

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



DETERMINACION DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE POR EL METODO
DPPH EN DIEZ FRUTOS DE ESPECIES VEGETALES PERTENECIENTES A
LA FLORA SALVADOREÑA

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR

ALEX MAURICIO GALVEZ RIVAS
JOSUE DANIEL ZALDAÑA BURGOS

PARA OPTAR AL GRADO DE

LICENCIADO EN QUIMICA Y FARMACIA

FEBRERO 2020

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

MAESTRO ROGER ARMANDO ARIAS ALVARADO

SECRETARIO GENERAL

MSC. FRANCISCO ANTONIO ALARCON SANDOVAL

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANA

LICDA. REYNA MARIBEL GALDAMEZ

SECRETARIO

LICDA. EUGENIA SORTO LEMUS

DIRECCION DE PROCESOS DE GRADUACION

DIRECTORA GENERAL

MSc. Cecilia Haydeé Gallardo de Velásquez

TRIBUNAL CALIFICADOR

**ASESORES DE AREA EN APROVECHAMIENTO DE RECURSOS
NATURALES**

Licda. Rina Antonieta Toledo Mendoza

MSc. Ana Miriam Santamaría de Campos

DOCENTES ASESORES

Dr. Marvin José Núñez Rivas

MSc. Morena Lizette Martínez de Díaz

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios, por darme la capacidad y entusiasmo necesarios para concluir con la primera etapa de mi formación profesional. Le agradezco por mostrarme el camino para llegar a la meta, para que, poco a poco, mis sueños se encuentren un paso más cerca de mi alcance. A mis padres, Clarisa Rivas y Manuel Gálvez, y a mi hermana, Alejandra Gálvez, por su enorme e incondicional apoyo en cada ámbito de mi vida, especialmente en durante toda mi formación académica.

Agradezco al personal del Laboratorio de Investigación de Productos Naturales, donde hice nuevos amigos, adquirí muy valiosa experiencia profesional y sobre todo disfruté de la calidez humana. A la MSc. Morena Martínez y al Dr. Marvin J. Núñez por haber depositado su confianza en mí, por compartirme su conocimiento, por ayudarme a aprender de mis errores y superarlos. A la MsD. Ana Miriam Santamaría de Campos y Licda. Rina Toledo, quienes siempre me hicieron sentir en casa y apoyaron en cada momento que podían. A la Lic. Mónica M. Rivas y al Lic. Ulises G. Castillo por su amistad, apoyo y por siempre tener la mejor disposición para ayudarme ante cualquier problema que surgiera en este proceso.

A todo el personal, compañeros y amigos de la Facultad de Química y Farmacia por contribuir a mi formación. A la MSc. Cecilia Gallardo por haber sido parte fundamental de este proceso. A mis queridos amigos y compañeros de laboratorio, Daniel Zaldaña y Aldair Joachin, por los increíbles momentos que pasamos a lo largo de este proceso y durante casi toda la carrera universitaria, recuerdos invaluable que quedan en el corazón. A mi amada novia, Diana Elías, por darme aliento y por compartir conmigo este último paso, ya que, sin ella, esto simplemente no hubiera sido lo mismo.

Alex Gálvez

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a la vida y a la suerte por permitirme culminar esta pequeña aventura; a mi Mamá por siempre estar ahí, incluso cuando no estaba. A mi familia en general por ser parte de mi formación y siempre lo serán.

Agradezco al personal del Laboratorio de Investigación de Productos Naturales lugar donde el olor a extractos vegetales te hace sentir en casa; donde aprendí y al mismo tiempo apliqué química, es un orgullo haber formado parte de tan cálido grupo. A MSc. Morena Martínez y Dr. Marvin J. Núñez por guiarnos durante el proceso de investigación y depositar la confianza en nosotros. A la Licda. Rina Toledo y MsD. Ana Miriam Santamaría de Campos ya que ambas han sido parte importante durante toda la investigación, brindando su sabiduría en general y evaluándonos, a MSc. Cecilia Gallardo por haber sido parte fundamental de este proceso. A Lic. Mónica M. Rivas y al Lic. Ulises G. Castillo por brindar su amistad, consejos y compartir conocimientos.

A mi amigo y compañero de Tesis Alex, que empezamos dubitativos y con ansias, aún así nos divertimos en el proceso; a mi amigo Joachin por mostrarnos que con un poco de esfuerzo y dedicación se logran las cosas.

Finalmente agradezco a mis amigos, compañeros, docentes y todas las personas que de una u otra forma participaron directa o indirectamente en el desarrollo de esta investigación.

Daniel Zaldaña

DEDICATORIA

A mi Dios, que me dio la oportunidad de vivir, y que me bendijo poniendo una familia, amigos, compañeros y gente maravillosa en mi vida.

A mis padres, Clarisa Rivas y Manuel Gálvez, que me apoyaron cada día en todo lo que estaba a su alcance, estando pendientes y cuidadosos de cada etapa durante el transcurso de mi carrera.

A mi hermana, Alejandra Gálvez, quien siempre eran un desahogo del ajetreado día a día, con quien he compartido innumerables risas, recuerdos y uno que otro pleito.

A todos mis compañeros y amigos, quienes muchas veces me acompañaron en los momentos de nerviosismo, emoción, cansancio, victorias y derrotas que tuve a lo largo de este hermoso proceso.

Alex Gálvez

A mi familia, mis amigos y docentes, que en algún punto ayudaron en mi formación profesional y como persona.

A todas las malas y buenas decisiones que durante los años se han tomado, porque las malas nos enseñan a ser fuertes y las buenas a ser humildes.

“Ad maiora natus sum”

Daniel Zaldaña

INDICE

	N° pag.
RESUMEN	
CAPITULO I	
1.0 INTRODUCCION	21
CAPITULO II	
2.0 OBJETIVOS	24
CAPITULO III	
3.0 MARCO TEORICO	26
3.1 Estrés oxidativo	26
3.2 Especies reactivas	26
3.3 Antioxidantes	27
3.4 Metabolitos secundarios con actividad antioxidante	28
3.4.1 Compuestos fenólicos	29
3.4.2 Fenoles simples y benzoquinonas	31
3.4.3 Ácido hidroxibenzóico	32
3.4.4 Terpenoides	40
3.4.5 Carotenoides	42
3.5 Métodos para evaluar actividad antioxidante	43
3.5.1 Ensayo de capacidad de captación de radicales de 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH)	45
3.6 Proceso de liofilización	46
3.7 Generalidades de las especies vegetales de estudio	48
CAPITULO IV	
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	74
CAPITULO V	
5.0 RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS	85
5.1 Identificación y recolección los frutos de las especies vegetales a estudiar	85
5.2 Efectuar la liofilización de los extractos acuosos pertenecientes a cada fruto.	90
5.3 Cuantificar la actividad antioxidante por espectrofotometría UV-Vis empleando el método DPPH.	99
5.4 Análisis estadístico para comparar la actividad antioxidante presentada por los diez frutos de las especies vegetales en estudio.	117
CAPITULO VI	
6.0 CONCLUSIONES	123
CAPITULO VII	
7.0 RECOMENDACIONES	126
BIBLIOGRAFIA	
GLOSARIO	
ANEXOS	

INDICE DE FIGURAS

FIGURA N°		Pag.
1.	Estructuras químicas de compuestos fenólicos simples.	32
2.	Estructura química del ácido gálico.	32
3.	Estructura química del ácido <i>p</i> -cumárico.	33
4.	Estructura química de la umbeliferona.	33
5.	Estructura química de una cromona.	34
6.	Estructura química de la mangostina.	34
7.	Estructura química del resveratrol.	35
8.	Estructura química de la emodina	36
9.	Estructura química básica de un flavonoide.	37
10.	Estructura química de la sesamina.	39
11.	Estructura química de la Procianidina B ₂ .	40
12.	Estructura química del isopreno.	41
13.	Estructura química de los carotenoides.	43

14.	Diagrama de fases del agua pura, mostrando condiciones de sublimación.	47
15.	Fruto de <i>Artocarpus altilis</i> (Parkinson) Fosberg	48
16.	Fruto de <i>Eriobotrya japonica</i> (Thunb.) Lindl.	50
17.	Fruto de <i>Momordica charantia</i> L.	51
18.	Fruto de <i>Muntingia calabura</i> L.	53
19.	Fruto de <i>Opuntia cochenillifera</i> (L.) Mill.	55
20.	Fruto de <i>Passiflora quadrangularis</i> L.	57
21.	Fruto de <i>Persea schiedeana</i> Nees.	59
22.	Fruto de <i>Phyllanthus acidus</i> (L.) Skeels.	61
23.	Fruto de <i>Selenicereus undatus</i> (Haw.) D.R. Hunt.	63
24.	Fruto de <i>Theobroma cacao</i> L.	65
25.	Ejemplar de <i>Artocarpus altilis</i> "Árbol de pan" presentado al Herbario del MUHNES.	85
26.	Ubicación geográfica de las especies recolectadas.	89
27.	Frutos de <i>Persea schiedeana</i> "Chucte" colectados.	90
28.	Frutos de <i>Theobroma cacao</i> "Cacao" en conjunto a sus semillas.	91

29.	Preparación y filtración de extractos acuosos de un fruto.	91
30.	Proceso de liofilización de extractos acuosos.	92
31.	Extracto liofilizado de <i>Artocarpus altilis</i> “Árbol de pan”.	93
32.	Representación gráfica porcentual de rendimiento de los extractos liofilizados.	95
33.	Disolución de muestras y preparación de celdas para Espectrofotómetro Ultravioleta Visible.	101
34.	Curva de calibración de estándares para la determinación de actividad antioxidante.	101
35.	Esquema de preparación de celdas para determinación de la actividad antioxidante.	103
36.	Determinación de la actividad antioxidante en los diez frutos en estudio.	116
37.	Liofilizador LABCONCO FreeZones	148
38.	Esquema de dilución para curva de calibración.	153
39.	Esquema de dilución para preparación de las muestras.	154
40.	Esquema de dilución para preparación de reactivo DPPH.	154

INDICE DE TABLAS

TABLA N°		Pag.
1.	Codificación de los extractos acuosos para cada fruto en estudio.	76
2.	Resultados del proceso de liofilización.	94
3.	ANOVA para el rendimiento de los extractos liofilizados por frutos.	96
4.	Resultados de prueba de múltiples rangos en el rendimiento de la obtención de extractos liofilizados	97
5.	ANOVA para el rendimiento de los extractos liofilizados de los frutos de la familia Cactaceae.	98
6.	Resultados de determinación de la actividad antioxidante en <i>Artocarpus altilis</i> "Árbol de pan".	101
7.	Resultados de determinación de la actividad antioxidante en <i>Eriobotrya japonica</i> "Níspero".	102
8.	Resultados de determinación de la actividad antioxidante en <i>Momordica charantia</i> "Jaiba".	103

9.	Resultados de determinación de la actividad antioxidante en <i>Muntingia calabura</i> "Capulín".	104
10.	Resultados de determinación de la actividad antioxidante en <i>Opuntia cochenillifera</i> "Tuna".	105
11.	Resultados de determinación de la actividad antioxidante en <i>Passiflora quadrangularis</i> "Granadilla de refresco".	106
12.	Resultados de determinación de la actividad antioxidante en <i>Persea schiedeana</i> "Chucte".	107
13.	Resultados de determinación de la actividad antioxidante en <i>Phyllanthus acidus</i> "Guinda".	108
14.	Resultados de determinación de la actividad antioxidante en <i>Selenicereus undatus</i> "Pitahaya".	109
15.	Resultados de determinación de la actividad antioxidante en <i>Theobroma cacao</i> "Cacao".	110
16.	Resultados de determinación de la actividad antioxidante en diez frutos pertenecientes a la flora salvadoreña.	115
17.	Porcentaje de rendimiento de obtención de liofilizado y valores de actividad antioxidante de algunos frutos en estudio.	117

18.	ANOVA para actividad antioxidante en los diez frutos en estudio.	117
19.	Resultados de prueba de múltiples rangos sobre actividad antioxidante.	118
20.	Tabla ANOVA para actividad antioxidante de los frutos de la familia Cactaceae.	119
21.	Datos para la preparación de la curva de calibración.	151
22.	Resultados de absorbancias en la determinación de la actividad antioxidante.	156

INDICE DE CUADROS

CUADRO N°		Pag.
1.	Categorías de compuestos fenólicos encontrados en plantas.	31
2.	Categorías de compuestos fenólicos encontrados en plantas.	41
3.	Listado de 10 especies frutales seleccionadas para la determinación de la actividad antioxidante.	70
4.	Características de los frutos en estudio.	73
5.	Detalles de recolección e identificación de especies.	86

INDICE DE ANEXOS

ANEXO N°

1. Descripción de reactivos, cristalería. Material y equipo para utilizar en la determinación de actividad antioxidante.
2. Esquema del equipo liofilizador Labconco Freezones
3. Cálculos para preparación de soluciones estándar para la realización de la recta de calibración
4. Esquemas de los procedimientos de laboratorio realizados para la determinación de la actividad antioxidante de los frutos en estudio.
5. Absorbancias obtenidas por triplicado para cada solución de trabajo.

ABREVIATURAS

Abr.	Abril
Agto	Agosto
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ARN	Ácido ribonucleico
DPPH	Radical 2,2-difenil-1-picrilhidracilo
Dic.	Diciembre
Ene.	Enero
EROs	Especies reactivas del oxígeno
ERNs	Especies reactivas de nitrógeno
GPS	Global Positioning System = Sistema de posicionamiento global
GGPP	Geranil geranil difosfato
Jul.	Julio
Jun.	Junio
Mar.	Marzo
May.	Mayo
MUHNES	Museo de Historia Natural de El Salvador
Nov.	Noviembre
Oct.	Octubre
OMS	Organización Mundial de la Salud
Sept.	Septiembre
SIC-UES	Secretaría de Investigaciones Científicas de la Universidad de El Salvador
TEAC	Trolox equivalent antioxidant capacity = Capacidad Antioxidante equivalente a Trolox
Pf.	Peso de fruto fresco

SIMBOLOGÍAS

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

RESUMEN

La presente investigación tuvo como finalidad cuantificar la actividad antioxidante utilizando el método DPPH en los extractos acuosos liofilizados de los frutos pertenecientes a las especies: *Artocarpus altilis* "Árbol de pan", *Eriobotrya japonica* "Níspero", *Momordica charantia* "Jaiba", *Muntingia calabura* "Capulín", *Opuntia cochenillifera* "Tuna", *Passiflora quadrangularis* "Granadilla de refresco", *Persea schiedeana* "Chucte", *Phyllanthus acidus* "Guinda", *Selenicereus undatus* "Pitahaya" y *Theobroma cacao* "Cacao", 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 la actividad antioxidante de los frutos en estudio. La investigación de laboratorio fue llevada a cabo durante los meses de mayo a septiembre del año 2019 y el tratamiento de resultados posterior terminó de realizarse en febrero de 2020 siendo realizado 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 que exhiben mayor capacidad antioxidante son *Eriobotrya japonica* "Níspero", *Artocarpus altilis* "Árbol de pan", *Muntingia calabura* "Capulín" y siendo el primero el que presenta una mayor actividad, por otra parte, *Phyllanthus acidus* "Guinda", *Momordica charantia* "Jaiba", *Persea schiedeana* "Chucte", y *Selenicereus undatus* "Pitahaya", presentan la menor capacidad de captación del radical libre.

Debido a que el efecto antioxidante está ligado a varios tipos de metabolitos secundarios, es importante ampliar la información obtenida de las mismas especies vegetales utilizando un método capaz de cuantificar la actividad antioxidante no solo en metabolitos secundarios de naturaleza hidrofílica, sino también lipofílica, para reforzar la promoción de su cultivo y consumo, y también su incorporación en la búsqueda de nuevas formas farmacéuticas.

**CAPITULO I
INTRODUCCION**

1.0 INTRODUCCION

Los antioxidantes son moléculas presentes en frutos y que en bajas concentraciones pueden prevenir o retrasar la oxidación de un sustrato como el ADN, el ARN, las proteínas y los lípidos. Dichas moléculas tienen una alta afinidad por los radicales libres, y son capaces de donar electrones para reducirlos, manteniendo así el equilibrio celular prooxidante/antioxidante, los compuestos antioxidantes presentes en los vegetales, tanto hidrosolubles (vitamina C y compuestos fenólicos), como liposolubles (carotenoides), contribuyen a la defensa del envejecimiento celular, resultando en la protección de las células contra el daño oxidativo, y por tanto, pueden prevenir enfermedades crónicas como el cáncer, enfermedades cardiovasculares y la diabetes.

En materia de nutrición, el consumo de frutas tiene múltiples beneficios para la salud pues brindan nutrientes como vitaminas, minerales, agua y fibra, aparte de su valor antioxidante y terapéutico. La comercialización de frutos juega un rol importante en la economía de los países de la región, por lo tanto, no debe dejarse a un lado el cultivo nacional de frutos con un buen perfil nutricional y con una notable capacidad antioxidante.

En base a la disponibilidad de recolección, acceso al lugar de recolección y el estado de maduración de los mismos frutos, se seleccionaron diez frutos a estudiar de un listado de veinte frutos probables, propuestos según la investigación bibliográfica, que fueron recolectados e identificados por la curadora del Herbario del Museo de Historia Natural de El Salvador y luego fueron trasladadas al Laboratorio de Investigación en Productos Naturales de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador, lugar en el cual se llevó a cabo la preparación previa de cada fruto y seguidamente la obtención de los extractos acuosos para el análisis. Durante los meses de abril a

julio del año 2019, todos los extractos obtenidos fueron sometidos al proceso de liofilización en el Laboratorio de Toxinas Marinas de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas de la Universidad de El Salvador, posteriormente se realizó la determinación de la actividad antioxidante en cada uno de los diez frutos seleccionados.

La capacidad antioxidante fue determinada por método del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (*DPPH*), empleando un método de espectroscopia UV-Visible y posteriormente a los resultados obtenidos se les realizó el análisis de varianza haciendo uso del método StatGraphics versión 16.2.04., para determinar si existen diferencias significativas entre ellos.

El presente estudio con una duración total de 10 meses contribuyó al proyecto de investigación denominado: “Determinación de la actividad antioxidante de frutos no tradicionales de la flora salvadoreña”. Dicho proyecto comprende la evaluación de diferentes frutos, a los que se le realizó la cuantificación de fenoles totales y su capacidad antioxidante por el método *DPPH*. Este proyecto fue impulsado por la Secretaría de Investigaciones Científicas de la Universidad de El Salvador (*SIC-UES*). Este proyecto forma parte de un esfuerzo educar a la población salvadoreña sobre la importancia del cuidado de la salud, para así mejorar su calidad de vida.

CAPITULO II
OBJETIVOS

2.0 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Determinar la actividad antioxidante por el método DPPH en diez frutos de especies vegetales pertenecientes a la flora salvadoreña.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

2.2.1 Identificar y recolectar los frutos de las especies vegetales a estudiar.

2.2.2 Preparar los extractos acuosos de cada fruto de las especies recolectadas.

2.2.3 Efectuar la liofilización de los extractos acuosos pertenecientes a cada fruto.

2.2.4 Cuantificar la actividad antioxidante por espectrofotometría UV-Vis empleando el método DPPH.

2.2.5 Realizar el análisis estadístico para comparar la actividad antioxidante presentada por los diez frutos de las especies vegetales en estudio.

CAPITULO III
MARCO TEORICO

3.0 MARCO TEORICO

3.1 Estrés oxidativo

El estrés oxidativo se define como un desequilibrio entre la producción de radicales libres y el sistema antioxidante, que se encarga de mantener la homeostasis del organismo. Los radicales libres pueden producir daño a lípidos, ácidos nucleicos y proteínas en el interior de la célula.⁽⁸⁾

El desequilibrio entre las especies reactivas y los sistemas de defensa antioxidante contra el estrés en las células crea un estrés oxidativo excesivo y desencadena afecciones inflamatorias que causan enfermedades. Este desequilibrio funcional entre el oxidante y el antioxidante puede causar la muerte celular fisiológica o apoptosis y también puede iniciar el proceso de células no funcionales o el proceso de envejecimiento celular en el cuerpo.⁽⁷⁸⁾

El estrés oxidativo puede producir cambios permanentes en los componentes celulares, los cuales pueden conducir a diversas patologías como cáncer, arteriosclerosis, síndrome de reperfusión, artritis reumatoide, cataratas, diabetes, alteraciones en los pulmones, hígado y sistema nervioso.^(8; 69)

3.2 Especies reactivas

Las especies reactivas de oxígeno (ERO) y las especies reactivas de nitrógeno (ERN) son compuestos que pueden causar daño oxidativo a las células. Ambos incluyen radicales libres y varias otras sustancias que son altamente reactivas y tienen capacidad oxidante.⁽⁶⁹⁾

Un radical libre es un grupo de átomos que tiene uno o más electrones no apareados en su órbita externa. Algunos radicales libres tienen una vida media

relativamente larga debido a que su reactividad es relativamente baja, mientras que otros son muy inestables y presentan una vida útil de solo microsegundos.

Los radicales libres reaccionan para recuperar el electrón que les falta. Las moléculas que donan el electrón se convierten en un nuevo radical libre, que puede reaccionar con otra molécula, propagando la formación de radicales en una reacción en cadena. El radical recién formado puede continuar propagando la generación de radicales. La reacción en cadena se detiene cuando el nuevo radical libre es poco reactivo o cuando reaccionan dos radicales, lo que resulta en una molécula no reactiva.

Las especies reactivas se generan principalmente en organelos, como los peroxisomas, las mitocondrias y el retículo endoplásmico. Otro ejemplo son las EROs formada por invasión de bacterias, virus o moléculas extrañas en el cuerpo. Las especies reactivas también pueden generarse por la exposición a agentes externos, incluidos los contaminantes ambientales, medicamentos, radiación ionizante, ozono y altas concentraciones de oxígeno.⁽⁶⁹⁾

Los radicales libres se designan con un punto al lado del símbolo(s) del elemento(s) que los identifica, por ejemplo: $\bullet A$ o $A\bullet$. Las principales especies reactivas de oxígeno son: oxígeno singlete (O_2), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), anión superóxido ($\bullet O_2^-$), radical hidroxilo ($OH\bullet$) y radicales peroxilo ($ROO\bullet$).

Las principales especies reactivas de nitrógeno son: radical óxido nítrico ($NO\bullet$), radical dióxido de nitrógeno ($NO_2\bullet$), ácido nitroso (HNO_2) y peroxinitrito (OHO_2^-).

3.3 Antioxidantes

Los antioxidantes son moléculas que en bajas concentraciones pueden prevenir o retrasar la oxidación de un sustrato como el ADN, el ARN, las proteínas y los

lípidos. Los antioxidantes tienen una alta afinidad por los radicales libres, y son capaces de donar electrones para reducirlos, manteniendo así el equilibrio celular prooxidante/antioxidante. Los antioxidantes ejercen sus efectos beneficiosos al inhibir, disminuir o retrasar la formación de radicales libres, o al bloquear su propagación. Los antioxidantes están presentes principalmente en el reino vegetal; por lo tanto, la principal fuente de antioxidantes exógenos es a través de los alimentos. Por otro lado, el cuerpo sintetiza antioxidantes endógenos (p. Ej., Glutación peroxidasas, catalasa y superóxido dismutasas, tioredoxina reductasa y hemooxigenasa), que son las moléculas esenciales para combatir los radicales libres y proteger la salud del organismo.^(8; 68)

Los compuestos antioxidantes más importantes presentes en los vegetales, tanto hidrosolubles (vitamina C y compuestos fenólicos), como liposolubles (carotenoides), contribuyen a la defensa del envejecimiento celular. Como resultado de ello, protegen las células contra el daño oxidativo, y por tanto, pueden prevenir enfermedades crónicas como el cáncer, enfermedades cardiovasculares y la diabetes.⁽²²⁾

3.4 Metabolitos secundarios con actividad antioxidante

Existen cientos de miles de productos químicos aislados e identificados de diversas clases y estructuras procedentes de las plantas superiores en todo el planeta. Dichos productos químicos se dividen en dos grupos principales: metabolitos primarios y secundarios. Los metabolitos primarios son esenciales para el mantenimiento celular, como ácidos grasos, proteínas, carbohidratos y ácidos nucleicos. Los metabolitos secundarios, a pesar de no participar directamente en el metabolismo fotosintético o respiratorio, se sabe que son esenciales para la supervivencia de las plantas. Sus estructuras y productos

químicos son diversos en comparación con los metabolitos primarios y son responsables de la defensa de las plantas.

Los metabolitos secundarios protegen a la planta de los oxidantes y la radiación ultravioleta. Estos también actúan como compuestos de señal, que atraen a los polinizadores o animales para la dispersión de semillas. Los metabolitos secundarios se clasifican de acuerdo a sus rutas y estructura biosintéticas; se dividen en tres grupos principales:

- A. Flavonoides, compuestos fenólicos aliados y polifenólicos.
- B. Terpenoides.
- C. Alcaloides que contienen nitrógeno y compuestos que contienen azufre.

Dichos compuestos están unidos a los metabolitos primarios mediante bloques de construcción y enzimas biosintéticas.⁽⁷⁵⁾

3.4.1 Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son moléculas que tienen uno o más grupos hidroxilo unidos a un anillo aromático. Los compuestos fenólicos tienen su origen en el mundo vegetal. Son unos de los principales metabolitos secundarios de las plantas y su presencia en el reino animal se debe a la ingestión de éstas. Los fenoles son sintetizados por las plantas y son regulados genéticamente, tanto a nivel cualitativo como cuantitativo, aunque a este nivel también existen factores ambientales. Además, actúan como fitoalexinas (las plantas heridas secretan fenoles para defenderse de posibles ataques fúngicos o bacterianos) y contribuyen a la pigmentación de muchas partes de la planta (por ejemplo, las antocianinas son responsables del color rojo, naranja, azul, púrpura o violeta encontrados en las cáscaras las frutas y hortalizas) ⁽¹⁴⁾.

Los compuestos fenólicos de los vegetales proceden principalmente de dos rutas biogénicas:

- Vía shikimato, conduce a partir de osas a la formación de aminoácidos aromáticos (fenilalanina y tirosina) y después, por desaminación de estos últimos, a la de ácidos cinámicos y de sus numerosos derivados: ácidos benzoicos, acetofenonas, lignanos y ligninas, cumarinas, etc.
- Vía acetato, conduce a la formación de polibetacetoésteres de longitud variable (poliacetatos) que producen, por ciclación (condensación aldólica o reacción de Claisen), compuestos normalmente policíclicos: cromonas, isocumarinas, orcinoles, dépsidos, depsidonas, xantonas, quinonas, etc.

Cuando dos o más rutas biogénicas participan simultáneamente se crean compuestos de origen mixto (flavonoides, estilbenos, pironas, xantonas). Es posible la participación de una tercera vía elemental, el mevalonato. Aunque sea menos frecuente; derivados mixtos del shikimato y del mevalonato, (algunas quinonas, las furano y piranocumarinas); inclusive compuestos mixtos acetato/mevalonato (cannabinoides). A veces, los tres precursores participan en la formación de la misma estructura (rotenoides).⁽⁶⁾

El poder antioxidante de los compuestos fenólicos está vinculado a sus propiedades reductoras como el hidrógeno o los agentes donadores de electrones, lo que predice su potencial de acción como eliminadores de radicales libres ⁽⁷⁵⁾. Así, los grupos hidroxilo, al estar unidos a un anillo bencénico, presentan la posibilidad de que el doblete del átomo de oxígeno interactúe con los electrones del anillo, lo que les confiere unas características especiales respecto al resto de alcoholes.⁽¹⁴⁾

Los compuestos fenólicos también tienen la capacidad de quelación del metal, particularmente hierro, aluminio y cobre, que suprime la formación de radicales libres catalizada por metales, dando como resultado la formación de complejos. La estructura de los compuestos fenólicos está relacionada con su actividad de

eliminación de radicales y quelantes de metales. El número de grupos hidroxilo y su posición en relación con el grupo funcional carboxilo influye en la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos.⁽⁷⁵⁾

Los compuestos fenólicos más importantes encontrados en la dieta humana son los ácidos fenólicos, flavonoides y taninos. Los tipos de compuestos fenólicos pueden ser clasificados de acuerdo a su estructura química. (Cuadro N° 1).

