



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“RELACIÓN ENTRE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE, Y
CONCENTRACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS
CONTENIDOS EN EL FRUTO DEL PUNGAL (*Solanum crinitipes*)”.**

TESIS DE GRADO

PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE

BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR:

MIGUEL ANGEL ZHAÑAY ANDRADE

RIOBAMBA – ECUADOR

2012

DEDICATORIA

A Dios y mi madre Dolorasa quienes han sido la fuente de fuerza e inspiración para poder llevar a cabo este proyecto y poder culminar con éxito esta etapa de mi vida.

A mis padres Miguel y Fanny quienes han sido soporte y fortaleza en mi vida, a mis hermanos Christian y Alex quienes con su apoyo y compañía me han brindado la tenacidad para continuar en todos mis proyectos de vida.

AGRADECIMIENTO

En primer lugar deseo agradecer a Dios y mi madre Dolorosa, por ser el pilar fundamental de mi vida.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia, por impartirme sus conocimientos, orientación, formación académica y profesional.

A la Dra. Susana Abdo, por su valiosa dirección durante el desarrollo y culminación de la presente investigación.

Al B.Q.F. Fausto Contero miembro del tribunal, por su valiosa colaboración incondicional brindada en el desarrollo de la investigación.

Al B.Q.F Diego Vinuesa, quien a mas de ser un gran profesional y guía académica es un gran amigo quien compartió su conocimiento y me alienta a seguir adelante en mi preparación profesional.

A Fátima Urquizo, quien con su amor me alienta a continuar en mis proyectos y siempre esta dispuesta ayudarme en lo que me haga falta

A toda mi familia por su apoyo incondicional.

A mis amigos por su amistad durante toda mi carrera.

Y a todas las personas que con su apoyo hicieron posible la culminación de este trabajo de investigación

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

El Tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación: “**RELACIÓN ENTRE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE, Y CONCENTRACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS CONTENIDOS EN EL FRUTO DEL PUNGAL (*Solanum crinitipes*)**”, de responsabilidad del señor egresado Miguel Angel Zhañay Andrade, ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

FIRMA

FECHA

Dr. Silvio Álvarez
DECANO FAC. CIENCIAS

Dr. Iván Ramos
DIRECTOR DE ESCUELA

Dra. Susana Abdo
DIRECTOR DE TESIS

B.Q.F. Fausto Contero
MIEMBRO DE TRIBUNAL

Tc. Carlos Rodríguez
DIRECTOR CENTRO
DE DOCUMENTACIÓN

NOTA DE TESIS

Yo, **Miguel Angel Zhañay Andrade**, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis; y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

MIGUEL ANGEL ZHAÑAY ANDRADE

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ANOVA	Análisis de varianza
μL	Microlitro
ppm	Partes por millón
M	Molar
Ac.	Acido
DL ₅₀	Dosis letal media
°C	Grados Celsius
g	Gramo
Kg	Kilogramo
L	Litro
m	Metro
mg	Miligramo
min	Minuto
ml	mililitro
DMSO	Dimetilsulfoxido
R	Radical
Rf	Factor de retención
conc	Concentrado
cm	Centímetro
ug	Microgramo
rpm	Revoluciones por minuto
UV	Ultravioleta

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

ÍNDICE DE CUADROS

ÍNDICE DE TABLAS

ÍNDICE DE GRÁFICOS

ÍNDICE DE FIGURAS

ÍNDICE DE ANEXOS

INTRODUCCIÓN

CAPÍTULO I

1.	Marco teórico.....	1
1.1.	Compuestos fenolicos.....	1
1.1.1.	Definición.....	1
1.1.2.	Estructura química de los fenoles.....	1
1.1.3.	Clasificación de los compuesto fenolicos.....	5
1.1.3.1.	Fenoles y ácidos hidrobenczoicos.....	6
1.1.3.2.	Ácidos hidroxicinámicos.....	7
1.1.3.3	Estilbenos.....	8
1.1.3.4.	Flavonoides.....	9
1.1.3.5	Antocianidinas.....	10
1.1.3.6	Flavonoles.....	11
1.1.3.7	Flavanoles.....	12
1.1.3.8	Flavonas e Isoflavonas.....	13
1.1.3.9.	Taninos.....	13
1.1.4	Función de los compuestos fenolicos.....	14
1.1.5	Actividad biológica de los compuestos fenolicos	16
1.1.6	Compuestos fenolicos y actividad antioxidante.....	17
1.2	Familia solanaceae.....	23
1.2.1	Generalidades.....	23
1.2.2	Química de las solanáceas.....	25
1.3	Pungal (<i>Solanum crinitipes</i>).....	26
1.3.1	Clasificación taxonómica.....	26
1.3.2	Características botánicas.....	27
1.3.2.1	Hojas.....	27
1.3.2.2.	Flores.....	27
1.3.2.3	Frutos.....	27
1.3.3	Requerimientos edafoclimaticos.....	28
1.3.3.1	Clima.....	28
1.3.3.2	Suelo.....	28
1.3.4	Características vegetativas y lugares de crecimiento.....	28
1.3.5	Usos.....	29

CAPÍTULO II

2	PARTE EXPERIMENTAL.....	30
2.1	Lugar de la investigación.....	30
2.2	Materiales, equipos y reactivos.....	30

2.2.1	Material vegetal.....	30
2.2.2	Materiales de laboratorio.....	30
2.2.3	Equipos.....	31
2.2.4	Reactivos.....	31
2.3	Técnicas y Métodos.....	32
2.3.1	Control de calidad droga cruda.....	32
2.3.1.1	Determinación del contenido de humedad.....	32
2.3.1.2	Determinación de cenizas.....	33
2.3.1.2.1	Determinación de cenizas totales.....	33
2.3.1.2.2.	Determinación de cenizas solubles en agua.....	34
2.3.1.2.3.	Determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico.....	35
2.3.2.	Elaboración del extracto hidroalcohólico a partir de frutos secos y triturados de pungal (<i>solanum crinitipes</i>).....	35
2.3.3.	Control de calidad del extracto hidroalcohólico.....	36
2.3.3.1.	Determinación de requisitos organolépticos del extracto hidroalcohólico... ..	36
2.3.3.2.	Determinación del pH.....	36
2.3.3.3.	Determinación del índice de refracción.....	37
2.3.3.4.	Determinación de la densidad relativa.....	37
2.3.3.5.	Determinación de sólidos totales.....	38
2.3.4.	Tamizaje fitoquímico.....	39
2.3.4.1.	Ensayo de Dragendorff.....	41
2.3.4.2.	Ensayo de Mayer.....	42
2.3.4.3.	Ensayo de Wagner.....	42
2.3.4.4.	Ensayo de Liebermann-Burchard.....	42
2.3.4.5.	Ensayo de Sudán.....	43
2.3.4.6.	Ensayo de Baljet.....	43
2.3.4.7.	Ensayo de Borntrager.....	43
2.3.4.8.	Ensayo de resinas.....	44
2.3.4.9.	Ensayo del cloruro férrico.....	44
2.3.4.10.	Ensayo de catequinas.....	44
2.3.4.11.	Ensayo de antocianidinas.....	45
2.3.4.12.	Ensayo de la espuma.....	45
2.3.4.13.	Ensayo de Shinoda.....	45
2.3.4.14.	Ensayo de Fehling.....	46
2.3.4.15.	Ensayo de Kedde.....	46
2.3.4.16.	Ensayo de mucílagos.....	46
2.3.4.17.	Ensayo de ninhidrina.....	46
2.3.4.18.	Ensayo de principios amargos.....	47
2.3.5.	Análisis cromatográfico del marcador químico: flavonoides totales expresado como porcentaje de quercetina.....	47
2.3.6.	Obtención de extractos a partir de frutos secos y triturados de pungal (<i>solanum crinitipes</i>) en diferentes solventes.....	48
2.3.7.	Cuantificación de compuestos fenolicos totales en los extractos de frutos secos y triturados de pungal (<i>solanum crinitipes</i>).....	48
2.3.8.	Actividad antioxidante de los extractos de frutos secos y triturados de pungal (<i>solanum crinitipes</i>) ensayo de capacidad antioxidante según el método enzimático de inhibición de la polifenoloxidasas.....	49

2.3.8.1	Extracto enzimático.....	49
2.3.8.2	Buffer.....	49
2.3.8.3	Sustrato.....	50
2.3.8.4	Muestra a ensayar.....	50
2.3.8.5	El antioxidante.....	51
CAPÍTULO III		
3	Resultados y discusión.....	53
3.1	Control de calidad droga cruda.....	53
3.1.1	Determinación de humedad.....	53
3.1.2	Determinación de cenizas.....	54
3.2	Control de calidad del extracto de frutos secos y triturados de pungal (<i>Solanum crinitipes</i>)	55
3.2.1	Determinación de requisitos organolépticos del extracto hidroalcohólico..	56
3.2.2	Determinación de los parámetros físicos del extracto hidroalcohólico.....	56
3.2.3	Tamizaje fitoquímico.....	57
3.2.4	Análisis cromatográfico del marcador químico: flavonoides totales expresados como porcentaje de quercetina.....	59
3.3	Cuantificación de compuestos fenolicos totales en los extractos de frutos secos y triturados de pungal (<i>Solanum crinitipes</i>).....	60
3.4	Actividad antioxidante de los extractos de frutos secos y triturados de pungal (<i>Solanum crinitipes</i>).....	66
3.5	Relación entre la concentración de compuestos fenolicos totales y la actividad antioxidante de los extractos de frutos secos y triturados de pungal (<i>Solanum crinitipes</i>).....	80
CAPÍTULO IV		
4.	Conclusiones.....	83
CAPÍTULO V		
5.	Recomendaciones.....	86
CAPÍTULO VI		
6.	Resumen y summary.....	87
CAPÍTULO VII		
7.	Bibliografía.....	89
CAPÍTULO VIII		
8.	Anexos.....	97

ÍNDICE DE CUADROS

CUADRO N° 1	Resultados de la determinación de la humedad de la droga seca y triturada de frutos de pungal (<i>solanum crinitipes</i>)". Laboratorio de fitoquímica. Facultad de ciencias. ESPOCH. Junio del 2012.....	54
CUADRO N° 2	Resultados de la determinación de cenizas totales de la droga seca y triturada de frutos de pungal (<i>solanum crinitipes</i>)". Laboratorio de fitoquímica. Facultad de ciencias. ESPOCH. Junio del 2012.....	55
CUADRO N° 3	Resultados de la determinación de cenizas solubles en agua de la droga seca y triturada de frutos de pungal (<i>solanum crinitipes</i>)". laboratorio de fitoquímica. Facultad de ciencias. ESPOCH. junio del 2012.....	55
CUADRO N° 4	Resultados de la determinación de cenizas insolubles en ácido clorhídrico de la droga seca y triturada de frutos de pungal (<i>solanum crinitipes</i>)". Laboratorio de fitoquímica. Facultad de ciencias. ESPOCH. Junio del 2012.....	56
CUADRO N° 5	Resultados de la determinación organoléptica del extracto hidroalcohólico de frutos secos y triturados de pungal (<i>solanum crinitipes</i>)". Laboratorio de fitoquímica. Facultad de ciencias. ESPOCH. Junio del 2012.....	57
CUADRO N° 6	Resultados de la determinación de los parámetros físicos del extracto hidroalcohólico de frutos secos y triturados de pungal (<i>solanum crinitipes</i>)". Laboratorio de fitoquímica. Facultad de ciencias. ESPOCH. Junio del 2012.....	57
CUADRO N° 7	Resultados del tamizaje fitoquímico del extracto de frutos secos y triturados de pungal (<i>solanum crinitipes</i>)". Laboratorio de fitoquímica. Facultad de ciencias. ESPOCH. Junio del 2012.....	58
CUADRO N° 8	Resultados de la determinación de los Rf de la muestra de fruto de pungal (<i>solanum crinitipes</i>)"en cromatografía de capa fina. Realizado en el laboratorio de fitoquímica. ESPOCH. Junio 2012.....	61
CUADRO N° 9	Resultados cuantificación de compuestos fenolicos totales en los extractos de frutos secos y triturados de pungal (<i>solanum crinitipes</i>)".a una longitud de onda de 765 nm. Laboratorio de análisis instrumental.	

