos son antioxidantes y ayudan a prevenir enfermedades asociadas con el estrés oxidativo como el cáncer, la aterosclerosis y enfermedades neurodegenerativas. Los antioxidantes participan como eliminadores de radicales libres al regular o proteger la defensa antioxidante endógena la cual es común observar que por una dieta baja en el consumo de frutas y verduras se ve disminuida. La actividad antioxidante de un alimento vegetal proviene de las interacciones de estructuras bioquímicas complejas, una serie de parámetros se han definido para caracterizar esta actividad, entre los que se encuentran los fenoles, cuya concentración en los frutos de esta especie se encuentra entre las más altas en el estudio.

*Annona diversifolia* es una fruta nativa de América Central que se ha convertido en un cultivo importante debido a su delicioso sabor, alto contenido en pulpa, valor nutricional y propiedades antioxidantes. En investigaciones previas realizadas en Chiapas, México, se reporta un contenido de fenoles totales de 170.88 mg/100 g para la “Anona rosada” y 170.16 mg/100 g para la “Anona blanca”. Los resultados demuestran que existe cierta diferencia con los resultados del presente estudio, sin embargo, es necesario tomar en cuenta los factores que afectan el contenido de metabolitos secundarios en las plantas, como la zona geográfica, el clima o la época de recolección. A pesar de esta diferencia en los resultados, el fruto de la “Anona” se vuelve prometedor por su considerable contenido de fenoles que poseen una fuerte relación con la actividad antioxidante, la cual también ya ha sido determinada previamente.<sup>(27)</sup>

Los resultados reportados en la presente investigación pueden ser de gran aporte para futuras investigaciones sobre las especies de *Annona* cosechadas en el país, sin embargo, se vuelven necesarias posteriores investigaciones con

ensayos *in vitro* o *in vivo* que pueden contribuir a la confirmación del efecto antioxidante de estos frutos y su papel en la prevención de enfermedades crónicas, neurodegenerativas, cáncer y el envejecimiento prematuro. Además, puede ser una contribución para una mayor comercialización de estos frutos nativos de la región y su aplicación en la formulación de distintos productos farmacéuticos y/o cosméticos que desempeñen un rol importante en la prevención de los problemas antes mencionados.

Por todo lo mencionado anteriormente se considera muy importante continuar con las investigaciones sobre la actividad antioxidante de estos frutos.

**CAPITULO VI**  
**CONCLUSIONES**

## 6.0 CONCLUSIONES

1. Según los resultados obtenidos, el fruto que contiene mayor cantidad de fenoles totales es el de *Annona diversifolia* variedad “Anona rosada”; mientras que el fruto que presentó una menor cantidad de fenoles fue el de *Passiflora platyloba* “Granadilla de huesito”.
2. Las especies de *Annona* que fueron estudiadas, presentaron cierta diferencia en el contenido de fenoles totales, la especie que mayor cantidad posee es la de *Annona diversifolia* variedad “Anona rosada”, mientras que la especie que contiene menor cantidad es la de *Annona purpurea* “Cincuya”.
3. Las variedades de *Spondias purpurea* que presentaron una mayor cantidad de fenoles totales en la investigación fueron las de “Jocote chapín” y “Jocote tronador”, los cuales no mostraron una diferencia estadísticamente significativa entre sus resultados; mientras que la variedad de “Jocote de corona” presenta una menor cantidad de fenoles totales.
4. Por el momento, no se encontraron datos de cuantificación de fenoles totales o determinación de actividad antioxidante en los frutos y su parte comestible de *Licania platypus*, “Sunza”, *Gonolobus taylorianus* “Cuchamper”, *Chrysobalanus icaco* “Icaco”, *Passiflora platyloba* “Granadilla de huesito” y *Annona purpurea* “Cincuya”; lo que indica que esta investigación podría ser la primera en determinar el contenido de fenoles totales de los frutos pertenecientes a las especies mencionadas.

5. A partir de este estudio, se ha confirmado que el proceso de liofilización es un método de secado ideal para la investigación en extractos acuosos, ya que no son expuestos a temperaturas altas lo que degradaría los compuestos antioxidantes presentes en él. Además, el solvente es retirado por completo, lo que evita la contaminación microbiológica y el extracto puede ser conservado durante más tiempo.
6. Los resultados de cuantificación de fenoles totales indican que en el país existen frutos tropicales que pueden utilizarse para prevenir o tratar enfermedades ocasionadas por el estrés oxidativo.
7. El consumo de frutos con alto contenido de fenoles totales está relacionado con el efecto antioxidante que ejercen en el organismo, con el que es posible prevenir enfermedades causadas por el estrés oxidativo como las enfermedades cardiovasculares, diabetes o insuficiencia renal; además de prevenir ciertos tipos cáncer y actuar como antiinflamatorio.

**CAPITULO VII**  
**RECOMENDACIONES**

## 7.0 RECOMENDACIONES

1. Realizar el conjunto de ensayos que permitan establecer con mayor certeza la actividad antioxidante de los frutos estudiados con los métodos DPPH o ABTS, así será posible sugerir su utilización a nivel de la industria farmacéutica, elaborando productos que brinden beneficios preventivos de los padecimientos relacionados con el estrés oxidativo.
2. Realizar la cuantificación de otros metabolitos secundarios con efecto antioxidante ya sean carotenoides totales o vitamina C, además la separación e identificación de metabolitos secundarios aislados de los frutos en estudio.
3. Estudiar otros frutos comúnmente consumidos por la población para determinar la cantidad de fenoles totales presentes en estos, con el fin de evaluar si su consumo previene enfermedades crónicas no transmisibles y ciertos tipos de cáncer.
4. A las entidades del Ministerio de Agricultura y Ganadería, incentivar el cultivo y consumo de frutos prometedores por su efecto antioxidante para conseguir beneficios a la economía salvadoreña proporcionando oportunidades de trabajo a los habitantes y mejorar la calidad de vida de la población.
5. Reconocer y confirmar las especies vegetales que se deseen investigar con la ayuda de un profesional, para poder recomendar el uso o consumo de estos frutos a la población.

6. Informarse sobre las características de los metabolitos secundarios que se desea extraer para elegir adecuadamente el solvente de extracción, ya que de esto depende el rendimiento que se obtenga en la obtención de metabolitos secundarios con efecto antioxidante, los cuales existen de naturaleza hidrofílica y lipofílica.
  
7. Practicar las debidas precauciones durante el análisis de metabolitos secundarios y la determinación de su actividad antioxidante para evitar la degradación de estos y obtener resultados precisos.

## BIBLIOGRAFIA

1. Adelokun, O. E., Kudanga, T., Parker, A., Green, I. R., Roes-hill, M., & Burton, S. G. (2012). Laccase-catalyzed dimerization of ferulic acid amplifies antioxidant activity. *Journal of Molecular Catalysis. B, Enzymatic*, 74(1–2), 29–35. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2011.08.010>
2. Agudelo, I. J., Wagner, M. L., & Ricco, R. A. (2015). Métodos empleados en el análisis de los polifenoles en un laboratorio de baja complejidad. *Lilloa*, 52(2), 161–174.
3. Agudo, L. (2006). Técnicas para la determinación de compuestos antioxidantes en alimentos. *Autodidacta, Revista Para La Educación En Extremadura*.
4. Almeida, M. M., de Sousa, P. H., Arriaga, Â. M., do Prado, G. M., Magalhães, C. E., Maia, G. A., & de Lemos, T. L. (2011). Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. *Food Research International*, 44(7), 2155–2159.
5. Amaya, L. M. (2013). *Determinacion de fenoles, flavonoides y capacidad antioxidante en melaza, azúcar blanco y moreno en el ingenio Chaparrastique por el método de Espectrofotometria Ultravioleta-Visible*. Tesis de Licenciatura. Universidad de El Salvador.
6. Asencio Alvarado, J. I. (2012). *Evaluación de la actividad insecticida y repelente del extracto obtenido a partir de la semilla de Annona diversifolia (Anona) sobre el Zabrotes subfasciatus (Gorgojo común del frijol)*. Tesis de Licenciatura. Universidad de El Salvador.

7. Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana.
8. Benítez, D. E. (2006). Vitaminas y oxidorreductasas antioxidantes: Defensa ante el estrés oxidativo. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 25(2).
9. Benítez, D. E. (2006). Vitaminas y oxidorreductasas antioxidantes: Defensa ante el estrés oxidativo. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 25(2).
10. Bilia A., Braca A., Mendez J., M. I. (2000). Molluscicidal and piscicidal activities of Venezuelan chrisobalanaceae plants. *Life Sciences*, 66(4).
11. Chacón Ordóñez, T., & Esquivel Rodríguez, P. (2013). Revisión frutos tropicales como fuente de carotenoides: biosíntesis , composición, biodisponibilidad y efectos del procesamiento. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos.*, 4(1), 1–23.
12. Chapingo, U. A. (2015). *Anonaceae. Plantas antiguas. Estudios recientes. Parte 2.* (E. Vidal Lezama, N. A. Vidal Martínez, & L. Vidal Hernández).
13. Chízmar Fernández, C. (2009). *Plantas comestibles de Centroamérica.* (C. Instituto Nacional de Biodiversidad) (1a ed.). Santo Domingo de Heredia.
14. Cox, S. E. . (2001). *Lycopene analysis and horticultural attributes of tomatoes.* Colorado State University. Degree of Master of Science. Colorado State University.