Cuadro N° 1. Categorías de compuestos fenólicos encontrados en plantas.

Categoría	Estructura
Fenoles simples, benzoquinonas	C6
Ácidos hidroxibenzóicos	C6-C1
Ácidos hidroxicinámicos, cromonas, cumarinas	C6-C3
Xantonas	C6-C1-C6
Estilbenoides, antraquinonas	C6-C2-C6
Flavonoides, isoflavonoides	C6-C3-C6
Lignanós	(C6-C3) ₂
Ligninas	(C6-C3) _n
Taninos condensados	(C6-C3-C6) _n

Las diversas categorías de los compuestos fenólicos presentan muchas características que diferencian a una de la otra:

3.4.2 Fenoles simples y benzoquinonas

Los fenoles simples son compuestos que tienen dos (en las posiciones 1, 2; 1, 3 o 1, 4) o tres (en las posiciones 1, 3, 5 o 1, 2, 3) (Figura N° 1) grupos hidroxilo en el anillo aromático. Además de sus propiedades antioxidantes, estos compuestos

fenólicos tienen una actividad biológica importante, como los antibióticos, antiparasitarios y citotóxicos.⁽⁶³⁾

Los fenoles simples (catecol, guayacol, floroglucinol) son bastante escasos en la naturaleza salvo la hidroquinona, que se encuentra en diversas familias (Ericaceae, Rosaceae).⁽⁶⁾

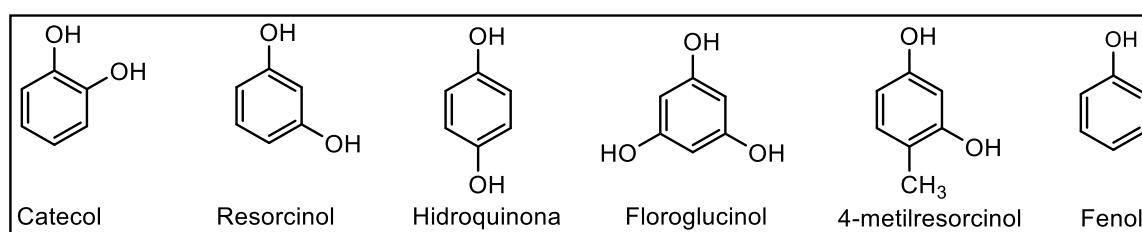


Figura N° 1. Estructuras químicas de compuestos fenólicos simples.

3.4.3 Ácido hidroxibenzóico

Los ácidos hidroxibenzóicos son compuestos que presentan un grupo carboxílico (grupo ácido) y grupos hidroxilo (uno o más) en un anillo aromático. Están presentes en alimentos tales como frutas, verduras y cereales. Se ha comprobado la actividad biológica de los ácidos hidroxibenzóicos, por ejemplo, el ácido gálico (Figura N° 2) un efecto protector frente a lesiones de hígado en modelos animales.⁽⁶³⁾

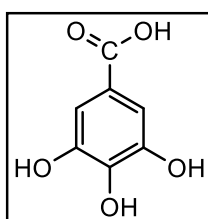


Figura N° 2. Estructura química del ácido gálico.

3.4.3.1 Ácidos hidroxicinámicos, Cromonas y Cumarinas

El ácido hidroxicinámico se caracteriza por la presencia del grupo $\text{CH}=\text{CH}-\text{COOH}$ en remplazo del grupo carboxilo presente en los ácidos hidroxibenzóicos. El doble enlace carbono-carbono de la cadena aumenta la resonancia química, que puede ser descrita como una deslocalización de los electrones en los enlaces π estabilizando los radicales libres y por lo tanto incrementa la capacidad antioxidante de la molécula. Los ácidos hidroxicinámicos han mostrado actividad antioxidante, antigenotóxica y antiproliferativa en células. Algunas de fuentes de ácido hidroxicinámicos, como el ácido *p*-cumárico (Figura N° 3), en los alimentos son las uvas, manzanas, arándanos, espinacas, brócoli y cereales.⁽⁶³⁾

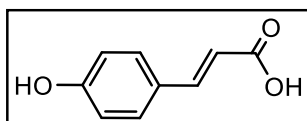


Figura N° 3. Estructura química del ácido *p*-cumárico.

Las cumarinas contienen un anillo aromático unido a un heterociclo oxígeno. Se consideran compuestos fenólicos cuando un grupo hidroxilo está unido a un esqueleto de estructura cumarina. Casi todas las cumarinas se encuentran sustituidas en C-7 por un hidroxilo. La 7-hidroxicumarina, conocida con el nombre de umbeliferona (Figura N° 4).

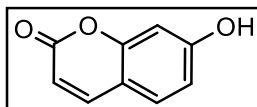


Figura N° 4. Estructura química de la umbeliferona.

Las cromonas (Figura N° 5) son un grupo de compuestos de origen natural muy abundantes. Son compuestos heterocíclicos que contienen oxígeno con un anillo

benzo- γ -pirona. Es un derivado de benzopirano sustituido con un grupo cetona en el anillo de pirano.⁽⁷⁴⁾

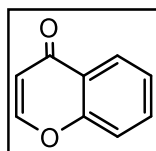


Figura N° 5. Estructura química de una cromona.

3.4.3.2 Xantonas

Generalmente las xantonas se forman por ciclación de las benzofenonas que resultan de la adición de unidades dicarbonadas (del MalonilCoA) sobre un precursor en C6-C1, como un ácido benzoico proveniente del fraccionamiento de un ácido cinámico.

Estos compuestos pueden ser antibacterianos y fungicidas, varios inhiben la agregación plaquetaria y otras, como la mangostina (Figura N° 6), son antiinflamatorias.⁽⁶⁾

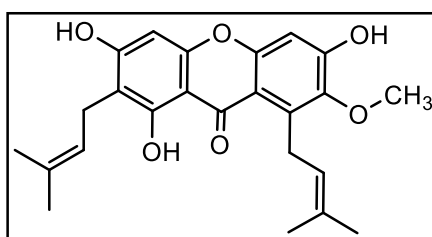


Figura N° 6. Estructura química de la mangostina.

3.4.3.3 Estilbenoides

Se les denomina de esta manera para resaltar el parentesco biogénético con los flavonoides. Los estilbenoides son compuestos fenólicos que poseen dos núcleos bencénicos separados por un puente etano o eteno, es decir, bibencilos y estilbenos.

El resveratrol (Figura N° 7) es un estilbeno útil para la salud humana, con actividad antiinflamatoria, antiartrítico, antioxidante y antiprotozoaria.⁽⁶³⁾

En los vegetales, estos compuestos son fitoalexinas pueden y en algunos casos reguladores del crecimiento. También poseen propiedades antifúngicas y antimicrobianas.⁽⁶⁾

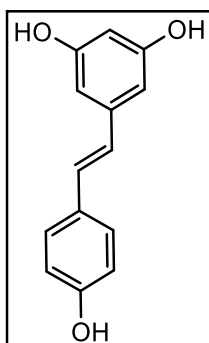


Figura N° 7. Estructura química del resveratrol.

3.4.3.4 Quinonas

Las quinonas naturales tienen su dióxido de carbono conjugada con los dobles enlaces de un núcleo bencénico (benzoquinonas) o con los de un sistema aromático policíclico condensado: naftaleno (naftoquinonas), antraceno (antraquinonas), 1,2-benzantraceno (antracilinas), naftodiantreno (naftodiantronas), perileno, fenantreno. Existen otro tipo de quinonas llamadas ubiquinonas, como la coenzima Q10 (es un componente de la cadena de transporte de electrones en la respiración celular).⁽⁶⁾

Las antraquinonas cuando tienen dos anillos fenólicos en la estructura de quinona, como la emodina (Figura N° 8); y las naftoquinonas que tienen un solo anillo aromático ligado al anillo conjugado por un grupo cetona doble.

Se ha demostrado que las quinonas poseen propiedades redox, por lo tanto son consideradas potentes antioxidantes.⁽⁶³⁾

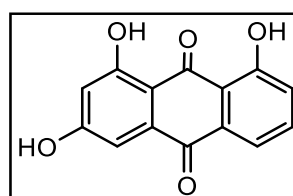


Figura N° 8. Estructura química de la emodina.

3.4.3.5 Flavonoides, isoflavonoides

Los flavonoides son pigmentos casi siempre hidrosolubles, y lo poseen la gran mayoría de los vegetales. Estos son responsables de la coloración de las flores, frutos y a veces de las hojas. Estas coloraciones ayudan a atraer insectos polinizadores hacia la planta.⁽⁶⁾

Los flavonoides son un tipo particular de compuestos de los presentes en plantas, y son responsables del color de las flores y frutas.

La estructura química típica de flavonoides (Figura N° 9) consta de tres anillos: benzopirano 2-fenil, un anillo dihidroxilados fenólicos en las posiciones 5 y 7, (denotado A), un segundo anillo fenólico generalmente mono-hidroxilado, orto-dihidroxilados o vic-trihidroxilados (que se denota B), que también pueden contener grupos metoxi como sustituyentes y el anillo C, que puede ser un anillo heterocíclicos con oxígeno pirano, pirylium o de forma pirona.⁽⁶³⁾

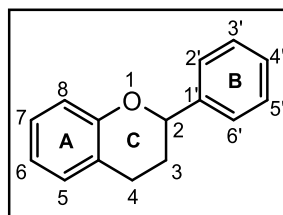


Figura N° 9. Estructura química básica de un flavonoide.

Existen diversos tipos de flavonoides, todos parten de la misma estructura química básica pero con algunas diferencias:

- Chalconas: tienen una cadena lineal para conectar los anillos A y B en lugar del anillo heterocíclico C.
- Auronas: similares a las chalconas, con la diferencia de que la cadena lineal está sustituida por un anillo heterocíclico de cinco miembros relacionados con los anillos A y B.
- Flavanonas: su anillo C es un anillo heterocíclico de seis miembros saturado de oxígeno de seis miembros, con un grupo cetona en la posición 4.
- Flavanonoles: similares a las flavanonas, con la diferencia de que existe un grupo hidroxilo que se añade al anillo C en la posición 5, cerca del grupo cetona.
- Flavonas: similar a las flavanonas, con la diferencia de que presenta un enlace insaturado entre los carbonos 2 y 3 en el anillo C.
- Flavonoles: similar a los flavanonoles, con la diferencia de que presenta un enlace insaturado entre los carbonos 2 y 3 en el anillo C.
- Isoflavonas: el anillo B se encuentra en la posición 3 en el heterocíclico C.
- Neoflavonoides: el anillo B está en la posición 4 y el grupo de cetona en la posición 2.
- Flavan-3-oles: también llamados flavanes. Poseen un anillo C con la insaturación, y un grupo hidroxilo en la posición 3 del heterocíclico.

- Leucoantocianidinas: similares a los flavanes pero tienen un grupo hidroxilo extra en la posición 4 del heterociclo C.
- Antocianidinas: tiene un catión pirulina como anillo C y un grupo hidroxilo en la posición 3 del mismo anillo.
- Deoxiantocianidinas: similares a las antocianidinas, excepto que no tienen el grupo hidroxilo en la posición 3 del anillo C (catión pirulina).
- Antocianinas: Las antocianinas son glicósidos de antocianidinas. El azúcar se encuentra como o-glucósido en el hidroxilo de la posición 3 del anillo C, y cuando la antocianina tiene más de un azúcar, la segunda posición del enlace es la posición 5.

3.4.3.6 Lignanos

Los lignanos compuestos fenólicos dímeros, y son derivados de fenilalanina y alcoholes cinámicos. El término de lignano designa habitualmente compuestos cuyo esqueleto resulta del establecimiento de una unión entre los carbonos beta de las cadenas laterales de dos unidades derivadas del 1-fenilpropano (unión 8-8'). Los neolignanos son así mismo productos de condensación de unidades fenilpropánicas, pero la unión variable implica como máximo a un solo carbono beta (unión 8 - 3', 8 - 1', 3 - 3', 8 - O- 4'...).(6)

Estos compuestos han demostrado una capacidad antioxidante significativa, en particular los derivados de la estructura de la sesamina (Figura N° 10).

Además, se consideran a los lignanos como fuentes de fitoestrógenos en la dieta. Los lignanos están presentes en varios alimentos, como granos, hortalizas y uvas.(63)

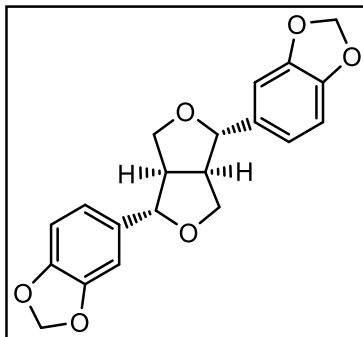


Figura N° 10. Estructura química de la sesamina.

3.4.3.7 Ligninas

Las ligninas son polímeros fenólicos complejos, constituyen parte de la fibra dietética en los alimentos. Están formados por compuestos fenólicos polimerizados con los azúcares.

Las ligninas están presentes en varios alimentos, especialmente en los cereales de grano entero. Además, tienen una considerable capacidad antioxidante.⁽⁶³⁾

3.4.3.8 Taninos condensados

Los taninos condensados son derivados de flavan-3-ol, encontrado como monómero dentro de la estructura, así como unidades estructurales en las cadenas que van desde proantocianidina-catequina y/o dímeros derivados de catequina a polímeros de mayor tamaño.

Los taninos son diversos compuestos fenólicos con la particularidad de que se unen a las proteínas y precipitan. Los taninos están presentes en hojas, frutos y cortezas. Estos compuestos complejos son parte de la protección de las plantas contra las infecciones y los herbívoros ⁽⁶³⁾. La Procianidina B₂ es un representante de este grupo (Figura N° 11).

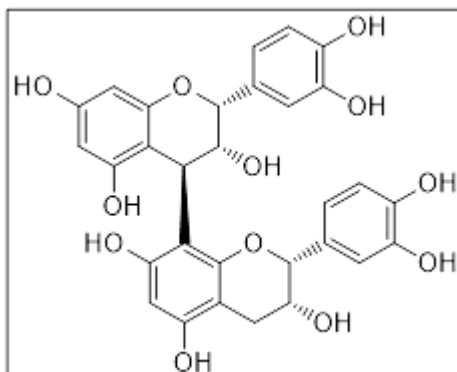


Figura N° 11. Estructura química de la Procianidina B₂.

Existen también otros grupos de taninos según su clasificación química, como los taninos hidrolizables y los taninos complejos. Los taninos hidrolizables son polímeros heterogéneos formados por ácidos fenólicos, en particular ácido gálico, y azúcares simples.

Son más pequeños que los taninos condensados y son hidrolizados con más facilidad. Los taninos complejos contienen unidades de catequina vinculados a galotaninos o elagitaninos.

Estos dos últimos son subclasificaciones de los taninos, los galotaninos consisten básicamente en un núcleo de glucosa o azúcar en otro núcleo esterificados con ácido gálico y sus derivados; y los elagitaninos se componen de un núcleo poliol (glucosa o el ácido quínico) y ésteres del ácido hexahidroxidifénico.⁽⁶³⁾

3.4.4 Terpenoides

Los terpenoides, también conocidos como isoprenoides, son los productos naturales más numerosos y estructuralmente diversos. El nombre genérico "terpeno" se aplicó originalmente a los hidrocarburos que se encuentran en la trementina, y el sufijo "eno" indica la presencia de enlaces oleofínicos.

Los terpenoides se clasifican según el número y la organización estructural de los carbonos formados por la disposición lineal de las unidades de isopreno (Figura N° 12) seguidas de la ciclación y los reordenamientos del esqueleto de carbono con una característica empírica conocida como la regla del isopreno. El isopreno, el bloque de construcción de los terpenoides, es 2-metilbuta-1,3-dieno (C_5H_8).⁽⁴⁷⁾

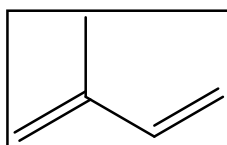


Figura N° 12. Estructura química del isopreno.

La unidad de isopreno individual representa la clase más básica de terpenoides, los hemiterpenos. Los grupos de terpenoides se muestran en el cuadro N° 2:

Cuadro N° 2. Categorías de compuestos fenólicos encontrados en plantas. ⁽⁶⁶⁾.

N° unidades de isopreno	N° Carbonos	Nombre	Ejemplos
1	5	Hemiterpenos	Isovaleraldehído en esencia de <i>Eucaliptus spp.</i> Componentes de aceites esenciales.
2	10	Monoterpenos	Mentol, mirceno, limoneno, pineno. Otros componentes de aceites esenciales.
3	15	Sesquiterpenos	Ácido abscísico (hormona).
4	20	Diterpenos	Ácidos diterpénicos en resinas (ácido abiético). Fitol. Componentes de algunas esencias. Giberelinas. Steviósido.
5	25	Sesterpenos	En hongos. Escasos y poco importantes hasta el presente.
6	30	Triterpenos	Esteroles (colesterol). Triterpenos verdaderos: amirina, limonina.
8	40	Tetraterpenos	Carotenoides (carotenos y xantófilas).
n	N	Politerpenos	Caucho en <i>Hevea brasiliensis</i> .

Las evidencias indican que las vías biosintéticas para la síntesis del IPP son diferentes: la clásica vía del ácido mevalónico en el citosol y retículo endoplasmático, y la vía del gliceraldehído fosfato y piruvato en los plástidos.⁽⁶⁶⁾

3.4.5 Carotenoides

Los carotenoides son unos de los terpenoides más importantes. Los carotenoides funcionan como pigmentos accesorios en las plantas, por lo tanto, no tienen el rol principal en dicha tarea. Estos pigmentos accesorios trabajan en conjunto con las clorofilas en el mecanismo general del transporte y la conversión de energía. Los carotenoides exhiben colores rojo, naranja y amarillo. Además, los carotenoides son liposolubles.

Los carotenoides en las plantas tienen la función de atraer insectos polinizadores, indican el estado de madurez de algunos frutos. En la fotosíntesis, los carotenoides son conocidos principalmente por sus propiedades fotoprotectoras. Estos actúan para proteger los pigmentos clorofílicos de las reacciones dañinas que ocurren en presencia de oxígeno en condiciones de luz excesiva. Sin embargo, al mismo tiempo, funcionan como pigmentos de captación de luz para absorber la luz solar en una región espectral no cubierta por clorofilas y extender el rango de longitudes de onda a través de las cuales la luz puede conducir la fotosíntesis. Finalmente la energía absorbida se transfiere de manera eficiente a las clorofilas.⁽¹⁰⁾

Los carotenoides pueden encontrarse en plantas superiores, algas, hongos, bacterias y algunos otros animales. El cuerpo humano no puede sintetizarlos, pero son esenciales para la salud. Por ejemplo, la luteína y la zeaxantina en los ojos humanos son responsables del filtrado de las longitudes de onda de alta energía de la luz azul, lo que resulta en la reducción del estrés oxidativo en la

retina. Algunos carotenoides proporcionan beneficios de salud adicionales, ya que desempeñan funciones esenciales como pro-vitamina A y antioxidantes (58). Según la estructura química de los carotenoides (Figura N° 13), a los que existen como hidrocarburos puros se denominan carotenos (α -caroteno, β -caroteno y licopeno), a los que contienen oxígeno como grupo funcional en su estructura (β -criptoxantina, luteína y zeaxantina) se conocen como xantofilas. La presencia de un grupo polar en la estructura (por ejemplo, epoxi, hidroxilo y ceto) afecta la polaridad y la función biológica de los compuestos.

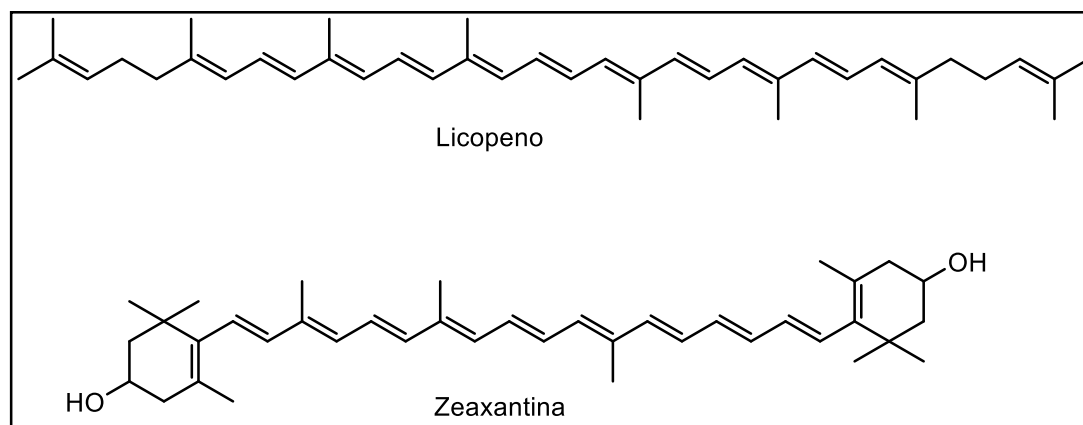


Figura N° 13. Estructura química de los carotenoides.

3.5 Métodos para evaluar actividad antioxidante

El estudio de la actividad antioxidante de un compuesto en específico o de extractos vegetales es un tema popular dentro de la comunidad científica. Los métodos *in vitro* más comunes utilizados para evaluar la actividad antioxidante de compuestos específicos (por ejemplo, los fenoles) y extractos de plantas se basan en una única reacción de transferencia de electrones o una reacción de transferencia de átomos de hidrógeno. Las primeras son reacciones de tipo redox que presentan variaciones de coloración correlacionadas con la concentración de las especies antioxidantes en la muestra.(75)

Dichos métodos incluyen:

- el ensayo de reducción de cobre (CUPRAC),
- el ensayo de capacidad antioxidante equivalente de Trolox (ABTS o TEAC),
- el ensayo de la capacidad de reducción férrica del plasma (FRAP),
- el ensayo de capacidad de captación de radicales de 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH).

Las segundas, reacciones de transferencia de átomos de hidrogeno, son reacciones basadas en la competencia termodinámica entre sustratos y antioxidantes por el radical peroxilo y, en consecuencia, la formación de sondas fluorescentes, que luego se monitorean e interpretan mediante curvas cinéticas.⁽⁷⁵⁾

Entre estas se pueden mencionar:

- el ensayo de capacidad de absorción de radicales de oxígeno (ORAC),
- el ensayo de capacidad de captación de peroxil (PSC),
- el ensayo del parámetro antioxidante (TRAP) que atrapa los radicales peroxil.

Este tipo de métodos son muy útiles a pesar de tener limitaciones, el ensayo de actividad antioxidante *in vitro* mide solo la actividad antioxidante frente a un radical, no a todas las especies reactivas. Estos estudios *in vitro* no tienen en cuenta los parámetros bioquímicos, metabólicos y otros parámetros fisiológicos. Los compuestos antioxidantes pasan a través de numerosas reacciones bioquímicas por ingestión, digestión y absorción en los organismos. Este hecho podría explicar por qué los ciertos compuestos químicos y extractos de plantas presentan una alta actividad antioxidante en estudios *in vitro*, mientras que esto no sucede en estudios *in vivo*. Los estudios *in vivo* se han realizado principalmente en células eucariotas (conejos, cobayas, ratones y peces). La evaluación de la actividad antioxidante *in vivo* de compuestos químicos o

extractos vegetales se evalúa por el efecto en un rango de parámetros bioquímicos asociados con el equilibrio oxidante/antioxidante en organismos (por ejemplo, los antioxidantes endógenos).⁽⁷⁵⁾

3.5.1 Ensayo de capacidad de captación de radicales de 2,2-difenil-1-picrilhidracilo (DPPH)

El ensayo DPPH se sugirió por primera vez en la década de 1950 para encontrar donantes de electrones en productos naturales. Más tarde se usó para determinar la actividad antioxidante de los compuestos fenólicos y los alimentos vegetales.

El DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) es un radical de nitrógeno orgánico, que tiene un electrón de valencia no apareado en un átomo de puente de nitrógeno, y es estable y soluble en medio orgánico (especialmente alcohólico) y es insoluble en medio acuoso, con un color púrpura y una absorción en el rango de 515–520 nm. La solución con radical en presencia de un donante de electrones pierde su intensidad y se vuelve amarilla, según el número de electrones detenidos, en la cual los cambios de color ocurren cuando el átomo de nitrógeno de DPPH recibe electrones de compuestos antioxidantes. La actividad antioxidante se expresa como equivalente de Trolox como se usa en otros ensayos de antioxidantes. Además, se lleva a cabo la técnica EC_{50} para determinar la eficiencia de los antioxidantes antirradicales, basada en la cantidad de antioxidante necesaria para disminuir en un 50% la concentración inicial del radical DPPH.

El ensayo tiene algunas limitaciones, ya que el radical DPPH interactúa con otros radicales y la respuesta de la curva para alcanzar una etapa estacionaria no es lineal (las relaciones entre el antioxidante y el DPPH son variables). El radical está disponible comercialmente, lo que permite su uso y disminuye las posibles interferencias en las reacciones a través de la producción de radicales.⁽⁷⁵⁾

3.6 Proceso de liofilización

La liofilización o la liofilización es la eliminación del agua por sublimación del estado sólido (hielo). En este proceso, el alimento se congela primero y luego se somete a alto vacío, por lo que el hielo de agua se sublima (es decir, se evapora directamente, sin fundirse). El vapor de agua liberado generalmente se atrapa en la superficie de un condensador a una temperatura muy baja. Es un proceso de conservación de productos biológicos conocidos, porque incluye 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, levaduras, sueros, derivados sanguíneos, algas, así como frutas, vegetales, carnes, y alimentos en general.⁽⁵⁾

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.

La sublimación es la transición directa del estado sólido al estado gaseoso sin fusión. La sublimación ocurre en un rango definido de temperaturas y presiones, dependiendo de la sustancia en cuestión.

El diagrama de fase del agua pura (Figura N° 14) indica que la sublimación del hielo de agua solo puede ocurrir si la presión y la temperatura del vapor están por debajo de las del punto triple del agua, es decir, por debajo de 611.73 Pa y 0.01 ° C, respectivamente.

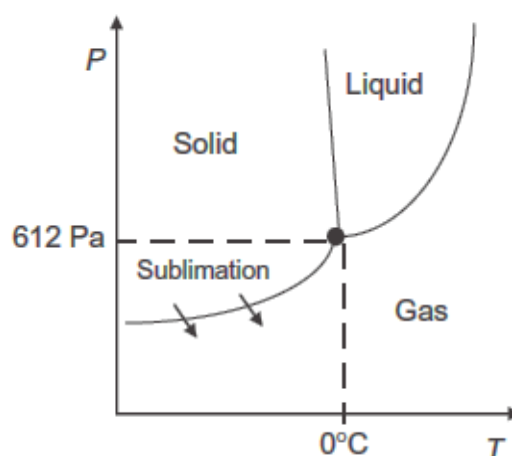


Figura N° 14. Diagrama de fases del agua pura, mostrando condiciones de sublimación

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. En algunos casos, también se conduce a través de la capa congelada desde la parte posterior.

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 612 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.

Las temperaturas máximas que se alcanzan en alimentos secos y productos congelados deben ser bastante bajas para mantener la degradación a un mínimo.⁽⁵⁾

3.7 Generalidades de las especies vegetales de estudio

3.7.1 *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg



Figura N° 15. Fruto de *Artocarpus altilis* (Parkinson) Fosberg.

(La imagen es propiedad de LIPN, FQF, UES)

Familia: Moraceae.

Nombre común: “Árbol del pan”, “Castaña”, “Fruta de pan” o “Arbopán”.