	Facultad de ciencias. ESPOCH. Julio del 2012.....	62
CUADRO N° 10	Análisis estadístico concentración de compuestos fenolicos totales en los extractos de frutos secos y triturados de pungal (<i>solanum crinitipes</i>)". Laboratorio de análisis instrumental. Facultad de ciencias. ESPOCH. Julio del 2012.....	64
CUADRO N° 11	Concentración de compuestos fenolicos totales en los extractos de frutos secos y triturados de pungal (<i>solanum crinitipes</i>)". Anova un factor comparaciones múltiples. Método: Tukey hsd al 95.00%. Laboratorio de análisis instrumental. Facultad de ciencias. ESPOCH. Julio del 2012.....	66
CUADRO N° 12	Resultados actividad antioxidante de los extractos de frutos secos y triturados de pungal (<i>solanum crinitipes</i>)". 10 ppm a una longitud de onda de 420 nm. Laboratorio de análisis instrumental. Facultad de ciencias. ESPOCH. Julio del 2012.....	67
CUADRO N° 13	Análisis estadístico actividad antioxidante de los extractos de frutos secos y triturados de pungal (<i>solanum crinitipes</i>)". 10 ppm a una longitud de onda de 420 nm. Laboratorio de análisis instrumental. Facultad de ciencias. ESPOCH. Julio del 2012.....	69
CUADRO N° 14	Actividad antioxidante de los extractos de frutos secos y triturados de pungal (<i>solanum crinitipes</i>)". 10 ppm a una longitud de onda de 420 nm. Anova un factor comparaciones múltiples. Método: Tukey hsd al 95.00%. Laboratorio de análisis instrumental. Facultad de ciencias. ESPOCH. Julio del 2012.....	70
CUADRO N° 15	Resultados actividad antioxidante de los extractos de frutos secos y triturados de pungal (<i>solanum crinitipes</i>)". 100 ppm a una longitud de onda de 420 nm. Laboratorio de análisis instrumental. Facultad de ciencias. ESPOCH. Julio del 2012.....	72
CUADRO N° 16	Análisis estadístico actividad antioxidante de los extractos de frutos secos y triturados de pungal (<i>solanum crinitipes</i>)". 100 ppm a una longitud de onda de 420 nm. Laboratorio de análisis instrumental. Facultad de ciencias. ESPOCH. Julio del 2012.....	73
CUADRO N° 17	Actividad antioxidante de los extractos de frutos secos y triturados de pungal (<i>solanum crinitipes</i>)". 100 ppm a una longitud de onda de 420 nm. Anova un factor comparaciones múltiples. Método: Tukey hsd al 95.00%. Laboratorio de análisis instrumental. Facultad de ciencias. ESPOCH. Julio del 2012.....	75
CUADRO N° 18	Resultados actividad antioxidante de los extractos de frutos secos y triturados de pungal (<i>solanum crinitipes</i>)". 1000 ppm a una longitud	76

	de onda de 420 nm. Laboratorio de análisis instrumental. Facultad de ciencias. ESPOCH. Julio del 2012.....	
CUADRO N° 19	Análisis estadístico actividad antioxidante de los extractos de frutos secos y triturados de pungal (<i>solanum crinitipes</i>)". 1000 ppm a una longitud de onda de 420 nm. Laboratorio de análisis instrumental. Facultad de ciencias. ESPOCH. Julio del 2012.....	78
CUADRO N° 20	Actividad antioxidante de los extractos de frutos secos y triturados de pungal (<i>solanum crinitipes</i>)". 1000 ppm a una longitud de onda de 420 nm. Anova un factor comparaciones múltiples. Método: Tukey hsd al 95.00%. Laboratorio de análisis instrumental. Facultad de ciencias. ESPOCH. Julio del 2012.....	80
CUADRO N° 21	Relación entre la concentración de compuestos fenolicos totales y la actividad antioxidante de los extractos de frutos secos y triturados de pungal (<i>solanum crinitipes</i>)". 1000 ppm. Laboratorio de análisis instrumental. Facultad de ciencias. ESPOCH. julio del 2012.....	81
CUADRO N° 22	Datos de cuantificación de compuestos fenolicos totales en los extractos de frutos secos y triturados de pungal (<i>solanum crinitipes</i>). a una longitud de onda de 765 nm. Laboratorio de análisis instrumental. Facultad de ciencias. ESPOCH. julio del 2012.....	103
CUADRO N° 23	Datos actividad antioxidante de los extractos de frutos secos y triturados de pungal (<i>solanum crinitipes</i>)". a una longitud de onda de 420 nm. Laboratorio de análisis instrumental. Facultad de ciencias. ESPOCH. Julio del 2012.....	104

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA N° 1	Tipos de compuestos fenólicos de las plantas.....	4
TABLA N° 2	La estructura de los compuestos más comunes.....	4
TABLA N° 3	Compuestos fenólicos.....	5

ÍNDICE DE GRÁFICOS

GRÁFICO N° 1	Curva de absorbancia vs concentración de ácido galico para cuantificación de fenoles totales. a una longitud de onda de 765 nm. Laboratorio de análisis instrumental. Facultad de ciencias. ESPOCH. Julio del 2012.....	62
GRÁFICO N° 2	Concentración de fenoles extraídos en los diferentes solventes utilizados.....	64
GRÁFICO N° 3	Cajas de medias y desviación de los datos concentración de compuestos fenolicos totales en los extractos de frutos secos y triturados de pungal (<i>Solanum crinitipes</i>).....	65
GRÁFICO N° 4	Aactividad antioxidante de los extractos de frutos secos y triturados de pungal (<i>solanum crinitipes</i>)". 10 ppm.....	68
GRÁFICO N° 5	Cajas de medias y desviación de actividad antioxidante de los extractos de frutos secos y triturados de pungal (<i>solanum crinitipes</i>)". 10 ppm.....	70
GRÁFICO N° 6	Actividad antioxidante de los extractos de frutos secos y triturados de pungal (<i>solanum crinitipes</i>)". 100 ppm.....	73
GRÁFICO N° 7	Cajas de medias y desviación de actividad antioxidante de los extractos de frutos secos y triturados de pungal (<i>solanum crinitipes</i>)". 100 ppm.....	74
GRÁFICO N° 8	Actividad antioxidante de los extractos de frutos secos y triturados de pungal (<i>solanum crinitipes</i>)". 1000 ppm.....	77
GRÁFICO N° 9	Cajas de medias y desviación de actividad antioxidante de los extractos de frutos secos y triturados de pungal (<i>Solanum crinitipes</i>)". 1000 ppm.....	79
GRÁFICO N° 10	Relación entre la concentración de compuestos fenolicos totales y la actividad antioxidante de los extractos de frutos secos y triturados de pungal (<i>solanum crinitipes</i>)". 1000 ppm.....	83

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA N° 1	Estructura del fenol	2
FIGURA N° 2	Estructura básica de los flavonoides.....	2
FIGURA N° 3	Taninos (Polímeros de catequina).....	3
FIGURA N° 4	Ácidos hidroxibenzoicos.....	6
FIGURA N° 5	Ácido elágico.....	7
FIGURA N° 6	Ácido hidroxicinámicos.....	8
FIGURA N° 7	Estilbenos.....	9
FIGURA N° 8	Estructuras mayoritarias de flavonoides.....	9
FIGURA N° 9	Antocianidinas.....	10
FIGURA N° 10	Flavonoles.....	12
FIGURA N° 11	Procianidina B1.....	12
FIGURA N° 12	Flavonas.....	13
FIGURA N° 13	Estructura representativa de taninos hidrolizables.....	14
FIGURA N° 14	Estructuras básicas dentro de la familia de flavonoides.....	21
FIGURA N° 15	Mecanismo de quelación de metales desarrollado por flavonas y flavanonas.....	22
FIGURA N° 16	PUNGAL (<i>Solanum crinitipes</i>).....	26
FIGURA N° 17	Tamizaje Fitoquímico.....	41
FIGURA N° 18	Esquema de las reacciones a realizar en el extracto de éter etílico.....	41
FIGURA N° 19	Esquema de las reacciones a realizar en el extracto alcohólico.....	41
FIGURA N° 20	Esquema de las reacciones a realizar en el extracto acuoso.....	42

ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS

FOTOGRAFÍA N° 1	Placa cromatografía en capa fina de la muestra de fruto de pungal (<i>solanum crinitipes</i>)” comparados con quercetina, en placas de sílica gel 60 f ₂₅₄	60
FOTOGRAFÍA N° 2	Frutos de pungal (<i>solanum crinitipes</i>).....	98
FOTOGRAFÍA N° 3	Frutos secos y triturados de pungal (<i>Solanum crinitipes</i>).....	98
FOTOGRAFÍA N° 4	Balanza Analítica.....	99
FOTOGRAFÍA N° 5	Estufa.....	99
FOTOGRAFÍA N° 6	Mufla.....	99
FOTOGRAFÍA N° 7	Desecador.....	99
FOTOGRAFÍA N° 8	pH-metro.....	100
FOTOGRAFÍA N° 9	Refractómetro.....	100
FOTOGRAFÍA N° 10	Obtención de extractos por reflujo.....	100
FOTOGRAFÍA N° 11	Espectrofotómetro.....	101
FOTOGRAFÍA N° 12	Ensayo de la espuma. Frutos de pungal (<i>Solanum crinitipes</i>)....	101
FOTOGRAFÍA N° 13	Ensayo de Dragendorff. Frutos de pungal (<i>Solanum crinitipes</i>)..	101
FOTOGRAFÍA N° 14	Ensayo de Shinoda. Frutos de pungal (<i>Solanum crinitipes</i>).....	102
FOTOGRAFÍA N° 15	Ensayo de Borntrager. Frutos de pungal (<i>Solanum crinitipes</i>).....	102