15. Dhawan, K., Dhawan, S., & Sharma, A. (2004). Passiflora: A review update. *Journal of Ethnopharmacology*, *94*(1), 1–23.
16. Edwards, A. M. (2014p). Progress in allergy management: Chromones. *History of Allergy*, *100*, 317–322. <https://doi.org/10.1159/000359986>
17. Elejalde Guerra, J. I. (2001). Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. *Anales de Medicina Interna*, *18*(6), 326–335. <https://doi.org/10.4321/s0212-71992001000600010>
18. Engels, C., Gräter, D., Esquivel, P., Jiménez, V. M., Gänzle, M. G., & Schieber, A. (2012). Characterization of phenolic compounds in jocote (*Spondias purpurea* L.) peels by ultra high-performance liquid chromatography/electrospray ionization mass spectrometry. *Food Research International*, *46*(2), 557–562. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.04.003>
19. Font Quer, P. (1993). *Diccionario de Botánica*. (E. L. S.A.) (2da ed.). Barcelona, España.
20. Food and Agriculture Data. Food and Agriculture Organization of the United Nations. (2013). Consultado en: <http://faostat3.fao.org/home/S>
21. García, R., Martínez, G., Herrera, R., & C., A. (2012). Fuentes y beneficios de los antioxidantes fenólicos. *Ciencia Cierta*, *8*(31).
22. Guerra-Araiza, C., Álvarez-Mejía, A. L., Sánchez-Torres, S., Farfan-García, E., Mondragón-Lozano, R., Pinto-Almazán, R., & Salgado-Ceballos, H. (2013). Effect of natural exogenous antioxidants on aging and on neurodegenerative diseases. *Free Radical Research*, *47*(6–7), 451–462.

23. Gupta, M. P. (1996). *270 plantas medicinales Iberoamericanas*. (Medica Panamericana) (1ª edición).
24. Gutierrez, M., Ortiz, C., & Mendoza, A. (2008). Medición de fenoles y actividad antioxidante en malezas usadas para alimentación animal. *Simposio de Metrología*, 1–5. Consultado en: <http://cenam.mx/simposio2008>
25. Huang, D., Boxin, O. U., & Prior, R. L. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(6), 1841–1856. <https://doi.org/10.1021/jf030723c>
26. Instituto Nacional del Cáncer, N. (2014). Diccionario de Cáncer. Consultado en: Septiembre 12, 2018, extraído de: <https://www.cancer.gov/espanol>
27. Julián-Loeza, A. P., Santos-Sánchez, N. F., Valadez-Blanco, R., Sánchez-Guzmán, B. S., & Salas-Coronado, R. (2011). Chemical composition, color, and antioxidant activity of three varieties of *Annona diversifolia* Safford fruits. *Industrial Crops and Products*, 34(2), 1262–1268.
28. Kalt, W. (2005). Effects of production and processing factors on major fruit and vegetable antioxidants. *Institute of Food Technologists*, 70(1), 11–19.
29. Kanski, J., Aksenova, M., Stoyanova, A., & Butterfield, D. A. (2002). Ferulic acid antioxidant protection against hydroxyl and peroxy radical oxidation in synaptosomal and neuronal cell culture systems in vitro : structure – activity studies. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13, 273–281.
30. Lagos, J. A. (2013). *Compendio de Botánica Sistemática El Salvador*. (Dirección de Publicaciones e Impresos del Ministerio de Cultura y

Comunicaciones). San Salvador.

31. Levine, D. M., Krehbiel, T. C., & Berenson, M. L. (2012). *Estadística Descriptiva* (1a ed.). México: Pearson Education.
32. López, L. I., Leyva, E., & García, R. F. (2011). Las naftoquinonas: Más que pigmentos naturales. *Revista Mexicana de Ciencias Farmaceuticas*, 42(1), 6–17.
33. MacDonald-Wicks, L.K.; Wood, L.G.; Garg, M. L. . (2006). Methodology for the determination of biological antioxidant capacity in vitro: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 86(13), 2046–2056. <https://doi.org/10.1002/jsfa>
34. Magoni, C., Bruni, I., Guzzetty, L., Sangiovanni, E., Dell'Agil, M., & Massimo, L. (2015). Cofee pulp waste as a source of antioxidant phytocomplexes. 110° Congresso della Società botanica italiana.
35. Maldonado-Astudillo, Y. I., Alia-Tejacal, I., Núñez-Colín, C. A., Jiménez-Hernández, J., Pelayo-Zaldívar, C., López-Martínez, V., ... Valle-Guadarrama, S. (2014). Postharvest physiology and technology of *Spondias purpurea* L. and *S. mombin* L. *Scientia Horticulturae*, 174(1), 193–206. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2014.05.016>
36. Méndez Cárdenas, L. I. (2006). *Validación farmacológica de la actividad analgésica de las infusiones de la corteza de Spondias purpurea L. (Jocote), hojas de Chyranthodendron pentactylon (Manita) y Croton guatemalensis (Copalchi)*. Universidad de San Carlos, Guatemala.

37. Montero, M. (1996). Los radicales libres y las defensas antioxidantes. Revisión. *Anales de La Facultad de Medicina*. <https://doi.org/1609-9419>
38. Morais, D. R., Rotta, E. M., Sargi, S. C., Schmidt, E. M., Bonafe, E. G., Eberlin, M. N., ... Visentainer, J. V. (2015). Antioxidant activity, phenolics and UPLC-ESI(-)-MS of extracts from different tropical fruits parts and processed peels. *Food Research International*, 77, 392–399. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2015.08.036>
39. Muller, K. E. (2015). *Capacidad antioxidante y contenido de flavonoides entre las semillas de chia negra y chia blanca*. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional del Altiplano. Perú.
40. Organización Mundial de la Salud. (2015). Temas de salud. Consultado en Septiembre 6, 2018, extraído de: <http://www.who.int/topics/cancer/es/>
41. Orozco J., Chavarría M., Alvarado G., C. E. (2017). Actividad Gastroprotectora del extracto etanólico de hojas de *Licania platypus* (Hemsl.) Fritsh. *Revista Médica de La Universidad de Costa Rica*, (506), 1–11.
42. Peñarrieta, J., Tejeda, L., Mollinedo, P., Vila, J., & Bravo, J. (2014). Phenolic compounds in food. *Bolivian Journal of Chemistry*, 31(312), 68–81. <https://doi.org/10.1007/s00394-008-2002-2>
43. Pérez Campos, A. M., & García Villalta, J. E. (2008q). *Caracterización morfológica del género Annona, importancia etnobotánica, ecológica, económica; en los cantones Los Laureles, municipio de San Juan Tepezontes y El Socorro, municipio de San Antonio Masahuat,*

*Departamento de La Paz, El Salvador. Universidad de El Salvador.*

44. Quílez, A. M., Fernández-Arche, M. A., García-Giménez, M. D., & De la Puerta, R. (2018ar). Potential therapeutic applications of the genus *Annona*. Local and traditional uses and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.06.014>
45. Radušienė, J., Karpavičienė, B., & Stanius, Ž. (2012). Effect of External and Internal Factors on Secondary Metabolites Accumulation in St. John's Wort. *Botanica*, 18(2), 101–108. <https://doi.org/10.2478/v10279-012-0012-8>
46. Ramirez Navaz, J. S. (2006). Liofilización de Alimentos. *Recitela*, 6(2), 2–36. Extraído de: <https://books.google.com.ec/books>
47. Real Academia Española. (2017). Diccionario de la Lengua Española. Consultado en: Septiembre 12, 2018, extraído de: <http://dle.rae.es/>
48. Remington, G. (2005). *The science and practice of Pharmacy*. (Lippincott Williams & Wilkins, Ed.) (21th ed.).
49. Robards, K. (2003). *Strategies for the determination of bioactive phenols in plants, fruit and vegetables*. *Journal of Chromatography A* (Vol. 1000). [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(03\)00058-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(03)00058-X)
50. Robbins, R. J. (2003). Phenolic acids in foods : An overview of analytical methodology phenolic acids in foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(November), 2866–2887. <https://doi.org/10.1021/jf026182t>

51. Running, W. (1993). *Dictionary of natural products. Journal of Chemical Information.* (ACS publications).
52. Salaverry O. (2006). Pigmentos naturales quinónicos. *Centro de Producción Editorial Universidad Nacional Mayor de San Marcos.*, (40), 21–22.
53. Sameh, S., Al-Sayed, E., Labib, R. M., & Singab, A. N. (2018). Genus *Spondias*: A Phytochemical and Pharmacological Review. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine: ECAM*, 2018, 5382904. <https://doi.org/10.1155/2018/5382904>
54. Serra, S. (2006). *Desarrollo de derivados de 4-hidroxycumarina con diferente actividad farmacológica.* Tesis Doctoral. UNIVERSITA' DEGLI STUDI DI CAGLIARI.
55. Soler, A. (2009). *Estudio de la capacidad antioxidante y la biodisponibilidad de los compuestos fenólicos del aceite de oliva. Primeras etapas en el desarrollo de un aceite de oliva funcional.* Tesis Doctoral. Univeritat de Lleida.
56. Srinivasan, M., Sudheer, A., & Menon, V. (2007). Ferulic Acid: Therapeutic potential through its antioxidant property recent advances in Indian herbal drug research. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 40(2), 92–100. <https://doi.org/10.3164/jcbn.40.92>
57. Stalikas, C. D. (2007). Extraction, separation, and detection methods for phenolic acids and flavonoids. *Journal of Separation Science*, 30(18), 3268–3295. <https://doi.org/10.1002/jssc.200700261>

58. The free dictionary. (2003). Medical Dictionary. Consultado en: Septiembre 12, 2018, extraído de: <https://www.thefreedictionary.com/ethnobotanical>
59. Thomas-Doménech, J. M. (1998b). *Atlas temático de botánica*. (S. A. Idea Books) (1° edición).
60. Trejo Márquez, M. A. (2009). Evaluación de capacidad antioxidante y determinación de fenoles totales para frutos. *Unam*, 1–15.
61. Tropicos.org. (2018). Missouri Botanical Garden. Consultado en: <http://tropicos.org/NameSearch.aspx>
62. Vanaclocha, B., & Cañigüeral, S. (1980). *Fitoterapia, Vademécum de Prescripción* (4°).
63. Vargas-Simón, G., Soto-Hernández, R. M., Rodríguez-González, M. T., & Escalante-Estrada, J. A. (2000). Análisis fitoquímico preliminar del fruto del icaco (*Chrysobalanus icaco* L.): flavonoles y flavonas. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, VI(02), 195–198.
64. Venancio, V. P., Cipriano, P. A., Kim, H., Antunes, L. M. G., Talcott, S. T., & Mertens-Talcott, S. U. (2017). Cocoplum (*Chrysobalanus icaco* L.) anthocyanins exert anti-inflammatory activity in human colon cancer and non-malignant colon cells. *Food and Function*, 8(1), 307–314. <https://doi.org/10.1039/c6fo01498d>
65. Venancio, V. P., Marques, M. C., Almeida, M. R., Mariutti, L. R., Souza, V. C., Barbosa, F., Antunes, L. M. (2016). *Chrysobalanus icaco* L. fruits inhibit NADPH oxidase complex and protect DNA against doxorubicin-induced

damage in Wistar male rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health - Part A: Current Issues*, 79(20), 885–893.