Descripción botánica: Árboles, hasta 20 m de alto; plantas monoicas. Hojas 7–15-pinnatilobadas, 30–100 cm de largo y 25–65 cm de ancho, ápice acuminado, base aguda a obtusa, glabras.

Inflorescencias solitarias; flores estaminadas en espigas densas, claviformes o cilíndricas, 7–30 cm de largo y 1.5–4 cm de grueso; flores pistiladas en capítulos densos, globosos a obovoides, 5–10 cm de diámetro. Infrutescencia múltiple, de hasta 30 cm de diámetro, aquenios embebidos en el sincarpo.⁽⁵⁵⁾

Distribución: Es nativa de Asia, actualmente cultivada en todos los trópicos. Es cultivada en toda Centro América.⁽⁵⁵⁾

Fenología: En El Salvador fructifica de mayo a septiembre, sin embargo, a lo largo de la zona intertropical es posible que fructifiquen durante todo el año, como en Hawái.⁽²³⁾

Usos Etnobotánicos: Las hojas, raíces y corteza de esta planta se usan como medicinas tradicionales en la Indias occidental para reducir la presión arterial y aliviar el asma, la fiebre y los trastornos hepáticos.⁽³⁸⁾

En El Salvador, los cultivos existentes tienen como finalidad el consumo de su fruto. En Nicaragua es cultivada regularmente por sus frutos comestibles, los cuales son vendidos en los mercados locales.⁽²⁷⁾

Toxicidad: En un estudio realizado en ratones, extractos alcohólicos de la corteza y las hojas no mostraron toxicidad alguna.⁽²⁾

Composición Química : En distintos órganos de esta especie se han encontrado compuestos como cicloartenol (terpenoide), artoindonesianina F (estilbenoide) y diferentes grupos de flavonoides (chalconas, prenilflavonas, oxepinoflavonas, pirano-flavonas, xantonas y auronas preniladas).^(48; 59)

Composición Química del fruto: En el fruto se han encontrado triterpenos (α -amirina) y esteroides (sitosterol, cicloartenol y cicloart-24-en-3-one), así como también estilbenos (oxiresveratrol, artoindonesianina F) y flavonoides (norartocarpetina, isoartocarpesina).^(2; 39)

El fruto también es rico en proteínas, ácido linoleico y linolénico; carotenoides, distintos minerales, vitamina C, B1, B2, B3 y contiene pequeñas cantidades de ácido fólico.^(4; 23)

3.7.2 *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.



Figura N° 16. Fruto de *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.

(La imagen es propiedad de LIPN, FQF, UES)

Familia: Rosaceae.

Nombre común: “Níspero”, “Níspero japonés”, “Chicozapote” o “Ciruela japonesa”.

Descripción botánica: Árboles de 5–10 m de alto. Hojas obovadas a lanceoladas, 12–30 cm de largo, ápice agudo a obtuso, base atenuada, apenas dentadas, brillantes en el haz y ferrugíneo-tomentosas en el envés, subsésiles. Flores en panículas terminales grandes, blancas, fragantes, 1 cm de ancho; estambres 20; estilos 2–5, fusionados en la parte inferior.

Fruto, un pomo, 3–4 cm de largo, amarillo, jugoso; semillas 1–2, 1–1.5 cm de largo.⁽⁵⁵⁾

Distribución: Es originaria del sudeste de China, desde ahí su cultivo se extendió alrededor de todo el mundo. ⁽⁴²⁾

Fenología: En El Salvador fructifica de mayo a octubre, sin embargo, en Asia fructifica de abril a junio.

Usos Etnobotánicos: En El Salvador, el fruto es comúnmente consumido durante su temporada de cosecha. En China, los extractos de níspero se han utilizado para el tratamiento de la tos, la bronquitis crónica, la inflamación, la diabetes y el cáncer.⁽⁴²⁾

Toxicidad: Un estudio realizado en ratones de laboratorio no encontró toxicidad en un extracto etanólico de la hoja.⁽⁴¹⁾

Composición Química del fruto: En general fruto es rico en ácido málico y quínico, así como en azúcares como fructosa, glucosa y sacarosa; también posee una gran cantidad de carotenoides (principalmente β -caroteno, β -criptoxantina, luteína y violaxantina). El fruto tiene un alto contenido de compuestos fenólicos, el ácido clorogénico y el ácido neoclorogénico son los principales fenoles, y además es rico en flavonoides (quercetina y kaempferol), ácidos hidroxibenzóicos (ácidos p-hidroxibenzóico y gálico), ácidos hidroxicinámicos (ácidos cumárico y caféico), triterpenos pentacíclicos (ácido ursólico y ácido oleanólico) y minerales. También posee vitamina C en bajas cantidades.⁽⁴²⁾

3.7.3 *Momordica charantia* L.



Figura N° 17. Fruto de *Momordica charantia* L.

(La imagen es propiedad de LIPN, FQF, UES)

Familia: Cucurbitaceae.

Nombre común: “Jaiba”, “Melón amargo”, “Calabaza amarga”, “Pera balsámica” o “Pepino salvaje”.

Descripción botánica: Plantas anuales, trepadoras o rastreras, delgadas a robustas; monoicas. Hojas de contorno ampliamente ovado a circular, 1–15 cm de largo y 2–16 cm de ancho, cordadas, membranosas; pecíolos 0.4–8.5 cm de largo, casi glabros a vellosos; zarcillos no ramificados. Flores solitarias y axilares; flores estaminadas en pedúnculos 0.6–4.5 cm de largo, pétalos 5, libres, obovado-oblongos, 7–20 mm de largo, amarillos. Fruto elipsoide, 2–12.5 cm de largo y 1–4 cm de ancho, rostrado, tuberculado, carnoso, péndulo, de color anaranjado a amarillo.⁽⁵⁵⁾

Distribución: se cultiva ampliamente en numerosos países asiáticos (especialmente China, India, Japón y Malasia), África oriental, Centroamérica, el Caribe, el Amazonas y también algunas partes de América del Sur.

Fenología: En El Salvador fructifica todo el año.

Usos Etnobotánicos: En El Salvador los frutos son usados como alimento, especialmente por los niños. Se ha utilizado tradicionalmente en países en desarrollo (como Brasil, China, Colombia, Cuba, Ghana, India, México y Nicaragua). Algunos de sus usos comunes en la mayoría de los países son para la diabetes, como carminativo y en el tratamiento de los cólicos. Tópicamente se usa para el tratamiento de heridas, para el tratamiento de gusanos y parásitos, tanto interna como externamente. También se usa como emenagogo, antiviral para el sarampión y la hepatitis.⁽²⁸⁾

Toxicidad: En una prueba en ratas macho de laboratorio, extractos alcohólicos de la semilla presentaron toxicidad reproductiva.⁽⁷²⁾

Composición Química del fruto: es rico en minerales, vitamina A y C; además la pulpa alrededor de las semillas es buena fuente de carotenoides (especialmente licopeno, además de luteína, zeaxantina, alfa y beta caroteno), ácido oleanólico, charantina (glicósido esteroidal).⁽⁴⁶⁾ Este fruto tiene un alto contenido de compuestos fenólicos, incluyendo ácido gálico, ácido tánico, catequina, ácido cafeico, ácido *p*-cumarico, ácido ferúlico y ácido benzoico.⁽⁷⁷⁾ Su semilla tiene un alto contenido de ácidos grasos saturados e insaturados (ácido palmítico, linoleico, oleico, esteárico y eleosteárico).⁽³⁷⁾

3.7.4 *Muntingia calabura* L.



Figura N° 18. Fruto de *Muntingia calabura* L.

(La imagen es propiedad de LIPN, FQF, UES)

Familia: Muntingiaceae.

Nombre común: “Capulín” (El Salvador), “Nigüito” (Ecuador), “Capulín de comer” (Costa Rica), “Guacima cereza” (Cuba), “Zapán de comer” (Antillas) o “Cereza jamaicana”.

Descripción botánica: Árbol pequeño o arbusto caducifolio, de 3 a 8 m (hasta 12 m) de altura; hojas simples, alternas, oblongo-lanceoladas, de 6 a 14 cm de largo por 2 a 4 cm de ancho, acuminadas, oblicuas en la base, con el margen aserrado, verde claro en el haz y verde grisáceo en el envés. Tronco generalmente cilíndrico. Ramas extendidas horizontales, corteza externa lisa, de color gris pardusco. Flores blancas, de 2 a 2.2 cm de diámetro; axilares, solitarias o en fascículos de 1 a 5 flores, blancos; el fruto es una baya carnosa, elipsoide, jugosa y dulce, de 1 cm de diámetro y de color moreno rojizo oscuro; conteniendo numerosas semillas diminutas pardas y miden 0.5 mm de largo.⁽⁵⁵⁾

Distribución: género monoespecífico endémico del trópico húmedo del Continente Americano (desde México hasta Bolivia y Perú). También se cultiva ampliamente en zonas cálidas de la India y el sudeste asiático, como Malasia, Indonesia y Filipinas.⁽⁵¹⁾

Fenología: En El Salvador fructifica de mayo a diciembre.

Usos Etnobotánicos: En El Salvador los frutos son usados como alimento, especialmente por los niños. En la medicina folclórica peruana, las flores y la corteza se usan como antiséptico y para reducir la hinchazón en las extremidades inferiores, mientras que las hojas, ya sea hervidas o empapadas en agua, se usan para reducir la úlcera gástrica y la hinchazón de la próstata, y para aliviar el dolor de cabeza. y frío. En Colombia, la infusión de las flores se usa como tranquilizante y tónico. En México, la planta se usa para tratar el sarampión, las espinillas bucales y el dolor de estómago. En Filipinas, las flores también se usan para tratar el dolor de cabeza y el frío incipiente o como tranquilizantes, antiespasmódicos y antidispépticos.

Aparte de eso, las raíces se han utilizado como un emenagogo en Vietnam y como abortivo en Malasia.⁽⁵¹⁾

Toxicidad: No se reporta toxicidad oral en diversas pruebas en ratas de laboratorio con extractos alcohólicos de las hojas.⁽⁵¹⁾

Composición Química del fruto: Posee baja cantidad de oligo-, di- y monosacáridos y polioles fermentables, y una cantidad similar de glucosa y fructosa.

Sus principales compuestos volátiles identificados son los terpenos β -farneseno y la dendrolasina. El ácido gálico y el cianidin-3-O-glucósido son los principales compuestos fenólicos, seguidos por el ácido gentísico, la galocatequina, el ácido cafeico y el ácido protocatecuico.⁽⁶⁴⁾

3.7.5 *Opuntia cochenillifera* (L.) Mill.



Figura N° 19. Fruto de *Opuntia cochenillifera* (L.) Mill.

(La imagen es propiedad de LIPN, FQF, UES)

Familia: Cactaceae

Nombre común: “Tunita”, “Nopal de la cochinilla”, “Nopal chamacuero”, “Tuna real” (Venezuela), “Nopal”, “Tuna”, “Tuna nopal” (El Salvador), “Tuna Mansa” (Puerto Rico), “Nopal de San Gabriel” (Oaxaca), “Piaa” (Mexico), “Biaa” (Mexico).

Descripción botánica: Arbustos o árboles hasta 4 m de alto, tronco distinto; articulaciones angostamente elípticas a angostamente obovadas, 10–25 cm de largo y 7–12 cm de ancho; aréolas sin espinas o raramente con 1–3 espinas débiles, ca 1 cm de largo, grisáceas. Flores 4–6 cm de largo y 1.5–2 cm de diámetro; partes sepaloideas del perianto erectas, rojas, a veces con una raya verde en la mitad; partes petaloideas del perianto erectas, imbricadas, 1–2 cm de largo y 0.8–1.2 cm de ancho, rojas; exerto, rosado. Frutos 2.5–4 cm de largo y 2.5–3 cm de diámetro, carnosos, rojos; semillas 5 mm de largo y 3 mm de ancho, blancas.⁽⁵⁵⁾

Distribución: Es cultivada en todo el mundo. No se conoce la distribución nativa, aunque probablemente sea originaria del sur de México o norte de Centroamérica.

Fenología: En El Salvador fructifica de junio a septiembre.

Usos Etnobotánicos: En Mesoamérica las frutas y los cladodios se aplican en medicina popular. Las secciones del tallo aplanadas se usan como cataplasmas para tratar micosis (infecciones fúngicas de la piel) y fiebres.

Las ramas tostadas se cortan en rodajas y se aplican como cataplasmas para aliviar el dolor, la hinchazón y las sensaciones de ardor localizadas como resultado de la filaria.

El tallo rallado, mezclado con harina de maíz y grasa blanda, se calienta para aplicación externa para aliviar los resfriados pesados y la fiebre asociada con la neumonía. La savia de la planta se usa en el tratamiento de resfriados y sibilancias del bebé. Las hojas se usan en el tratamiento de problemas del bazo.⁽¹⁹⁾

Toxicidad: No se reportan estudios de toxicidad en ratones con extractos de esta especie, sin embargo, existe un estudio realizado en ratones con otra especie del género *Opuntia*, en el cual se encontró una leve toxicidad en el aceite de las semillas de la planta.⁽⁷¹⁾

Compuestos de interés: No se reporta caracterización fitoquímica del fruto de esta especie, pero si para otras del mismo género. La semilla del fruto del género *Opuntia* es rica en ácidos linoleico, oleico y palmítico. La pulpa de la fruta contiene altos contenidos de compuestos fenólicos como rutina, el 1,2-dihidroxibenceno, el kaempferol y los ácidos fenólicos como el ácido 3,4-dihidroxibenzoico, gálico y transferúlico. En menores cantidades se encuentran el ácido cafeico, siríngico y *p*-cumáricos.⁽³⁶⁾ Estos frutos también son ricos en ácido ascórbico, betalainas (betanina e indicaxantina) y carotenoides (principalmente luteína).⁽²⁶⁾

3.7.6 *Passiflora quadrangularis* L.



Figura N° 20. Fruto de *Passiflora quadrangularis* L.

(La imagen es propiedad de LIPN, FQF, UES)

Familia: Passifloraceae.

Nombre común: “Granadilla de fresco”, “Granadilla”, “Pasionaria”, “Tumbo gigante” o “Quijón”.

Descripción botánica: Trepadora, de tallos fuertes, cuadrangulares, provistos de zarcillos simples. Es de crecimiento rápido. Vigorosísima (10-20 m). Hoja perenne, ovaladas con largos peciolo. Las flores solitarias y axilares, grandes, brácteas foliáceas pequeñas, cáliz con 5 sépalos verdes con el interior purpúreo, corola con pétalos purpúreos en la cara exterior y rojos en la interna, muy grandes, de coloraciones extremadamente variadas: verde, rosa, blanco y azul. El fruto es una baya oblonga, grande, comestible, de color amarillento hasta rojizo, con muchas semillas.⁽¹⁷⁾

Distribución: Se ha situado su zona oriunda en el norte de América del Sur, específicamente en México, Perú, Brasil y las islas del Caribe.

Fenología: A nivel mundial, la floración se da desde el verano a principios de otoño. En El Salvador fructifica de junio a octubre.

Usos Etnobotánicos: La raíz es diurética, emética, narcótica y vermífugo. También se usa para tratar las dolencias hepáticas. El fruto es antiescorbútico y estomacal. La corteza de la fruta es sedante. Se utiliza en el tratamiento de dolores de cabeza, asma, diarrea, disentería, neurastenia e insomnio.⁽²⁰⁾

Toxicidad: En un estudio realizado con *Artemia salina*, un crustáceo, no se encontró toxicidad en extractos etanólico de la fruta.⁽⁴³⁾

Composición Química: Las hojas de esta especie poseen flavonoides importantes flavonoides bioactivos, como los O-glicósidos de la orientina y vitexina.⁽²⁴⁾ La pulpa en específica es rica en monoterpenoides y en todo el pericarpio de esta especie han identificado flavonoides (principalmente apigenina) y saponinas.^(25; 60)

Composición Química del fruto: La pulpa del fruto del género *Passiflora* presenta cantidades significativas de compuestos fenólicos (ácido ferúlico, ácido cafeico y ácido p-cumárico) β -caroteno, riboflavina, niacina, calcio, fósforo y ácido ascórbico en la parte comestible. Las semillas del fruto son ricas en ácido linoleico, oleico y palmítico.⁽¹³⁾

3.7.7 *Persea schiedeana* Nees



Figura N° 21. Fruto de *Persea schiedeana* Nees.

(La imagen es propiedad de LIPN, FQF, UES)

Familia: Lauraceae.

Nombre común: “Chinin”, “Aguacate de manteca”, “Escalar”, “Pagüa” (México), “Chucte” (El Salvador), “Coyo” (Guatemala), “Supte” (Honduras), o “Yas” (Costa Rica).⁽³⁾

Descripción botánica: Árbol, cuya altura varía de 8 hasta 25 m, los tallos con ligeras vellosidades o totalmente lisos.

Hojas simples, alternas, láminas de 8–21 x 5–14cm, obovadas a casi de forma redonda, el ápice cortamente acuminado, la base obtusa a anchamente aguda,

el margen entero y pecioladas. Inflorescencias axilares, de 10–15 cm de largo, con numerosas flores blanco verdoso, pediceladas, tépalos de aproximadamente 5 mm de largo. Frutos tipo baya de 4 a 6 de diámetro y de x 8 a 10 cm de largo, de forma esférica piriformes, de color verdes o café al madurar, con una sola semilla en su interior.⁽¹¹⁾

Distribución: Esta especie es nativa de México y Centroamérica que se distribuye hasta Colombia.⁽⁵²⁾

Fenología: En El Salvador fructifica de junio a noviembre.

Usos Etnobotánicos: Para esta especie no se reportan usos terapéuticos. En El Salvador y en Mesoamérica el fruto es usado como alimento.

Toxicidad: Se ha realizado una prueba en ratas de laboratorio con extractos etanólicos de las hojas, no se reporta toxicidad alguna.⁽⁵³⁾

Composición Química del fruto: La pulpa del fruto de esta especie es rica en aceites, entre los cuales se pueden encontrar ácidos grasos, por ejemplo ácido linoleico, linolénico, palmitoleico, esteárico, oleico y palmítico, siendo estos últimos dos los componentes mayoritarios.^(15; 45)

Existen estudios que demuestran que otra especie pertenecientes al género *Persea* (*P. americana*) es una fuente muy importante de vitaminas (especialmente vitaminas E y C), pigmentos (antocianinas, clorofilas y carotenoides), esteroides, compuestos fenólicos y azúcares de siete carbonos y sus alcoholes relacionados (D-manoheptulosa y perseitol).⁽³²⁾

3.7.8 *Phyllanthus acidus* (L.) Skeels



Figura N° 22. Fruto de *Phyllanthus acidus* (L.) Skeels.

(La imagen es propiedad de LIPN, FQF, UES)

Familia: Phyllanthaceae.

Nombre común: “Grosella espinosa de Otaheite”, “Grosella espinosa de Tahití”, “Grosella estrella”, “Averrhoa trébol”, “Acerolo” o “Árbol de grosella espinosa”.

Descripción botánica: Árboles, hasta 10 m de alto, hojas en ramitas simples y deciduas. Hojas ovado-lanceoladas, 4–9 cm de largo y 2–4.5 cm de ancho, agudas a cortamente acuminadas en el ápice, obtusas o redondeadas en la base, nervios ligeramente prominentes en el envés; estípulas 0.8–1.2 mm de largo. Flores estaminadas con pedicelos 1.5–3 mm de largo. Fruto drupáceo, 10–25 mm de ancho, blanco-amarillento, con la pulpa ácida; semillas 3.3–3.5 mm de largo, lisas.⁽⁵⁵⁾

Distribución: Esta especie tropical o subtropical se encuentra en toda Asia y también en la región del Caribe, América Central y del Sur. Originaria de Madagascar.⁽³⁵⁾

Fenología: En El Salvador fructifica de abril a julio.

Usos Etnobotánicos: En El Salvador es cultivada por sus frutos ácidos que se comen crudos. En Asia es utilizada en el tratamiento de varios trastornos asociados con el dolor, la inflamación y el estrés oxidativo, incluidos el reumatismo, la bronquitis, el asma, los trastornos respiratorios, la enfermedad hepática y la gonorrea. Las hojas se utilizan principalmente para el tratamiento de la hipertensión, enfermedad hepática y picazón en la piel. Las frutas se usan como tónico para el hígado y purificador de la sangre, así como para el tratamiento de varias afecciones patológicas, como bronquitis, estreñimiento, vómitos y diabetes.⁽¹⁾

Toxicidad: En un estudio con ratas de laboratorio se encontró que el extracto acuoso del fruto causa una leve toxicidad vascular.⁽⁹⁾ Además, el extracto etanólico de corteza de raíz de la planta exhibió un leve efecto citotóxico en un estudio realizado con camarones de salmuera.⁽⁷⁶⁾

Composición Química del fruto: En esta especie se han determinado la existencia de distintos tipos de metabolitos secundarios, como alcaloides, flavonoides, esteroides y fenoles están presentes en el extracto de hoja. En el fruto, componentes fitoquímicos como alcaloides, flavonoides, fenoles y varios otros compuestos aromáticos han sido detectados.⁽³⁴⁾

Se han aislado distintos compuestos fenólicos, en las hojas se ha encontrado ácido 4-hidroxibenzoico, ácido hipogálico, kaempferol y ácido cafeico; mientras que el ácido gálico, dihidroquercetina, quercetina y miricetina fueron identificados en la fruta. La raíz y corteza son ricas en terpenoides (sesquiterpenos de norbisabolano, diterpenos como phyllano, spruceanol, cleistanano y del tipo clenetano).^(1; 70)

3.7.9 *Selenicereus undatus* (Haw.) D.R. Hunt



Figura N° 23. Fruto de *Selenicereus undatus* (Haw.) D.R. Hunt.

(La imagen es propiedad de LIPN, FQF, UES)

Familia: Cactaceae

Nombre común: “Pitahaya”, “Pitaya”, “Pitajaya” o “Pitalla”.

Descripción botánica: Planta trepadora con raíces aéreas que tiene una baya grande, escamosa y glabra. Tiene tallos largos y verdes, más o menos con cuernos en los márgenes de edad. Las flores son muy largas (hasta 29 cm), los segmentos externos del perianto son verdes (o amarillos verdosos) y los segmentos internos del perianto son de color blanco puro.

Su fruto rojo rosado (longitud: 15–22 cm; peso: 300–800 g) es oblongo y cubierto de escamas grandes y largas, rojo y verde en las puntas; tiene una carne color rojo oscuro a violeta, con muchas semillas negras pequeñas, agradable textura de carne y buen sabor.⁽⁴⁰⁾

Distribución: Es originaria del sur de México y América Central. Debido a su atractivo hoy en día, se cultiva comercialmente en las Bahamas, Bermudas, Indonesia, Colombia, Israel, Filipinas, Maymar, Malasia, México, Nicaragua, el norte de Australia, Okinawa (Japón), Sri Lanka, el sur de China, el sur de Florida, Taiwán, Tailandia, Vietnam y las Antillas.⁽⁵⁴⁾

Fenología: En el hemisferio norte florece de mayo a octubre y la apertura floral diaria el tiempo varía con la región. En Centroamérica fructifica todo el año y México fructifica de junio a noviembre.⁽⁵⁴⁾

Usos Etnobotánicos: Las hojas y las flores han sido utilizadas tradicionalmente por los mayas en América Latina como un agente hipoglucemiante, diurético y cicatrizante.⁽⁴⁰⁾

Toxicidad: Extractos de la cáscara muestran inhibición del crecimiento de bacterias gram-positivas y gram-negativas. En un estudio realizado en ratones, extractos alcohólicos de la cáscara muestran leve toxicidad cerebral y cardíaca.⁽⁵⁰⁾

Composición Química del fruto: La pulpa del fruto de esta especie es rica en betalaínas y minerales, pero es pobre en vitamina C. El principal compuesto fenólico encontrado en el fruto es el ácido gálico.

Los tres ácidos grasos principales en el aceite de su semilla son los ácidos linoleico, oleico y palmítico.

Los compuestos de fitoesterol contenidos en la semilla son colesterol, campesterol, estigmasterol y b-sitosterol; en ella se han identificado siete ácidos fenólicos (ácido gálico, vanílico, siríngico, p-hidroxibenzóico, protocatechuico, p-cumárico y cafeico) y es rica en tocoferol.^(40; 44; 54)

3.7.10 *Theobroma cacao* L.



Figura N° 24. Fruto de *Theobroma cacao* L.

(La imagen es propiedad de LIPN, FQF, UES)

Familia: Malvaceae.

Nombre común: “Cacao”, “Árbol de cacao” o “Cacaotero” (El Salvador).

Descripción botánica: Árboles o arbustos de 2–10 m de alto. Hojas ovalado-lanceoladas, 18–34 cm de largo y 5–11 cm de ancho, ápice abruptamente afinado, base a veces algo asimétrica.

Inflorescencias sobre prominencias del tronco; lámina de los pétalos obovado-lanceolada, blanco-amarillenta. Fruto ovoide o elipsoidal, muy variable en tamaño, 5–10-acostillado, verrugoso o liso, redondeado o afinado en el ápice.⁽⁵⁵⁾

Distribución: El origen de esta especie es probablemente la región amazónica y comprende países como Venezuela, Colombia, Ecuador, Perú, Bolivia y Brasil. Se extendió de Sudamérica hasta México. También se introdujo al continente africano.

Fenología: En El Salvador fructifica de diciembre a junio.

Usos Etnobotánicos: Se usa como estimulante y diurético que estimula el sistema nervioso, disminuye la presión arterial y dilata las arterias coronarias. El cacao en polvo y la mantequilla son nutritivos, este último también alivia y suaviza la piel dañada. La semilla se usa en América Central y el Caribe como tónico para el corazón y los riñones. Una infusión de las membranas de semillas horneadas se bebe como un remedio para la anemia. El polvo de cacao se toma internamente en el tratamiento de la angina y la presión arterial alta. La población rural del estado de Amazonas, Brasil, frota la manteca de cacao en los moretones. A menudo se usa para tratar la piel agrietada y las quemaduras. Una infusión de los brotes de las hojas se usa con incienso para tratar la diarrea. Se utiliza una infusión de las vainas secas para disminuir las manchas de lepra.⁽²¹⁾

Toxicidad: Altas dosis de productos derivados de la semilla del cacao pueden provocar toxicosis por teobromina y cafeína.⁽³⁰⁾

Composición Química: En cuanto a la semilla del fruto de esta especie, la grasa saturada predominante es el ácido esteárico, seguido del ácido palmítico y luego el ácido oleico. Las grasas poliinsaturadas son principalmente el ácido linoleico y linolénico. Los esteroides vegetales como el β -sitosterol, el campesterol y el estigmasterol también se han encontrado en el cacao. El cacao contiene varios componentes alcaloides diferentes, lo más notable es la presencia de teobromina y, en menor medida cafeína, también se han informado niveles muy bajos de teofilina. El grano de cacao crudo no fermentado puede ser particularmente rico en flavanoles y procianidinas. Los flavanoles monoméricos en el grano de cacao fresco son predominantemente (-) - epicatequina y, en mucho menor medida, (+) – catequina. Se ha demostrado que la manipulación y el procesamiento convencionales del cacao no solo conducen a una pérdida general de flavonoides y procianidinas del cacao, sino también a cambios estereoquímicos.⁽⁷³⁾

CAPITULO IV
DISEÑO METODOLOGICO

4.0 DISEÑO METODOLOGICO

4.1 TIPO DE ESTUDIO.

Bibliográfico: A partir de fuentes de información confiable respecto a los frutos pertenecientes a la flora salvadoreña, se realizaron comparaciones en los resultados con base a datos nacionales e internacionales.

Experimental: A partir de un procedimiento de laboratorio, con metodología establecida se obtienen resultados experimentales sobre la capacidad antioxidante de diez frutos pertenecientes a especies vegetales salvadoreñas, haciendo uso de un espectrofotómetro UV-Visible modelo GENESYS™ 10S UV-Vis.