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO N° 1	Materia prima.....	98
ANEXO N° 2	Equipos usados en el control de calidad de la materia prima.....	99
ANEXO N° 3	Equipos usados en el control de calidad del extracto hidroalcohólico.....	100
ANEXO N° 4	Equipos usados en la elaboración de los extractos con distintos solventes	100
ANEXO N° 5	Equipos usados en la cuantificación de compuestos fenolicos y actividad antioxidante.....	110
ANEXO N° 6	Tamizaje Fitoquímico.....	111
ANEXO N° 7	base de datos cuantificación de compuestos fenolicos totales en los extractos de frutos secos y triturados de pungal (<i>solanum crinitipes</i>).....	103
ANEXO N° 8	Base de datos actividad antioxidante de los extractos de frutos secos y triturados de pungal (<i>solanum crinitipes</i>).....	104

INTRODUCCIÓN

La gran riqueza vegetativa con la que cuenta el Ecuador nos proporciona un amplio campo de estudio e investigación en relación al área farmacéutica, la variedad de plantas junto con su rica composición fitoquímica es lo que inspira a develar los secretos naturales de la flora que se ha desarrollado en nuestro país con, el único propósito de contribuir al crecimiento y protección tanto de la sociedad como de nuestro entorno natural.

Debido al ritmo acelerado de vida que se lleva en una sociedad convulsiva llena de malos hábitos alimenticios y consumismo extremo de productos sintéticos, es normal que los procesos de envejecimiento y deterioro corporal se vean acelerados, en las personas, como seres dependientes de oxígeno el proceso de oxidación celular en nuestro organismo es natural pero se ve fuertemente influenciado y potenciado por los antecedentes ya mencionados como producto de este proceso oxidativo se genera en nuestro cuerpo gran cantidad de radicales libres los mismos que son agentes desencadenantes de graves patologías en nuestro cuerpo. (10)

Frente a este grave problema tenemos como alternativa la presencia de agentes antioxidantes que se encuentran formando parte de un sinnúmero de plantas que podemos encontrar en nuestro entorno natural especialmente en sus frutos, la importancia de las plantas con antioxidantes radica en que sus propiedades fotoquímicas son capaces de purificar a nuestro organismo gracias a que evitan la oxidación de nuestras células a manos de los radicales libres. (16)

Los componentes químicos responsables de la actividad antioxidante son muy variados, en la presente tesis nos enfocaremos en los compuestos fenólicos los mismos que son producto del metabolismo de las plantas los mecanismos de acción y particularidades por los que los fenoles presentan actividad antioxidante son diversas cada fenol actuará por uno o más

mecanismos, según sus propiedades características la explicación química de estos mecanismos tan sólo se conoce para determinados grupos de fenoles, una de las formas como desempeñan esta función es interrumpiendo la iniciación de la cadena de reacciones de oxidación mediante combinación con los radicales iniciadores, tales como los radicales hidroxilos los ácidos y alcoholes fenolicos como el ácido cafeico o el hidroxitirosol presentan esta capacidad. (3)(10)(12)

Como pilar central de la presente investigación se estudiara el fruto del arbusto de Pungal (*Solanum crinitipes*) debido a que es una planta nativa de nuestro país que hasta el momento no ha sido estudiada adecuadamente con respecto a su composición fitoquímica y sus potenciales aplicaciones. Esta planta ha sido muy utilizada en área agrícola como fuente de abono verde para regenerar terrenos desgastados por el accionar agrícola, así como también por su fácil propagación y gran resistencia a los agentes climáticos, ha sido utilizada para realizar trasplantes de tomate de árbol (*Solanum betaceum*) con gran éxito y ofreciendo productos de altísima calidad. (10)

El arbusto de Pungal (*Solanum crinitipes*) pertenece a la familia *Solanaceae* que se localiza geográficamente de manera preponderante en el trópico y se le encuentra también en las regiones templadas. Hay alrededor de 40 géneros y más de 2000 especies, de las que 1700 se encuentran en un solo género, *Solanum*. A esta familia pertenecen los tomates, las papas, el tabaco, la berenjena, los pimientos, petunias y la salpiglosis. (16)

Aunque la familia tiene una amplia distribución, la mayoría de las formas cultivadas se semidomesticaron en el hemisferio occidental. En esta familia se encuentran incluidas muchas plantas tóxicas y narcóticas, como la *Atropa belladonna*, el toloache. Incluso plantas tan comunes como el tomate se consideraron durante mucho tiempo como venenosas, como lo indica el nombre científico *Lycopersicon*, que significa “durazno de los lobos”. Hay muchas hierbas erectas y trepadoras en la familia, así como arbustos y pequeños árboles.(1) El Pungal (*Solanum crinitipes*) es una especie de nuestra región que pertenece a la familia de las Solanaceae Se lo encuentra hasta una altitud de 3000 m (valle del Río Ambato) y 3.200 m. (Camino hacia la laguna de San Marcos, al norte de Cayambe). Su tamaño alcanza

una altura de 3 a 4 m., lo cual corresponde a la calidad de suelo, humedad y temperatura. (12)

El Pungal (*Solanum crinitipes*) como todas las especies de la familia Solanaceae posee gran riqueza en compuestos fenolicos que son los de interés para la presente investigación es muy conocido que estos fitocompuestos son muy utilizados para inhibir el accionar oxidativo que se presenta en diferentes sistemas alimentarios y en organismos vivos.

El poder oxidativo de un compuesto inminentemente deriva en la degradación de un sistema económico teniendo como resultado un agente antieconómico de esta manera la presencia de compuestos fenolicos puede inhibir este proceso impidiendo la formación de radicales libres o a su vez como agente quelante de metales, la presencia de compuestos fenolicos es indicativa de color aunque los mismos se encuentran presentes en todas las partes de la planta su concentración varia en dependencia del desarrollo de la planta así como su ubicación. (14)

De esta manera se investigara la concentración de compuestos fenolicos totales en el fruto del arbusto de Pungal (*Solanum crinitipes*) y su relación con la actividad antioxidante, el poder extraer los compuestos fenolicos de un vegetal conlleva realizar ensayos con diferentes tipos de solventes que presenten propiedades físico-químicas adecuadas para la extracción de los compuestos fenolicos así tendremos patrones referenciales para establecer el mejor método de extracción y proporcionar un punto de partida para una futura aplicación.

Sin embargo, la principal razón que ha hecho que el estudio de los compuestos fenólicos haya sido objeto de numerosas investigaciones en los últimos 15 años es su contribución a la mejora de la salud. En los últimos años se han acumulado evidencias de que algunos compuestos fenólicos ingeridos con la dieta habitual pueden tener implicaciones sobre la salud humana, concretamente en la reducción de la incidencia de enfermedades cardiovasculares y de algunos tipos de cáncer. De hecho, desde 1990, varias organizaciones internacionales del ámbito de la nutrición, como la OMS, la CIIC o la AAR, recomiendan

un consumo diario de antioxidantes, principalmente a través de frutas y verduras, con el fin de prevenir o atenuar patologías asociadas al estrés oxidativo celular. (2)(3)

Con estos antecedentes en la siguiente investigación se plantearon los siguientes objetivos:

- Realizar el análisis fitoquímico del extracto del fruto del pungal (*Solanum crinitipes*) e identificar los compuestos químicos de interés.
- Obtener extractos con diferentes tipos de solventes para determinar cuál es el mejor solvente para extraer los compuestos fenolicos del fruto del pungal (*Solanum crinitipes*).
- Determinar la concentración de los compuestos fenolicos en los extractos obtenidos.
- Evaluar la actividad antioxidante de los diferentes extractos obtenidos.
- Evaluar la relación entre concentración de compuestos fenolicos y actividad antioxidante de los extractos del fruto del pungal (*Solanum crinitipes*)

CAPÍTULO I

1. MARCO TEORICO

1.1. COMPUESTOS FENÓLICOS

1.1.1. DEFINICIÓN

El término «compuestos fenólicos» engloba a todas aquellas sustancias que poseen varias funciones fenol, nombre popular del hidroxibenceno unido a estructuras aromáticas o alifáticas. Únicamente, algunos compuestos fenólicos de la familia de los ácidos fenoles no son polifenoles, sino monofenoles. (17)(15)

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 nuevamente por las plantas y son regulados genéticamente, tanto a nivel cualitativo como cuantitativo, aunque a este nivel también existen factores ambientales. (17)(18)

1.1.2. ESTRUCTURA QUÍMICA DE LOS FENOLES

El término fenoles comprende aproximadamente 8000 compuestos que aparecen en la naturaleza. Todos ellos poseen una estructura común: un anillo fenol un anillo aromático que lleva al menos un sustituyente hidroxilo. (14)

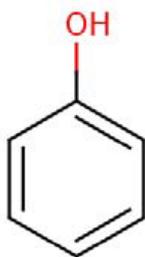


Figura N° 1. Estructura del fenol (8)

Los flavonoides son los polifenoles que poseen al menos 2 subunidades fenólicas; los compuestos que tienen 3 o más subunidades fenólicas se denominan taninos.