66. Vidal Lezama, E., Vidal Martínez, N. A., & Vidal Hernández, L. (2011). *Anonaceas. Plantas antiguas. Estudios recientes. Parte 2.* (1a ed.). México: UNICACH.

67. Zhao, Z., & Moghadasian, M. H. (2008). Chemistry , natural sources , dietary intake and pharmacokinetic properties of ferulic acid : A review. *Food Chemistry*, 109, 691–702.

## GLOSARIO

**Actividad anticancerígena:** Relacionado con la prevención o el retraso de la evolución del cáncer.<sup>(26)</sup>

**Actividad antimicrobiana:** Que combate los microorganismos o evita su aparición.<sup>(62)</sup>

**Actividad antineoplásica:** Contra las neoplasias o tumores malignos.<sup>(62)</sup>

**Actividad antioxidante:** Dícese de aquella sustancia, como el té verde, que impide la oxidación celular, responsable de muchos desórdenes corporales. Evita la oxidación de las células del cuerpo; relacionado con el envejecimiento.<sup>(62)</sup>

**Angiosperma:** Grupo de plantas fanerógamas cuyos carpelos forman una cavidad cerrada u ovario, dentro del cual están las semillas, las cuales, a su vez, se desarrollan protegidas en el interior del fruto.<sup>(59)</sup>

**Antiespermatogénesis:** Que evita el proceso de formación de las células sexuales masculinas, desde la espermatogenia hasta los espermatozoides.<sup>(62)</sup>

**Antiséptico:** Dícese del agente que previene o detiene la putrefacción o la infección; destruye o inhibe gérmenes, bacterias y otros microorganismos, además sirve para limpiar heridas y prevenir infecciones.<sup>(62)</sup>

**Arilo:** Cualquier crecimiento especializado del funículo que cubre o es agregado a la semilla, o sea a cualquier apéndice o engrosamiento de la cubierta de la semilla de las fanerógamas.<sup>(59)</sup>

**Astringente:** Que bloquea determinadas secreciones; que produce contracción, a menudo localizada, después de la aplicación tópica. Dícese de un agente que hace contraerse los tejidos corporales y reduce secreciones, así se reduce el flujo de sangre u otros fluidos. Sustancia que, una vez absorbida por los tejidos, suprime casi por entero las secreciones, con cauterización superficial.<sup>(62)</sup>

**Cáncer:** El cáncer es un proceso de crecimiento y diseminación incontrolados de células. Puede aparecer prácticamente en cualquier lugar del cuerpo.<sup>(26)</sup>

**Colagogo:** Que provoca la salida de la bilis de la vejiga biliar y de los canalículos extrahepáticos; o, con mayor generalidad, que actúa sobre la secreción biliar al aumentar las contracciones de la vesícula biliar. Esto propicia una mejor asimilación de los alimentos por lo que favorece la digestión.<sup>(62)</sup>

**Colerético:** Remedio estimulante de la producción biliar a través del hígado. Las plantas con propiedades coleréticas resultan muy eficaces en los casos de insuficiencia biliar. La achicoria contiene componentes con esta propiedad.<sup>(62)</sup>

**Dicotiledónea:** Clase de plantas angiospermas que poseen dos cotiledones en el embrión, caracterizada por una raíz principal formada a partir de la radícula y con crecimiento secundario en espesor.<sup>(19; 59)</sup>

**Emenagogo:** Estimula la menstruación. Balancea el sistema reproductor femenino. Agente que produce o regulariza la menstruación.<sup>(62)</sup>

**Endocarpo:** Zona más interna del fruto. Popularmente se conoce como semilla.<sup>(59)</sup>

**Enfermedades crónicas no transmisibles:** Las enfermedades no transmisibles - o crónicas - son afecciones de larga duración con una progresión generalmente lenta, las principales son: Enfermedades cardiovasculares, el cáncer, enfermedades respiratorias crónicas y la diabetes.<sup>(40)</sup>

**Enfermedades degenerativas:** Enfermedad en la cual la función o la estructura de los tejidos u órganos afectados empeoran con el transcurso del tiempo. Como, por ejemplo, la osteoartritis, la osteoporosis y la enfermedad de Alzheimer.<sup>(40)</sup>

**Ensayo *in vitro*:** Conjunto de fenómenos observados en el laboratorio a partir de productos biológicos vivos. Método para mantener en vida diversos organismos vivos en condiciones diferentes a las naturales, con técnicas de laboratorio.<sup>(40)</sup>

**Ensayo *in vivo*:** Es la experimentación con un todo, que viven organismos en comparación. Ensayos con animales y ensayos clínicos son dos formas de investigación *in vivo*. Los ensayos *in vivo* son empleados más a menudo en *in vitro*, ya que es más adecuado para la observación de los efectos globales de un experimento sobre un tema de vida.<sup>(40)</sup>

**Exocarpo:** Capa más externa del fruto, popularmente llamada "cáscara". Varía de un fruto a otro.<sup>(59)</sup>

**Fenología:** Estudio de los fenómenos biológicos en relación con el clima, principalmente en los cambios estacionales.<sup>(47)</sup>

**Gimnosperma:** Plantas que tienen las semillas al descubierto o por lo menos sin la protección de un verdadero pericarpo, sin fruto propiamente dicho, como las de los tejos, pinos, etc. Es término que se opone a angiospermo.<sup>(30)</sup>

**Hidragogo:** Que evacúa la serosidad derramada por las cavidades del cuerpo o en el tejido celular.<sup>(62)</sup>

**Laxante:** Agente que actúa fomentando la evacuación del intestino. Facilita la evacuación del contenido intestinal. Se dice de cualquier planta con propiedades que favorecen la defecación, aunque no conlleva un proceso diarreico.<sup>(62)</sup>

**Mesocarpo:** Constituye la sección intermedia del futo, en algunos es carnoso, generalmente es la región comestible.<sup>(59)</sup>

**Uso etnobotánico:** Es la utilización y aprovechamiento de las plantas en los diferentes espacios culturales y en el tiempo. Es el conocimiento de la población sobre especies silvestres y domesticadas, tal conocimiento está arraigado a la observación, la relación, las necesidades y las formas tradicionales de su uso.<sup>(58)</sup>

## **ANEXOS**

## ANEXO N°1. DISEÑO DE ETIQUETA DE RECOLECCIÓN DE ESPECIES

Nombre común: \_\_\_\_\_

Nombre científico: \_\_\_\_\_

Fecha de recolección: \_\_\_\_\_

Lugar de recolección: \_\_\_\_\_

Coordenadas GPS:

Latitud: \_\_\_\_\_

Longitud: \_\_\_\_\_

Persona que recolectó: \_\_\_\_\_

Botánico que identifica: \_\_\_\_\_

Observaciones: \_\_\_\_\_

Figura N°38. Diseño de etiqueta de recolección de especies.