4.2 INVESTIGACIÓN BIBLIOGRÁFICA.

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

- Dr. Benjamín Orozco de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.
- Biblioteca Central de la Universidad de El Salvador.
- Biblioteca de la Universidad Alberto Masferrer (USAM).
- Internet

4.3 INVESTIGACIÓN DE CAMPO.

Universo: Especies frutales conocidas y consumidas por la población salvadoreña.




Muestra: Diez frutos consumidos por la población de El Salvador.

Selección de la muestra: Los frutos fueron elegidos tomando en consideración la disponibilidad de recolección del material vegetal, el periodo de fructificación, así como el estado de madurez necesario en las muestras a recolectar.





Además, se hizo uso de bases de datos existentes como por ejemplo Tropicos®, que pertenece al compendio bibliográfico del Missouri Botanical Garden, del cual se empleó el proyecto de “Flora Mesoamericana”, que es la primera recopilación bibliográfica a gran escala sobre la flora regional escrita en español, en la cual se describe, por primera vez, todas las plantas vasculares que se encuentran en los estados del sureste de México (incluyendo la península de Yucatán) y en todas las repúblicas de Centroamérica.

El proyecto de “Flora Mesoamericana” es una de colaboración entre el Missouri Botanical Garden, el Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), y el Natural History Museum, Londres, uniendo a especialistas de todo el mundo.




Cuadro N° 3. Listado de 10 especies frutales seleccionadas para la determinación de la actividad antioxidante.

N°	Nombre científico	Nombre común	Familia botánica	Parte comestible	Período de fructificación	Figura representativa
1	<i>Artocarpus altilis</i>	"Árbol de pan"	Moraceae	Semilla	May.-Sept.	
2	<i>Eriobotrya japonica</i>	"Níspero"	Rosaceae	Mesocarpo del fruto	May.-Oct.	
3	<i>Momordica charantia</i>	"Jaiba"	Cucurbitaceae	Arilo y semilla	Todo el año	

Cuadro N°3 Continuación

4	<i>Muntingia calabura</i>	“Capulín”	Muntingiaceae	Todo el fruto	May.-Dic.	
5	<i>Opuntia cochenillifera</i>	“Tuna”	Cactaceae	Mesocarpo del fruto	Jun.- Sept.	
6	<i>Passiflora quadrangularis</i>	“Granadilla de refresco”	Passifloraceae	Arilo y semilla	Jun.- Oct.	
7	<i>Persea schiedeana</i>	“Chucte”	Lauraceae	Mesocarpo del fruto	Jun.-Jul., Nov.	

Cuadro N° 3 Continuación

8	<i>Phyllanthus acidus</i>	“Guinda”	Phyllanthaceae	Exocarpo y mesocarpo del fruto	Abr.-Jul.	
9	<i>Selenicereus undatus</i>	“Pitahaya”	Cactaceae	Mesocarpo del fruto	Todo el año	
10	<i>Theobroma cacao</i>	“Cacao”	Malvaceae	Semilla del fruto	Dic.-Jun.	

(Las imágenes contenidas en el cuadro N° 3 son propiedad del LIPN, FQF, UES)

4.3.1 Identificación y recolección del material vegetal: La recolección e identificación de las 10 muestras seleccionadas fue realizada por personal del Laboratorio de Investigación de Productos Naturales (LIPN) y especialistas del Museo de Historia Natural de El Salvador (MUHNES).

La identificación se realizó en forma simultánea a la recolección. Para la identificación de las especies vegetales se colectaron muestras completas (con

flor y fruto) de cada especie vegetal a estudiar que posteriormente se trasladaron al Herbario del MUHNES para completar el proceso de identificación, donde un especialista asignó el número de voucher correspondiente a cada una de las 10 especies recolectadas (Ver Cuadro N° 4).

Para el desarrollo de la investigación, 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. Los frutos recolectados fueron identificados con los siguientes datos: nombre común, nombre científico, fecha de recolecta, lugar de recolecta, persona que lo recolectó, ubicación por GPS y nombre del botánico responsable de la identificación.

Posteriormente, las muestras se trasladaron al Laboratorio de Investigación en Productos Naturales, fueron almacenadas en bolsas con cierre hermético de capacidad de 5 Lb y transportadas en recipientes herméticos protegidos de la luz. Se colocó hielo de tal manera que la temperatura se encontrará en un rango de 5° a 10 °C para evitar que los frutos sufran reacciones degradativas que puedan influir en los resultados.

Cuadro N° 4. Características de los frutos en estudio

No.	Nombre científico	Nombre común	Parte comestible	Lugar de recolección
1	<i>Artocarpus altilis</i>	"Árbol de pan"	Semilla	Cantón Las Flores, Municipio de Chalchuapa, Santa Ana.
2	<i>Eriobotrya japonica</i>	"Níspero"	Mesocarpo del fruto	Cantón El Jocotón, Municipio de Coatepeque, Santa Ana
3	<i>Momordica charantia</i>	"Jaiba"	Arilo y semilla	Cantón El Jocotón, Municipio de Coatepeque, Santa Ana
4	<i>Muntingia calabura</i>	"Capulín"	Todo el fruto	Municipio de Santa Ana, Santa Ana.
5	<i>Opuntia cochenillifera</i>	"Tuna"	Mesocarpo y semilla del fruto	Cantón El Barro-Los Ausoles, Municipio y Departamento de Ahuachapán

Cuadro N° 4 Continuación

6	<i>Passiflora quadrangularis</i>	"Granadilla de refresco"	Arilo y semilla	Municipio de Mejicanos, San Salvador
7	<i>Persea schiedeana</i>	"Chucte"	Mesocarpo del fruto	Cantón El Jocotón, Municipio de Coatepeque, Santa Ana
8	<i>Phyllanthus acidus</i>	"Guinda"	Exocarpo y mesocarpo del fruto	Municipio de Chalchuapa, Santa Ana
9	<i>Selenicereus undatus</i>	"Pitahaya"	Mesocarpo y semilla del fruto	Cantón San Lorenzo, Municipio de Sensuntepeque, Cabañas
10	<i>Theobroma cacao</i>	"Cacao"	Semilla del fruto	Municipio de Santo Tomás, San Salvador

4.4 PARTE EXPERIMENTAL.

4.4.1 Preparación previa de la parte comestible de cada fruto.⁽⁸⁾

Los procedimientos que a continuación se detallan, fueron realizados en ausencia de luz y a 20 °C en el Laboratorio de Investigación en Productos Naturales de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador. La descripción del equipo, cristalería y material a utilizar es detallada en el Anexo N° 1. El proceso de preparación se llevó a cabo de la siguiente manera:

1. Lavar cuidadosamente los frutos con agua destilada.
2. Fraccionar los frutos en pequeñas partes:

Árbol de Pan y Cacao: Para ambos frutos se utilizó la semilla, por lo que es necesario cortar el fruto por la mitad con cuchillos de porcelana y posteriormente retirar con cuidado cada una de las semillas encontradas.

Pitahaya y Tuna: Se corta el fruto por la mitad con cuchillo de porcelana, haciendo uso de una espátula se retira la parte comestible (mesocarpo).

Níspero, Chucte y Guinda: Los frutos fueron partidos por la mitad, teniendo precaución de no cortar porciones de semillas, se utilizó el

mesocarpo de los frutos, cortándolos en pequeños trozos y auxiliándose de una espátula para remover la parte comestible en su totalidad.

Jaiba, Capulín y Granadilla de refresco: Se cortan por la mitad y haciendo uso de una espátula se retira el arilo y semillas de ambos frutos, para la posterior realización del extracto acuoso.

4.4.2 Preparación de los extracto de la parte comestible del fruto.⁽⁴⁹⁾

1. Preparar 3 extractos de cada fruto de la siguiente manera: Pesar una cantidad de 7.5 g de la parte a utilizar de cada fruto en un beaker de capacidad de 250 mL.
2. Adicionar 75 mL de agua bidestilada a cada beaker que contiene la muestra, para preparar una extracción al 10% m/v.
3. Proceder a sonicar la mezcla anterior por 30 minutos en un baño ultrasonido VWR (Modelo 97043-988) a temperatura ambiente.
4. Filtrar el extracto obtenido en papel Whatman poro grueso.
5. Almacenar en un ultra congelador a -20 °C, en un recipiente cubierto con papel aluminio, por 24 horas antes de proceder con la liofilización.

La Tabla N° 1 presenta la codificación para los diez frutos en estudio, en la cual se usaron abreviaturas de cada nombre común de las especies. A cada fruto se le debe asignar un código único, seguido de un numero indicando el extracto acuoso al que corresponde.

Ejemplo: “Árbol de pan”, ApP2.

Código del fruto: ApP

Extracto al que pertenece: 2

Tabla N°1. Codificación de los extractos acuosos para cada fruto en estudio.

Especie vegetal	Código de los extractos
<i>Artocarpus altilis</i> "Árbol de pan"	ApP1, ApP2, ApP3
<i>Eriobotrya japonica</i> "Níspero"	NiP1, NiP2, NiP3
<i>Momordica charantia</i> "Jaiba"	MaS1, MaS2, MaS3
<i>Muntingia calabura</i> "Capulín"	CaP1, CaP2, CaP3
<i>Opuntia cochenillifera</i> "Tuna"	TP1, TP2, TP3
<i>Passiflora quadrangularis</i> "Granadilla de refresco"	GrFS1, GrFS2, GrFS3
<i>Persea schiedeana</i> "Chucte"	ChP1, ChP2, ChP3
<i>Phyllanthus acidus</i> "Guinda"	GP1, GP2, GP3
<i>Selenicereus undatus</i> "Pitahaya"	PiP1, PiP2, PiP3
<i>Theobroma cacao</i> "Cacao"	CaS1, CaS2, CaS3

4.4.3 Proceso de liofilización del extracto acuoso.

Los 30 extractos obtenidos fueron sometidos al proceso de liofilización en el Laboratorio de Toxinas Marinas de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas de la Universidad de El Salvador, en un equipo marca LABCONCO FreeZones Modelo 7740030 (Ver Anexo N° 2). El traslado de los extractos acuosos congelados a -20 °C hacia el equipo liofilizador se realizó en condiciones apropiadas haciendo uso de una hielera, con el fin de evitar el descongelamiento provocado por la temperatura ambiente.

Procedimiento:

1. Encender y programar el liofilizador a -50 °C.
2. Esperar 30 minutos luego de alcanzada la temperatura.
3. Encender la bomba de vacío a una presión de 0.01 a 0.05 mBar.
4. Una vez alcanzada la presión, colocar las muestras contenidas en los recipientes para liofilizado en las válvulas correspondientes.

5. Abrir la válvula de vacío de la muestra y esperar nuevamente a alcanzar la presión.
Liofilizar por 48 a 72 horas. Ver Anexo N° 2
6. Apagar la bomba de vacío y esperar a que alcance la presión atmosférica.
7. Apagar el liofilizador.
8. Retirar los recipientes con las muestras liofilizadas.
9. Almacenar en desecadores que contengan gel de sílice como desecante y mantener protegidos de la luz.
10. Pesarse el residuo obtenido de cada muestra liofilizada.

Se obtienen 3 extractos liofilizados a partir de cada fruto, resultado de los tres extractos acuosos previamente preparados.

4.4.4 Determinación de la actividad antioxidante de los frutos seleccionados.

Los procedimientos que a continuación se detallan, fueron realizados en ausencia de luz y a 20 °C en el Laboratorio de Investigación en Productos Naturales de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador.

4.4.4.1 Preparación de la curva de calibración.⁽⁴⁹⁾

1. Preparación de una solución madre con reactivo Trolox (Ácido-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcroman-2-carboxílico).
 - 1.1 Pesarse 5.00 mg de reactivo Trolox 97% y disolver en 40 mL de agua bidestilada, obteniendo una concentración de 500 µM.
2. Establecer una línea con 6 celdas en las cuales se insertarán cantidades específicas de Trolox para realizar la línea de calibración en las concentraciones operativas de 250, 100, 50, 25, 12.5, 6.25µM.

- 2.1 Adicionar en un tubo para microcentrífuga 500 μL de agua bidestilada y 500 μL de la solución de reactivo Trolox de 500 μM con ayuda de una micropipeta, mezclar. (Solución estándar de 250 μM)
 - 2.2 Adicionar en un tubo para microcentrífuga 800 μL de agua bidestilada y 200 μL de la solución de reactivo Trolox de 500 μM con ayuda de una micropipeta, mezclar. (Solución estándar de 100 μM)
 - 2.3 Adicionar en un tubo para microcentrífuga 500 μL de agua bidestilada y 500 μL de la solución de reactivo Trolox de 100 μM con ayuda de una micropipeta, mezclar. (Solución estándar de 50 μM)
 - 2.4 Adicionar en un tubo para microcentrífuga 500 μL de agua bidestilada y 500 μL de la solución de reactivo Trolox de 50 μM con ayuda de una micropipeta, mezclar. (Solución estándar de 25 μM)
 - 2.5 Adicionar en un tubo para microcentrífuga 500 μL de agua bidestilada y 500 μL de la solución de reactivo Trolox de 25 μM con ayuda de una micropipeta, mezclar. (Solución estándar de 12.5 μM)
 - 2.6 Adicionar en un tubo para microcentrífuga 500 μL de agua bidestilada y 500 μL de la solución de reactivo Trolox de 12.5 μM con ayuda de una micropipeta, mezclar. (Solución estándar de 6.25 μM).
3. Preparación de la solución control (0 μM).^(7; 12)

La solución control se realiza con el fin de mantener un monitoreo de la absorbancia presentada por el reactivo DPPH y agua bidestilada (solvente de estándares y muestras), siendo estas 950 μL y 50 μL , respectivamente.

4. Preparación de la solución alcohólica para el blanco.^(7; 12)

Elaborar una solución alcohólica adicionando en un tubo para microcentrífuga 30 μ L de Metanol y 1470 μ L de Etanol absoluto con ayuda de una micropipeta, mezclar.

La preparación de la solución del blanco surge de las proporciones en las cuales se disuelve el reactivo DPPH, siendo Metanol y Etanol los solventes utilizados, así como la cantidad de muestra adicionada a las celdas, es sustituida por agua bidestilada. (Ver Anexo N° 4)

4.4.4.2 Preparación de las muestras

1. A partir de los tres extractos liofilizados de cada fruto se pesará por triplicado cada uno, dando como resultado 9 viales conteniendo 2.00mg de muestra.
2. Agregar 10.0 mL de agua bidestilada a cada vial de vidrio para disolver la muestra liofilizada.
3. Sonicar las muestras por un tiempo aproximado de 30min. o hasta alcanzar la disolución completa y mantener la temperatura inferior a 40°C. (Si es necesario agregar hielo al baño del sonicador para que no sobrepase los 40°C)
4. Retirar el vial del ultrasonicador y dejar que alcance la temperatura ambiente. (Ver Anexo N° 4)

4.4.4.3 Preparación del reactivo DPPH.⁽⁴⁹⁾

1. Pesar 5.00 mg de reactivo DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo) en un vial rotulado de vidrio de 25 mL.

2. Agregar 5.00 mL de metanol al vial de vidrio para disolver el reactivo, obteniendo una concentración 1mg/mL.
3. Sonicar por 2 minutos. Cuidar que el agua del baño del sonicador no sobrepase los 40°C, agregar hielo al baño para disminuir la temperatura si es necesario.
4. Retirar el vial del sonicador y dejar que alcance la temperatura ambiente.
5. En un beaker de 100 mL agregar 49.72 mL de etanol absoluto.
6. Tomar 1.00 mL de la solución metanólica de DPPH y verter en el beaker de 100 mL que contiene etanol absoluto. Esto resulta en 50.72 mL de solución alcohólica de DPPH al 50 μ M. Para cada celda de análisis espectrofotométrico se utilizan 950 μ L de esta solución (Ver Anexo N° 4).

4.4.4.4 Preparación de las celdas de muestras y estándares para la determinación de la actividad antioxidante.

1. Ordenar y rotular las celdas nuevas en un recipiente que las proteja de la luz.
2. Agregar 50 μ L de las soluciones del estándar reactivo Trolox a distintas concentraciones (250, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 0 μ M).
3. Para la preparación del blanco, agregar 50 μ L de agua bidestilada a una de las celdas preparadas y 950 μ L de solución alcohólica, mezclar suavemente por bombeo con la micropipeta evitando la incorporación de aire.
4. Agregar 50 μ L de la solución de cada extracto acuoso liofilizado del fruto dentro de una celda, esto para las 9 soluciones correspondientes de cada fruto. Si el análisis se realiza por triplicado, se agregan 50 μ L de la misma muestra a 3 celdas distintas, dando como resultado 27 celdas para cada fruto.

5. Agregar 950 μL de solución alcohólica de DPPH al 50 μM a cada una de las celdas que contienen los estándares y las muestras. Mezclar suavemente por bombeo con la micropipeta.
6. Cubrir las celdas de la luz y dejarlas reposar por 30 minutos.

4.4.5 Medición de absorbancias de las muestras y estándares en espectrofotómetro UV-Vis, modelo GENESYS 10S UV-Vis.

El mismo procedimiento fue aplicado para la lectura de los estándares, así como para las muestras, tomando en cuenta el tiempo de reacción entre cada set de lectura.

1. Encender el equipo UV-Vis por lo menos 30 minutos antes de ser utilizado.
2. Programar el equipo de UV-Vis a la longitud de onda de 515 nm.
3. Ingresar las unidades y las concentraciones de las soluciones estándar.
4. Colocar las cubetas que contienen las soluciones estándar dentro del equipo y proceder a leer las absorbancias y medir.
5. Almacenar los datos de absorbancias de las soluciones estándares.
6. Sacar las cubetas con soluciones estándares.
7. Colocar la celda con el blanco. Luego, seleccionar "Autozero" desde el programa. (Mantener esta cubeta durante todo el análisis).
8. Ingresar al equipo las celdas con las muestras.
9. Medir absorbancias.

El equipo proporciona los datos de concentración como μM Equivalentes de Trolox.

4.4.6 Procesamiento de datos.

Procesamiento de muestra

Los resultados obtenidos de la cuantificación de la actividad antioxidante de cada fruto se realizaron por triplicado respecto a cada solución de trabajo, es decir que existen veintisiete lecturas de concentración obtenidas por cada fruto, las cuales

son procesadas en una hoja de cálculo de Microsoft Excel; se tomaron en cuenta los valores que presentaron un CV menor al 10%.

Procesamiento de estándares

A pesar que el equipo brinda una concentración en μM equivalentes de Trolox, se realizó un promedio de las curvas de calibración que presentaron un CV menor al 10%, a partir de la ecuación de línea recta obtenida se calcula la concentración en μM Equivalentes de Trolox utilizando los valores de absorbancia exhibidas para cada celda.

Haciendo uso de la nueva concentración encontrada para cada celda, se realizaron los cálculos que determinen la capacidad antioxidante expresada en el promedio de μmol Equivalentes de Trolox por cada 100g de fruto fresco.

4.4.7 Comparación de resultados.

Una vez obtenidos los resultados sobre la capacidad antioxidante presentes en los 10 frutos seleccionados, haciendo uso del método StatGraphics versión 16.2.04, se realizó el análisis para verificar si existe diferencia estadísticamente significativa en la actividad antioxidante exhibida por los frutos.

Se utilizó el análisis de varianza ANOVA de una sola vía, que hace posible determinar si la diferencia que existe entre los datos es suficiente para poder diferenciarlos o relacionarlos entre sí, evaluando la dispersión que existe entre los resultados.

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)

Prueba F para la diferencia de más de dos medias.

Al aplicar ANOVA de un factor, se calculó un estadístico o test denominado F y su significación. En el cálculo del estadístico F se divide 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, lo que significa que las medias de la variable dependiente difieren o varían mucho entre los grupos de la variable independiente.

Comparaciones múltiples: Procedimiento Tukey-Kramer o de múltiples rangos.

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

El procedimiento, permite hacer comparaciones simultáneamente entre todos los grupos. Primero se calcularon 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 comparó 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.

CAPITULO V
RESULTADOS Y DISCUSION DE RESULTADOS

5.0 RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

5.1 Identificación y recolección los frutos de las especies vegetales a estudiar.

Las muestras vegetales utilizadas en esta investigación fueron colectadas por personal del LINP (Dr. Marvin J. Núñez, MSc. Morena L. Martínez, Lic. Ulises G. Castillo y Mónica M. Rivas Jiménez) y el especialista del MUHNES (Lic. José Gabriel Cerén) según se muestra en el Cuadro N° 5. Luego de la recolección de muestras representativas de cada especie vegetal a estudiar, éstas fueron trasladadas al Herbario del MUHNES para su identificación botánica, la cual fue realizada por la curadora del Herbario Lic. Jenny Menjívar, quien es la profesional especializada en identificar las especies vegetales. Las muestras representativas incluyeron todos los órganos de la planta, tal como se muestra un ejemplo en la Figura N° 25. Producto de la identificación botánica se asignó el respectivo número de voucher de cada especie vegetal, los cuales sirven para mantener la trazabilidad en el estudio (Cuadro N° 5).



Figura N° 25. Ejemplar de *Artocarpus altilis* “Árbol de pan” presentado al Herbario del MUHNES. (La imagen es propiedad de LINP, FQF, UES)

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

N°	Nombre científico	Familia botánica	Nombre común	Lugar de recolección	Latitud	Longitud	Recolector	Número de voucher
1	<i>Artocarpus altilis</i> (Parkinson) Fosberg	Moraceae	"Árbol de pan"	Cantón Las Flores, Municipio de Chalchuapa, Santa Ana.	13.9725	-89.6669444	Lic. Ulises G. Castillo	J. Menjívar & U. Castillo 4644
2	<i>Eriobotrya japonica</i> (Thunb.) Lindl.	Rosaceae	"Níspero"	Cantón El Jocotón, Municipio de Coatepeque, Santa Ana	13.9194417	-89.51856667	Dr. Marvin J. Núñez	J. Menjívar & M. Núñez 4645
3	<i>Momordica charantia</i> L.	Cucurbitaceae	"Jaiba"	Cantón El Jocotón, Municipio de Coatepeque, Santa Ana	13.917855	-89.519475	Dr. Marvin J. Núñez	J. Menjívar & M Núñez 4691
4	<i>Muntingia calabura</i> L.	Muntingiaceae	"Capulín"	Municipio de Santa Ana, Santa Ana.	13.9761794	-89.5607308	Mónica M. Rivas Jiménez	J. Menjívar et al. 4695
5	<i>Opuntia cochenillifera</i> (L.) Mill.	Cactaceae	"Tuna"	Cantón El Barro-Los Ausoles, Municipio y Departamento de Ahuachapán	13.9193667	-89.8361305	Lic. José Gabriel Cerén	GC 4661
6	<i>Passiflora quadrangularis</i> L.	Passifloraceae	"Granadilla de refresco"	Municipio de Mejicanos, San Salvador	13.724711	-89.221105	Dr. Marvin J. Núñez	J. Menjívar & M Núñez 4694
7	<i>Persea schiedeana</i> Nees	Lauraceae	"Chucte"	Cantón El Jocotón, Municipio de Coatepeque, Santa Ana	13.917726	-89.519575	Dr. Marvin J. Núñez	J. Menjívar & M Núñez 4205

Cuadro N° 5 Continuación

8	<i>Phyllanthus acidus</i> (L.) Skeels	Phyllanthaceae	"Guinda"	Municipio de Chalchuapa, Santa Ana	13.98171	-89.671709	Lic. Ulises G. Castillo	J. Menjívar & U. Castillo 4692
9	<i>Selenicereus undatus</i> (Haw.) D.R. Hunt	Cactaceae	"Pitahaya"	Cantón San Lorenzo, Municipio de Sensuntepeque, Cabañas	13.9059667	-88.6659944	Lic. José Gabriel Cerén	GC 4662
10	<i>Theobroma cacao</i> L.	Malvaceae	"Cacao"	Municipio de Santo Tomás, San Salvador	13.6430556	-89.13027778	MSc. Morena L. Martínez	J. Menjívar & M. de Díaz 4696

Para una mejor representación de la ubicación de las zonas de recolecta de los frutos, se utilizó el Sistema de Posicionamiento Global (GPS por sus siglas en inglés), obteniendo en cada punto de recolecta de los frutos, las coordenadas expresadas en grados decimales, se expresan en latitud y longitud así como se detalla en el cuadro N° 5, seguidamente estas coordenadas se ubican en el mapa de El Salvador, obteniendo una representación visual de los lugares de recolección de los especímenes, como se muestra en la Figura N° 26.

Esta figura también muestra que la mayoría de las muestras fueron recolectadas en la zona occidental del país, seguido de la zona central. Ninguna muestra fue recolectada en la zona oriental del país.

La ubicación geográfica de los frutos recolectados es diversa, realizada en los municipios de Chalchuapa, Ahuachapán, Santa Ana, y Coatepeque en la zona occidental del país, así como el Municipio de Sensuntepeque perteneciente a la zona Norte, el municipio de Mejicanos y Santo Tomás en el departamento de San Salvador.

Durante la recolección, fue necesario mantener condiciones favorables de temperatura y exposición a la luz, las cuales fueron importantes para que los frutos sufrieran la menor alteración posible, en cuanto a su composición química; el proceso de recolección es sumamente crucial puesto que es en esta fase de la investigación en la cual se obtienen las muestras para procesar en el laboratorio y los resultados obtenidos serán reflejo del correcto manejo, tanto en la recolecta y el traslado de las especies vegetales.

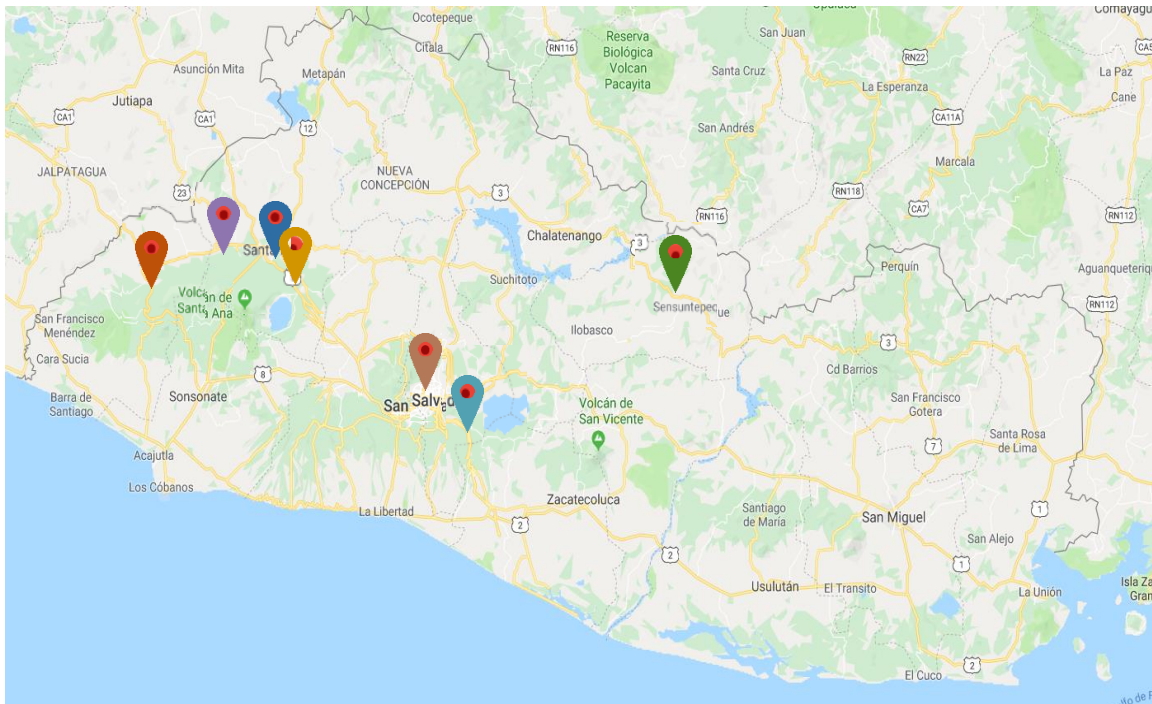


Figura N° 26. Ubicación geográfica de las especies recolectadas.