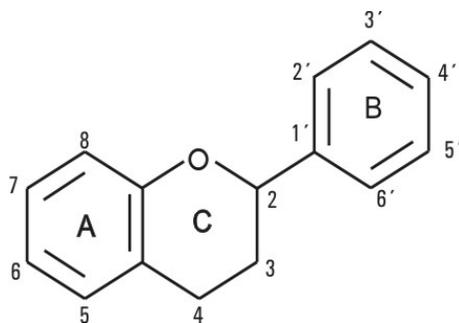


Figura N° 2. Estructura básica de los flavonoides (8)

Los flavonoides son derivados fenólicos sintetizados en cantidades substanciales por las plantas. Comprenden alrededor de 4000 compuestos identificados, son derivados hidroxilados, metoxilados y glicosilados de la 2 fenil benzo pirano, que consiste en dos anillos benceno combinados por mediación del oxígeno contenido en el anillo pirano. Estos compuestos poseen actividad antioxidante y capacidad para capturar radicales libres. (15)

La actividad antioxidante de los distintos grupos de compuestos depende de la estructura individual y del número de oxidrilos sustituyentes, así como del peso molecular. En los flavonoides esta característica se asocia con la presencia en la molécula de grupos orto dihidroxi en el anillo B un doble enlace entre el C₂ y C₃ en conjunto con la posición 4 oxo

en el anillo C, y grupos 3-5 hidroxilo y la función 4 oxo en los anillos A y C. Los taninos o polifenoles poliméricos tienen mayor actividad antioxidante que los fenoles monoméricos simples. (1)(8)

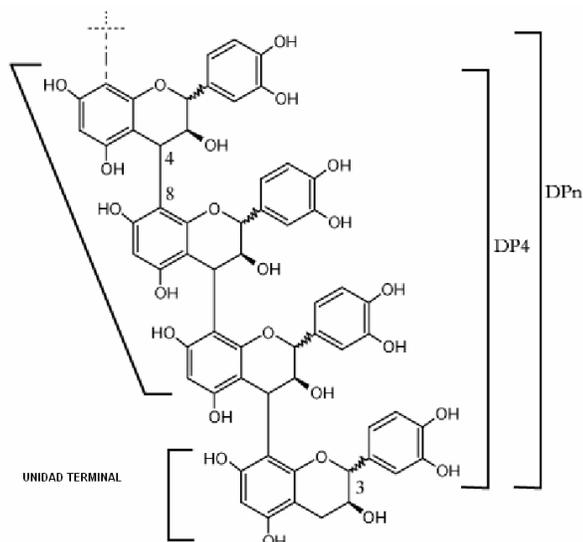


Figura N° 3. Taninos (Polímeros de catequina) (8)

Estructuralmente los compuestos fenólicos están constituidos por un anillo aromático, bencénico, con uno o más grupos hidroxilos incluyendo derivados funcionales. La naturaleza de los polifenoles varía desde moléculas simples, como los ácidos fenólicos, hasta compuestos altamente polimerizados como los taninos. (1)(8)

TABLA N° 1. TIPOS DE COMPUESTOS FENÓLICOS DE LAS PLANTAS

Clase	Estructura
Fenoles simples, benzoquinonas	C6
Ácidos hidroxibenzoicos	C6 – C1
Acetofenonas, Ácidos fenilacéticos	C6 – C2
Ácidos hidroxicinámicos, Fenilpropanoides	C6 – C3
Naptoquinonas	C6 – C4
Xantonas	C6 – C1 – C6
Antraquinonas	C6 – C2 – C6
Flavonoides, Isoflavonoides	C6 – C3 – C6
Lignanós, neolignanós	(C6 – C3) ₂
Biflavonoides	(C6 – C3 – C6) ₂
Ligninos	(C6 – C3) _n
Taninos condensados	(C6 – C3 – C6) _n

FUENTE: Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales (1)

TABLA N° 2. LA ESTRUCTURA DE LOS COMPUESTOS MÁS COMUNES

Ácidos benzoicos		Ácidos cinámicos	
Ácido gálico	R1 = R2 = R3 = OH	Ácido cafeico	R1 = R2 = H; R3 = R4 = OH
Ácido protocatéuico	R1 = H; R2 = R3 = OH	Ácido ferúlico	R1 = R2 = H; R3 = OH; R4 = OCH3
Ácido vanílicoo	R1 = H; R2 = OH; R3 = OCH3	Ácido p-cumárico	R1 = R2 = R4 = H; R3 = OH
Ácido siríngicoo	R1 = R3 = OCH3; R2 = OH	Ácido sinápico	R1 = H; R2 = R4 = OCH3; R3 = OH

FUENTE: Evaluación de la capacidad antioxidante de siete plantas medicinales (1)

1.1.3. CLASIFICACION DE LOS COMPUESTOS FENOLICOS

Según Harborne (1989) podemos clasificar los compuestos fenólicos basándonos en su estructura. Los grupos serían los siguientes: (27)(16)

TABLA N° 3. COMPUESTOS FENÓLICOS

Estructura	Clase fenólica
C_6	Fenoles
C_6-C_1	Ácidos hidroxibenzoicos
C_6-C_2	Acetofenonas y ácidos fenilacéticos
C_6-C_3	Ácidos cinámicos, cumarinas, Isocumarinas y cromonas
C_6-C_4	Naftoquinonas
$C_6-C_1-C_6$	Benzofenonas, xantonas
$C_6-C_2-C_6$	Estilbenos, antraquinonas
$C_6-C_3-C_6$	Flavonoides: flavanonas, flavonoles, Antocianidinas, chalconas, flavanoles ^I Auronas, flavonas e isoflavonas ^{II}
$(C_6-C_3)_2$	Lignanós
$(C_6-C_3-C_6)_2$	Bioflavonoides, biflavanos
$(C_6-C_3)_n$	Ligninas
$(C_6-C_3-C_6)_n$	Proantocianidinas ^{III}

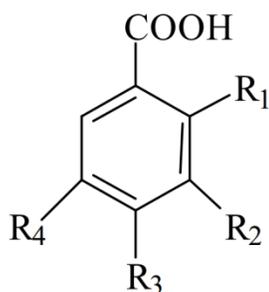
Existe una clasificación alternativa propuesta por el mismo autor en función de su situación y distribución en el reino vegetal. Por lo que se sabe sobre estos compuestos, podemos hacer una distinción clara entre aquellos que están ampliamente distribuidos y aquellos cuya presencia es casi esporádica. Así, por ejemplo, puede comprobarse que los ácidos hidroxibenzoicos e hidroxicinámicos, así como los flavonoides, están universalmente distribuidos en alimentos de origen vegetal. Por el contrario los isoflavonoides constituyen un grupo discreto cuya presencia queda confinada a la familia de las plantas leguminosas. Si tenemos en cuenta la heterogeneidad y extensa distribución de los compuestos polifenólicos en el reino vegetal, puede deducirse fácilmente que este

tipo de sustancias forman parte integral de nuestra dieta diaria a través de la ingestión de alimentos preparados a partir de vegetales. (10)(8)

1.1.3.1. FENOLES Y ÁCIDOS HIDROXIBENZOICOS

Son las estructuras más simples dentro del conjunto de compuestos fenólicos, que incluyen las estructuras C6 y C6-C2 respectivamente. A pesar de su simplicidad estructural, los analitos resultantes se han citado en muchas ocasiones en estudios centrados en la taxonomía de plantas, reflejando estrechamente el grado y la naturaleza de las estructuras presentes con propiedades dadas de la planta. (20)(25)

Las estructuras de hidroquinonas son los fenoles más representativos en términos de variedad y frecuencia de aparición. Con respecto a las estructuras ácidas, es necesario enfatizar la importancia de los ácidos vainillínico y gálico, como las estructuras polifenólicos más representativas y ampliamente distribuidas. (21)



$R_1=R_2=R_4=H, R_3=OH$ ac. phidroxibenzoico

$R_1=OH, R_2=R_3=R_4=H$ ac. salicílico

$R_1=R_4=H, R_2=OCH_3, R_3=OH$ ac. vainillínico

$R_1=R_4=H, R_2=R_3=OH$ ac. protocatéquico

$R_1=H, R_2=R_3=R_4=OH$ ac. gálico

Figura N° 4. Ácidos hidroxibenzoicos (11)

A pesar de la pronunciada complejidad estructural el ácido elágico puede considerarse como otro miembro representativo de esta familia polifenólica que, con el ácido gálico, constituye la base monomérica relacionada con los taninos hidrolizables. Este tipo de compuesto es responsable de una función biológica determinada siendo necesario para

actividades vitales de la planta como la germinación de las semillas y el propio crecimiento de la misma. (20)(25)(36)

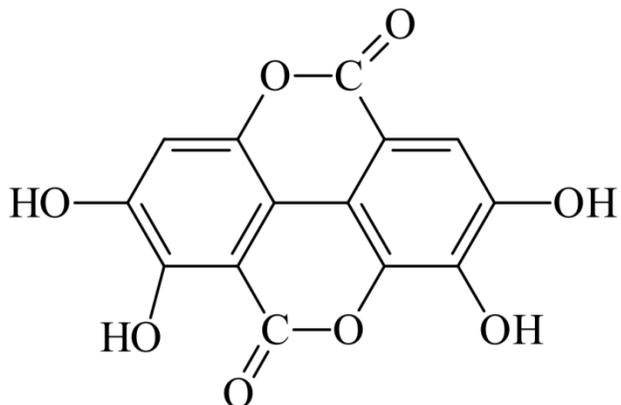
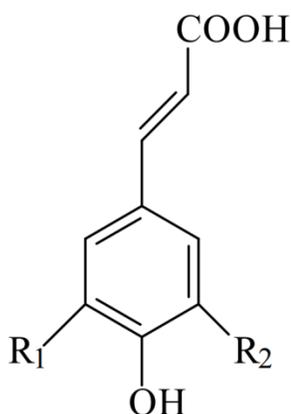


Figura N° 5. Ácido elágico (11)

1.1.3.2. ÁCIDOS HIDROXICINÁMICOS

Constituyen el grupo más ampliamente distribuido de los compuestos también conocidos como fenilpropanoides. Entre ellos hay cuatro estructuras básicas que existen en su estado natural libre y se corresponden con los ácidos cumárico, cafeico, ferúlico y sinápico. Al igual que otros compuestos polifenólicos, la mayoría de estas estructuras se encuentran en el reino vegetal químicamente asociados a otros tipos de compuestos. Un ejemplo claro de importancia universal lo constituye la esterificación del ácido cafeico con el ácido quínico para formar una estructura ampliamente distribuida en comestibles, el ácido clorogénico. Muchas funciones biológicas están íntimamente relacionadas con la presencia de estos compuestos en las plantas y comprenden propiedades antibióticas y relacionadas con la inhibición del crecimiento y germinación. (20)(25)(36)

Existen isómeros cis y trans de estos ácidos, aunque en la naturaleza la más frecuente es la trans.