**ANEXO N°2**  
ESQUEMAS REPRESENTATIVOS DE PROCEDIMIENTOS  
EXPERIMENTALES

**Preparación del extracto acuoso de la parte comestible del fruto.**

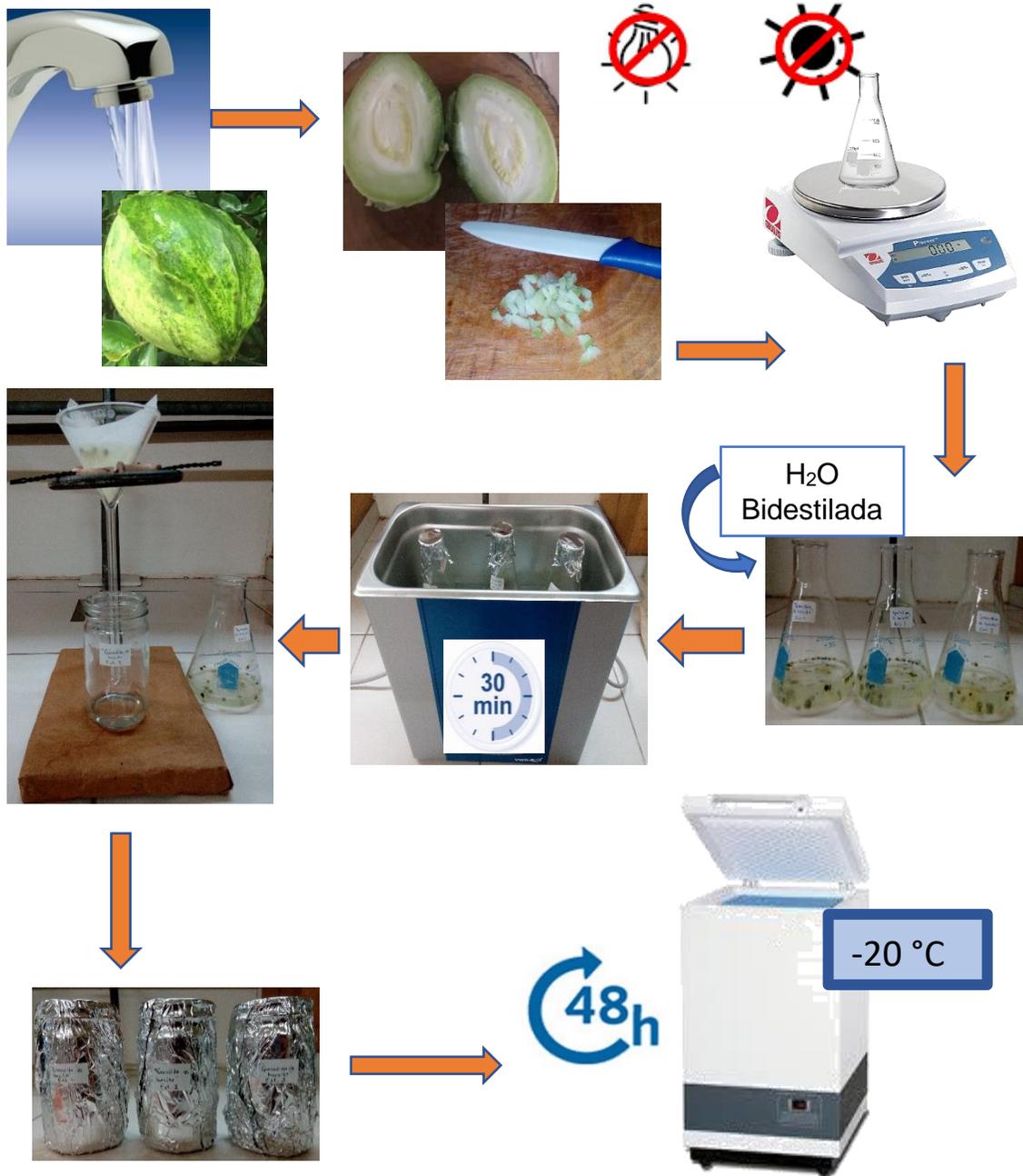


Figura N°39. Esquema de preparación del extracto acuoso de los frutos.

*(Imágenes propiedad del LIPN)*

## Proceso de liofilización de los extractos acuosos.



Figura N°40. Esquema de proceso de liofilización de los extractos acuosos.

(Imágenes propiedad del LIPN)

. Preparación de soluciones de trabajo.

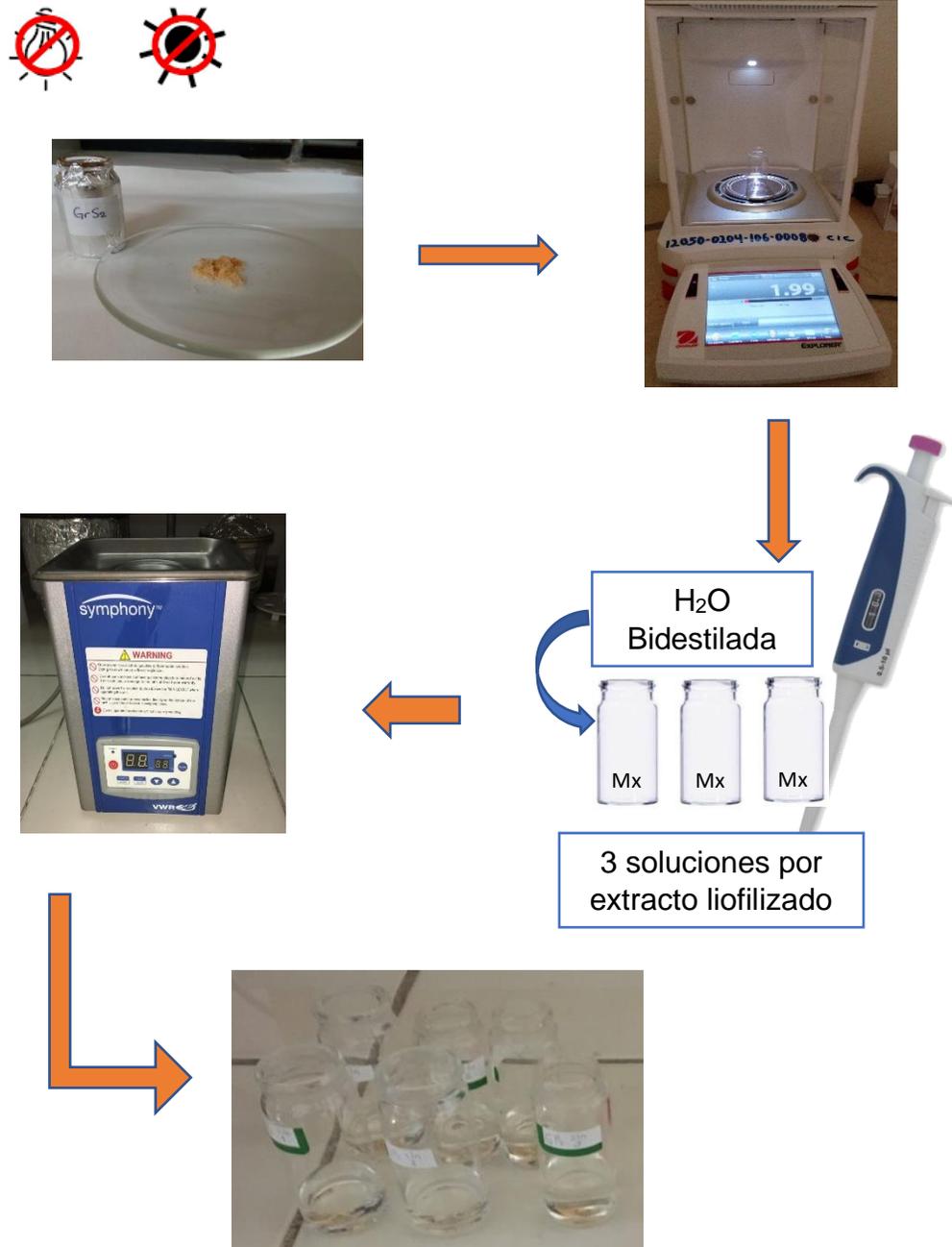


Figura N°41. Esquema de preparación de las soluciones de trabajo.

(Imágenes propiedad del LIPN)

### Preparación de la curva de calibración.

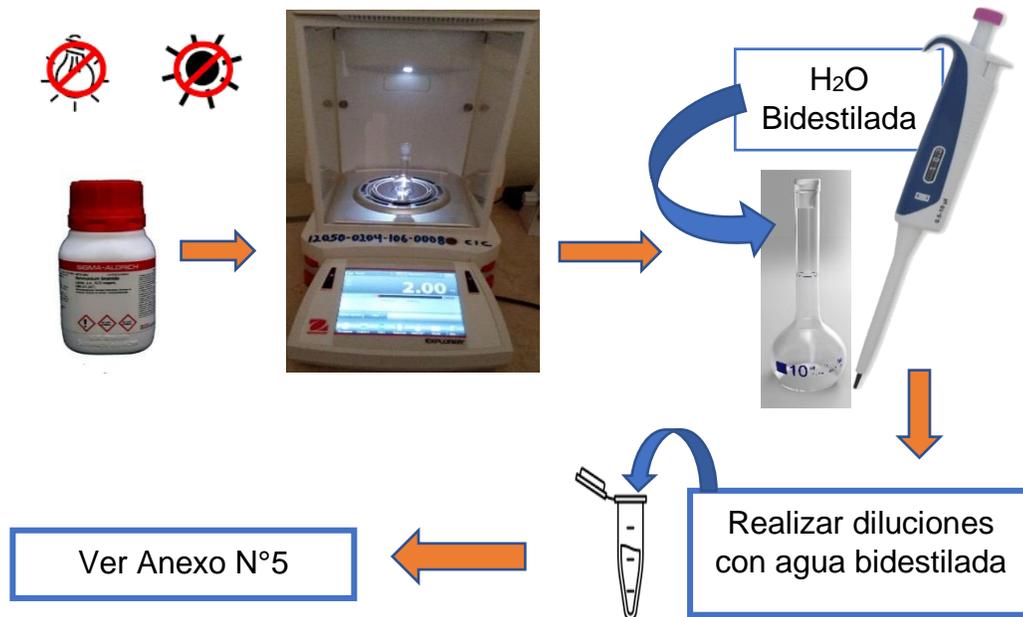


Figura N°42. Preparación de las soluciones estándar. (Imágenes propiedad del LIPN)

### Preparación de la solución blanco.

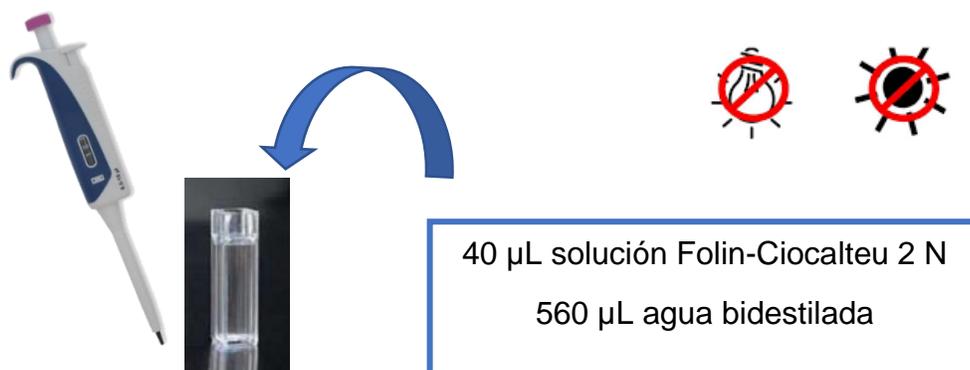


Figura N°43. Esquema de preparación de la solución blanco. (Imágenes propiedad del LIPN)