(La Figura N° 26 es propiedad del LIPN, FQF, UES)

Ubicación de especies	
<i>Artocarpus altilis</i> "Árbol de pan"	
<i>Eriobotrya japonica</i> "Níspero"	
<i>Momordica charantia</i> "Jaiba"	
<i>Muntingia calabura</i> "Capulín"	
<i>Opuntia cochenillifera</i> "Tuna"	
<i>Passiflora quadrangularis</i> "Granadilla de refresco"	
<i>Persea schiedeana</i> "Chucte"	
<i>Phyllanthus acidus</i> "Guinda"	
<i>Selenicereus undatus</i> "Pitahaya"	
<i>Theobroma cacao</i> "Cacao"	



Figura N° 27. Frutos de *Persea schiedeana* “Chucte” colectados en el municipio de Coatepeque, Santa Ana.

(La imagen es propiedad de LIPN, FQF, UES)

La selección de las partes de los frutos que fueron escogidas para el análisis son las partes comestibles y comúnmente consumidas entre la población, ya sea crudas, cocidas o en refrescos.

Para mantener la reproducibilidad del estudio en cada una de las muestras fue necesario mantener las condiciones de trabajo lo más homogéneas posible en cada ensayo, así también mantenerlos para estudios que pretendan identificación de metabolitos secundarios.

5.2 Liofilización de los extractos acuosos pertenecientes a cada fruto.

Para elaborar el extracto acuoso se comenzó separando la parte comestible del fruto de las partes no comestibles, así como también separando las semillas. En la Figura N°28 se aprecian las semillas de la especie *Theobroma cacao* “Cacao”.



Figura N° 28. Frutos de *Theobroma cacao* "Cacao" en conjunto a sus semillas.
(La imagen es propiedad de LIPN, FQF, UES)

Luego, se procedió a realizar el proceso de extracción agregando agua bidestilada para la extracción de los compuestos hidrofílicos en las partes de cada fruto. Posteriormente, fue sonificado durante 30 minutos a temperatura ambiente (Figura N° 29). El extracto obtenido se filtró y se recibió en un frasco de vidrio de 250 mL, cubierto con papel aluminio para evitar la degradación por luz solar de sus compuestos. Este fue almacenado en el ultracongelador a una temperatura de -20°C durante 48 horas, para después ser sometido al proceso de liofilización.



Figura N° 29. Preparación y filtración de extractos acuosos de un fruto.
(La imagen es propiedad de LIPN, FQF, UES)

Posteriormente, los extractos acuosos congelados de todos los frutos evaluados se trasladaron al Laboratorio de Toxinas Marinas de la Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas en condiciones que mantuvieron los extractos a una temperatura abajo de 0° C, para lo cual fue utilizado un recipiente hermético con el fin de prevenir la descongelación y degradación de sus componentes. Las muestras se mantuvieron protegidas de la luz y fueron colocadas dentro del equipo, para ser liofilizadas durante 72 horas. Por medio de este proceso se obtuvieron extractos secos sin la alteración de los compuestos de interés para la presente investigación y que además pueden ser preservados por mucho más tiempo que su contraparte acuosa, la cual sufre degradación a causa de microorganismos presentes en el extracto. En la imagen (Figura N° 30) se aprecian los frascos forrados de papel aluminio (protección contra la luz) que contienen los extractos acuosos liofilizándose.



Figura N° 30. Proceso de liofilización de extractos acuosos.

(La imagen es propiedad de LIPN, FQF, UES)

Los extractos liofilizados de cada fruto fueron nombrados con el mismo código de su contraparte acuosa (Tabla N° 1) para facilitar el manejo de las muestras a analizar.

Después de obtener los extractos liofilizados, cada uno se pesó inmediatamente cada uno para verificar su peso neto. Posteriormente, fueron colocados en un desecador para evitar la absorción de humedad del ambiente y también para permitir la reubicación de las partículas liofilizadas. Los frascos que contenían el extracto liofilizado fueron pesados periódicamente hasta que su peso neto no variara, este peso fue registrado para evaluar el porcentaje de rendimiento de cada extracto (Tabla N° 2). Además, este dato se toma para realizar el cálculo matemático de la capacidad antioxidante.

Para facilitar el manejo de los extractos liofilizados, estos fueron trasladados a frascos viales de 20 mL cubiertos de papel aluminio y colocados en un desecador para evitar la absorción de humedad (Figura N° 31).



Figura N° 31. Extracto liofilizado de *Artocarpus altilis* “Árbol de pan”.

(La imagen es propiedad de LIPN, FQF, UES)

En la Tabla N° 2 se puede observar la cantidad de extracto liofilizado obtenido y el porcentaje de rendimiento para cada solución, así como también el promedio liofilizado para cada fruto.

Tabla N°2. Resultados del proceso de liofilización.

Especie vegetal	Nombre común	N° extracto	Peso de extracto liofilizado (g)	Rendimiento (%)	Promedio Rendimiento (%)
<i>Artocarpus altilis</i>	"Árbol de pan"	1	0.874	11.65	9.97
		2	0.6216	8.29	
		3	0.7478	9.97	
<i>Eriobotrya japonica</i>	"Níspero"	1	0.9774	13.03	13.87
		2	1.1031	14.71	
		3	1.0403	13.87	
<i>Momordica charantia</i>	"Jaiba"	1	0.3544	4.73	4.70
		2	0.3501	4.67	
		3	0.3523	4.70	
<i>Muntingia calabura</i>	"Capulín"	1	0.5382	7.18	7.12
		2	0.5295	7.06	
		3	0.53385	7.12	
<i>Opuntia cochenillifera</i>	"Tuna"	1	0.2864	3.82	4.29
		2	0.3572	4.76	
		3	0.3218	4.29	
<i>Passiflora quadrangularis</i>	"Granadilla de refresco"	1	0.7039	9.39	9.52
		2	0.7248	9.66	
		3	0.71435	9.52	
<i>Persea schiedeana</i>	"Chucte"	1	0.1467	1.96	1.70
		2	0.1089	1.45	
		3	0.1278	1.70	
<i>Phyllanthus acidus</i>	"Guinda"	1	0.1045	1.39	1.67
		2	0.1463	1.95	
		3	0.1254	1.67	
<i>Selenicereus undatus</i>	"Pitahaya"	1	0.5568	7.42	5.87
		2	0.3237	4.32	
		3	0.4403	5.87	
<i>Theobroma cacao</i>	"Cacao"	1	0.4157	5.54	5.58
		2	0.4216	5.62	
		3	0.4187	5.58	

La diferencia existente en el porcentaje de rendimiento entre los diferentes extractos liofilizados se ve reflejada en la Figura N°32.

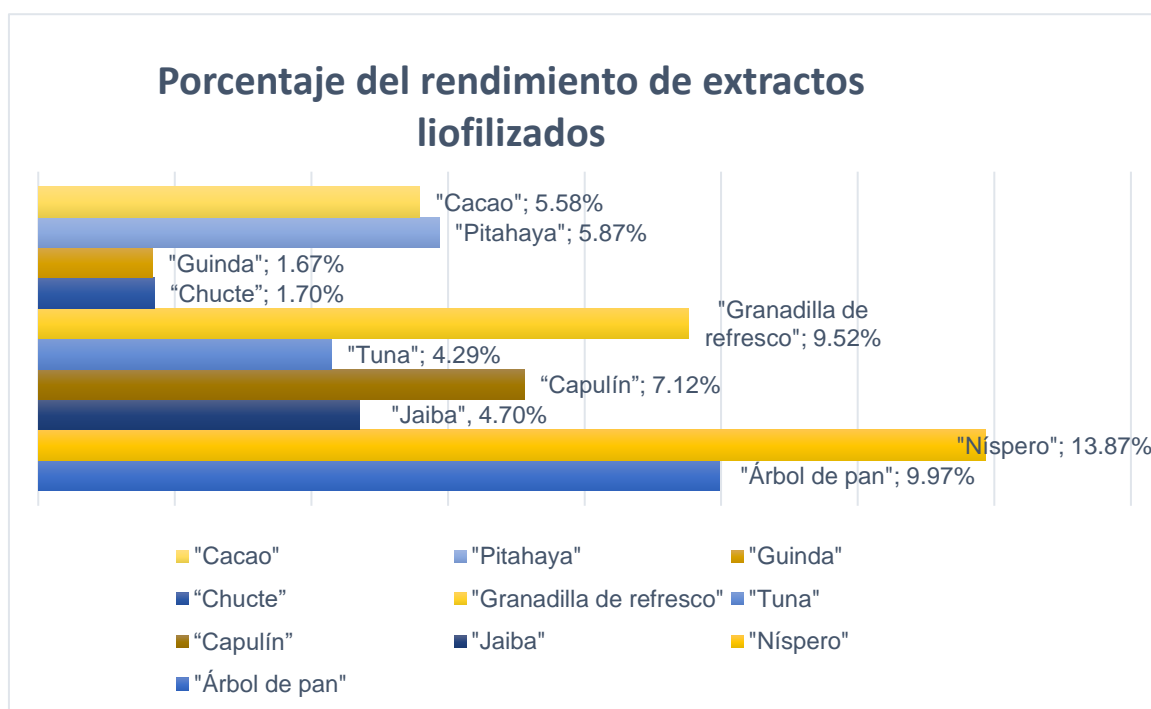


Figura N° 32. Representación gráfica porcentual de rendimiento de los extractos liofilizados.

Del análisis de la tabla N° 2 y figura N° 32 se puede observar las diferencias entre el porcentaje de rendimiento de cada fruto, sin embargo, debe realizarse el análisis estadístico para evaluarlos, ya que a simple vista no siempre es posible determinar si existen diferencias significativas al comparar los resultados de un fruto contra otro.

Por ello se evaluó el rendimiento de obtención de extracto liofilizado utilizando el análisis de varianza con el programa "Statgraphics Centurion" para verificar si existe diferencia estadísticamente significativa entre el porcentaje de rendimiento los frutos (Ver Tabla N° 3).

Tabla N° 3. ANOVA para el rendimiento de los extractos liofilizados por frutos.

Fuente de las variaciones	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	2.21959	9	0.246621	69.18	0.0000
Intra grupos	0.0712982	20	0.00356491		
Total (Corr.)	2.29089	29			

Los datos de la Tabla N°3 fueron necesarios para realizar los cálculos del análisis de varianza entre los distintos frutos evaluados.

Se descompone la varianza de los extractos liofilizados en dos componentes: un componente entre-grupos y un componente dentro-de-grupos. La razón-F, que en este caso es igual a 69.18, es el cociente entre el estimado entre-grupos y el estimado dentro-de-grupos.

Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media del rendimiento de extracción de los extractos liofilizados entre un nivel de cada fruto y otro, con un nivel del 95.0% de confianza.

Sabiendo que existe una significativa diferencia entre los resultados de rendimiento, fue necesario realizar la prueba de múltiples rangos, la cual se encuentra representada en la Tabla N° 4, en la cual se observa la diferencia existente entre la cantidad obtenida de extracto liofilizado para cada fruto.

Esta prueba tiene como objetivo determinar si existen grupos con más de una muestra que no reflejen diferencias estadísticamente significativas entre ellos, pero si con frutos que se encuentren en un grupo diferente.

Tabla N° 4. Resultados de prueba de múltiples rangos en el rendimiento de la obtención de extractos liofilizados

Especie vegetal	Número de extracto	Promedio de Rendimiento (%)	Grupos Homogéneos						
"Guinda"	3	0.1254	X						
"Chucte"	3	0.1278	X						
"Tuna"	3	0.3218		X					
"Jaiba"	3	0.352267		X	X				
"Cacao"	3	0.418667		X	X				
"Pitahaya"	3	0.440267			X	X			
"Capulín"	3	0.533867				X			
"Granadilla de refresco"	3	0.714367						X	
"Árbol de pan"	3	0.7478						X	
"Níspero"	3	1.04027							X

La tabla N° 4 indica que existen 6 grupos homogéneos, estadísticamente diferentes entre ellos, estos grupos están compuestos por aquellos que no presentan diferencias estadísticamente significativas, siendo los grupos formados entre aquellos niveles que comparten una misma columna de X's, a manera de ejemplo: "Guinda" y "Chucte", comparten una misma columna pero son diferentes de los demás; el fruto que obtuvo un mayor porcentaje de rendimiento fue *Eriobotrya japonica* "Níspero", seguido de *Artocarpus altilis* "Árbol de pan" y *Passiflora quadrangularis* "Granadilla de refresco"; estos últimos comparten un mismo nivel, por otra parte los frutos *Phyllanthus acidus* "Guinda" y *Persea schiedeana* "Chucte" presentaron la menor cantidad de extracto liofilizado.

A pesar que la cantidad utilizada de fruto fresco es la misma para las 10 especies vegetales en estudio, el rendimiento de liofilizado obtenido presenta diferencias

significativas entre los grupos homogéneos formados, como ejemplo, “Tuna”, “Jaiba” y “Cacao”, pertenecen a un mismo grupo homogéneo, es decir que no poseen diferencia significativa entre ellos respecto a la cantidad de extracto liofilizado obtenido, sin embargo, es diferente al rendimiento de los demás grupos.

Para analizar cómo es el rendimiento obtenido entre los frutos pertenecientes a la familia Cactaceae se realizó la prueba ANOVA (Tabla N° 5).

Tabla N° 5. ANOVA para el rendimiento de los extractos liofilizados de los frutos de la familia Cactaceae.

Fuente de las variaciones	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	0.0210515	1	0.0210515	2.84	0.1674
Intra grupos	0.0296741	4	0.00741853		
Total (Corr.)	0.0507256	5			

La razón-F, que en este caso es igual a 2.83769. Puesto que el valor-P de la razón-F es mayor o igual que 0.05, significa que no existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de los extractos liofilizados de *Opuntia cochenillifera* "Tuna" y *Selenicereus undatus* "Pitahaya", con un nivel del 95.0% de confianza. Esto demostró que los valores del porcentaje de rendimiento del liofilizado entre las especies de la familia Cactaceae son estadísticamente comparables entre sí.

Al analizar los resultados del rendimiento del proceso de liofilización, observamos que existen diferencias entre ellos, que pueden ser debido al tipo de metabolitos secundarios afines al solvente utilizado (agua bidestilada), por lo cual serán aquellos que sean hidrosolubles, metabolitos que varían según la naturaleza de cada especie. Aunque se trataron de controlar y mantener uniformes todas las variables externas, siempre existen factores intrínsecos a cada metabolito

secundario presente en la planta que podrían verse afectados en cualquier fase del estudio. Todos los extractos liofilizados del presente estudio se obtuvieron a partir de un extracto acuoso con una concentración de 10% m/v.

Según reportan diferentes estudios sobre rendimientos de extractos liofilizados en extractos acuosos de frutos de especies vegetales, se obtienen un promedio de sólidos totales entre 10 al 15%. En el presente estudio podemos observar que la mayoría se encuentra en un rendimiento menor al 10%, este contenido está relacionado a la composición química de los frutos, específicamente con la porción soluble en el agua, que corresponde a compuestos de naturaleza polar. Dichos compuestos aportan los sólidos correspondientes al liofilizado y son propios de los metabolitos secundarios que aporta cada fruto.^(56; 61; 62)

5.3 Cuantificación de la actividad antioxidante por espectrofotometría UV-Vis empleando el método DPPH.

Para la realización de la actividad antioxidante, se partió de los extractos acuosos liofilizados de los frutos; de cada uno de los diez frutos en estudio se obtuvieron tres extractos acuosos liofilizados, de los cuales se tomaron muestras de 2.00 mg por triplicado, obteniendo un total de 9 viales con 2.00 mg de muestra por fruto; se adicionaron 10 mL de agua bidestilada a cada vial y para facilitar la disolución de las muestras se colocaron en un ultrasonicador por 30 min. o hasta que se alcanzó la disolución completa, manteniendo en todo momento la temperatura inferior a 40°C, mediante la adición de hielo al baño del sonicador (Figura N° 33).

Para un mejor control sobre las muestras; cada celda de trabajo fue codificada respecto al código del extracto liofilizado al que pertenece (Tabla N° 1), seguido de una letra, terminando en un dígito, como ejemplo tenemos: “Árbol de pan”
Código: ApP1 A1

-Código de Extracto liofilizado:

ApP1

-Letra A:

La solución a la que pertenecen, de las cuales se realizan 3 por cada extracto liofilizado, siendo en este caso perteneciente a la solución A.

-Ultimo dígito:

Numero de celda que pertenece a la solución A, celda a leer en el espectrofotómetro UV-Vis, siendo 3 celdas

Por lo tanto: proviene del extracto liofilizado 1, solución de trabajo A, celda número 1.

Se procede al tratamiento de la muestra preparando las celdas con la cantidad necesaria de solución estándar o muestra (50 μ L), al tener todas las celdas con la cantidad de muestra o solución estándar de Trolox, se adicionaron 950 μ L de la solución DPPH 50 μ M. La preparación de la solución del blanco surge de las proporciones en las cuales se disuelve el reactivo DPPH, siendo Metanol y Etanol los solventes utilizados, así como la cantidad de muestra adicionada es sustituida por agua bidestilada.

Después de pasados 30 minutos las celdas fueron ingresadas al Espectrofotómetro Ultravioleta Visible a la longitud de onda de 515 nm, realizando una curva de calibración en cada ensayo, por lo tanto, se obtienen valores representados en una ecuación de línea recta; cada curva de calibración de estándar Trolox debe poseer un coeficiente de correlación no menor de 0.999.

Con la obtención de varias curvas de calibración se procede a calcular el promedio de aquellas que entre ellas presenten un coeficiente de variación menor al 10%, obteniendo una nueva curva y una nueva ecuación de la línea recta. (Figura N° 34).



Figura N° 33. Disolución de muestras y preparación de celdas para Espectrofotómetro Ultravioleta Visible.

(La imagen es propiedad de LIPN, FQF, UES)

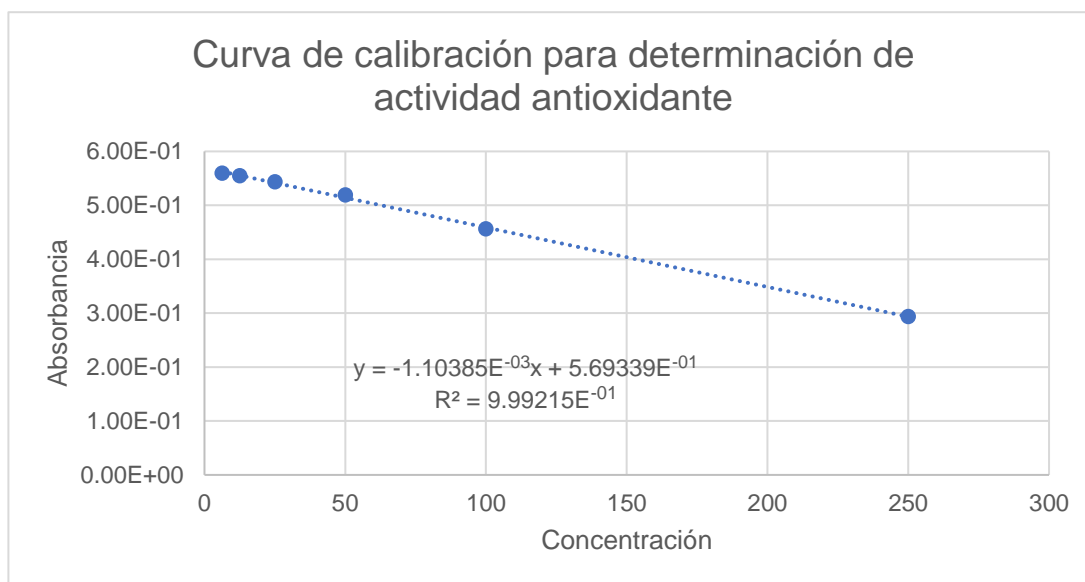


Figura N° 34. Curva de calibración de estándares utilizando Trolox para la determinación de actividad antioxidante.

Al medir las muestras, el Espectrofotómetro Ultravioleta Visible, proporcionó como resultado las absorbancias y concentraciones de cada cubeta en unidades

de μM Equivalentes de Trolox. En la Figura N° 35 se muestra todo el proceso a seguir para analizar la capacidad antioxidante de un solo fruto.

Para la aceptación de los datos, se establece el 10% como Coeficiente de variación (CV), entre las absorbancias obtenidas para cada solución de trabajo, siendo 9 soluciones de trabajo divididas en 27 celdas posteriormente haciendo uso del programa Microsoft Excel se hace el cálculo de la concentración μM Equivalentes de Trolox para cada lectura.

A partir de los resultados de los promedios de concentración por solución de trabajo, utilizando Microsoft Excel se realizaron los cálculos para determinar la concentración expresada en μmol equivalente de Trolox por cada 100 gramos de fruto fresco, relacionando este valor con la cantidad de extracto liofilizado obtenido por fruto.

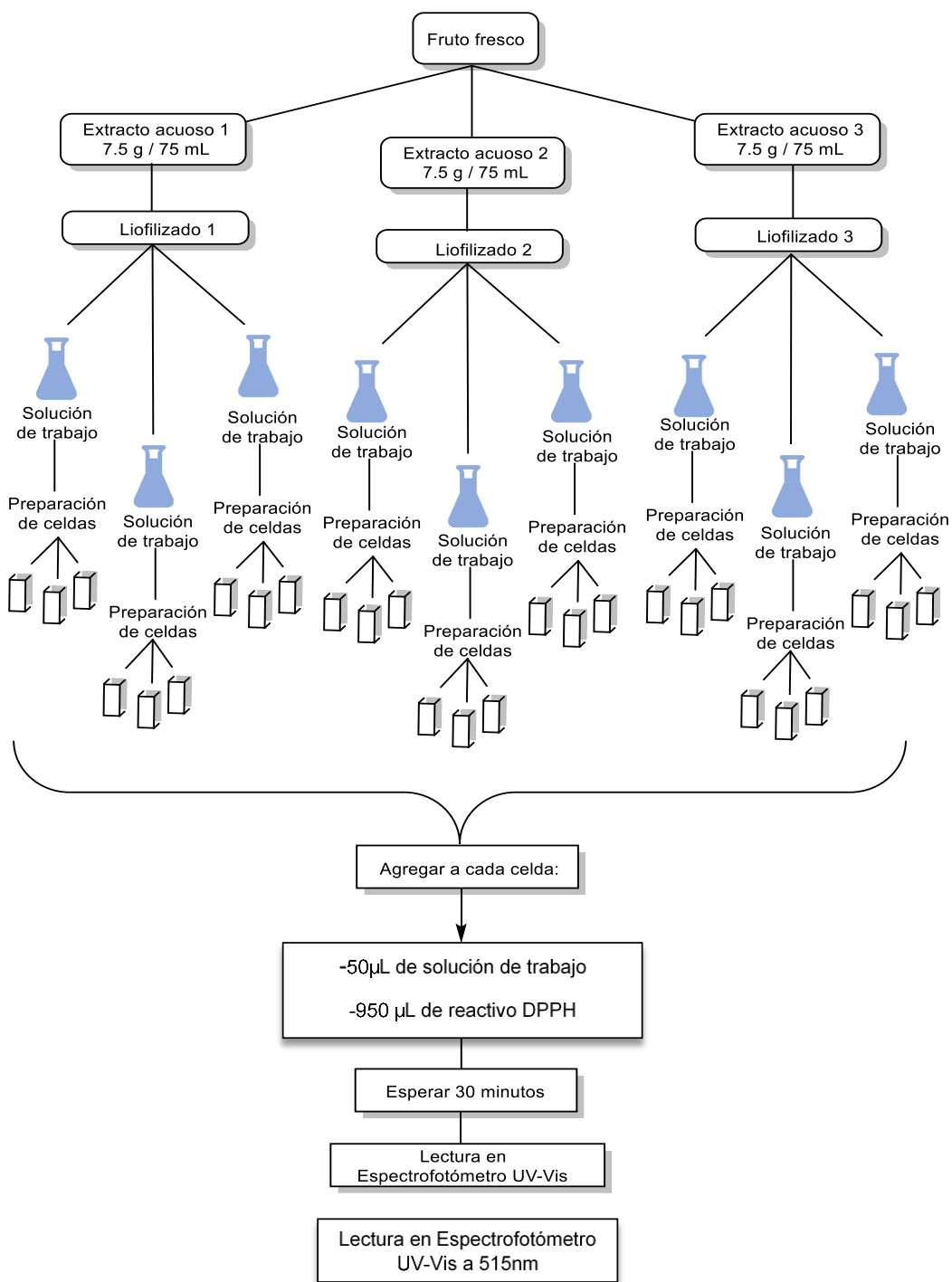


Figura N° 35. Esquema de preparación de celdas para determinación de la actividad antioxidante.

Tabla N° 6. Resultados de determinación de la actividad antioxidante en *Artocarpus altilis* "Árbol de pan".

FRUTO 1	Fruto pesado (g)	Extracto Liofilizado (g)	Cantidad Utilizada en ensayo (mg)								
			ApP1			ApP2			ApP3		
Árbol de pan			A	B	C	A	B	C	A	B	C
ApP1	7.5	0.874	2.13	2.05	2.05	2.18	2.08	2.07	2.16	2.07	2.06
ApP2	7.5	0.6216									
ApP3	7.5	0.7478	Concentración en μM obtenida (Tres lecturas por peso)								
			110.83	113.55	110.83	104.49	111.74	103.58	107.66	112.64	107.21
			98.15	109.92	111.74	108.11	113.55	102.68	103.13	111.74	107.21
			107.21	106.30	110.83	111.74	113.55	102.68	109.47	109.92	106.75
Cv			0.062	0.033	0.005	0.034	0.009	0.005	0.031	0.012	0.002
%CV			6.198	3.297	0.471	3.352	0.926	0.508	3.060	1.242	0.244
Promedio de Concentración (μM)			105.39	109.92	111.13	108.11	112.94	102.98	106.75	111.43	107.05
Volumen Alícuota (μL)			50	50	50	50	50	50	50	50	50
Volumen Solución (L)			0.01065	0.01025	0.01025	0.0109	0.0104	0.01035	0.010775	0.010325	0.0103
Concentración (μmol en vial)			1.12	1.13	1.14	1.18	1.17	1.07	1.15	1.15	1.10
Concentración en extracto liofilizado (2.00mg) (μmol equivalente de Trolox)			1.05	1.10	1.11	1.08	1.13	1.03	1.07	1.11	1.07
Concentración en extracto liofilizado (cantidad real) (μmol equivalente de Trolox)			460.57	480.37	485.64	336.01	351.03	320.06	399.15	416.65	400.28
Concentración en 100g de muestra (μmol equivalente de Trolox)			6140.95	6404.87	6475.25	4480.15	4680.37	4267.41	5321.98	5555.32	5337.03
Promedio de Concentración ($\mu\text{mol ET/ 100g pf}$)			6340.36			4475.97			5404.78		
Concentración ($\mu\text{mol ET/ 100g pf}$)			5407.04								

Cv: Coeficiente de variación, %Cv: coeficiente de variación porcentual

Tabla N° 7. Resultados de determinación de la actividad antioxidante en *Eriobotrya japonica* "Níspero".