$R_1=R_2=H$ ac. pcumárico
 $R_1=OH$, $R_2=H$ ac. cafeico
 $R_1=OCH_3$, $R_2=H$ ac. ferúlico
 $R_1=R_2=OCH_3$ ac. sinápico

Figura N° 6. Ácido hidroxicinámicos (11)

1.1.3.3.ESTILBENOS

Familia de compuestos constituida por dos ciclos benceno, generalmente enlazados por una cadena etano o etileno (C6-C2-C6). Entre los isómeros trans de estos compuestos, destaca el resveratrol, o 3,5,4 – trihidroxiestilbeno, por sus propiedades beneficiosas para la salud, y que parece generarse en la uva como respuesta a una infección fúngica, o a situaciones de estrés. (21)(36)

Este compuesto se localiza en los hollejos, y se extrae fundamentalmente durante la fermentación de vinos tintos, aunque también se encuentra, en niveles más bajos, en vinos blancos. Sus concentraciones son del orden de 1-3 mg/l, aunque varían según las variedades, siendo al parecer la Pinot Noir especialmente rica. Además del resveratrol, se han identificado distintos oligómeros del mismo en viñas, así, detectan la presencia de un glucósido del resveratrol denominado piceido. (21)(36)

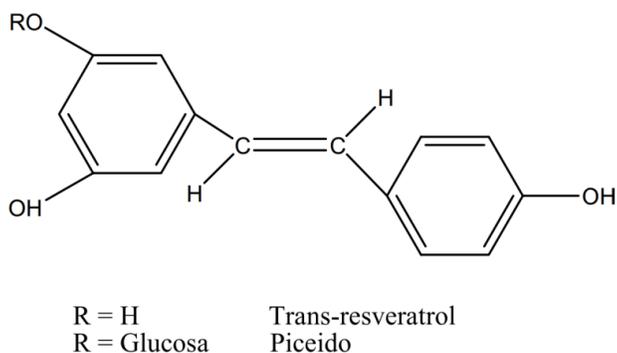


Figura N° 7. Estilbenos (11)

1.1.3.4. FLAVONOIDES

Las principales estructuras de este grupo que podemos encontrar distribuidas en alimentos son antocianinas, flavanoles, flavanonas, flavonoles, flavonas, isoflavonoides y chalconas. El término aglicona representa un flavonoide no unido a ninguna otra sustancia química, independientemente del tipo de flavonoide que se considere. El término glicósido o más generalmente estructura glicosilada se emplea para indicar estructuras resultantes de la unión a cualquier tipo de azúcar. (18)(25)

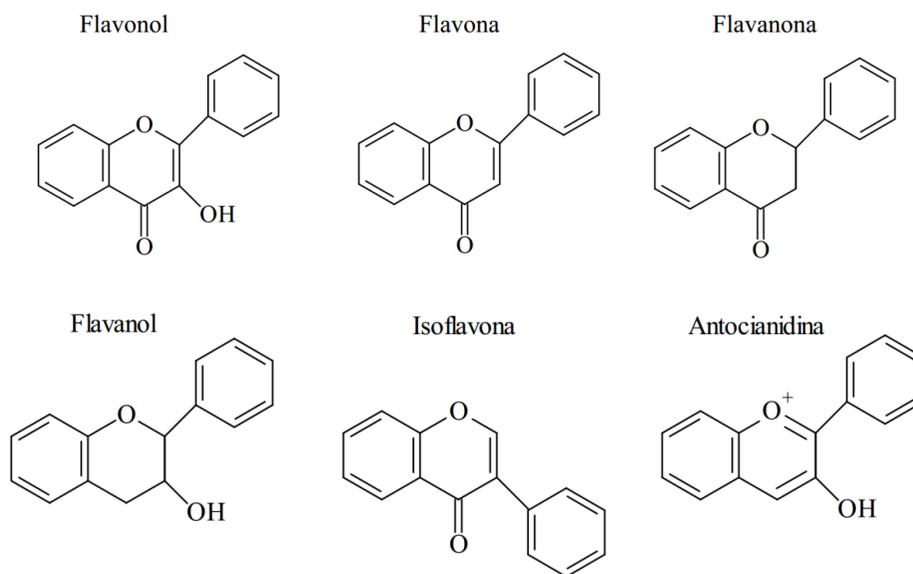


Figura N° 8. Estructuras mayoritarias de flavonoides (11)

1.1.3.5. ANTOCIANIDINAS

Son pigmentos que confieren colores a los frutos a pesar del hecho de que en algunos de esos frutos (naranja y tomate) el mencionado color es debido a los carotenoides. Las antocianidinas no glicosiladas (agliconas) puede encontrarse como cationes en medio ácido en forma de diferentes isómeros. Las propiedades de pigmentación de las antocianidinas han sido explotadas por la industria alimentaria como aditivos en zumos y mermeladas La estabilidad de las antocianidinas depende en gran medida del pH, debido a sus propiedades ácido-base. Con respecto a las estructuras de antocianidinas más ampliamente distribuidas en el reino vegetal, los seis compuestos que se citan a continuación son los responsables de la mayoría de la pigmentación en los frutos: cianidina, normalmente encontrada en su estado molecular libre (no glicosilado), es quizás la más común, seguida por la delfinidina, peonidina, pelargonidina, petunidina y malvidina. Las antocianidinas generalmente aparecen como glicósidos de las agliconas previamente citadas. (19)(23)

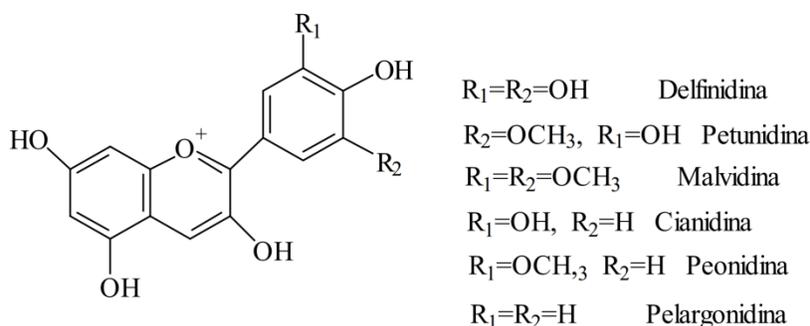


Figura N° 9. Antocianidinas (11)

Es posible detectar diferencias cuantitativas en su distribución, basadas en el grado de maduración del fruto así como en las condiciones climáticas bajo las cuales crece, con la intensidad de la luz y la temperatura ambiental como los factores más decisivos. Una de las principales características exhibidas por las antocianidinas deriva del hecho de que, en la inmensa mayoría de casos, estos compuestos tienden a estar monoglicosilados. La glicosilación de las antocianidinas siempre se lleva a cabo en la posición 3 a través de un puente de oxígeno (enlace O-glicosídico) con glucosa, arabinosa o galactosa. La cianidina

glicosilada con glucosa como azúcar participante, es la estructura más abundante en frutos, aunque pueden encontrarse también otras estructuras glicosiladas en la composición total antocianidínica de este tipo de muestras. Por otro lado, las antocianidinas acetiladas (químicamente unidas a un ácido) están distribuidas ampliamente en frutos, especialmente en uvas, donde la composición de estas sustancias es bastante compleja debido a la presencia de estructuras monoglicosiladas originarias de las 6 agliconas diferentes. Al mismo tiempo pueden aparecer acetiladas con ácido acético o cumárico. (20)(24))

1.1.3.6. FLAVONOLES

Este tipo de estructuras flavonoideas está ampliamente distribuido en el reino vegetal, formando parte integral de nuestra dieta diaria. Por este motivo, y porque recientemente se han descrito propiedades beneficiosas para la salud, son numerosos los estudios llevados a cabo sobre su presencia en frutos. (20)(36)

Basándonos en la información bibliográfica, puede establecerse que las estructuras glicosiladas de quercetina y kempferol son las más abundantes en el reino vegetal. Rutina, quercetina-3-rutinósido, y kempferol-3-rutinósido constituyen las estructuras más representativas de este tipo de compuestos. (21)(24)

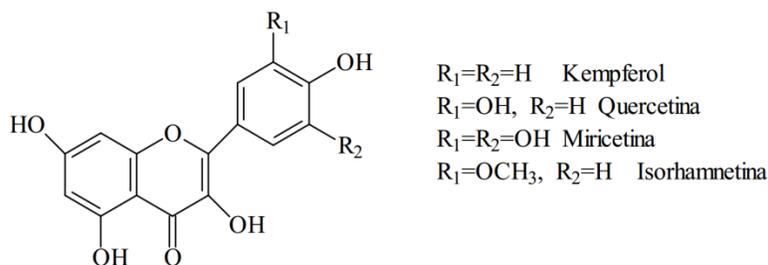


Figura N° 10. Flavonoles (11)

1.1.3.7. FLAVANOLES (FLAVAN-3-OLES)

Constituyen uno de las familias flavonoideas más comúnmente distribuidas en la naturaleza. Dentro de su marco estructural es conveniente distinguir entre las unidades monoméricas correspondientes a las estructuras (+) catequina y (-) epicatequina y estructuras oligoméricas de las mismas, conocidas como procianidinas. Las estructuras más relevantes corresponden a las denominadas B1, B2, B3 y B4 procianidinas constituidas por asociaciones diméricas de (+) catequina y (-) epicatequina. La estructura polimérica previamente mencionada también constituye la base de los taninos denominados condensados. Una de las características más destacadas de los flavanoles es que generalmente están distribuidos en las plantas como agliconas. (20)(23)

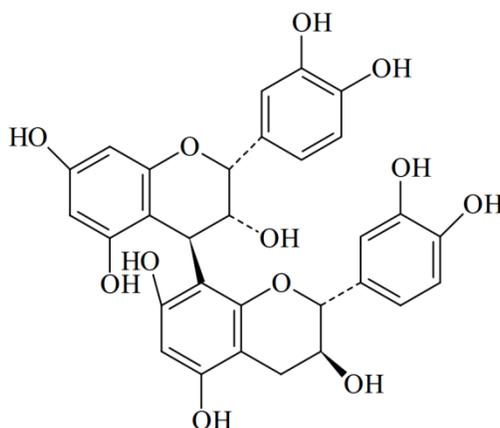


Figura N° 11. Procianidina B1 (11)

1.1.3.8. FLAVONAS E ISOFLAVONOIDES

Constituyen el grupo polifenólico menos representativo en alimentos. Las agliconas más ampliamente distribuidas son la apigenina y la luteolina. Como los flavonoides, las flavonas pueden aparecer como estructuras glicosiladas. Con respecto a los isoflavonoides, es necesario indicar que constituyen un grupo polifenólico minoritario en alimentos en términos similares a las flavanonas y flavonas. Los isoflavonoides son característicos de las

plantas leguminosas y se encuentran ampliamente distribuidos en alimentos derivados. Como la inmensa mayoría de este tipo de compuestos polifenólicos, estas estructuras isoflavonoideas también aparecen glicosiladas, habiéndose descrito, asimismo, su presencia en forma de acetil y malonil derivados. (20)(23)