## Preparación de cubetas para la cuantificación de fenoles totales.

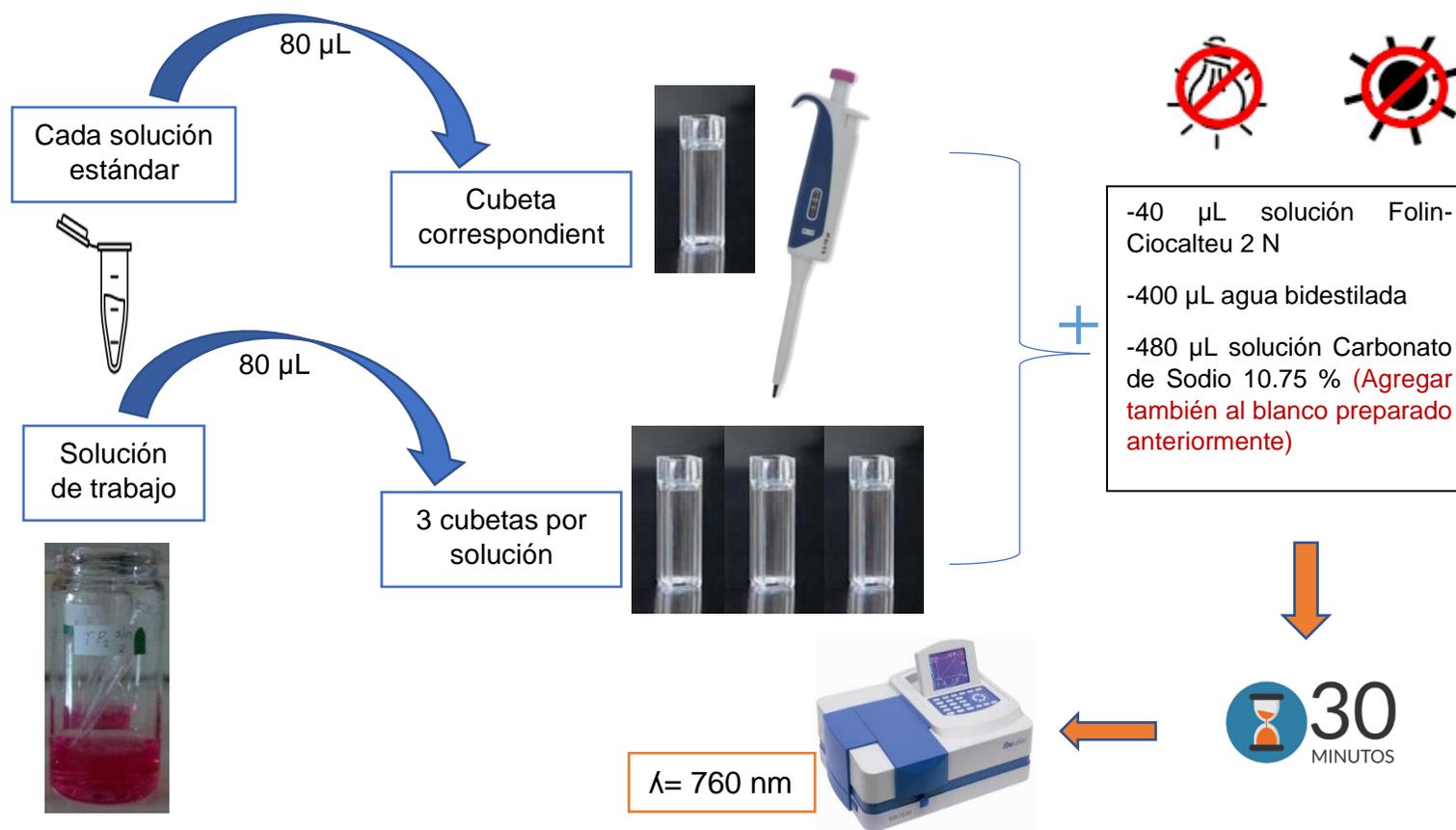


Figura N°44. Esquema del proceso de preparación de cubetas para la cuantificación de fenoles totales. (Imágenes propiedad del LIPN)

**ANEXO N°3**

DESCRIPCION DE REACTIVOS, CRISTALERIA. MATERIAL Y EQUIPO PARA  
UTILIZAR EN LA CUANTIFICACION DE FENOLES TOTALES

- **Reactivos:**

- Estándar de Ácido Gálico, pureza 97.5-102.5%, Sigma-Aldrich.
- Solución preparada de reactivo Folin-Ciocalteu 2 N Sigma-Aldrich.
- Carbonato de Sodio grado ACS, 99.95-100.05%, Sigma-Aldrich.
- Agua Bidestilada

- **Cristalería:**

- Matraces Erlenmeyer capacidad 250 ml
- Beakers capacidad de 250 ml.
- Beaker capacidad de 10 ml.
- Balones volumétricos clase A, capacidad de 10 ml.
- Agitadores de vidrio.

- **Material:**

- Bolsas con cierre hermético capacidad 5 Lb.
- Hielera.
- Cuchillo de Porcelana.
- Papel aluminio.
- Papel Parafilm
- Microespátulas.
- Puntas descartables para micropipetas capacidad de 0.5 ml y 1 ml.
- Cubetas descartables para UV-Vis.
- Papel absorbente.
- Guantes descartables.

- **Equipo:**

- Ultracongelador.
- Baño ultrasonido VWR (Modelo 97043-988).
- Liofilizador LABCONCO FreeZones (Modelo 7740030).

- Balanza analítica 5 dígitos.
- Micropipeta capacidad 30-300  $\mu\text{L}$ .
- Micropipeta capacidad 100-1000  $\mu\text{L}$ .
- Espectrofotómetro Genesys 10S UV-Vis.

#### ANEXO N°4. EQUIPO LIOFILIZADOR LABCONCO FREEZONES



Figura N°45. Liofilizador Labconco FreeZones. (Imágenes propiedad del LIPN)

**ANEXO N°5**

CALCULOS PARA PREPARACION DE SOLUCIONES ESTANDAR PARA LA  
REALIZACION DE LA CURVA DE CALIBRACION

- **Cálculo para determinar volumen de solución madre a utilizar para preparar soluciones estándar.**

Para preparar las soluciones estándar, se parte de una solución madre cuya concentración de ácido gálico es 200 µg/mL.

Las soluciones por preparar serán con las siguientes concentraciones de ácido gálico: 100.00 µg/mL, 75.00 µg/mL, 50.00 µg/mL, 25.00 µg/mL, 12.50 µg/mL, 6.25 µg/mL, 3.12 µg/mL y 0 µg/mL.

El volumen para preparar cada estándar será de 1.0 ml a excepción de las diluciones de concentraciones de 12.5 y 6.25 µg/ml que por conveniencia de uso de micropipetas se prepararon 0.8 ml.

Para calcular la cantidad de solución madre a utilizar para cada solución estándar, se hace uso de la siguiente fórmula:

$$V_1 = \frac{C_2 V_2}{C_1}$$

Donde:

$V_1$  = Volumen de solución de ácido gálico 200 µg/ml a utilizar.

$C_2$  = Concentración de solución estándar a preparar.

$V_2$  = Volumen de solución estándar a preparar.

$C_1$  = Concentración de la solución madre de ácido gálico.

Ejemplo de cálculo para la preparar la solución estándar de 100.00 µg/ml:

$$V_1 = \frac{(100\mu\text{g/ml})(1\text{ ml})}{200\ \mu\text{g/ml}}$$

$$V_1 = 0.5\ \text{ml}$$

$$V_1 = 500\ \mu\text{L}$$

Dando como resultado los siguientes datos:

Tabla N°18. Datos para la preparación de la curva de calibración.

<b>Alícuota de la solución madre (µL)</b>	<b>Alícuota de agua bidestilada (µL)</b>	<b>Volumen total (µL)</b>	<b>Concentración de ácido gálico (µg/mL)</b>
500	500	1000	100.00
375	625	1000	75.00
250	750	1000	50.00
125	875	1000	25.00
50	750	800	12.50
25	775	800	6.25
13	787	800	3.12
0	1000	1000	0

## **ANEXO N°6. PREPARACIÓN DE CARBONATO DE SODIO 10.75 % M/V**

El siguiente procedimiento sirve para preparar 200 mL de solución de Carbonato de Sodio a una concentración de 10.75 % m/v.

1. Pesar 21.5 g de Carbonato de Sodio anhidro haciendo uso de una balanza analítica.  
Tomar en cuenta el grado de pureza del reactivo.
2. Disolver el Carbonato de Sodio con agua bidestilada, removiendo con un agitador de vidrio.
3. Trasladar a una Balón Volumétrico de 200 mL.
4. Aforar con agua bidestilada.
5. Almacenar en frasco plástico, proteger de la luz.



**ANEXO N°8. CUADRO RESUMEN DEL PROCESO GENERAL DE CUANTIFICACIÓN DE FENOLES TOTALES PARA UN FRUTO**

Tabla N°19. Resumen de trabajo de un extracto liofilizado perteneciente a un fruto.

Fruto	Preparación previa			Cuantificación de fenoles totales			Procesamiento de datos							
	Identificación	Recolección	Preparación de extracto acuoso	Liofilización	Preparación Solución de trabajo	Preparación de celdas							Lectura en UV-Vis	
1					Extracto acuoso 1	Liofilizado 1	Solución 1	Celda 1	C1	Prom	S	CV	Fenoles por solución	Fenoles por cada 100 g
	Celda 2	C2												
	Celda 3	C3												
	Solución 2	Celda 1					C1	Prom	S	CV	Fenoles por solución	Fenoles por cada 100 g		
		Celda 2					C2							
		Celda 3					C3							
	Solución 3	Celda 1					C1	Prom	S	CV	Fenoles por solución	Fenoles por cada 100 g		
		Celda 2					C2							
		Celda 3					C3							

C: Concentración. Prom: Promedio. S: Desviación estándar. CV: Coeficiente de variación. FF: Fruto fresco.