FRUTO 2	Fruto pesado (g)	Extracto liofilizado (g)	Cantidad Utilizada en ensayo (mg)								
			NiP1			NiP2			NiP3		
Níspero			A	B	C	A	B	C	A	B	C
NiP1	7.5	0.9774	1.99	2.28	2.28	2.13	2.14	2.08	2.06	2.21	2.18
NiP2	7.5	1.1031									
NiP3	7.5	1.04025	Concentración en μM obtenida (Tres lecturas por peso)								
			110.83	109.02	112.64	102.68	110.83	107.21	106.75	109.92	109.92
			112.64	109.02	113.55	106.30	107.21	109.02	109.47	108.11	111.28
			111.74	109.02	113.09	107.21	106.30	105.39	109.47	107.66	109.24
Cv			0.008	0.000	0.004	0.023	0.022	0.017	0.014	0.011	0.009
%CV			0.811	0.000	0.401	2.274	2.217	1.690	1.445	1.104	0.942
Promedio de Concentración (M)			111.74	109.02	113.09	105.39	108.11	107.21	108.56	108.56	110.15
Volumen Alícuota (L)			50	50	50	50	50	50	50	50	50
Volumen Solución (L)			0.00995	0.0114	0.0114	0.01065	0.0107	0.0104	0.0103	0.01105	0.0109
Concentración (μmol en vial)			1.11	1.24	1.29	1.12	1.16	1.11	1.12	1.20	1.20
Concentración en extracto liofilizado (2.00mg) (μmol equivalente de Trolox)			1.12	1.09	1.13	1.05	1.08	1.07	1.09	1.09	1.10
Concentración en extracto liofilizado (cantidad real) (μmol equivalente de Trolox)			546.05	532.77	552.69	581.30	596.29	591.29	564.67	564.67	572.92
Concentración en 100g de muestra (μmol equivalente de Trolox)			7280.67	7103.58	7369.22	7750.66	7950.53	7883.91	7528.95	7528.95	7638.90
Promedio de Concentración ($\mu\text{mol ET/ 100g pf}$)			7251.16			7861.70			7565.60		
Concentración $\mu\text{mol ET/ 100g pf}$)			7559.49								

Cv: Coeficiente de variación, %Cv: coeficiente de variación porcentual

Tabla N° 8. Resultados de determinación de la actividad antioxidante en *Momordica charantia* "Jaiba".

FRUTO 3	Fruto pesado (g)	Extracto liofilizado (g)	Cantidad Utilizada en ensayo (mg)								
			MaS1			MaS2			MaS3		
Jaiba; Melón Amargo			A	B	C	A	B	C	A	B	C
MaS1	7.5	0.3544	2.04	2.04	2.23	1.95	2.06	2.11	2.00	2.05	2.17
MaS2	7.5	0.3501	Concentración en μM obtenida (Tres lecturas por peso)								
MaS3	7.5	0.35225	24.77	22.96	23.86	22.05	27.48	23.86	23.41	25.22	23.86
			23.86	22.96	24.77	22.96	26.58	23.86	23.41	24.77	24.31
			23.86	22.96	24.77	22.50	27.03	23.86	23.18	24.99	24.31
Cv			0.022	0.000	0.021	0.020	0.017	0.000	0.006	0.009	0.011
%CV			2.165	0.000	2.138	2.013	1.676	0.000	0.560	0.906	1.082
Promedio de Concentración (M)			24.16	22.96	24.46	22.50	27.03	23.86	23.33	24.99	24.16
Volumen Alícuota (L)			50	50	50	50	50	50	50	50	50
Volumen Solución (L)			0.0102	0.0102	0.01115	0.00975	0.0103	0.01055	0.009975	0.01025	0.01085
Concentración (μmol en vial)			0.25	0.23	0.27	0.22	0.28	0.25	0.23	0.26	0.26
Concentración en extracto liofilizado (2.00mg) (μmol equivalente de Trolox)			0.24	0.23	0.24	0.23	0.27	0.24	0.23	0.25	0.24
Concentración en extracto liofilizado (cantidad real) (μmol equivalente de Trolox)			42.82	40.68	43.35	39.39	47.32	41.77	41.09	44.02	42.56
Concentración en 100g de muestra (μmol equivalente de Trolox)			570.89	542.35	578.03	525.20	630.92	556.92	547.93	586.93	567.43
Promedio de Concentración ($\mu\text{mol ET/ 100g pf}$)			563.76			571.01			567.43		
Concentración $\mu\text{mol ET/ 100g pf}$)						567.40					

Cv: Coeficiente de variación, %Cv: coeficiente de variación porcentual

Tabla N° 9. Resultados de determinación de la actividad antioxidante en *Muntingia calabura* "Capulín".

FRUTO 4	Fruto pesado (g)	extracto liofilizado (g)	Cantidad Utilizada en ensayo (mg)								
			CaP1			CaP2			CaP3		
Capulín			A	B	C	A	B	C	A	B	C
CaP1	7.5	0.5382	2.92	3.03	2.2	2.38	2.71	2.78	2.65	2.87	2.49
CaP2	7.5	0.5295									
CaP3	7.5	0.53385	Concentración en μM obtenida (Tres lecturas por peso)								
			96.33	102.68	97.24	102.68	102.68	108.11	99.51	102.68	102.68
			99.96	105.39	95.43	100.86	103.58	108.11	100.41	104.49	101.77
			102.68	105.39	92.71	105.39	103.58	107.21	104.03	104.49	99.96
Cv			0.032	0.015	0.024	0.022	0.005	0.005	0.024	0.010	0.014
%CV			3.192	1.502	2.397	2.214	0.506	0.485	2.366	1.007	1.364
Promedio de Concentración (M)			99.66	104.49	95.13	102.98	103.28	107.81	101.32	103.88	101.47
Volumen Alícuota (L)			50	50	50	50	50	50	50	50	50
Volumen Solución (L)			0.0146	0.01515	0.011	0.0119	0.01355	0.0139	0.01325	0.01435	0.01245
Concentración (μmol en vial)			1.45	1.58	1.05	1.23	1.40	1.50	1.34	1.49	1.26
Concentración en extracto liofilizado (2.00mg) (μmol equivalente de Trolox)			1.00	1.04	0.95	1.03	1.03	1.08	1.01	1.04	1.01
Concentración en extracto liofilizado (cantidad real) (μmol equivalente de Trolox)			268.18	281.18	255.99	272.63	273.43	285.43	270.44	277.29	270.84
Concentración en 100g de muestra (μmol equivalente de Trolox)			3575.67	3749.03	3413.15	3635.13	3645.79	3805.68	3605.88	3697.23	3611.25
Promedio de Concentración (μmol ET/ 100g pf)			3579.28			3695.53			3638.12		
Concentración μmol ET/ 100g pf)			3637.64								

Cv: Coeficiente de variación, %Cv: coeficiente de variación porcentual

Tabla N° 10. Resultados de determinación de la actividad antioxidante en *Opuntia cochenillifera* "Tuna".

FRUTO 5	Fruto pesado (g)	Extracto liofilizado (g)	Cantidad Utilizada en ensayo (mg)								
			Tp1			Tp2			Tp3		
Tuna			A	B	C	A	B	C	A	B	C
Tp1	7.5	0.2864	2.06	2.07	2	2.09	2	2	2.08	2.04	2.00
Tp2	7.5	0.3572	Concentración en μM obtenida (Tres lecturas por peso)								
Tp3	7.5	0.3218	84.56	80.93	82.75	82.20	83.65	79.12	83.38	82.29	80.93
			87.28	81.84	80.93	81.30	74.59	81.84	84.29	78.22	81.39
			85.46	74.59	80.03	80.93	84.56	80.03	83.20	79.58	80.03
Cv			0.016	0.050	0.017	0.008	0.068	0.017	0.007	0.026	0.009
%CV			1.613	4.991	1.703	0.802	6.809	1.723	0.697	2.594	0.857
Promedio de Concentración (M)			85.77	79.12	81.24	81.48	80.93	80.33	83.62	80.03	80.78
Volumen Alícuota (L)			50	50	50	50	50	50	50	50	50
Volumen Solución (L)			0.0103	0.01035	0.01	0.01045	0.01	0.01	0.010375	0.010175	0.01
Concentración (μmol en vial)			0.88	0.82	0.81	0.85	0.81	0.80	0.87	0.81	0.81
Concentración en extracto liofilizado (2.00mg) (μmol equivalente de Trolox)			0.86	0.79	0.81	0.81	0.81	0.80	0.84	0.80	0.81
Concentración en extracto liofilizado (cantidad real) (μmol equivalente de Trolox)			122.82	113.30	116.33	145.52	144.55	143.47	134.55	128.77	129.98
Concentración en 100g de muestra (μmol equivalente de Trolox)			1637.55	1510.71	1551.07	1940.25	1927.31	1912.93	1793.96	1716.87	1733.06
Promedio de Concentración (μmol ET/ 100g pf)			1566.44			1926.83			1747.97		
Concentración μmol ET/ 100g pf)			1747.08								

Cv: Coeficiente de variación, %Cv: coeficiente de variación porcentual

Tabla N° 11. Resultados de determinación de la actividad antioxidante en *Passiflora quadrangularis* "Granadilla de refresco"

FRUTO 6	Fruto pesado (g)	Extracto liofilizado (g)	Cantidad Utilizada en ensayo (mg)								
			GrFS1			GrFS2			GrFS3		
Granadilla de refresco			A	B	C	A	B	C	A	B	C
GrFS1	7.5	0.7039	2.04	2.48	2.73	2.69	2.15	2.47	2.37	2.32	2.60
GrFS2	7.5	0.7248	Concentración en μM obtenida (Tres lecturas por peso)								
GrFS3	7.5	0.71435	31.11	30.20	28.39	29.30	28.39	28.39	30.20	29.30	28.39
			32.01	29.30	29.30	29.30	27.48	27.48	30.66	28.39	28.39
			31.11	30.20	29.30	30.20	26.58	27.48	30.66	28.39	28.39
Cv			0.017	0.017	0.018	0.018	0.033	0.019	0.009	0.018	0.000
%CV			1.665	1.749	1.804	1.767	3.296	1.882	0.857	1.823	0.000
Promedio de Concentración (M)			31.41	29.90	28.99	29.60	27.48	27.79	30.50	28.69	28.39
Volumen Alícuota (L)			50	50	50	50	50	50	50	50	50
Volumen Solución (L)			0.0102	0.0124	0.01365	0.01345	0.01075	0.01235	0.011825	0.011575	0.013
Concentración (μmol en vial)			0.32	0.37	0.40	0.40	0.30	0.34	0.36	0.33	0.37
Concentración en extracto liofilizado (2.00mg) (μmol equivalente de Trolox)			0.31	0.30	0.29	0.30	0.27	0.28	0.31	0.29	0.28
Concentración en extracto liofilizado (cantidad real) (μmol equivalente de Trolox)			110.55	105.23	102.05	107.27	99.60	100.70	108.95	102.48	101.40
Concentración en 100g de muestra (μmol equivalente de Trolox)			1473.98	1403.13	1360.62	1430.20	1328.06	1342.65	1452.72	1366.44	1352.06
Promedio de Concentración (μmol ET/ 100g pf)			1412.58			1366.97			1390.41		
Concentración μmol ET/ 100g pf)			1389.99								

Cv: Coeficiente de variación, %Cv: coeficiente de variación porcentual

Tabla N° 12. Resultados de determinación de la actividad antioxidante en *Persea schiedeana* "Chucte".

FRUTO 7	Fruto pesado (g)	Extracto liofilizado (g)	Cantidad Utilizada en ensayo (mg)								
			ChP1			ChP2			ChP3		
Chucte			A	B	C	A	B	C	A	B	C
ChP1	7.5	0.1467	2.05	2.18	2.01	2.41	2.04	2.22	2.23	2.11	2.12
ChP2	7.5	0.1089	Concentración en μM obtenida (Tres lecturas por peso)								
ChP3	7.5	0.1278	74.59	73.69	71.87	73.69	73.69	70.97	74.14	73.69	71.42
			72.78	72.78	71.87	73.69	74.59	70.97	73.23	73.69	71.42
			73.69	74.59	80.03	73.69	74.14	70.97	73.69	74.37	75.50
Cv			0.012	0.012	0.063	0.000	0.006	0.000	0.006	0.005	0.032
%CV			1.229	1.229	6.311	0.000	0.611	0.000	0.615	0.531	3.234
Promedio de Concentración (M)			73.69	73.69	74.59	73.69	74.14	70.97	73.69	73.91	72.78
Volumen Alícuota (L)			50	50	50	50	50	50	50	50	50
Volumen Solución (L)			0.01025	0.0109	0.01005	0.01205	0.0102	0.0111	0.01115	0.01055	0.010575
Concentración (μmol en vial)			0.76	0.80	0.75	0.89	0.76	0.79	0.82	0.78	0.77
Concentración en extracto liofilizado (2.00mg) (μmol equivalente de Trolox)			0.74	0.74	0.75	0.74	0.74	0.71	0.74	0.74	0.73
Concentración en extracto liofilizado (cantidad real) (μmol equivalente de Trolox)			54.05	54.05	54.71	40.12	40.37	38.64	47.09	47.23	46.51
Concentración en 100g de muestra (μmol equivalente de Trolox)			720.66	720.66	729.52	534.97	538.25	515.23	627.81	629.74	620.09
Promedio de Concentración ($\mu\text{mol ET/ 100g pf}$)			723.61			529.48			625.88		
Concentración $\mu\text{mol ET/ 100g pf}$)			626.32								

Cv: Coeficiente de variación, %Cv: coeficiente de variación porcentual

Tabla N° 13. Resultados de determinación de la actividad antioxidante en *Phyllanthus acidus* "Guinda".

FRUTO 8	Fruto pesado (g)	Extracto liofilizado (g)	Cantidad Utilizada en ensayo (mg)								
			Gp1			Gp2			Gp3		
Guinda			A	B	C	A	B	C	A	B	C
Gp1	7.5	0.1045	2	2.21	2	2.07	2.14	2.25	2.04	2.18	2.13
GP2	7.5	0.1463	Concentración en μM obtenida (Tres lecturas por peso)								
GP3	7.5	0.1254	60.10	61.00	61.00	68.25	62.82	63.72	64.17	61.91	62.36
			57.38	60.10	63.72	66.44	65.53	65.53	61.91	62.82	64.63
			58.74	60.55	62.36	65.53	64.63	64.63	62.14	62.59	63.50
Cv			0.023	0.007	0.022	0.021	0.022	0.014	0.020	0.008	0.018
%CV			2.313	0.748	2.179	2.073	2.151	1.402	1.988	0.755	1.783
Promedio de Concentración (M)			58.74	60.55	62.36	66.74	64.33	64.63	62.74	62.44	63.50
Volumen Alícuota (L)			50	50	50	50	50	50	50	50	50
Volumen Solución (L)			0.01	0.01105	0.01	0.01035	0.0107	0.01125	0.010175	0.010875	0.010625
Concentración (μmol en vial)			0.59	0.67	0.62	0.69	0.69	0.73	0.64	0.68	0.67
Concentración en extracto liofilizado (2.00mg) (μmol equivalente de Trolox)			0.59	0.61	0.62	0.67	0.64	0.65	0.63	0.62	0.63
Concentración en extracto liofilizado (cantidad real) (μmol equivalente de Trolox)			30.69	31.64	32.58	48.82	47.05	47.27	39.34	39.15	39.81
Concentración en 100g de muestra (μmol equivalente de Trolox)			409.21	421.84	434.46	650.95	627.39	630.33	524.51	521.98	530.82
Promedio de Concentración (μmol ET/ 100g pf)			421.84			636.22			525.77		
Concentración μmol ET/ 100g pf)			527.94								

Cv: Coeficiente de variación, %Cv: coeficiente de variación porcentual

Tabla N° 14. Resultados de determinación de la actividad antioxidante en *Selenicereus undatus* "Pitahaya".

FRUTO 9	Fruto pesado (g)	Extracto liofilizado (g)	Cantidad Utilizada en ensayo (mg)								
			PiP1			PiP2			PiP3		
Pitahaya											
PiP1	7.5	0.5568	A	B	C	A	B	C	A	B	C
PiP2	7.5	0.3237	2.39	2.09	2.5	2.36	2	2.13	2.38	2.05	2.32
PiP3	7.5	0.44025	Concentración en μM obtenida (Tres lecturas por peso)								
			26.58	27.48	29.30	28.39	26.58	26.58	27.48	27.03	27.94
			28.39	27.48	29.30	26.58	27.48	32.01	27.48	27.48	30.66
			27.48	29.30	29.30	27.48	27.03	29.30	27.48	28.16	29.30
Cv			0.033	0.037	0.000	0.033	0.017	0.093	0.000	0.021	0.046
%CV			3.296	3.724	0.000	3.296	1.676	9.277	0.000	2.068	4.638
Promedio de Concentración (M)			27.48	28.09	29.30	27.48	27.03	29.30	27.48	27.56	29.30
Volumen Alícuota (L)			50	50	50	50	50	50	50	50	50
Volumen Solución (L)			0.01195	0.01045	0.0125	0.0118	0.01	0.01065	0.011875	0.010225	0.011575
Concentración (μmol en vial)			0.33	0.29	0.37	0.32	0.27	0.31	0.33	0.28	0.34
Concentración en extracto liofilizado (2.00mg) (μmol equivalente de Trolox)			0.27	0.28	0.29	0.27	0.27	0.29	0.27	0.28	0.29
Concentración en extracto liofilizado (cantidad real) (μmol equivalente de Trolox)			76.52	78.20	81.56	44.48	43.75	47.42	60.50	60.67	64.49
Concentración en 100g de muestra (μmol equivalente de Trolox)			1020.23	1042.65	1087.49	593.12	583.35	632.22	806.68	808.89	859.85
Promedio de Concentración ($\mu\text{mol ET/ 100g pf}$)			1050.12			602.89			825.14		
Concentración $\mu\text{mol ET/ 100g pf}$)			826.05								

Cv: Coeficiente de variación, %Cv: coeficiente de variación porcentual

Tabla N° 15. Resultados de determinación de la actividad antioxidante en *Theobroma cacao* "Cacao".

FRUTO 10	Fruto pesado (g)	Extracto liofilizado (g)	Cantidad Utilizada en ensayo (mg)								
			CaS1			CaS2			CaS3		
Cacao			A	B	C	A	B	C	A	B	C
CaS1	7.5	0.4157	2.01	2.11	1.94	2.1	2.04	2.02	2.06	2.08	1.98
CaS2	7.5	0.4216	Concentración en μM obtenida (Tres lecturas por peso)								
CaS3	7.5	0.41865	56.47	55.57	56.47	59.19	64.63	63.72	57.83	60.10	60.10
			57.38	59.19	56.47	56.47	61.91	61.91	56.93	60.55	59.19
			59.19	61.91	60.10	60.10	63.72	63.72	59.64	62.82	61.91
Cv			0.024	0.054	0.036	0.032	0.022	0.017	0.024	0.024	0.023
%CV			2.399	5.402	3.627	3.219	2.182	1.657	2.380	2.381	2.291
Promedio de Concentración (M)			57.68	58.89	57.68	58.59	63.42	63.12	58.14	61.15	60.40
Volumen Alícuota (L)			50	50	50	50	50	50	50	50	50
Volumen Solución (L)			0.01005	0.01055	0.0097	0.0105	0.0102	0.0101	0.010275	0.010375	0.0099
Concentración (μmol en vial)			0.58	0.62	0.56	0.62	0.65	0.64	0.60	0.63	0.60
Concentración en extracto liofilizado (2.00mg) (μmol equivalente de Trolox)			0.58	0.59	0.58	0.59	0.63	0.63	0.58	0.61	0.60
Concentración en extracto liofilizado (cantidad real) (μmol equivalente de Trolox)			119.89	122.40	119.89	123.50	133.69	133.05	121.69	128.01	126.43
Concentración en 100g de muestra (μmol equivalente de Trolox)			1598.56	1632.04	1598.56	1646.71	1782.51	1774.02	1622.55	1706.83	1685.76
Promedio de Concentración ($\mu\text{mol ET/ 100g pf}$)			1609.72			1734.42			1671.71		
Concentración $\mu\text{mol ET/ 100g pf}$)			1671.95								

Cv: Coeficiente de variación, %Cv: coeficiente de variación porcentual

A continuación, se muestra un ejemplo de todos los cálculos realizados para la obtención de la actividad antioxidante de “Árbol de pan”, utilizando los datos del extracto liofilizado 1, solución de trabajo A, los detalles que se muestran en la Tabla N° 6.

Los datos necesarios para el cálculo son los siguientes:

- Cantidad de fruto para realizar extracto: 7.500 g
- Cantidad de extracto liofilizado obtenido: 0.874 g
- Concentración de solución de trabajo: 0.2 mg/mL.
- Promedio de concentración expresada en μM Equivalentes de Trolox (μM ET) para la solución de trabajo.

Este promedio se obtiene a partir de la sustitución de absorbancias individuales de cada celda (Ver Anexo N° 5), en la ecuación de la línea recta encontrada para la curva de calibración:

$$Y = -1.10385E^{-03}x + 5.69339E^{-01}$$

Siendo

Y: valor obtenido de cada absorbancia

X: concentración a encontrar en μM ET

Dando como resultado 9 valores de concentración, agrupados en grupos de 3, cada grupo correspondiente a un extracto liofilizado pesado por triplicado. A partir de estos tres valores se obtiene el promedio de la actividad antioxidante por fruto.

ApP1A: 105.39 μM ET

El promedio obtenido se multiplica por la cantidad en mL, de agua bidestilada utilizada para disolver la cantidad pesada del extracto liofilizado.

$$105.39\mu\text{M ET} \times 0.01065\text{L} = 1.12\mu\text{mol ET}$$

La concentración obtenida hace referencia a la solución A, es necesario relacionar la concentración respecto a la cantidad de extracto liofilizado obtenido. Para poder comparar todas las lecturas entre sí es necesario llevar los datos a un peso de extracto liofilizado constante de 2.00 mg, ya que en este caso se pesaron 2.13 mg.

$$(2.00\text{mg} \times 1.12\ \mu\text{mol ET}) / 2.13\text{mg} = 1.054\ \mu\text{mol ET}$$

Es necesario calcular la concentración, respecto a la cantidad total de extracto liofilizado obtenida:

$$x = (874\ \text{mg} \times 1.054\ \mu\text{mol ET}) / (2.00\ \text{mg}) = 460.57\ \mu\text{mol ET}$$

Este valor obtenido refleja la concentración presente a partir de 7.5 g de fruto fresco, así que se hace la relación para 100g de fruto fresco.

$$X = \frac{(100\ \text{g} \times 460.57\ \mu\text{mol ET})}{(7.500\ \text{g})} = 6140.95\ \mu\text{mol ET} / 100\text{g pf}$$

El resultado final se expresa como el promedio de la concentración obtenida para cada extracto liofilizado, el procedimiento previo a la lectura en el espectrofotómetro es representado de forma esquematizada. (Figura N° 35)

De manera similar se realizaron los cálculos para los nueve frutos restantes obteniéndose el promedio de actividad antioxidante reportado en la Tabla N° 16.

Tabla N° 16. Resultados de determinación de la actividad antioxidante en diez frutos pertenecientes a la flora salvadoreña.

No.	Nombre científico	Promedio de Concentración ($\mu\text{mol ET} / 100\text{g pf}$)
1	<i>Artocarpus altilis</i> "Árbol de pan"	5354.00
2	<i>Eriobotrya japonica</i> "Níspero"	7559.49
3	<i>Momordica charantia</i> "Jaiba"	567.40
4	<i>Muntingia calabura</i> "Capulín"	3637.64
5	<i>Opuntia cochenillifera</i> "Tuna"	1747.08
6	<i>Passiflora quadrangularis</i> "Granadilla de refresco"	1389.99
7	<i>Persea schiedeana</i> "Chucte"	626.32
8	<i>Phyllanthus acidus</i> "Guinda"	527.94
9	<i>Selenicereus undatus</i> "Pitahaya"	826.05
10	<i>Theobroma cacao</i> "Cacao"	1671.95

ET: Equivalente de Trolox ; pf: Peso fruto fresco

La Tabla N° 16 muestra los resultados de la actividad antioxidante solamente de la parte hidrofílica de cada fruto debido al solvente usado para la extracción (agua bidestilada).

A partir de los resultados obtenidos de actividad antioxidante se elaboró un gráfico para poder observar de mejor manera cuál de los frutos exhibe una mayor actividad antioxidante (Figura N° 36).

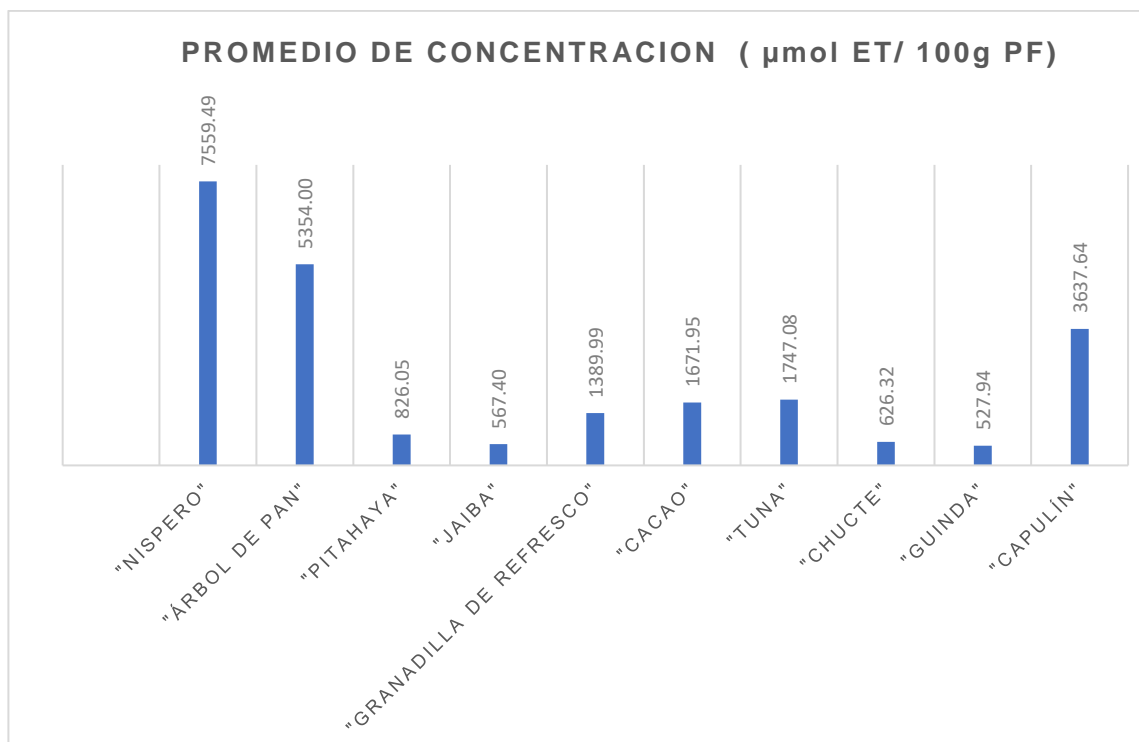


Figura N° 36: Determinación de la actividad antioxidante en los diez frutos en estudio.

La Tabla N° 17 contiene los tres frutos con los mayores porcentajes de rendimiento obtenidos en los liofilizados y también contiene el fruto que obtuvo el menor porcentaje de rendimiento. Esta tabla también contiene la actividad antioxidante de los mismos 4 frutos mencionados anteriormente. Según los resultados, el porcentaje de rendimiento en la obtención del extracto liofilizado y

el valor de la actividad antioxidante son directamente proporcionales. Mientras mayor sea el porcentaje de rendimiento del liofilizado, mayor cantidad de metabolitos hidrofílicos contiene el extracto acuoso, y a mayor cantidad de metabolitos hidrofílicos en el extracto acuoso, mayor es el dato de actividad antioxidante de dicho extracto. Esto se debe a que el método DPPH solamente detecta solamente compuestos hidrofílicos con actividad antioxidante

Tabla N° 17. Porcentaje de rendimiento de obtención de liofilizado y valores de actividad antioxidante de algunos frutos en estudio.

Nombre común de la especie vegetal	Porcentaje de rendimiento de liofilizado (%)	Actividad antioxidante ($\mu\text{mol ET/ 100g pf}$)
"Níspero"	13.87	7559.49
"Árbol de pan"	9.97	5354.00
"Capulín"	7.12	3637.64
"Guinda"	1.67	1671.95

5.4 Análisis estadístico para comparar la actividad antioxidante presentada por los diez frutos de las especies vegetales en estudio.