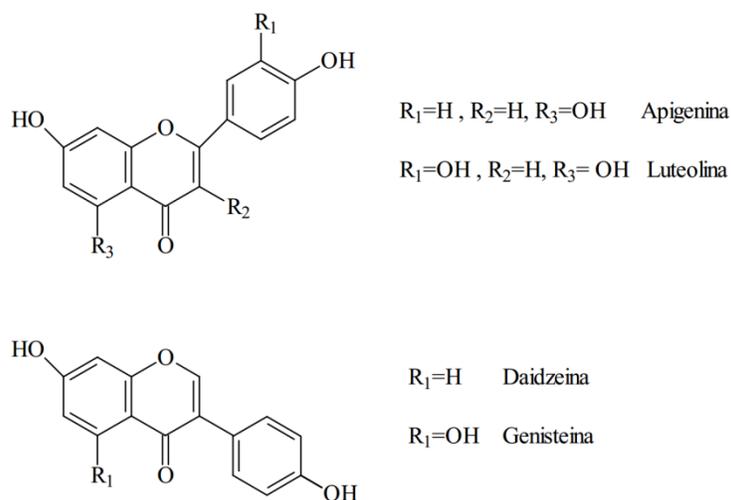


Figura N° 12. Flavonas (11)

1.1.3.9. TANINOS

En general, el término tanino se refiere a una fracción de compuestos polifenólicos especialmente astringentes, cuya característica fundamental es su alto peso molecular. Estas estructuras poseen una alta capacidad de asociación con otros polímeros biológicos esenciales como las proteínas y los hidratos de carbono. En el reino vegetal los taninos se encuentran usualmente en dos amplias modalidades metabólicas: los taninos hidrolizables y los taninos condensados. Los taninos hidrolizables son estructuras más simples constituidas por unidades de ácido gálico libre o esterificado, también conocidos como galotaninos. Los taninos condensados, comúnmente denominados proantocianidinas, son polímeros naturales compuestos de unidades de flavan-3-oles. La más común de estas estructuras son

las proantocianidinas que están basadas en (+) catequina y (-) epicatequina, que forman unidades estructurales. (20)(25)

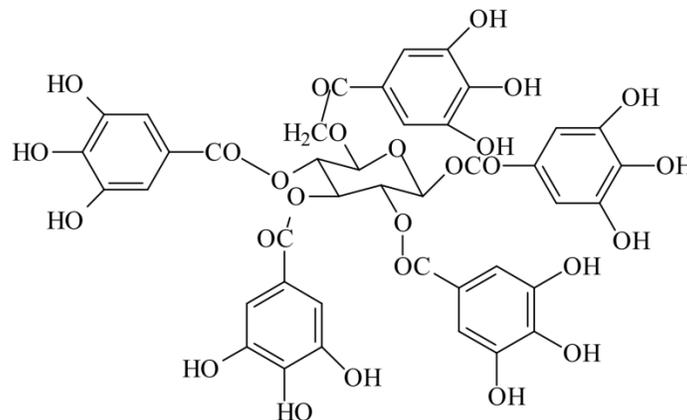


Figura N° 13. Estructura representativa de taninos hidrolizables (11)

1.1.4. FUNCION DE LOS COMPUESTOS FENOLICOS

La posible funcionalidad de los compuestos fenólicos en las plantas ha sido a lo largo de los años un tema complejo. Ya en 1917, M. Wheldale escribió un libro sobre el papel de los antocianos en las plantas. Esta investigadora había observado que los antocianos de las plantas tenían numerosos efectos protectores, tales como favorecer el camuflaje e incluso atraer insectos contribuyendo de esta manera a la polinización pero las explicaciones que demostraban una funcionalidad en una determinada planta presentaban numerosas excepciones que quedaban sin explicación en otras plantas. Actualmente una de las explicaciones más aceptadas a la síntesis de fenoles en las plantas es como respuesta al estrés. Las plantas están casi de forma continua sometidas a un estrés ambiental debido a radiaciones UV, altas temperaturas particularmente en zonas de clima mediterráneo, baja disponibilidad de agua, plagas, etc. (8)(10)(15)

Existen estudios que demuestran como las plantas sintetizan compuestos fenólicos para protegerse de los herbívoros (insectos o vertebrados) o de las radiaciones UV u otras

situaciones de estrés físico. Otro papel a parte de este es el ser atraentes de animales polinizadores y/o diseminadores de semillas, el actuar como señales químicas entre plantas y microorganismos simbióticos y el ejercer una función estructural, por el efecto de las ligninas en el soporte mecánico de las plantas. (8)(9)(12)

Pero los compuestos fenólicos no sólo son importantes para la planta, también tienen consecuencias para los animales y humanos, ya que los incorporamos a nuestro organismo con el consumo de alimentos de origen vegetal. El estudio de los compuestos fenólicos en alimentación se ha centrado en varios aspectos; por una parte, en la contribución a las propiedades organolépticas como el color y el amargor. Por otra parte, en la participación en los procesos de oxidación durante la producción y conservación. Sin embargo, la principal razón que ha hecho que el estudio de los compuestos fenólicos haya sido objeto de numerosas investigaciones en los últimos 15 años es su contribución a la mejora de la salud. (10)(12)

En los últimos años se han acumulado evidencias de que algunos compuestos fenólicos ingeridos con la dieta habitual pueden tener implicaciones sobre la salud humana, concretamente en la reducción de la incidencia de enfermedades cardiovasculares y de algunos tipos de cáncer. De hecho, desde 1990, varias organizaciones internacionales del ámbito de la nutrición, como la OMS, recomiendan un consumo diario de antioxidantes, principalmente a través de frutas y verduras, con el fin de prevenir o atenuar patologías asociadas al estrés oxidativo celular. Dentro de este grupo de antioxidantes se encontrarían carotenoides, licopenos, Vitamina C, Zinc, Selenio, etc. Además de los compuestos fenólicos. (15)(16)

1.1.5. ACTIVIDAD BIOLÓGICA DE LOS COMPUESTOS FENÓLICOS

Los polifenoles poseen acciones molusquicidas, antihelmínticas, antihepatotóxicas, antiinflamatorias, antidiarreicas, antiúlceras, antivirales, antialérgicas y vasodilatadoras. Se ha verificado que inhiben la replicación del virus de la inmunodeficiencia Humana (HIV) y

del virus simplex humano (HSV), inhiben las glucosil transferasas del *Strepto-coccus mutans* (caries dental), inhiben la autoxidación del ascorbato, también inhiben efectos citotóxicos, la promoción del crecimiento tumoral y la enzima xantina mono-amina oxidasa. La actividad antioxidante de los fenoles es el origen de funciones biológicas tales como la antimutagénica, anticancerígena y antienvjecimiento. (32)(33)

Los flavonoides, en particular, exhiben una amplia gama de efectos biológicos, incluyendo actividad antibacteriana, antiviral, antiinflamatoria, antialérgica, antioxidante, antitrombótica y vasodilatadora. Existe evidencia epidemiológica acerca de los beneficios para la salud del consumo abundante de frutas y verduras en la dieta.(401)(35)

Altas ingestas de frutas y verduras están asociadas con el mantenimiento de la salud y la prevención de enfermedades. El pensamiento vigente vincula el alto contenido de antioxidantes con la inhibición de las enfermedades provocadas por el daño oxidativo, tales como la enfermedad cardíaca, las hemiplejias y el cáncer (27)(42)

Los flavonoides y otros compuestos fenólicos actúan en forma preventiva en el desarrollo del cáncer y de la enfermedad coronaria. La ingestión de vino tinto desalcoholizado ó de una mezcla de compuestos fenólicos extraída del vino tinto mejora el status antioxidante del plasma en humanos. El consumo de dietas controladas altas en frutas y verduras incrementa significativamente la capacidad antioxidante del plasma en humanos. Estudios epidemiológicos han demostrado una asociación negativa significativa entre la ingesta de frutas y verduras y la mortalidad debida a la enfermedad cardíaca. (33)

Un aumento en la ingesta de antioxidantes fenólicos naturales se correlaciona con una reducción de las enfermedades coronarias. Dietas ricas en compuestos fenólicos se asocian con mayor expectativa de vida. Estas propiedades incluyen actividad anticáncer, antiviral, antiinflamatoria, efectos sobre la fragilidad capilar, y habilidad para inhibir la agregación de las plaquetas humanas. Estos compuestos pueden moderar la peroxidación de los lípidos involucrados en la aterogénesis, trombosis y carcinogénesis. Sus propiedades conocidas

incluyen la captura de radicales libres, fuerte actividad antioxidante, inhibición de las enzimas hidrolíticas y oxidativas (fosfolipasa A2, ciclooxigenasa, lipoxigenasa) y acción antiinflamatoria. (33)(42)

Los flavonoides provenientes de verduras y frutas consumidos en la dieta están inversamente relacionados con la mortalidad causada por la enfermedad coronaria. Los flavonoides del vino tinto han demostrado fuerte actividad de inhibición de la oxidación de las LDL; in vitro e in vivo reducen la agregación de las plaquetas y esto se asocia con la reducción de la mortalidad por enfermedad cardiovascular. La (+) catequina ha demostrado prevenir la oxidación del plasma humano e inhibir la oxidación de las LDL. Los flavonoides pueden explicar los efectos protectores de la dieta mediterránea (rica en vegetales, frutas y vino) contra las enfermedades cardiovasculares. La mayor concentración de (+) catequina en el plasma se observó en sujetos que consumieron frutas, verduras y vino. Su acción antioxidante y antiagregación de las plaquetas puede explicar parcialmente la protección relativa contra la enfermedad coronaria. (27)(35)

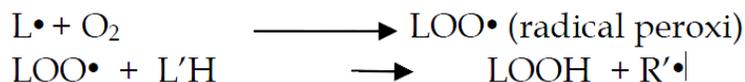
1.1.6. COMPUESTOS FENOLICOS Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Los mecanismos de acción y particularidades por los que los fenoles presentan actividad antioxidante son diversos. Cada fenol actuará por uno o más mecanismos, según sus propiedades características. La explicación química de estos mecanismos tan sólo se conoce para determinados grupos de fenoles. Algunos de los mecanismos que han sido dilucidados son los siguientes. (26)(39)

- Prevenir la iniciación de la cadena de reacciones de oxidación mediante combinación con los radicales iniciadores, tales como los radicales hidroxilos. Los ácidos y alcoholes fenolicos como el ácido cafeico o el hidroxitirosol presentan esta capacidad.