**ANEXO N°9**  
RESULTADOS DE CUANTIFICACION DE FENOLES TOTALES EN DIEZ  
FRUTOS DE ESPECIES VEGETALES PERTENECIENTES A LA FLORA  
SALVADOREÑA

Tabla N°20. Resultados cuantificación de fenoles totales del fruto de *Licania platypus* "Sunza"

EL (mg)	Mx	A	C (µg/ml)	C prom (µg/ml)	S	CV	FT EL (mg)	FT (mg)/100 g FF/sln	FT (mg)/100 g FF	FT (mg)/100 g FF/fruto
1306.0	Su 1 1 1	0.039	4.500	4.453	0.0643	1.44%	5.8161	77.5474	77.1217	88.8367 ± 10.5421
	Su 1 1 2	0.039	4.480							
	Su 1 1 3	0.038	4.380							
	Su 1 2 1	0.037	4.310	4.350	0.0964	2.22%	5.6811	75.7480		
	Su 1 2 2	0.039	4.460							
	Su 1 2 3	0.037	4.280							
	Su 1 3 1	0.038	4.400	4.483	0.0802	1.79%	5.8552	78.0698		
	Su 1 3 2	0.039	4.560							
	Su 1 3 3	0.039	4.490							
1652.5	Su 2 1 1	0.038	4.450	4.357	0.0833	1.91%	7.1994	95.9919	97.5587	88.8367 ± 10.5421
	Su 2 1 2	0.038	4.330							
	Su 2 1 3	0.037	4.290							
	Su 2 2 1	0.042	4.970	4.507	0.4015	8.91%	7.4473	99.2969		
	Su 2 2 2	0.037	4.260							
	Su 2 2 3	0.037	4.290							
	Su 2 3 1	0.039	4.560	4.420	0.1778	4.02%	7.3041	97.3873		
	Su 2 3 2	0.037	4.220							
	Su 2 3 3	0.039	4.480							

EL: Extracto liofilizado. Mx: Muestra. A: Absorbancia. C: Concentración, C prom: Concentración promedio. S: Desviación estándar. FT EL: fenoles totales en extracto liofilizado. FT: fenoles totales. FF: Fruto fresco. Su: "Sunza".

(Tabla N°20. Continuación)

1585.7	Su 3 1 1	0.039	4.490		4.390	0.0849	1.93%	6.9612	92.8163	91.8296	
	Su 3 1 2	0.038	4.450								
	Su 3 1 3	0.038	4.330								
	Su 3 2 1	0.038	4.380		4.385	0.1061	2.42%	6.9533	92.7106		
	Su 3 2 2	0.037	4.310								
	Su 3 2 3	0.039	4.460								
	Su 3 3 1	0.039	4.560		4.255	0.0495	1.16%	6.7472	89.9620		
	Su 3 3 2	0.037	4.220								
	Su 3 3 3	0.037	4.290								

EL: Extracto liofilizado. Mx: Muestra. A: Absorbancia. C: Concentración, C prom: Concentración promedio. S: Desviación estándar.  
FT EL: fenoles totales en extracto liofilizado. FT: fenoles totales. FF: Fruto fresco. Su: "Sunza".

Tabla N°21. Resultados cuantificación de fenoles totales del fruto de *Gonolobus taylorianus* "Cuchamper"

EL (mg)	Mx	A	C (µg/ml)	C prom (µg/ml)	S	CV	FT EL (mg)	FT (mg)/100 g FF/sln	FT (mg)/100 g FF	FT (mg)/100 g FF/fruto
136.2	Cu 1 1 1	0.084	10.930	11.113	0.6352	5.72%	1.5136	20.1818	19.9175	23.0129 ± 2.3669
	Cu 1 1 2	0.082	10.590							
	Cu 1 1 3	0.091	11.820							
	Cu 1 2 1	0.083	10.750	10.660	0.0781	0.73%	1.4519	19.3586		
	Cu 1 2 2	0.082	10.610							
	Cu 1 2 3	0.082	10.620							
	Cu 1 3 1	0.085	11.090	11.130	0.0872	0.78%	1.5159	20.2121		
	Cu 1 3 2	0.085	11.070							
Cu 1 3 3	0.086	11.230								
129.8	Cu 2 1 1	0.119	15.760	15.817	0.1626	1.03%	2.0530	27.3734	25.6639	23.0129 ± 2.3669
	Cu 2 1 2	0.118	15.690							
	Cu 2 1 3	0.120	16.000							
	Cu 2 2 1	0.107	14.100	13.697	0.7335	5.36%	1.7778	23.7044		
	Cu 2 2 2	0.098	12.850							
	Cu 2 2 3	0.107	14.140							
	Cu 2 3 1	0.112	14.860	14.973	0.2318	1.55%	1.9435	25.9138		
	Cu 2 3 2	0.112	14.820							
Cu 2 3 3	0.115	15.240								

EL: Extracto liofilizado. Mx: Muestra. A: Absorbancia. C: Concentración, C prom: Concentración promedio. S: Desviación estándar. FT EL: fenoles totales en extracto liofilizado. FT: fenoles totales. FF: Fruto fresco. Cu: "Cuchamper".

(Tabla N°21. Continuación)

1585.7	Cu 3 1 1	0.112	14.860	14.973	0.2318	1.55%	2.0049	26.7324	23.4573	
	Cu 3 1 2	0.115	15.240							
	Cu 3 1 3	0.112	14.820							
	Cu 3 2 1	0.085	11.090	11.130	0.0872	0.78%	1.4903	19.8708		
	Cu 3 2 2	0.085	11.070							
	Cu 3 2 3	0.086	11.230							
	Cu 3 3 1	0.120	16.000	13.313	2.4876	18.68%	1.7827	23.7687		
	Cu 3 3 2	0.085	11.090							
	Cu 3 3 3	0.098	12.850							

EL: Extracto liofilizado. Mx: Muestra. A: Absorbancia. C: Concentración, C prom: Concentración promedio. S: Desviación estándar.  
FT EL: fenoles totales en extracto liofilizado. FT: fenoles totales. FF: Fruto fresco. Cu: "Cuchamper".

Tabla N°22. Resultados cuantificación de fenoles totales de *Chrisobalanus icaco* "Icaco".

EL (mg)	Mx	A	C (µg/ml)	C prom (µg/ml)	S	CV	FT EL (mg)	FT (mg)/100 g FF/sln	FT (mg)/100 g FF	FT (mg)/100 g FF/fruto
324.8	lc 1 1 1	0.055	6.82	7.287	0.4245	5.83%	2.3667	31.5561	31.5080	41.3478 ± 9.3140
	lc 1 1 2	0.061	7.65							
	lc 1 1 3	0.059	7.39							
	lc 1 2 1	0.056	7.02	7.103	0.1710	2.41%	2.3072	30.7622		
	lc 1 2 2	0.041	7.30							
	lc 1 2 3	0.043	6.99							
	lc 1 3 1	0.056	6.98	7.437	0.5953	8.01%	2.4154	32.2057		
	lc 1 3 2	0.058	7.22							
lc 1 3 3	0.064	8.11								
498.5	lc 2 1 1	0.041	7.30	7.767	0.4188	5.39%	3.8717	51.6224	50.0272	41.3478 ± 9.3140
	lc 2 1 2	0.063	7.89							
	lc 2 1 3	0.064	8.11							
	lc 2 2 1	0.062	7.82	7.713	0.0945	1.23%	3.8451	51.2680		
	lc 2 2 2	0.061	7.64							
	lc 2 2 3	0.061	7.68							
	lc 2 3 1	0.057	7.10	7.100	0.1200	1.69%	3.5394	47.1913		
	lc 2 3 2	0.058	7.22							
	lc 2 3 3	0.056	6.98							

EL: Extracto liofilizado. Mx: Muestra. A: Absorbancia. C: Concentración, C prom: Concentración promedio. S: Desviación estándar. FT EL: fenoles totales en extracto liofilizado. FT: fenoles totales. FF: Fruto fresco. lc: "Icaco".

(Tabla N°22. Continuación)

415.9	lc 3 1 1	0.061	7.65	7.620	0.2166	2.84%	3.1692	42.2554	42.5081	
	lc 3 1 2	0.059	7.39							
	lc 3 1 3	0.062	7.82							
	lc 3 2 1	0.043	6.99	7.567	0.5006	6.62%	3.1470	41.9597		
	lc 3 2 2	0.063	7.89							
	lc 3 2 3	0.062	7.82							
	lc 3 3 1	0.061	7.64	7.810	0.2606	3.34%	3.2482	43.3091		
	lc 3 3 2	0.061	7.68							
	lc 3 3 3	0.064	8.11							

EL: Extracto liofilizado. Mx: Muestra. A: Absorbancia. C: Concentración, C prom: Concentración promedio. S: Desviación estándar.  
FT EL: fenoles totales en extracto liofilizado. FT: fenoles totales. FF: Fruto fresco. lc: "Icaco".