Se utilizó el programa Statgraphics Centurion 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 o no, entre estos y poder establecer qué frutos presentan mayor y menor actividad antioxidante.

Tabla N° 18. ANOVA para actividad antioxidante en los diez frutos en estudio.

Fuente de las variaciones	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1.5402E8	9	1.71134E7	175.95	0.0000
Intra grupos	1.94525E6	20	97262.3		
Total	1.55966E8	29			

La tabla N° 18 representa la varianza de la actividad antioxidante, 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 la actividad antioxidante entre un fruto y otro, con un nivel del 95.0% de confianza.

Después de realizar el análisis de varianza, se volvió necesario realizar la prueba de múltiples rangos para verificar qué frutos son diferentes de otros en cuanto a su actividad antioxidante, dicha prueba se ve plasmada en la Tabla N° 19, de esta manera se obtuvieron los grupos homogéneos del estudio, los cuales representan los frutos que poseen similares características en cuanto a la actividad antioxidante.

Tabla N° 19. Resultados de prueba de múltiples rangos sobre actividad antioxidante.

Nombre científico	Nombre común	Extractos analizados	Concentración ($\mu\text{mol ET/ 100g pf}$)	Grupos Homogéneos					
<i>Phyllanthus acidus</i>	"Guinda"	3	527.943	X					
<i>Momordica charantia</i>	"Jaiba"	3	567.4	X					
<i>Persea schiedeana</i>	"Chucte"	3	626.323	X					
<i>Selenicereus undatus</i>	"Pitahaya"	3	826.05	X					
<i>Passiflora quadrangularis</i>	"Granadilla de fresco"	3	1389.99		X				
<i>Theobroma cacao</i>	"Cacao"	3	1671.95		X				
<i>Opuntia cochenillifera</i>	"Tuna"	3	1747.08		X				
<i>Muntingia calabura</i>	"Capulín"	3	3637.64			X			
<i>Artocarpus altilis</i>	"Árbol de pan"	3	5354				X		
<i>Eriobotrya japonica</i>	"Níspero"	3	7559.49						X

Existen 5 grupos homogéneos en la determinación de la capacidad antioxidante, al mismo tiempo diferente cada grupo de los demás, el fruto que obtuvo una mayor actividad antioxidante fue *Eriobotrya japonica* "Níspero", además, es el único fruto perteneciente a su grupo homogéneo, por otra parte, el fruto de

Phyllanthus acidus "Guinda" obtuvo la menor actividad antioxidante junto a *Momordica charantia* "Jaiba", *Persea schiedeana* "Chucte" y *Selenicereus undatus* "Pitahaya", puesto que comparten un mismo nivel, lo que indica que no existen diferencias estadísticamente significativas entre ellos.

A través de la investigación bibliográfica realizada en distintas bases de datos, artículos y otros proyectos realizados en el área centroamericana, no se encontraron documentos con información sobre la actividad antioxidante de las especies estudiadas en esta investigación, que además fueran realizadas empleando la misma metodología a excepción de *Passiflora quadrangularis* "Granadilla de fresco", que según el estudio realizado por Murillo y colaboradores en Panamá, en el año 2012, presentó un valor de actividad antioxidante de 1025.11 $\mu\text{mol ET/ 100g pf.}$ ⁽⁵⁷⁾

El resultado de la investigación panameña es comparable al obtenido en la presente investigación, ya que el resultado de la especie vegetal recolectada en tierras salvadoreñas obtuvo un valor de 1389.99 $\mu\text{mol ET/ 100g pf}$ empleando el mismo método de análisis.

Para evaluar la actividad antioxidante en frutos que pertenecen a la misma familia botánica, se realiza la prueba de ANOVA para frutos de la familia Cactaceae (Tabla N° 20).

Tabla N°20. ANOVA para actividad antioxidante de los frutos de la familia Cactaceae.

Fuente de las variaciones	Suma de Cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	Razón-F	Valor-P
Entre grupos	1.27244E6	1	1.27244E6	30.86	0.0051
Intra grupos	164950	4	41237.6		
Total (Corr.)	1.43739E6	5			

La razón-F, que en este caso es igual a 30.8564. Puesto que el valor-P de la prueba-F es menor que 0.05, indica que existe una diferencia estadísticamente significativa entre la media de la actividad antioxidante exhibida por *Opuntia cochenillifera* "Tuna" y *Selenicereus undatus* "Pitahaya", con un nivel del 95.0% de confianza.

La diferencia existente en la capacidad antioxidante entre un fruto y otro se debe a las distintas proporciones de metabolitos secundarios con actividad antioxidante presentes en ellos. Los frutos seleccionados para este estudio pertenecen a 9 familias distintas, por lo que hay una gran riqueza de distintas sustancias químicas en ellos también puede deberse a que los mismos factores que influyen en la obtención del liofilizado también pueden influir en la capacidad antioxidante de un fruto, factores como la afinidad de los metabolitos secundarios presentes en el liofilizado con el solvente utilizado para la disolución.

A pesar de las diferencias en actividad antioxidante entre las distintas especies estudiadas, el consumo de cada uno de estos frutos es benéfico para el organismo. Ya sea que un fruto presente un alto o bajo valor de actividad antioxidante, este siempre podrá contribuir a la salud humana, neutralizando los radicales libres y así previniendo los daños provocados por el estrés oxidativo.

Los frutos de las especies estudiadas presentan otras sustancias que no han sido cuantificadas en este estudio (vitaminas, minerales y sustancias de carácter lipofílico) que también contribuyen a evitar el estrés oxidativo y por lo tanto la actividad antioxidante. Por ello es importante promover el consumo de frutas en la población general, así como también incentivar el cultivo de especies frutales dentro del territorio nacional.

La capacidad antioxidante de los extractos de frutos liofilizados está relacionada a la cantidad de metabolitos secundarios presentes en ellos que son capaces de

captar al radical libre DPPH. En el caso de los frutos de *Eriobotrya japonica* "Níspero" se podría relacionar la actividad antioxidante con el contenido de compuestos fenólicos (ácidos fenólicos, flavonoides, ácidos hidroxibenzóicos e hidroxicinámicos) y a los ácidos orgánicos hidrosolubles (ácido málico, quínico y ascórbico); para el fruto de *Artocarpus altilis* "Árbol de pan", se ha determinado que se puede asociar dicha actividad a la presencia de compuestos fenólicos (flavonoides y estilbenoides) y ácidos orgánicos hidrosolubles (ácido ascórbico y fólico).

La diversidad de frutos con buen perfil de actividad antioxidante existentes en nuestro país nos presenta una opción significativa para la obtención de compuestos activos que pueden ser una alternativa para la prevención de enfermedades asociadas al estrés oxidativo; el consumo de los frutos en forma directa, genera un impacto benéfico en nuestro organismo coadyuvando así, la actividad antioxidante endógena del cuerpo humano.

CAPITULO VI
CONCLUSIONES

6.0 CONCLUSIONES

1. El porcentaje de rendimiento de los extractos acuosos liofilizados osciló en un rango entre 1.67 a 13.87%, siendo el fruto con mayor porcentaje de rendimiento *Eriobotrya japonica* "Níspero" debido a la alta cantidad de metabolitos de naturaleza hidrofílica contenidos en la parte analizada de su fruto.
2. El porcentaje de rendimiento del extracto liofilizado obtenido de los frutos se ve influenciado por el tipo de metabolitos secundarios que contiene y la afinidad de estos al solvente de extracción utilizado.
3. Los frutos que exhibieron mayor capacidad antioxidante son *Eriobotrya japonica* "Níspero", seguido por *Artocarpus altilis* "Árbol de pan" y *Muntingia calabura* "Capulín", por otra parte, *Phyllanthus acidus* "Guinda", *Momordica charantia* "Jaiba", *Persea schiedeana* "Chucte", y *Selenicereus undatus* "Pitahaya", presentan la menor capacidad de captación del radical libre.
4. En el caso de los frutos de *Eriobotrya japonica* "Níspero" y *Artocarpus altilis* "Árbol de pan" se podría relacionar su alta actividad antioxidante con su contenido de metabolitos hidrofílicos, principalmente compuestos fenólicos y ácidos orgánicos hidrosolubles
5. Los frutos con buen perfil de actividad antioxidante existentes en nuestro país son una buena opción para la obtención de compuestos activos que pueden prevenir de enfermedades asociadas al estrés oxidativo. El

consumo de estos frutos en forma es benéfico para nuestro organismo, ya que coadyuvan a la actividad antioxidante endógena del cuerpo humano.

6. Entre los frutos pertenecientes a la familia Cactacea: *Opuntia cochenillifera* "Tuna" y *Selenicereus undatus* "Pitahaya", la capacidad de neutralizar el radical libre DPPH es estadísticamente diferente, siendo mayor la actividad de la "Tuna".
7. La presente investigación es el primer trabajo reportado sobre la actividad antioxidante de frutos salvadoreños aplicando el método DPPH.
8. Después de haber realizado la investigación bibliográfica en distintas bases de datos, se encontró que el fruto de *Passiflora quadrangularis* fue estudiada por Murillo y colaboradores en Panamá en el año 2012; en esa investigación se obtuvo un valor de actividad antioxidante de 1025.11 $\mu\text{mol ET}/100\text{g pf}$ para dicho fruto, siendo comparable con el resultado obtenido en la presente investigación ya que se encontró un valor de 1389.99 $\mu\text{mol ET}/100\text{g pf}$ empleando el mismo método, demostrando así que el método es reproducible.

**CAPITULO VII
RECOMENDACIONES**

7.0 RECOMENDACIONES

1. En futuras investigaciones se debe completar el estudio cuantificando otros metabolitos secundarios específicos relacionados a la actividad antioxidante, tales como: flavonoides y carotenoides.
2. Realizar estudios de formulación que permitan incorporar extractos acuosos de frutos a una forma farmacéutica o cosmética para lograr alcanzar el efecto antioxidante esperado, sobre todo para las especies vegetales que alcanzaron los valores más altos.
3. Complementar los estudios de actividad antioxidante en los frutos evaluados, determinando la actividad metabolitos secundarios de naturaleza hidrofílica y también lipofílica, aplicando la correcta metodología para cada caso; así se tendría la actividad antioxidante ejercida por la totalidad de compuestos contenidos en ellos.
4. Para futuras investigaciones se sugiere realizar estudios de robustez del método, para determinar si existen variaciones ante distintos factores como: pH, temperatura, exposición a la luz, tiempos de disolución, tiempos de reacción.
5. Con la difusión de los resultados obtenidos, se espera que se promueva el cultivo de los frutos que poseen capacidad antioxidante. De esta manera generar beneficios para la economía salvadoreña, especialmente en el sector agricultura.
6. Promover el consumo de estos frutos para el beneficio de la población en general, para así disminuir enfermedades generadas por estrés oxidativo y poder mejorar la calidad de vida.

7. A las instituciones de la salud, buscar mecanismos para poder informar a la población salvadoreña sobre los beneficios a la salud que produce el consumo de estos frutos, además de poder contribuir a promover un buen habito alimenticio.

BIBLIOGRAFIA

1. Abd Ghafar, S. Z., Mediani, A., Maulidiani, Ramli, N. S., & Abas, F. (2018). Antioxidant, α -glucosidase, and nitric oxide inhibitory activities of *Phyllanthus acidus* and LC–MS/MS profile of the active extract. *Food Bioscience*, 25, 134–140. Doi:10.1016/j.fbio.2018.08.009
2. Amarasinghe, A., Jayasinghe, L., Hara, N., & Fujimoto, Y. (2014). Safety evaluation of a *Artocarpus altilis* as pharmaceutical agent in wistar rats. *Journal of Toxicology*, 2014. Doi:10.1155/2014/980404
3. Ángel-coronel, O. A. Del. (n.d.-c). Y BIOQUÍMICAS DE FRUTOS DE CHINENE (*Persea schiedeana* Nees). *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 13(2), 141–147.
4. Badrie, N., & Broomes, J. (2010). *Beneficial uses of breadfruit (Artocarpus altilis): Nutritional, medicinal and other uses. Bioactive Foods in Promoting Health* (First Edit). Elsevier Inc. Doi:10.1016/B978-0-12-374628-3.00033-5
5. Berk, Z. (2018). *Freeze drying (lyophilization) and freeze concentration. Food Process Engineering and Technology*.
6. Bruneton, J. (1993). *Farmacognosia: fitoquímica y plantas medicinales*. (Segunda ed). Editorial Acribia, S.A.
7. Cáceres, A. (2009). *Actividad Antioxidante de diez especies nativas como posibles preservantes de alimentos y fuente para el desarrollo de nutraceuticos. Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONCYT)*.
8. Casas-Grajales, S., & Muriel, P. (2017). *Liver Pathophysiology: Therapies and Antioxidants. The Liver, Oxidative Stress, and Antioxidants*. Elsevier Inc. Doi:10.1016/B978-0-12-804274-8.00043-6
9. Chongsa, W., Kanokwiroon, K., & Jansakul, C. (2015). Effects of 6 weeks oral administration of *Phyllanthus acidus* leaf water extract on the vascular functions of middle-aged male rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 176, 79–89. Doi:10.1016/j.jep.2015.10.030

10. Collini, E. (2019). Carotenoids in Photosynthesis: The Revenge of the “Accessory” Pigments. *Chem*, 5(3), 494–495.
Doi: 10.1016/j.chempr.2019.02.016
11. CONABIO. (n.d.-k). Enciclovida. Disponible en: enciclovida.mx
12. Córdova, D., Dardón, R., González, J., & Menéndez, M. (2009). Determinación y cuantificación de la actividad antioxidante de especies nativas y su posible fuente para el desarrollo de nutricoséuticos. *Universidad de San Carlos, Guatemala* (Tesis de Grado).
13. Corrêa, R. C. G., Peralta, R. M., Haminiuk, C. W. I., Maciel, G. M., Bracht, A., & Ferreira, I. C. F. R. (2016). The past decade findings related with nutritional composition, bioactive molecules and biotechnological applications of *Passiflora* spp. (passion fruit). *Trends in Food Science and Technology*, 58, 79–95. Doi:10.1016/j.tifs.2016.10.006
14. Creus, E. G. (2004). Compuestos fenólicos: Un análisis de sus beneficios para la salud. *Ámbito Farmacéutico: Nutrición*, 23(6), 80–84. Retrieved from <http://www.doymafarma.com>
15. Cruz-Castillo, J. G., Tinoco-Rueda, J. Á., & Famiani, F. (2017). Distribution of *Persea schiedeana* in Mexico and potential for the production of fruits with high-quality oil. *HortScience*, 52(4), 661–666. Doi:10.21273/HORTSCI11411-16
16. Elías, R. E., & Suárez, J. Y. (2010). *Etnofarmacopea del Municipio La Laguna, Departamento de Chalatenango, El Salvador*. Universidad de El Salvador.
17. Elías, R., & Suárez, J. Y. (2010). *Etnofarmacopea Del Municipio La Laguna, Departamento De Chalatenango, El Salvador. Universidad de El Salvador, Facultad de Ciencias Naturales y Matemáticas, Escuela de Biología*.
18. Farmacobotánica. (2008). Glosario botánico. Disponible en: http://www.fcn.unp.edu.ar/sitio/farmacobotanica/?page_id=21

19. Fern, K. (2014). Tropical Plants Database. Disponible en: <http://tropical.theferns.info/viewtropical.php?id=Opuntia+cochenillifera>
20. Fern, K. (2014). Tropical Plants Database. Disponible en: <http://tropical.theferns.info/viewtropical.php?id=Passiflora+quadrangularis>
21. Fern, K. (2014). Tropical Plants Database. Disponible en: <http://tropical.theferns.info/viewtropical.php?id=Theobroma+cacao>
22. Fernández-León, M. F., Fernández-León, A. M., Lozano, M., Ayuso, M. C., González, J. A., & González-Gómez, D. (2011). Antioxidantes naturales y capacidad antioxidante en Brassicas. *Actas de Horticultura*, 58(4), 191–194.
23. Fosberg, P., & Ragone, D. (2018). *Breadfruit — Artocarpus altilis. Exotic Fruits Reference Guide*. Elsevier Inc. Doi:10.1016/B978-0-12-803138-4.00009-5
24. Gazola, A. C., Costa, G. M., Zucolotto, S. M., Castellanos, L., Ramos, F. A., de Lima, T. C. M., & Schenkel, E. P. (2018). The sedative activity of flavonoids from *Passiflora quadrangularis* is mediated through the GABAergic pathway. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 100(43), 388–393. Doi:10.1016/j.biopha.2018.02.002
25. Gazolaa, A. C., Costaa, G. M., Castellanos, L., Ramos, F. A., Reginatto, F. H., de Lima, T. C. M., & Schenkel, E. P. (2015). Involvement of GABAergic pathway in the sedative activity of apigenin, the main flavonoid from *Passiflora quadrangularis* pericarp. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 25(2), 158–163. Doi:10.1016/j.bjp.2015.03.009
26. Gómez-Maqueo, A., García-Cayuela, T., Welti-Chanes, J., & Cano, M. P. (2019). Enhancement of anti-inflammatory and antioxidant activities of prickly pear fruits by high hydrostatic pressure: A chemical and microstructural approach. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 54(April), 132–142. Doi:10.1016/j.ifset.2019.04.002

27. Grijalva, A. (2006). *Flora Útil - Etnobotánica de Nicaragua*. Managua.
28. Grover, J. K., & Yadav, S. P. (2004). Pharmacological actions and potential uses of *Momordica charantia*: A review. *Journal of Ethnopharmacology*, 93(1), 123–132. Doi:10.1016/j.jep.2004.03.035
29. GRUPOCAMALEON. (n.d.-ac). Glosarios de Botánica. Disponible en: <https://glosarios.servidor-alicante.com>
30. Gwaltney-Brant, S. (n.d.-ad). Chocolate. Disponible en: <https://www.merckvetmanual.com/toxicology/food-hazards/chocolate>
31. Howland, R. (2006). *Pharmacology*. Lippincott Williams & Wilkin.
32. Hurtado-Fernández, E., Fernández-Gutiérrez, A., & Carrasco-Pancorbo, A. (2018). Avocado fruit— *Persea americana*. *Exotic Fruits*, 37–48. Doi:10.1016/b978-0-12-803138-4.00001-0
33. Instituto Nacional del Cáncer. (2014). Diccionario de Cáncer. Disponible en: <https://www.cancer.gov/espanol/publicaciones/diccionario>
34. Jagajothi, A., Manimekalai, G., Evanjelene, V. K., Nirmala, A., & Vasanthi, P. (2013). Antimicrobial Activity and phytochemical analysis of *Phyllanthus acidus*. *Journal of Today's Biological Sciences: Research & Review (JTBSRR)*, 2(2), 55–62.
35. Janick, J., & Paull, R. (2008). *The Encyclopedia of Fruit & Nuts*. Cabi Publishing. Retrieved from https://books.google.com.sv/books?id=cjHCoMQNkcgC&pg=PA373&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false
36. Juhaimi, F. Al, Ghafoor, K., Uslu, N., Mohamed Ahmed, I. A., Babiker, E. E., Özcan, M. M., & Fadimu, G. J. (2020). The effect of harvest times on bioactive properties and fatty acid compositions of prickly pear (*Opuntia ficus-barbarica* A. Berger) fruits. *Food Chemistry*, 303(August 2019), 125387. Doi:10.1016/j.foodchem.2019.125387

37. Karaman, K., Dalda-Şekerçi, A., Yetişir, H., Gülşen, O., & Coşkun, Ö. F. (2018). Molecular, morphological and biochemical characterization of some Turkish bitter melon (*Momordica charantia* L.) genotypes. *Industrial Crops and Products*, 123, 93–99. Doi:10.1016/j.indcrop.2018.06.036
38. Lan, W. C., Tzeng, C. W., Lin, C. C., Yen, F. L., & Ko, H. H. (2013). Prenylated flavonoids from *Artocarpus altilis*: Antioxidant activities and inhibitory effects on melanin production. *Phytochemistry*, 89, 78–88. Doi:10.1016/j.phytochem.2013.01.011
39. Lawrence, J., Altman, S., & Zito, W. (1976). Sterols and triterpenes from the fruit of *Artocarpus altilis*. *Phytochemistry*, 15(5), 829–830. Doi:10.1016/S0031-9422(00)94466-2
40. Le Bellec, F., & Vaillant, F. (2011). *Pitahaya (pitaya) (Hylocereus spp.)*. *Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits* (Vol. 4). Woodhead Publishing Limited. Doi:10.1533/9780857092618.247
41. Li, F., Li, Y., Li, Q., Shi, X., & Guo, Y. (2017). Acute and Subacute Oral Toxicity Evaluation of *Eriobotrya japonica* Leaf Triterpene Acids in ICR Mice. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2017. Doi:10.1155/2017/4837839
42. Li, X., Xu, C., & Chen, K. (2015). *Nutritional and Composition of Fruit Cultivars: Loquat (Eriobotrya japonica Lindl.)*. *Nutritional Composition of Fruit Cultivars*. Elsevier Inc. Doi:10.1016/B978-0-12-408117-8.00016-7
43. Lidia, L., & Vela, M. M. (2002). *Determinacion de la bioactividad citotoxica de extractos de veinticinco especies vegetales mediante el bioensayo con Artemia Salina*. Universidad de El Salvador.
44. Lim, H. K., Tan, C. P., Karim, R., Ariffin, A. A., & Bakar, J. (2010). Chemical composition and DSC thermal properties of two species of *Hylocereus* cacti seed oil: *Hylocereus undatus* and *Hylocereus polyrhizus*. *Food Chemistry*, 119(4), 1326–1331. Doi:10.1016/j.foodchem.2009.09.002

45. López-Yerena, A., Guerra-Ramírez, D., Jácome-Rincón, J., Espinosa-Solares, T., Reyes-Trejo, B., Famiani, F., & Cruz-Castillo, J. G. (2018). Initial evaluation of fruit of accessions of *Persea schiedeana* Nees for nutritional value, quality and oil extraction. *Food Chemistry*, 245(November 2017), 879–884. Doi:10.1016/j.foodchem.2017.11.088
46. Lucas, E. A., Dumancas, G. G., Smith, B. J., Clarke, S. L., & Arjmandi, B. H. (2010). *Health benefits of Bitter Melon (Momordica charantia)*. *Bioactive Foods in Promoting Health* (First Edit). Elsevier Inc. Doi:10.1016/B978-0-12-374628-3.00035-9
47. Ludwiczuk, A., Skalicka-Woźniak, K., & Georgiev, M. I. (2017). Pharmacognosy. In *Pharmacognosy* (pp. 233–266). Doi:10.1016/b978-0-12-802104-0.00011-1
48. Luzuriaga-Quichimbo, C. X., Blanco-Salas, J., Cerón-Martínez, C. E., & Ruiz-Téllez, T. (2019). Providing added value to local uses of paparahua (*Artocarpus altilis*) in Amazonian Ecuador by phytochemical data review. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 29(1), 62–68. Doi:10.1016/j.bjp.2018.09.008
49. Magoni, C., Bruni, I., & Guzzeti, L. (2015). Coffee pulp waste as a source of antioxidant phytocomplexes. *Expo Milano Nutrrire Il Pianeta Energia per La Vita*.
50. Mahdi, M. A., Mohammed, M. T., Mohammed Noori Jassim, A., & Mohammed, A. I. (2018). Phytochemical content and anti-oxidant activity of *hylocereusundatus* and study of toxicity and the ability of wound treatment. *Plant Archives*, 18(2), 2672–2680.
51. Mahmood, N. D., Nasir, N. L. M., Rofiee, M. S., Tohid, S. F. M., Ching, S. M., Teh, L. K., ... Zakaria, Z. A. (2014). Muntingia calabura: A review of its traditional uses, chemical properties, and pharmacological observations. *Pharmaceutical Biology*, 52(12), 1598–1623. Doi:10.3109/13880209.2014.908397
52. Martínez, M. C. J., Castillo, J. G. C., De La Cruz Medina, J., & Coronel, Ó. D. Á. (2007). Distribución ecogeográfica y características del fruto de

Persea schiedeana Nees. en Los Tuxtlas, Veracruz, México. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 30(4), 403–410.

53. Mejía, J., Vásquez, S., & Kennedy, M. (2018). Evaluación Toxicológica Aguda y Actividad Analgésica del Extracto Etanólico de las Hojas de *Persea schiedeana* “Chucte” en Ratones Experimentales.
54. Mercado-Silva, E. M. (2018). *Pitaya— Hylocereus undatus (Haw). Exotic Fruits*. Elsevier Inc. Doi:10.1016/b978-0-12-803138-4.00045-9
55. Missouri Botanical Garden. (n.d.-bc). No Title. Disponible en: <http://tropicos.org/NameSearch.aspx>
56. Muñoz, C., Chavez, R., Ludy, C., Rendón, F., Margarita, R., Ángela, M., ... Otálvaro-álvarez, Á. M. (2015). Extracción de compuestos fenólicos con actividad antioxidante a partir de Champa (*Campomanesia lineatifolia*). *Revista CENIC. Ciencias Químicas*, 46, 38–46.
57. Murillo, E., Britton, G. B., & Durant, A. A. (2012). Antioxidant activity and polyphenol content in cultivated and wild edible fruits grown in Panama. *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 4(4), 313–317. Doi:10.4103/0975-7406.103261
58. Ngamwonglumlert, L., & Devahastin, S. (2018). Carotenoids, 1–14. Doi:10.1016/B978-0-12-814026-0.21608-9
59. Nguyen, M. T. T., Nguyen, N. T., & Awale, S. (2015). *Prenylated Dihydrochalcones from Artocarpus altilis as Antiausterity Agents. Enzymes* (1st ed., Vol. 37). Elsevier Inc. Doi:10.1016/bs.enz.2015.05.005
60. Osorio, C., Duque, C., & Fujimoto, Y. (2000). Oxygenated monoterpenoids from badea (*Passiflora quadrangularis*) fruit pulp. *Phytochemistry*, 53(1), 97–101. Doi:10.1016/S0031-9422(99)00436-7
61. Palomo G., I., Gutiérrez C., M., Astudillo S., L., Rivera S., C., Torres U., C., Guzmán J., L., ... Alarcón L., M. (2009). Efecto antioxidante de frutas y hortalizas de la zona central de Chile. *Revista Chilena de Nutricion*, 36(2), 152–158. Doi:10.4067/s0717-75182009000200007

62. Peña Núñez, B., Morejón Rodríguez, Z., García Hernández, A., & Morón Rodríguez, F. (2008). Estandarización y tamizaje fitoquímico de extractos de frutos de *Punica granatum* L. *Revista Cubana de Plantas Medicinales*, 13(4).
63. Peñarrieta, M., Tejada, L., Mollinedo, P., Villa, J., & Bravo, J. (2014). Phenolic Compounds in Food. *Bolivian Journal of Chemistry*, 31(2), 68–81. Doi:10.1021/bk-1992-0506.ch001
64. Pereira, G. A., Arruda, H. S., de Morais, D. R., Eberlin, M. N., & Pastore, G. M. (2018). Carbohydrates, volatile and phenolic compounds composition, and antioxidant activity of calabura (*Muntingia calabura* L.) fruit. *Food Research International*, 108(September 2017), 264–273. Doi:10.1016/j.foodres.2018.03.046
65. Repetto, M., & Sanz, P. (1993). *Glosario de términos usados en toxicológicos. Recomendaciones de la IUPAC-1993*. Retrieved from <http://www.aetox.es/glosario-toxicologico/>
66. Ringuélet, J., & Viña, S. (2013). *Productos naturales vegetales* (1a ed.).
67. Sánchez Manzanares, C. (2016). NEOMA. Diccionario de neologismos del español actual. Disponible en: <https://www.um.es/neologismos/index.php/p/guia>
68. Seifried, R., Harrison, E., & Seifried, H. (2017). *Nutrition in the Prevention and Treatment of Disease. Antioxidants in Health and Disease* (Fourth Edi). Elsevier Inc. Doi:10.1016/B978-0-12-391884-0.00018-4
69. Skyes, P. (2017). *Medical Biochemistry*. Doi:10.1038/224926b0
70. Tan, S., Tan, E. N., Lim, Q., & Nafiah, M. A. (2020). *Phyllanthus acidus* (L.) Skeels: A review of its traditional uses, phytochemistry, and pharmacological properties. *Journal of Ethnopharmacology*. Doi:10.1016/j.jep.2020.112610
71. Tradit, A. J., & Altern, C. (2012). Acute toxicity of *Opuntia ficus indica* and *Pistacia lentiscus* seed oils in mice, 9(November 2008), 607–611.