- Descomponer peróxidos al convertirlos en especies no radicales, tales como alcoholes. Los ejemplos antes mencionados podrían también incluirse en este mecanismo.
- Actuación como secuestradores de radicales libres. Cada uno de los fenoles tiene distinta especificidad por las distintas especies oxidantes que se generan en el organismo.
- De forma indirecta, actuación como agentes quelantes de iones de metales de transición, ya que al unirse a ellos reducen la capacidad de éstos para generar radicales libres, mediante reacciones de Fenton. Se han encontrado flavonoides con este tipo de actividad.
- Por su solubilidad pueden localizarse sobre las superficies de estructuras celulares, biomoléculas, etc., disminuyendo el consumo de antioxidantes propios de éstas, como pueden ser la vitamina E o los carotenoides, e incluso en algunos casos regenerando estos antioxidantes, una vez oxidados.
- Por su capacidad de inducir, inhibir, activar o proteger determinadas enzimas en el organismo. En este sentido, los distintos fenoles muestran alta especificidad, por ejemplo el hidroxitirosol, la oleuropeina, la luteolina y la apigenina inhiben la formación inductores de la agregación plaquetaria mediante la reducción del enzima 5-lipooxigenasa y la araquidonatodeshidrogenasa.

A pesar de las dificultades, los mecanismos de protección antioxidante de algunas familias de compuestos fenólicos están bien caracterizados, como es el caso de los ácidos fenólicos y numerosos flavonoides. El mecanismo más conocido es el secuestro de radicales libres en los procesos de protección frente a la oxidación lipídica. Los lípidos pueden sufrir un proceso hemolítico por acción del calor, radiaciones ionizantes o iones metálicos, entre otros, con formación de una especie radicalaria que en presencia de oxígeno forma radicales peroxi (**LOO•**), iniciándose una reacción en cadena con la formación de peróxidos y nuevos radicales peroxi por ataque del radical formado, a nuevas moléculas.(43)(27)



El papel del antioxidante de naturaleza fenólica (ArOH) es detener la cadena de oxidación al reaccionar con el radical peroxi formado. El mecanismo consta de las siguientes etapas:

- a) El radical peroxi (**LOO•**) se une al átomo de hidrógeno del antioxidante (**ArOH**), produciéndose un radical aroxil (**ArO•**) y un hidroperóxido.



- b) El radical aroxil reacciona con el peróxido mediante un acoplamiento entre radicales, formándose un producto no reactivo.



Pero debemos tener en cuenta, que el radical aroxil formado con la oxidación del antioxidante también puede reaccionar en algunos casos contribuyendo a la producción de nuevos radicales libres.



No obstante, también podría producirse una finalización de la reacción al reaccionar dos radicales aroxil, con lo que se rompería la cadena de la oxidación.



La influencia de la estructura química del compuesto fenólico ejerce una notable influencia en su actividad como antioxidante. Así, el impedimento estérico de algunos ácidos fenólicos, como el ácido cafeico, hace que se produzcan más frecuentemente las reacciones que dan productos no reactivos frente a las reacciones que dan radicales libres, por lo que globalmente se observa una inhibición de la oxidación lipídica. En general, los o-difenoles, como son el ácido cafeico, el hidroxitirosol y la oleuropeína, presentan una elevada capacidad antioxidante si los comparamos con ácidos fenólicos con menor impedimento estérico como es el tirosol, debido a la presencia de dos grupos hidroxilo en posición orto, también llamado grupo catecólico. La actividad antioxidante de los ácidos fenólicos con grupos OH y presencia de grupos carbonilos no unidos directamente al anillo bencénico, denominados ácidos de la serie cinámica, como son el ácido cafeico, el ácido ferúlico, el ácido sinápico y el ácido p-cumárico, son más activos que los derivados hidroxilo del ácido benzoico, como el p-hidroxibenzoico, ácido vainílico, ácido siríngico y ácido 3,4-dihidroxibenzoico. Lo ideal, además, es que el radical libre antioxidante resultante, no inicie nuevos radicales libres, ni sea susceptible de una oxidación rápida por una reacción en cadena. En este sentido los antioxidantes fenólicos ocupan una posición privilegiada. Son excelentes donadores de hidrógeno o electrones y sus intermedios radicalarios son relativamente estables, debido a la deslocalización por resonancia del electrón desapareado dentro del anillo aromático y a la carencia de posiciones adecuadas para el ataque por el oxígeno molecular. (43)(27)

También hay numerosas publicaciones acerca del mecanismo de actuación de flavonoides en los procesos oxidativos. Los flavonoides están formados por 3 anillos (A, B y C) (**Figura 13**), cada uno de los cuales presenta distintos grados de hidroxilación y metilación y pueden aparecer como glucósidos o como agliconas. Además de comportarse como donadores de hidrógeno también actúan como agentes quelantes de iones metálicos iniciadores de la formación de radicales lipídicos. (26)(32)(39)

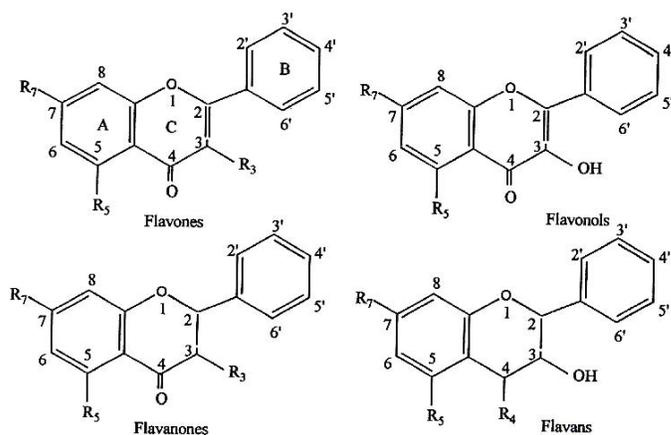


Figura N° 14. Estructuras básicas dentro de la familia de flavonoides.

En el primer caso, la capacidad antioxidante de los flavonoides con sustituciones polihidroxiladas se ve afectada por la localización de la sustitución hidroxilo en el anillo B. Esta sustitución en posición 4' induce una menor actividad, pero si va acompañada con un grupo hidroxilo adicional en posición 3' ó 5', se observa una mejora importante. Un ejemplo es la mayor actividad antioxidante mostrada por la luteolina (4',5'-dihidroxi) frente a la de la apigenina (4'-hidroxi). (37)(42)

También el doble enlace en la posición 2 y 3 del anillo C (**Figura I 3**) de los flavonoles contribuye positivamente en mejorar la donación del hidrógeno. Por otro lado, se ha observado que la estructuras agliconas son más efectivas que sus correspondientes glicósidos, posiblemente debido a la falta de sustituciones 3-hidroxi libres en el anillo C (**Figura I 3**). La capacidad para combinarse con metales también inhibe los procesos de degradación oxidativa. Esta acción se ve favorecida cuando el flavonoide tiene a) un grupo hidroxilo múltiple, siendo el 3',4'-dihidroxi, la configuración con más actividad, b) un grupo 4-carboxi y un grupo 3-hidroxi libre en contraposición a un 5-hidroxi y c) doble enlace C2=C3, un grupo OH en 3 y un grupo carboxi en C4. En la **figura I 4** se ha representado los mecanismos de quelación de los flavonoides. (26)(30)

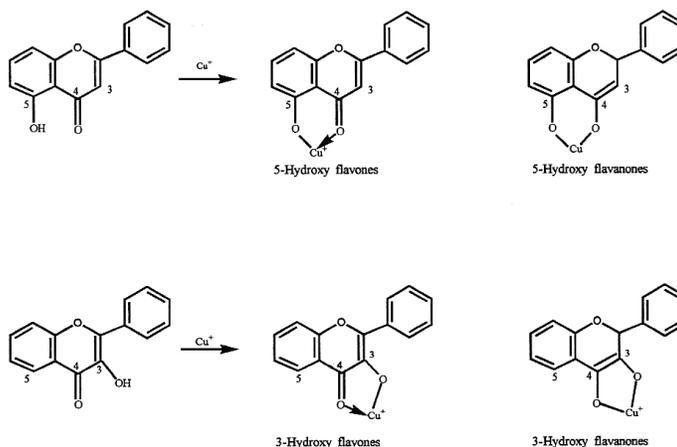


Figura N° 15. Mecanismo de quelación de metales desarrollado por flavonas y flavanonas propuesto por Hudson y Lewis [(Hudson y col., 1983)

1.2. FAMILIA SOLANACEAE

1.2.1. GENERALIDADES

La familia *Solanaceae* se localiza geográficamente de manera preponderante en el trópico y se le encuentra también en las regiones templadas. Hay alrededor de 40 géneros y más de 2000 especies, de las que 1700 se encuentran en un solo género, *Solanum*. (2)(5)(41)

A esta familia pertenecen los tomates, las papas, el tabaco, la berenjena, los pimientos, petunias y la salpiglosis. Aunque la familia tiene una amplia distribución, la mayoría de las formas cultivadas se semidomesticaron en el hemisferio occidental. (2)

En esta familia se encuentran incluidas muchas plantas tóxicas y narcóticas, como la *Atropa belladonna*, el toloache. Incluso plantas tan comunes como el tomate se consideraron durante mucho tiempo como venenosas, como lo indica el nombre científico *Lycopersicon*, que significa “durazno de los lobos”. Hay muchas hierbas erectas y trepadoras en la familia, así como arbustos y pequeños árboles (3)(11)

La familia también incluye plantas nocivas como el tabaco (*Nicotiana tabacum.*), el toloache (*Datura innoxia.*), la mandrágora (*Mandragora.*), el beleño (*Hyoscyamus niger.*) y la belladona (*Belladonna.*); algunas plantas de ornato como la petunia (*Petunia.*), y varias plantas con altas cantidades de alcaloides que sirven para la fabricación de fármacos como la cortisona, los esteroides y las pastillas anticonceptivas. (3)(11)

Por diversas que nos puedan parecer estas plantas entre sí, todas pertenecen a la misma familia. No hay un carácter en especial que identifica a la familia, más bien son una combinación de caracteres lo que determina si una especie forma parte del grupo o no. Generalmente, la flor es el carácter más confiable para identificar miembros de la familia, además, es el atributo más difícil de modificar por la mano del hombre. En el caso de las *Solanaceae*, la flor presenta una corola de cinco pétalos unidos en tonos de blanco, rosa, amarillentos o morados, según la especie examinada. (3)(4)(25)

El nombre de esta familia de plantas proviene del latín *solamen*, que quiere decir confortar o calmar y se refiere a las propiedades sedativas de algunas de las especies. Una de las características de esta familia de plantas es la presencia de alcaloides que pueden estar presentes en el follaje y en el fruto en estado inmaduro. Estos compuestos pueden ser tóxicos para el hombre y los animales, causando envenenamientos y hasta la muerte de individuos que las hayan ingerido (Raddick, 1986). El botánico americano Charles Heiser solía decir que las *Solanaceae* eran plantas tranquilizantes en extremo, ya que en ocasiones producían efectos mortales. (4)(17)(22)