Tabla N°23. Resultados cuantificación de fenoles totales del fruto de *Passiflora platyloba* “Granadilla de huesito”

EL (mg)	Mx	A	C (µg/ml)	C prom (µg/ml)	S	CV	FT EL (mg)	FT (mg)/100 g FF/sln	FT (mg)/100 g FF	FT (mg)/100 g FF/fruto
383.1	Gr 1 1 1	0.035	4.020	4.220	0.2166	5.13%	1.6167	21.5558	24.7908	22.2297 ± 2.4431
	Gr 1 1 2	0.038	4.450							
	Gr 1 1 3	0.037	4.190							
	Gr 1 2 1	0.047	5.700	5.887	0.3233	5.49%	2.2552	30.0691		
	Gr 1 2 2	0.051	6.260							
	Gr 1 2 3	0.047	5.700							
	Gr 1 3 1	0.037	4.280	4.453	0.3002	6.74%	1.7061	22.7476		
	Gr 1 3 2	0.037	4.280							
Gr 1 3 3	0.041	4.800								
379.6	Gr 2 1 1	0.032	3.570	3.947	0.3459	8.76%	1.4982	19.9754	19.9248	22.2297 ± 2.4431
	Gr 2 1 2	0.035	4.020							
	Gr 2 1 3	0.037	4.250							
	Gr 2 2 1	0.032	3.530	3.557	0.2810	7.90%	1.3501	18.0015		
	Gr 2 2 2	0.030	3.290							
	Gr 2 2 3	0.034	3.850							
	Gr 2 3 1	0.037	4.280	4.307	0.1320	3.07%	1.6348	21.7975		
	Gr 2 3 2	0.038	4.450							
	Gr 2 3 3	0.037	4.190							

EL: Extracto liofilizado. Mx: Muestra. A: Absorbancia. C: Concentración, C prom: Concentración promedio. S: Desviación estándar. FT EL: fenoles totales en extracto liofilizado. FT: fenoles totales. FF: Fruto fresco. Gr: “Granadilla de huesito”.

(Tabla N°23. Continuación)

380.8	Gr 3 1 1	0.035	4.020	4.107	0.1838	4.48%	1.5638	20.8509	21.9736	
	Gr 3 1 2	0.035	4.020							
	Gr 3 1 3	0.037	4.280							
	Gr 3 2 1	0.041	4.800	4.683	0.2475	5.28%	1.7834	23.7788		
	Gr 3 2 2	0.038	4.450							
	Gr 3 2 3	0.041	4.800							
	Gr 3 3 1	0.037	4.280	4.193	0.1838	4.38%	1.5968	21.2910		
	Gr 3 3 2	0.035	4.020							
	Gr 3 3 3	0.037	4.280							

EL: Extracto liofilizado. Mx: Muestra. A: Absorbancia. C: Concentración, C prom: Concentración promedio. S: Desviación estándar.  
FT EL: fenoles totales en extracto liofilizado. FT: fenoles totales. FF: Fruto fresco. Gr: "Granadilla de huesito".

Tabla N°24. Resultados cuantificación de fenoles totales del fruto de *Annona purpurea* "Cincuya".

EL (mg)	Mx	A	C (µg/ml)	C prom (µg/ml)	S	CV	FT EL (mg)	FT (mg)/100 g FF/sln	FT (mg)/100 g FF	FT (mg)/100 g FF/fruto
450.9	Ci 1 1 1	0.062	6.562	6.383	0.1837	2.88%	2.8781	38.3746	40.3345	42.1942 ± 2.0807
	Ci 1 1 2	0.060	6.392							
	Ci 1 1 3	0.059	6.195							
	Ci 1 2 1	0.066	7.112	6.745	0.3602	5.34%	3.0413	40.5509		
	Ci 1 2 2	0.063	6.731							
	Ci 1 2 3	0.060	6.392							
	Ci 1 3 1	0.062	6.562	6.999	0.3929	5.61%	3.1558	42.0780		
	Ci 1 3 2	0.067	7.323							
Ci 1 3 3	0.066	7.112								
481.4	Ci 2 1 1	0.067	7.380	6.891	0.4318	6.27%	3.3173	44.2310	44.4414	42.1942 ± 2.0807
	Ci 2 1 2	0.063	6.731							
	Ci 2 1 3	0.062	6.562							
	Ci 2 2 1	0.063	6.731	6.787	0.5666	8.35%	3.2674	43.5656		
	Ci 2 2 2	0.059	6.251							
	Ci 2 2 3	0.067	7.380							
	Ci 2 3 1	0.067	7.323	7.093	0.2401	3.38%	3.4146	45.5276		
	Ci 2 3 2	0.066	7.112							
Ci 2 3 3	0.064	6.844								

EL: Extracto liofilizado. Mx: Muestra. A: Absorbancia. C: Concentración, C prom: Concentración promedio. S: Desviación estándar. FT EL: fenoles totales en extracto liofilizado. FT: fenoles totales. FF: Fruto fresco. Ci: "Cincuya".

(Tabla N°24. Continuación)

479.8	Ci 3 1 1	0.059	6.138	6.148	0.0433	0.70%	2.9497	39.3287	41.8066	
	Ci 3 1 2	0.059	6.195							
	Ci 3 1 3	0.058	6.110							
	Ci 3 2 1	0.062	6.562	6.778	0.5282	7.79%	3.2521	43.3611		
	Ci 3 2 2	0.060	6.392							
	Ci 3 2 3	0.067	7.380							
	Ci 3 3 1	0.063	6.731	6.679	0.4607	6.90%	3.2047	42.7299		
	Ci 3 3 2	0.059	6.195							
	Ci 3 3 3	0.066	7.112							

EL: Extracto liofilizado. Mx: Muestra. A: Absorbancia. C: Concentración, C prom: Concentración promedio. S: Desviación estándar.  
FT EL: fenoles totales en extracto liofilizado. FT: fenoles totales. FF: Fruto fresco. Ci: "Cincuya".

Tabla N°25. Resultados cuantificación de fenoles totales del fruto de *Annona diversifolia*: "Anona blanca".

EL (mg)	Mx	A	C (µg/ml)	C prom (µg/ml)	S	CV	FT EL (mg)	FT (mg)/100 g FF/sln	FT (mg)/100 g FF	FT (mg)/100 g FF/fruto
892.3	Ab 1 1 1	0.106	14.000	13.997	0.0153	0.11%	12.4892	166.5230	168.4266	169.0466 ± 1.6731
	Ab 1 1 2	0.106	14.010							
	Ab 1 1 3	0.106	13.980							
	Ab 1 2 1	0.110	14.560	14.410	0.1308	0.91%	12.8580	171.4406		
	Ab 1 2 2	0.108	14.320							
	Ab 1 2 3	0.109	14.350							
	Ab 1 3 1	0.109	14.350	14.063	0.2554	1.82%	12.5487	167.3162		
	Ab 1 3 2	0.105	13.860							
Ab 1 3 3	0.106	13.980								
837.0	Ab 2 1 1	0.115	14.720	14.507	0.2444	1.68%	12.1421	161.8944	167.7720	169.0466 ± 1.6731
	Ab 2 1 2	0.114	14.560							
	Ab 2 1 3	0.112	14.240							
	Ab 2 2 1	0.118	15.720	15.567	0.1550	1.00%	13.0293	173.7240		
	Ab 2 2 2	0.116	15.410							
	Ab 2 2 3	0.117	15.570							
	Ab 2 3 1	0.118	15.620	15.027	0.6391	4.25%	12.5773	167.6976		
	Ab 2 3 2	0.114	15.110							
	Ab 2 3 3	0.109	14.350							

EL: Extracto liofilizado. Mx: Muestra. A: Absorbancia. C: Concentración, C prom: Concentración promedio. S: Desviación estándar. FT EL: fenoles totales en extracto liofilizado. FT: fenoles totales. FF: Fruto fresco. Ab: "Anona blanca".

(Tabla N°25. Continuación)

885.4	Ab 3 1 1	0.109	14.350	14.310	0.4314	3.01%	12.6701	168.9343	170.9412
	Ab 3 1 2	0.115	14.720						
	Ab 3 1 3	0.105	13.860						
	Ab 3 2 1	0.116	15.410	14.710	0.7051	4.79%	13.0242	173.6565	
	Ab 3 2 2	0.106	14.000						
	Ab 3 2 3	0.115	14.720						
	Ab 3 3 1	0.114	14.560	14.420	0.1212	0.84%	12.7675	170.2329	
	Ab 3 3 2	0.109	14.350						
	Ab 3 3 3	0.109	14.350						

EL: Extracto liofilizado. Mx: Muestra. A: Absorbancia. C: Concentración, C prom: Concentración promedio. S: Desviación estándar.  
FT EL: fenoles totales en extracto liofilizado. FT: fenoles totales. FF: Fruto fresco. Ab: "Anona blanca".

Tabla N°26. Resultados cuantificación de fenoles totales en el fruto de *Annona diversifolia*: "Anona rosada".

EL (mg)	Mx	A	C (µg/ml)	C prom (µg/ml)	S	CV	FT EL (mg)	FT (mg)/100 g FF/sln	FT (mg)/100 g FF	FT (mg)/100 g FF/fruto
750.8	Ar 1 1 1	0.171	23.22	24.380	1.3159	5.40%	18.3045	244.0601	227.0975	228.5080 ± 5.2255
	Ar 1 1 2	0.190	25.81							
	Ar 1 1 3	0.178	24.11							
	Ar 1 2 1	0.172	23.27	21.887	1.3040	5.96%	16.4325	219.1001		
	Ar 1 2 2	0.153	20.68							
	Ar 1 2 3	0.161	21.71							
	Ar 1 3 1	0.162	21.92	21.790	0.2252	1.03%	16.3599	218.1324		
	Ar 1 3 2	0.159	21.53							
Ar 1 3 3	0.162	21.92								
723.7	Ar 2 1 1	0.172	23.27	25.467	2.0467	8.04%	18.4302	245.7364	224.1326	228.5080 ± 5.2255
	Ar 2 1 2	0.200	27.32							
	Ar 2 1 3	0.190	25.81							
	Ar 2 2 1	0.153	20.68	22.390	1.4811	6.62%	16.2036	216.0486		
	Ar 2 2 2	0.172	23.27							
	Ar 2 2 3	0.171	23.22							
	Ar 2 3 1	0.159	21.53	21.827	1.3202	6.05%	15.7960	210.6128		
	Ar 2 3 2	0.153	20.68							
Ar 2 3 3	0.172	23.27								

EL: Extracto liofilizado. Mx: Muestra. A: Absorbancia. C: Concentración, C prom: Concentración promedio. S: Desviación estándar. FT EL: fenoles totales en extracto liofilizado. FT: fenoles totales. FF: Fruto fresco. Ar: "Anona rosada".