72. Tumkiratiwong, P., Ploypattarapinyo, R., Pongchairerk, U., & Thong-Asa, W. (2014). Reproductive toxicity of *Momordica charantia* ethanol seed extracts in male rats. *Iranian Journal of Reproductive Medicine*, 12(10), 695–704.
73. Vega, C., & Kwik-Urbe, C. (2012). *Theobroma cacao*-An Introduction to the Plant, Its Composition, Uses, and Health Benefits. *Cocoa Butter and Related Compounds*, 35–62. Doi:10.1016/B978-0-9830791-2-5.50005-0
74. Vélez, M., & Villa, N. (2012). *Identificación y cuantificación de Antraquinonas y Cromonas en plantas de Aloe vera cultivadas en municipios de Risaralda por la Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia*. Universidad Tecnológica de Pereira.
75. Vuolo, M. M., Lima, V. S., & Maróstica Junior, M. R. (2019). *Bioactive Compounds. Phenolic Compounds: Structure, Classification, and Antioxidant Power*. Elsevier Inc. Doi:10.1016/B978-0-12-814774-0.00002-5
76. Wahed, T. B. (2014). Phytochemical, Antioxidant and Cytotoxicity study of Methanolic Extracts of Leaves of *Trapa bispinosa* Roxb. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 5(6), 2199–2202. Doi:10.13040/IJPSR.0975-8232.5(6).2199-02
77. Wang, L., Clardy, A., Hui, D., Gao, A., & Wu, Y. (2019). Antioxidant and antidiabetic properties of Chinese and Indian bitter melons (*Momordica charantia* L.). *Food Bioscience*, 29(April), 73–80. Doi:10.1016/j.fbio.2019.03.010
78. Wichansawakun, S., & Buttar, H. S. (2018). *The Role of Functional Food Security In Global Health. Antioxidant diets and functional foods promote healthy aging and longevity through diverse mechanisms of action*. Elsevier Inc. Doi:10.1016/b978-0-12-813148-0.00032-3

GLOSARIO

Acuminado: Terminando muy gradualmente en una punta.⁽¹⁸⁾

Antiartrítico: Relacionado con la prevención o el retraso de la aparición de la artritis.⁽³³⁾

Antibacteriano: Sustancia que destruye las bacterias o les impide que crezcan y causen enfermedad.⁽³³⁾

Antibiótico: Compuesto químico utilizado para eliminar o inhibir el crecimiento de organismos infecciosos.⁽¹⁶⁾

Antifúngico: Sustancia que trata las infecciones causadas por hongos.⁽³³⁾

Antigenotóxico: Sustancia capaz de evitar el daño al material genético; el daño puede ser de tipo mutágeno o carcinógeno.⁽⁶⁵⁾

Antiinflamatorio: Relacionado con la reducción de la inflamación.⁽³³⁾

Antiparasitario: Medicamento que se usa para el tratamiento de infecciones ocasionadas por bacterias o parásitos. También se usa para el tratamiento de algunos cánceres.⁽³³⁾

Antiproliferativo: Que inhibe la reproducción celular, especialmente de células cancerosas.⁽⁶⁷⁾

Antiprotozoario: Agente (por lo general un medicamento) indicado para el tratamiento de parásitos protozoarios.⁽³¹⁾

Ápice: Es el extremo superior o punta de una hoja u órgano vegetal.⁽²⁹⁾

Apoptosis: Proceso fisiológico previsto de muerte y desintegración de tejidos dentro del desarrollo normal de los seres vivos.⁽⁶⁵⁾

Aquenio: Fruto que no se abre espontáneamente, seco, con una semilla y con el pericarpio independiente de la semilla, es decir no soldado a ella.⁽¹⁸⁾

Aréola: Pequeño reborde circular realizado en torno a las punteaduras de las traqueidas. Pequeña cavidad o foseta que puede presentarse en diversos órganos de una planta.⁽¹⁸⁾

Arteriosclerosis: Endurecimiento y engrosamiento de las paredes de las arterias.⁽⁶⁵⁾

Artritis reumatoide: Enfermedad autoinmunitaria que causa dolor, hinchazón y rigidez de las articulaciones, y que puede dañarlas gravemente, además, pérdida de la función y discapacidad. La enfermedad puede durar desde meses a toda la vida, y los síntomas pueden mejorar y empeorar con el transcurso del tiempo.⁽³³⁾

Bráctea: Cualquier órgano foliáceo situado en la proximidad de las flores y distinto por forma, tamaño, consistencia, color, etc., de las hojas normales.⁽¹⁸⁾

Caducifolio: Dicho de una planta, que pierde sus hojas cada año, al empezar la estación desfavorable.⁽¹⁸⁾

Cáliz: Verticilo estéril externo de la flor, se aplica al conjunto de sépalos.⁽¹⁸⁾

Cáncer: Nombre dado a las enfermedades en las que hay células anormales que se multiplican sin control y pueden invadir los tejidos cercanos.⁽³³⁾

Citotóxico: Sustancia que elimina células, como las cancerosas. Estos medicamentos pueden impedir que las células cancerosas se dividan y crezcan, y pueden disminuir el tamaño de los tumores.⁽³³⁾

Claviforme: De forma de clava o porra, es decir ensanchándose gradualmente hacia arriba desde una base angosta.⁽¹⁸⁾

Corola: Verticilo estéril interno de la flor, se aplica al conjunto de pétalos.⁽¹⁸⁾

Deciduo: Inclinado, cayendo finalmente.⁽¹⁸⁾

Diabetes: Cualquiera de las distintas enfermedades por las que los riñones elaboran una gran cantidad de orina. Por lo general, la diabetes se refiere a la diabetes mellitus, por la que hay también una concentración alta de glucosa (un tipo de azúcar) en la sangre porque el cuerpo no produce suficiente insulina o no la consume de la forma en que debiera hacerlo.⁽³³⁾

Estambre: Órgano floral masculino portador de sacos polínicos.⁽²⁹⁾

Estaminada: Provista de estambres.⁽¹⁸⁾

Estilo: Parte superior del gineceo.⁽²⁹⁾

Estipulas: Cada uno de los apéndices que se forman a cada lado de la base foliar.⁽²⁹⁾

Estudio *in vitro*: Estudio de laboratorio realizado sobre células, tejidos u órganos aislados o con sistemas subcelulares o bioquímicos (enzimas).⁽⁶⁷⁾

Estudio *in vivo*: Estudio realizado sobre individuo vivo.⁽⁶⁷⁾

Exerto: Dicho de estambre o de un estilo, que sobresale de la garganta de la corola o, dicho de un pétalo, que sobresale del cáliz. Se opone a inserto.⁽²⁹⁾

Extracto: En el campo de la medicina, una preparación de una sustancia obtenida de plantas, animales o bacterias y usada como medicamento o en medicamentos.⁽³³⁾

Ferrugíneo: Del color del óxido de hierro.⁽²⁹⁾

Foliáceo: Con textura o forma de una hoja.⁽¹⁸⁾

Fungicida: Sustancia usada para eliminar hongos.⁽⁶⁵⁾

Galabro: Libre de asperezas o pelos.⁽¹⁸⁾

Gineceo: Verticilo fértil femenino de una flor, conjunto de carpelos.⁽¹⁸⁾

Homeostasis: Tendencia al equilibrio interno o estabilidad orgánica para el mantenimiento de las constantes fisiológicas o normales.⁽⁶⁷⁾

Imbricado: Se aplica a las hojas u órganos foliáceos que estando muy próximos llegan a unirse por sus bordes.⁽¹⁸⁾

Infrutescencia: Es el resultado de la fecundación de una inflorescencia compacta, así como también de la fecundación del óvulo de ciertas flores.⁽²⁹⁾

Lanceolado: Angostamente elíptico, disminuyendo en cada punta.⁽¹⁸⁾

Metabolito: Cualquier producto intermedio o final resultante del metabolismo.(67)

Obovada: De forma ovada, pero con la parte ancha en el ápice.(18)

Oxidación: Reacción química que involucre la combinación del oxígeno con otra sustancia o un proceso en el que se dé pérdida de electrones.(58)

Panícula: Inflorescencia racimosa compuesta de racimos que van decreciendo de tamaño hacia el ápice.(29)

Pecíolo: Cabo o rabillo que une la lámina de la hoja a la base foliar o al tallo.(18)

Pedúnculo: Cabo o rabillo de una inflorescencia.(18)

Perianto: Pétalos y sépalos de una flor considerados en conjunto.(18)

Pétalo: Hoja que forma la corola de la flor.(29)

Petaloide: Semejante a un pétalo, con aspecto de corola.(18)

Pinna: Parte o segmento resultante de la partición de la lámina foliar.(18)

Pinnatilobada: Se aplica a la hoja de nervadura pinnada cuando tiene su margen dividido en lóbulos poco profundos.(18)

Piriforme: De forma parecida a la de una pera.(18)

Pistilada: Se aplica cuando la flor posee sólo gineceo.⁽¹⁸⁾

Pistilo: Órgano floral femenino portador del ovario.⁽²⁹⁾

Pro-vitamina A: Sustancias en los alimentos que pueden ser convertidas a vitamina A en el organismo.⁽⁵⁸⁾

Reducción: Reacción química que involucre la disociación del oxígeno con otra sustancia o un proceso en el que se dé ganancia de electrones.⁽⁵⁸⁾

Rostrado: Que remata en punta a modo de pico, picudo.⁽¹⁸⁾

Sépalo: Hoja que forma el cáliz de una flor.⁽²⁹⁾

Sepaloides: Semejante a un sépalo.⁽¹⁸⁾

Tépalo: Un miembro del verticilo estéril de la flor, cuando no hay diferenciación en cáliz y corola.⁽¹⁸⁾

Tomentoso: Cubierto con pelos densos, más bien rígidos y cortos.⁽¹⁸⁾

Traqueida: Célula conductora del xilema, por donde circula la savia bruta.⁽²⁹⁾

Verticilo: Conjunto de hojas, más de dos que nacen a un mismo nivel del tallo.⁽¹⁸⁾

ANEXOS

ANEXO N° 1

DESCRIPCION DE REACTIVOS, CRISTALERIA. MATERIAL Y EQUIPO PARA
UTILIZAR EN LA DETERMINACION DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.

- **Reactivos:**

- Reactivo Trolox - CAS 53188-07-1
- Reactivo DPPH CAS 1898-66-4
- Agua Bidestilada.
- Metanol
- Etanol

- **Cristalería:**

- Frascos Erlenmeyer capacidad 250 ml
- Beakers capacidad de 250 ml.
- Embudos de vidrio
- Beaker capacidad de 10 ml.
- Balones volumétricos clase A, capacidad de 10 ml.
- Agitadores de vidrio.
- Pipetas pasteur

- **Material:**

- Papel aluminio.
- Papel filtro
- Papel Parafilm
- Microespátulas.
- Puntas descartables para micropipetas capacidad de 0.5 ml y 1 ml.
- Cubetas descartables para UV-Vis.
- Papel absorbente.
- Guantes descartables.
- Materiales varios para recolección de muestra vegetal.

- **Equipo:**

- Ultracongelador.
- Baño ultrasonido VWR (Modelo 97043-988).
- Liofilizador LABCONCO FreeZones (Modelo 7740030).
- Balanza analítica 5 dígitos.
- Micropipeta capacidad 30-300 μL .
- Micropipeta capacidad 100-1000 μL .
- Espectrofotómetro Genesys 10S UV-Vis

ANEXO N° 2

ESQUEMA DEL EQUIPO LIOFILIZADOR LABCONCO FREEZONES



Figura N° 37. Liofilizador LABCONCO FreeZones
(La imagen es propiedad de LIPN, FQF, UES)

ANEXO N° 3

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 Trolox es 500 μM

Las soluciones por preparar serán con las siguientes concentraciones Trolox: 500.00 μM , 250.00 μM , 100.00 μM , 50.00 μM , 25.00 μM , 12.50 μM , 6.25 μM 0.0 μM .

Disolver 5 mg de Trolox en 40 ml agua bidestilada (500 μM)

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 Trolox 500 μM 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 Trolox (500 μM).

Ejemplo de cálculo para la preparar la solución estándar de 100.00 μM :

$$V_1 = \frac{(100 \mu\text{M})(1 \text{ ml})}{500 \mu\text{M}}$$

$$V_1 = 0.2 \text{ ml} = 200\mu\text{L}$$

Dando como resultado los siguientes datos:

Tabla N° 21. Datos para la preparación de la curva de calibración.

Alícuota de la solución madre (μL)	Alícuota de agua bidestilada (μL)	Volumen total (mL)	Concentración de Trolox (μM)
1000	0	1.0	500.00
500	500	1.0	250.00
200	800	1.0	100.00
100	900	1.0	50.00
50	950	1.0	25.00
25	975	0.8	12.50
12.5	987.5	0.8	6.25
0	1000	1.0	0.0

ANEXO N° 4

ESQUEMAS DE LOS PROCEDIMIENTOS DE LABORATORIO REALIZADOS
PARA LA DETERMINACION DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS
FRUTOS EN ESTUDIO.

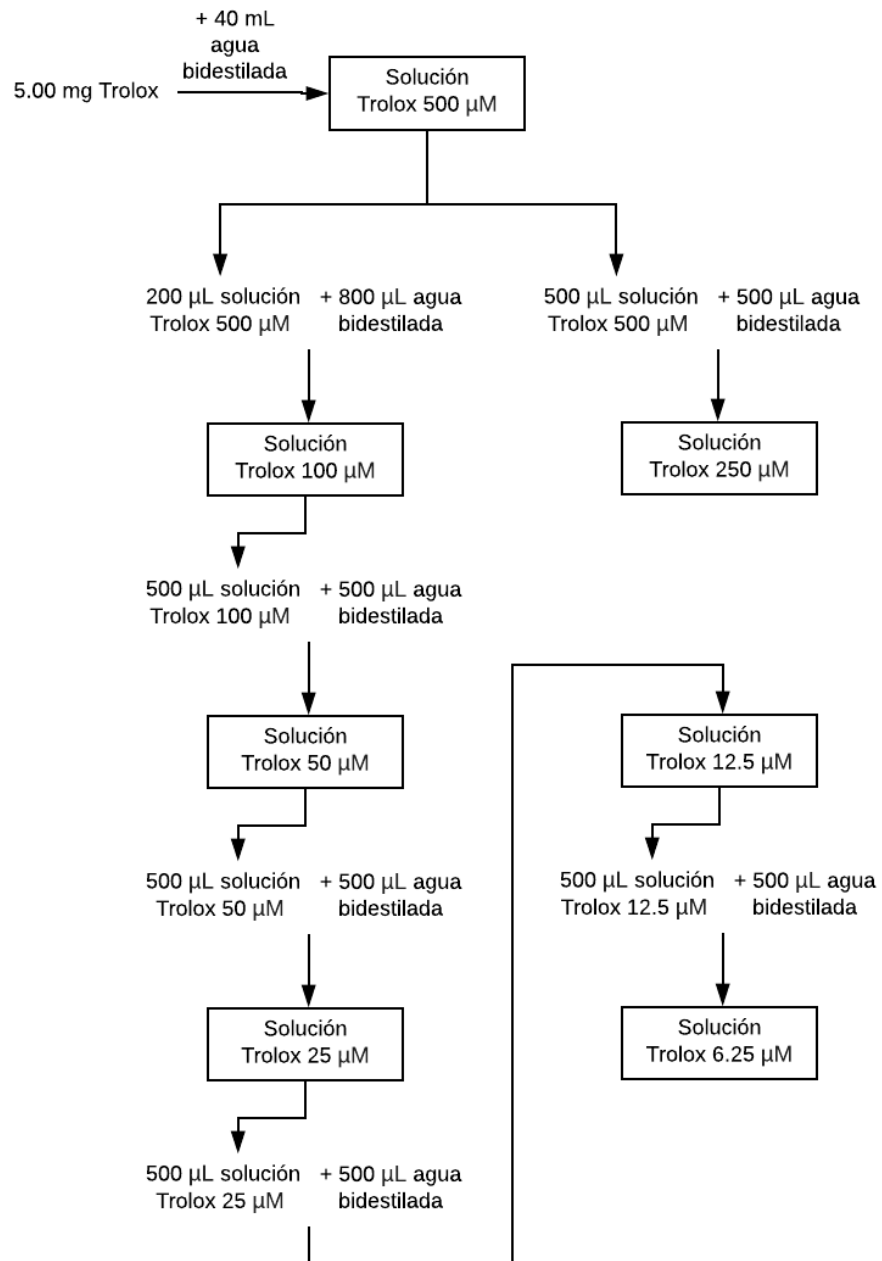


Figura N° 38. Esquema de dilución para curva de calibración.

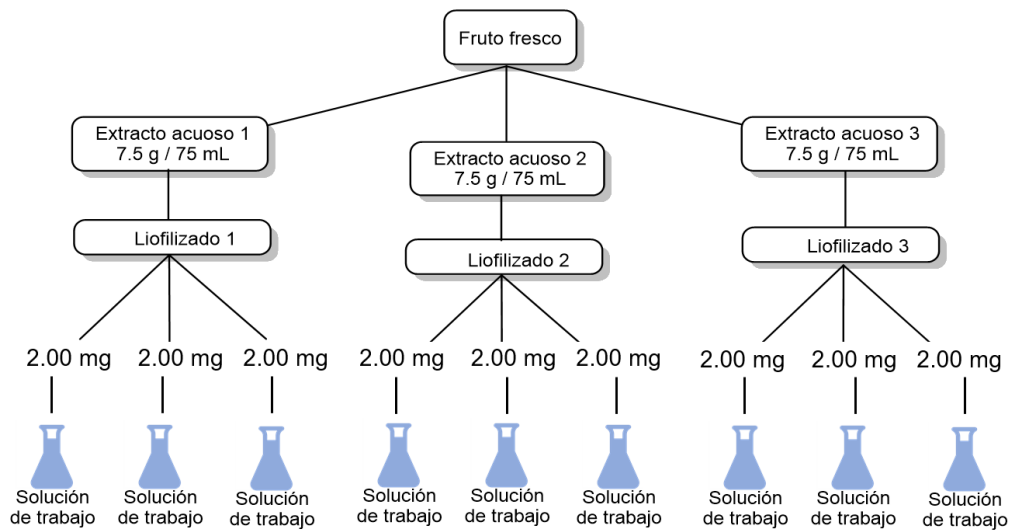


Figura N° 39 . Esquema de dilución para preparación de las muestras.

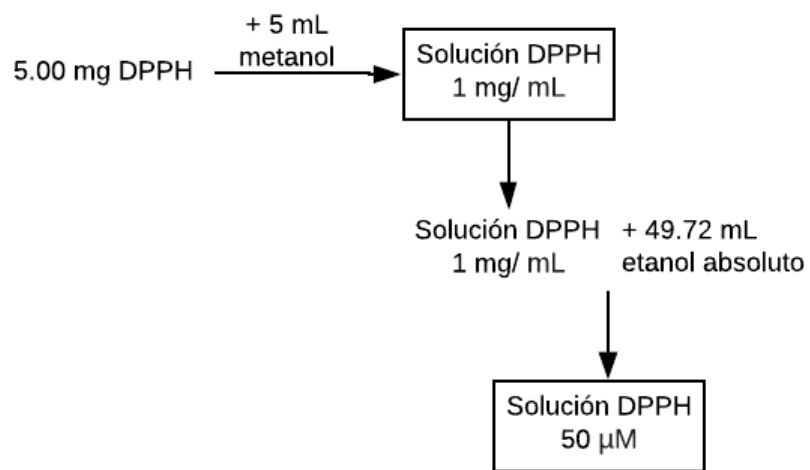


Figura N° 40 Esquema de dilución para preparación de reactivo DPPH.

ANEXO N° 5
ABSORBANCIAS OBTENIDAS POR TRIPLICADO PARA CADA
SOLUCION DE TRABAJO.

Tabla N° 22. Resultados de absorbancias en la determinación de la actividad antioxidante.

Código	Absorbancia	Código	Absorbancia	Código	Absorbancia	Código	Absorbancia	Código	Absorbancia
NiP1A1	0.447	ApP1A1	0.447	PiP1A1	0.540	MaS1A1	0.542	GrFS1A1	0.535
NiP1A2	0.445	ApP1A2	0.461	PiP1A2	0.538	MaS1A2	0.543	GrFS1A2	0.534
NiP1A3	0.446	ApP1A3	0.451	PiP1A3	0.539	MaS1A3	0.543	GrFS1A3	0.535
NiP1B1	0.449	ApP1B1	0.444	PiP1B1	0.539	MaS1B1	0.544	GrFS1B1	0.536
NiP1B2	0.449	ApP1B2	0.448	PiP1B2	0.539	MaS1B2	0.544	GrFS1B2	0.537
NiP1B3	0.449	ApP1B3	0.452	PiP1B3	0.537	MaS1B3	0.544	GrFS1B3	0.536
NiP1C1	0.445	ApP1C1	0.447	PiP1C1	0.537	MaS1C1	0.543	GrFS1C1	0.538
NiP1C2	0.444	ApP1C2	0.446	PiP1C2	0.537	MaS1C2	0.542	GrFS1C2	0.537
NiP1C3	0.445	ApP1C3	0.447	PiP1C3	0.537	MaS1C3	0.542	GrFS1C3	0.537
NiP2A1	0.456	ApP2A1	0.454	PiP2A1	0.538	MaS2A1	0.545	GrFS2A1	0.537
NiP2A2	0.452	ApP2A2	0.450	PiP2A2	0.540	MaS2A2	0.544	GrFS2A2	0.537
NiP2A3	0.451	ApP2A3	0.446	PiP2A3	0.539	MaS2A3	0.545	GrFS2A3	0.536
NiP2B1	0.447	ApP2B1	0.446	PiP2B1	0.540	MaS2B1	0.539	GrFS2B1	0.538
NiP2B2	0.451	ApP2B2	0.444	PiP2B2	0.539	MaS2B2	0.540	GrFS2B2	0.539
NiP2B3	0.452	ApP2B3	0.444	PiP2B3	0.540	MaS2B3	0.540	GrFS2B3	0.540
NiP2C1	0.451	ApP2C1	0.455	PiP2C1	0.540	MaS2C1	0.543	GrFS2C1	0.538
NiP2C2	0.449	ApP2C2	0.456	PiP2C2	0.534	MaS2C2	0.543	GrFS2C2	0.539
NiP2C3	0.453	ApP2C3	0.456	PiP2C3	0.537	MaS2C3	0.543	GrFS2C3	0.539
NiP3A1	0.452	ApP3A1	0.451	PiP3A1	0.539	MaS3A1	0.544	GrFS3A1	0.536
NiP3A2	0.449	ApP3A2	0.456	PiP3A2	0.539	MaS3A2	0.544	GrFS3A2	0.536
NiP3A3	0.449	ApP3A3	0.449	PiP3A3	0.539	MaS3A3	0.544	GrFS3A3	0.536

Tabla 22 Continuación

NiP3B1	0.448	ApP3B1	0.445	PiP3B1	0.540	MaS3B1	0.542	GrFS3B1	0.537
NiP3B2	0.450	ApP3B2	0.446	PiP3B2	0.539	MaS3B2	0.542	GrFS3B2	0.538
NiP3B3	0.451	ApP3B3	0.448	PiP3B3	0.538	MaS3B3	0.542	GrFS3B3	0.538
NiP3C1	0.448	ApP3C1	0.451	PiP3C1	0.539	MaS3C1	0.543	GrFS3C1	0.538
NiP3C2	0.447	ApP3C2	0.451	PiP3C2	0.536	MaS3C2	0.543	GrFS3C2	0.538
NiP3C3	0.449	ApP3C3	0.452	PiP3C3	0.537	MaS3C3	0.543	GrFS3C3	0.538
CaS1A1	0.507	Tp1A2	0.476	CaP1A1	0.463	ChP1A1	0.487	Gp1A1	0.503
CaS1A2	0.506	Tp1A2	0.473	CaP1A2	0.459	ChP1A2	0.489	Gp1A2	0.506
CaS1A3	0.504	Tp1A3	0.475	CaP1A3	0.456	ChP1A3	0.488	Gp1A3	0.505
CaS1B1	0.508	Tp1B1	0.480	CaP1B1	0.456	ChP1B1	0.488	Gp1B1	0.502
CaS1B2	0.504	Tp1B2	0.479	CaP1B2	0.453	ChP1B2	0.489	Gp1B2	0.503
CaS1B3	0.501	Tp1B3	0.487	CaP1B3	0.453	ChP1B3	0.487	Gp1B3	0.503
CaS1C1	0.507	Tp1C1	0.478	CaP1C1	0.462	ChP1C1	0.490	Gp1C1	0.502
CaS1C2	0.507	Tp1C2	0.480	CaP1C2	0.464	ChP1C2	0.490	Gp1C2	0.499
CaS1C3	0.503	Tp1C3	0.481	CaP1C3	0.467	ChP1C3	0.481	Gp1C3	0.501
CaS2A1	0.504	Tp2A1	0.479	CaP2A1	0.456	ChP2A1	0.488	Gp2A1	0.494
CaS2A2	0.507	Tp2A2	0.480	CaP2A2	0.458	ChP2A2	0.488	Gp2A2	0.496
CaS2A3	0.503	Tp2A3	0.480	CaP2A3	0.453	ChP2A3	0.488	Gp2A3	0.497
CaS2B1	0.498	Tp2B1	0.477	CaP2B1	0.456	ChP2B1	0.488	Gp2B1	0.500
CaS2B2	0.501	Tp2B2	0.487	CaP2B2	0.455	ChP2B2	0.487	Gp2B2	0.497
CaS2B3	0.499	Tp2B3	0.476	CaP2B3	0.455	ChP2B3	0.488	Gp2B3	0.498
CaS2C1	0.499	Tp2C1	0.482	CaP2C1	0.450	ChP2C1	0.491	Gp2C1	0.499
CaS2C2	0.501	Tp2C2	0.479	CaP2C2	0.450	ChP2C2	0.491	Gp2C2	0.497
CaS2C3	0.499	Tp2C3	0.481	CaP2C3	0.451	ChP2C3	0.491	Gp2C3	0.498
CaS3A1	0.506	Tp3A1	0.477	CaP3A1	0.460	ChP3A1	0.488	Gp3A1	0.499
CaS3A2	0.507	Tp3A2	0.476	CaP3A2	0.459	ChP3A2	0.489	Gp3A2	0.501

Tabla 22 Continuación

CaS3A3	0.504	Tp3A3	0.478	CaP3A3	0.455	ChP3A3	0.488	Gp3A3	0.501
CaS3B1	0.503	Tp3B1	0.479	CaP3B1	0.456	ChP3B1	0.488	Gp3B1	0.501
CaS3B2	0.503	Tp3B2	0.483	CaP3B2	0.454	ChP3B2	0.488	Gp3B2	0.500
CaS3B3	0.500	Tp3B3	0.482	CaP3B3	0.454	ChP3B3	0.487	Gp3B3	0.500
CaS3C1	0.503	Tp3C1	0.480	CaP3C1	0.456	ChP3C1	0.491	Gp3C1	0.501
CaS3C2	0.504	Tp3C2	0.480	CaP3C2	0.457	ChP3C2	0.491	Gp3C2	0.498
CaS3C3	0.501	Tp3C3	0.481	CaP3C3	0.459	ChP3C3	0.486	Gp3C3	0.499