(Tabla N°26. Continuación)

789.4	Ar 3 1 1	0.178	24.11	23.533	0.5000	2.12%	18.5772	247.6962	234.2939	
	Ar 3 1 2	0.171	23.22							
	Ar 3 1 3	0.172	23.27							
	Ar 3 2 1	0.159	21.53	21.810	1.2929	5.93%	17.2168	229.5575		
	Ar 3 2 2	0.153	20.68							
	Ar 3 2 3	0.171	23.22							
	Ar 3 3 1	0.162	21.92	21.437	0.6637	3.10%	16.9221	225.6281		
	Ar 3 3 2	0.153	20.68							
	Ar 3 3 3	0.161	21.71							

EL: Extracto liofilizado. Mx: Muestra. A: Absorbancia. C: Concentración, C prom: Concentración promedio. S: Desviación estándar.  
FT EL: fenoles totales en extracto liofilizado. FT: fenoles totales. FF: Fruto fresco. Ar: "Anona rosada".

Tabla N°27. Resultados cuantificación de fenoles totales del fruto de *Spondias purpurea*: “Jocote tronador”.

EL (mg)	Mx	A	C (µg/ml)	C prom (µg/ml)	S	CV	FT EL (mg)	FT (mg)/100 g FF/sln	FT (mg)/100 g FF	FT (mg)/100 g FF/fruto
970.8	Jtr 1 1 1	0.075	9.650	9.560	0.0781	0.82%	9.2808	123.7446	129.6414	142.2419 ± 12.8406
	Jtr 1 1 2	0.074	9.520							
	Jtr 1 1 3	0.074	9.510							
	Jtr 1 2 1	0.083	10.720	10.573	0.1966	1.86%	10.2646	136.8612		
	Jtr 1 2 2	0.082	10.650							
	Jtr 1 2 3	0.080	10.350							
	Jtr 1 3 1	0.074	9.520	9.913	0.5886	5.94%	9.6239	128.3182		
	Jtr 1 3 2	0.075	9.630							
Jtr 1 3 3	0.082	10.590								
1005.7	Jtr 2 1 1	0.092	11.950	11.677	0.2386	2.04%	11.7432	156.5763	155.3099	142.2419 ± 12.8406
	Jtr 2 1 2	0.088	11.510							
	Jtr 2 1 3	0.089	11.570							
	Jtr 2 2 1	0.089	11.580	11.827	0.2136	1.81%	11.8941	158.5877		
	Jtr 2 2 2	0.092	11.950							
	Jtr 2 2 3	0.092	11.950							
	Jtr 2 3 1	0.087	11.330	11.243	0.2230	1.98%	11.3074	150.7656		
	Jtr 2 3 2	0.088	11.410							
Jtr 2 3 3	0.085	10.990								

EL: Extracto liofilizado. Mx: Muestra. A: Absorbancia. C: Concentración, C prom: Concentración promedio. S: Desviación estándar. FT EL: fenoles totales en extracto liofilizado. FT: fenoles totales. FF: Fruto fresco. Jtr: “Jocote tronador”.

(Tabla N°27. Continuación)

995.4	Jtr 3 1 1	0.080	10.350	10.800	0.4949	4.58%	10.7503	143.3376	141.7745	
	Jtr 3 1 2	0.087	11.330							
	Jtr 3 1 3	0.083	10.720							
	Jtr 3 2 1	0.075	9.650	9.877	0.4100	4.15%	9.8312	131.0831		
	Jtr 3 2 2	0.080	10.350							
	Jtr 3 2 3	0.075	9.630							
	Jtr 3 3 1	0.089	11.570	11.370	0.7017	6.17%	11.3177	150.9026		
	Jtr 3 3 2	0.092	11.950							
	Jtr 3 3 3	0.082	10.590							

EL: Extracto liofilizado. Mx: Muestra. A: Absorbancia. C: Concentración, C prom: Concentración promedio. S: Desviación estándar.  
FT EL: fenoles totales en extracto liofilizado. FT: fenoles totales. FF: Fruto fresco. Jtr: "Jocote tronador".

Tabla N°28. Resultados cuantificación de fenoles totales del fruto de *Spondias purpurea*: “Jocote chapín”.

EL (mg)	Mx	A	C (µg/ml)	C prom (µg/ml)	S	CV	FT EL (mg)	FT (mg)/100 g FF/sln	FT (mg)/100 g FF	FT (mg)/100 g FF/fruto
1087.6	Jch 1 1 1	0.095	11.203	11.161	0.0733	0.66%	12.1383	161.8445	162.0476	157.6471 ± 3.8607
	Jch 1 1 2	0.095	11.203							
	Jch 1 1 3	0.094	11.076							
	Jch 1 2 1	0.093	10.963	11.095	0.4929	4.44%	12.0666	160.8875		
	Jch 1 2 2	0.091	10.681							
	Jch 1 2 3	0.098	11.640							
	Jch 1 3 1	0.093	10.963	11.269	0.3432	3.05%	12.2558	163.4107		
	Jch 1 3 2	0.095	11.203							
Jch 1 3 3	0.098	11.640								
1041.5	Jch 2 1 1	0.094	11.104	10.888	0.2622	2.41%	11.3395	151.1934	154.8286	157.6471 ± 3.8607
	Jch 2 1 2	0.090	10.596							
	Jch 2 1 3	0.093	10.963							
	Jch 2 2 1	0.098	11.640	11.254	0.3367	2.99%	11.7214	156.2852		
	Jch 2 2 2	0.094	11.104							
	Jch 2 2 3	0.093	11.019							
	Jch 2 3 1	0.094	11.076	11.306	0.2959	2.62%	11.7755	157.0073		
	Jch 2 3 2	0.095	11.203							
	Jch 2 3 3	0.098	11.640							

EL: Extracto liofilizado. Mx: Muestra. A: Absorbancia. C: Concentración, C prom: Concentración promedio. S: Desviación estándar. FT EL: fenoles totales en extracto liofilizado. FT: fenoles totales. FF: Fruto fresco. Jch: “Jocote chapín”.

(Tabla N°28. Continuación)

1076.3	Jch 3 1 1	0.093	10.963	10.869	0.1628	1.50%	11.6983	155.9774	156.0651
	Jch 3 1 2	0.091	10.681						
	Jch 3 1 3	0.093	10.963						
	Jch 3 2 1	0.094	11.076	10.878	0.2510	2.31%	11.7084	156.1113	
	Jch 3 2 2	0.093	10.963						
	Jch 3 2 3	0.090	10.596						
	Jch 3 3 1	0.093	11.019	10.878	0.2442	2.25%	11.7080	156.1066	
	Jch 3 3 2	0.093	11.019						
	Jch 3 3 3	0.090	10.596						

EL: Extracto liofilizado. Mx: Muestra. A: Absorbancia. C: Concentración, C prom: Concentración promedio. S: Desviación estándar.  
FT EL: fenoles totales en extracto liofilizado. FT: fenoles totales. FF: Fruto fresco. Jch: "Jocote chapín".

Tabla N°29. Resultados cuantificación de fenoles totales de *Spondias purpurea*: “Jocote de corona”

EL (mg)	Mx	A	C (µg/ml)	C prom (µg/ml)	S	CV	FT EL (mg)	FT (mg)/100 g FF/sln	FT (mg)/100 g FF	FT (mg)/100 g FF/fruto
986.9	Jco 1 1 1	0.053	6.500	6.333	0.1701	2.69%	6.2504	83.3382	83.6160	81.9043
	Jco 1 1 2	0.052	6.340							
	Jco 1 1 3	0.051	6.160							
	Jco 1 2 1	0.051	6.270	6.343	0.0751	1.18%	6.2602	83.4698		
	Jco 1 2 2	0.052	6.340							
	Jco 1 2 3	0.052	6.420							
	Jco 1 3 1	0.064	6.900	6.387	0.4456	6.98%	6.3030	84.0400		
	Jco 1 3 2	0.051	6.160							
	Jco 1 3 3	0.050	6.100							
938.5	Jco 2 1 1	0.053	6.500	6.710	0.5086	7.58%	6.2973	83.9645	81.5591	81.9043
	Jco 2 1 2	0.059	7.290							
	Jco 2 1 3	0.052	6.340							
	Jco 2 2 1	0.053	6.500	6.473	0.0462	0.71%	6.0752	81.0030		
	Jco 2 2 2	0.053	6.500							
	Jco 2 2 3	0.052	6.420							
	Jco 2 3 1	0.052	6.340	6.370	0.1179	1.85%	5.9782	79.7099		
	Jco 2 3 2	0.053	6.500							
	Jco 2 3 3	0.051	6.270							

EL: Extracto liofilizado. Mx: Muestra. A: Absorbancia. C: Concentración, C prom: Concentración promedio. S: Desviación estándar. FT EL: fenoles totales en extracto liofilizado. FT: fenoles totales. FF: Fruto fresco. Jco: “Jocote de corona”.

(Tabla N°29. Continuación)

959.8	Jco 3 1 1	0.052	6.420	6.340	0.2117	3.34%	6.0851	81.1351	80.5379	
	Jco 3 1 2	0.053	6.500							
	Jco 3 1 3	0.050	6.100							
	Jco 3 2 1	0.050	6.100	6.180	0.1386	2.24%	5.9316	79.0875		
	Jco 3 2 2	0.050	6.100							
	Jco 3 2 3	0.052	6.340							
	Jco 3 3 1	0.052	6.420	6.360	0.1778	2.80%	6.1043	81.3910		
	Jco 3 3 2	0.053	6.500							
	Jco 3 3 3	0.051	6.160							

EL: Extracto liofilizado. Mx: Muestra. A: Absorbancia. C: Concentración, C prom: Concentración promedio. S: Desviación estándar.  
FT EL: fenoles totales en extracto liofilizado. FT: fenoles totales. FF: Fruto fresco. Jco: "Jocote de corona".