Algunos botánicos, especialistas en esta familia, opinan que todos los miembros se desarrollaron de un ancestro común en el pasado remoto, probablemente en América del Sur (Heiser, 1969; Hunziker, 1979). El centro de origen de un grupo de plantas generalmente coincide con la zona de más diversidad genética de la especie silvestre. Aunque hoy en día los botánicos cuentan con métodos más sofisticados para determinar el centro de origen de una especie, la vieja teoría del botánico ruso, N. I. Vavilov, sobre la

relación entre el centro de origen de una planta y su mayor diversidad genética, sigue en uso en la literatura noespecializada. (3)(25)(33)

No obstante su origen americano, algunas especies de la familia llegaron a Europa y Asia antes del contacto entre los dos mundos a fines del siglo XV. Especialistas en la distribución geográfica de plantas explican esta distribución, proponiendo una dispersión de algunas especies de la familia antes de la separación del mundo en los continentes y océanos, como la conocemos hoy en día. (4)(17)(23)

- Porte: la mayoría de ellas son leñosas o hierbas anuales o perennes, erectas o trepadoras.
- Hojas: simples, raro compuestas, alternas y espiraladas o subopuestas en la parte superior, sin estípulas, margen entero, lobulado o dividido.
- Flores: perfectas, actinomorfas o ligeramente zigomorfas, están dispuestas en racimos o pueden ser solitarias.
- Perianto: cáliz, 4-6 sépalos libres o connados formando un tubo, el cual en algunas especies crece durante la madurez del fruto.). Corola, 4-6 pétalos soldados, que puede presentar diversas formas (rotáceas, acampanadas o tubulares).
- Androceo: estambres 5 (4-6) inclusos o exsertos, con anteras de dehiscencia longitudinal o poricida.
- Gineceo: ovario súpero, 2 carpelos orientados oblicuamente hacia el plano medio de la flor, 1-2 lóculos, raro más, óvulos axilares, con un solo estilo, presenta disco nectarífero basal, estigma generalmente bilobulado.
- Fruto cápsula o drupa o baya.
- Semillas: con abundante endosperma.

1.2.2. QUÍMICA DE SOLANÁCEAS

Químicamente, las solanáceas han sido ampliamente estudiadas, principalmente durante la década de los 60. Durante este tiempo se descubrieron varias moléculas novedosas como esteroides, saponinas, glicósidos y alcaloides en raíces, tallos y hojas. De todas las moléculas antes mencionadas, son los alcaloides a quienes se ha dado una importancia especial ya que éstos han mostrado presentar la mayor actividad en todos los casos. (16)(27)

Se destacan la solanidina, la solasodina es precursor de acetato de 16-dehidropregnenolona que es una molécula anti-fertilidad y antiinflamatorio, solasodieno, solaverinas, solasonina, solaverol, solafloridina, tomatidina, solaverbascina y b-solamarina, sólo por mencionar los alcaloides más importantes. Otro componente químico importante antes mencionado son las saponinas las cuales se sugiere presentan actividad contra artrópodos debido a que pueden afectar las cutículas cerosas de éstos. (19)(34)

Los flavonoides son otro grupo de moléculas que han sido aisladas del género *Solanum*, aquí podemos hablar de los glicósidos de flavonol, de dihidroflavonoles y anthocianinas, las cuales aportan la coloración púrpura a flores y frutos. (19)(34)

1.3. PUNGAL (*Solanum crinitipes*).



Figura N° 16. PUNGAL (*Solanum crinitipes*).
FUENTE: Tomado de <http://www.biovirtual.unal.edu.co> (1)

1.3.1. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA

Tipo	Espermatophita
Clase	Angiosperma
Subclase	Dicotiledonea
Familia	<i>Solanaceae</i>
Subgénero	<i>Solanum</i>
Serie	<i>Crinitipes</i>
Nombre Botánico	<i>Solanum crinitipes</i>
Nombre Común	Pungal

1.3.2. CARACTERÍSTICAS BOTÁNICAS

1.3.2.1. HOJAS

Limbo: oblongo, 15 a 18 cm. de largo y 8 a 10 cm. de ancho, aterciopelado, en el haz con delgadas espinas (10 a 15 mm de largo), sobre el nervio central, el haz verde claro, el envés algo más claras. (1)(14)

Borde: Ondeadado

Color: El haz verde claro el envés algo más claro

Pecíolo: 4 a 5 cm. de largo.

Inserción: Alterna

Nervadura: Pinnatinervia, bien acentuada en el envés de la hoja.

1.3.2.2. FLORES

Inflorescencia: panícula.

Corola: pentámera, de 5 pétalos soldados, color violeta, acampanada cuando joven, estambres cortos y blancos casi invisibles, anteras de color amarillo-intenso, 5 a 6 mm de largo, el pistilo sobresale unos 2 mm (12)(36)

Cáliz: gamosépalo tripartido y multipartido, afelpado verde con tonos de violeta.

1.3.2.3. FRUTOS

Una baya verde que al madurar se ennegrece, contiene numerosas semillas y un jugo, característicamente pegajoso.

1.3.3. REQUERIMIENTOS EDAFOCLIMÁTICOS

1.3.3.1. CLIMA

La temperatura óptima para que crezca con normalidad esta planta está comprendida entre 14 a 23 °C y es decir que a temperaturas menores de 6 °C se mantiene bien es decir en perfectas condiciones de vida ya que es resistente a las bajas temperaturas tolera vientos fuertes, ya que no le produce daños también es resistente a enfermedades. (1)(2)

1.3.3.2. SUELO

La planta de pungal puesto que es una planta nativa se adapta muy bien a todo tipo de suelo hasta el día de hoy no ha sido investigado en qué tipo de suelo se desarrolla mejor. (2)

1.3.4. CARACTERÍSTICAS VEGETATIVAS Y LUGARES DE CRECIMIENTO

El Pungal es un arbusto autóctono de la región andina. Se lo encuentra hasta una altitud de 3000 m (valle del Río Ambato) y 3.200 m.s.n.m. (Camino hacia la laguna de San Marcos, al norte de Cayambe). Su tamaño alcanza una altura de 3 a 4 m., lo cual corresponde a la calidad de suelo, humedad y temperatura. Se presenta con abundante follaje y una ramificación que casi comienza desde el suelo. Tallos y ramas tienen pequeñas espinas de un color dorado. Crece bien en lugares con suelo suelto, arenoso o pedregoso. Se adapta a todo tipo de suelo. (1)

En la provincia de Bolívar se encuentra en las zonas de transición entre la sierra y el subtrópico especialmente en los filos de las carreteras y son intervenidos por el hombre y se encuentra en forma silvestre. (14)(16)

1.3.5. USOS

El Pungal es útil para la formación de biomasa en actividades de revegetalización de suelos degradados. Sirve para la formación de cercos vivos. (3)

Por su fácil regeneración natural, puede convertirse en una planta invasora, si no se aplica el manejo necesario. (3)

Los troncos gruesos se utilizan para leña. (3)

El pungal además puede ser usado como porta injerto de tomate de árbol puesto que pertenece a la misma familia que es la *solanaceae* en las cuales ayuda a poder utilizar menos pesticidas puesto que tiene una gran resistencia a nematodos y hongos causantes de diferentes enfermedades del cultivo del tomate de árbol. (3)

CAPÍTULO II

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. LUGAR DE LA INVESTIGACIÓN

La presente investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Fitoquímica de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Escuela de Bioquímica y Farmacia.

2.2. MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

2.2.1. MATERIAL VEGETAL

Como materia prima se utilizó 1 kg de frutos secos y triturados de pungal (*Solanum crinitipes*). La materia prima fue adquirida en el mes de julio, en la provincia de Bolívar, cantón de San Miguel.

2.2.2. MATERIALES DE LABORATORIO

- Probeta
- Tubos de ensayo
- Vasos de precipitación
- Balones aforados
- Cápsulas de porcelana
- Crisoles
- Embudo simple
- Embudo Buchner
- Embudo de separación
- Reverbero eléctrico
- Pinza para tubo
- Pinza para cápsula

- Equipo de reflujo
- Matracas Erlenmeyer
- Pipetas
- Espátula
- Gradilla
- Varilla de agitación
- Trípode
- Papel filtro

2.2.3. EQUIPOS

- Balanza Analítica
- Cámara UV
- Centrifuga
- Estufa
- Mufla
- Baño maría
- pH – metro
- Espectrofotómetro UV - Visible

2.2.4. REACTIVOS

- Agua destilada
- Etanol
- Cloroformo
- Éter etílico
- Metano
- Reactivo de Dragendorff
- Reactivo de Mayer
- Reactivo de Wagner
- Reactivo de Fehling
- Reactivo de folin-ciocalteu
- Tricloruro férrico 5%
- Alcohol amílico
- Acetato de etilo
- Anhídrido acético
- Acido gálico
- Ácido fórmico
- Acetona
- Ácido sulfúrico
- Ácido clorhídrico al 1%
- Cloruro de sodio
- Carbonato de sodio
- Magnesio metálico
- Hidróxido de sodio
- Peróxido de hidrógeno
- Quercetina
- Reactivo sudan III

2.3. TÉCNICAS Y MÉTODOS

2.3.1. CONTROL DE CALIDAD DE LA DROGA CRUDA

Para realizar el control de calidad de frutos secos y triturados de pungal (*Solanum crinitipes*). La materia prima fue adquirida en la provincia de Bolívar, cantón de San Miguel se consideró parámetros de organismos encargados para asegurar la calidad de productos fitofarmacéuticos en el que se incluyen las siguientes determinaciones

2.3.1.1. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE HUMEDAD

Se basa en la determinación gravimétrica de la pérdida en masa que muestre una droga después de ser desecada en la estufa. Para una buena conservación debe ser inferior al 10%, para evitar procesos enzimáticos, y para expresar la valoración de los principios activos referidos a materia seca. (35)(36)

MÉTODO GRAVIMÉTRICO

Se pesó 2 g. \pm 0.5 mg de droga cruda y se transfirieron a un pesa filtro previamente tarado y se secó a 100°C durante 3 horas. El pesa filtro se puso en un desecador donde se dejó enfriar hasta temperatura ambiente y se pesó; colocándose nuevamente en la estufa durante 1 hora y se repitió el procedimiento hasta obtener masa constante. (33)

Cálculos:

$$\%H = \frac{M_2 - M_1}{M_2 - M} * 100$$

Donde:

%H = Porcentaje de Humedad

M₂= masa de la cápsula con la muestra de ensayo (g)

M₁= masa de la cápsula con la muestra de ensayo desecada (g)

M = masa de la cápsula vacía

100 = factor matemático (33)

2.3.1.2. DETERMINACIÓN DE CENIZAS

Representan el contenido en sales minerales o en materia inorgánica de la droga. Las cenizas dan una idea del contenido en materia mineral de la planta, que suele ser alrededor del 5%. Su determinación es importante porque la materia mineral puede ser responsable de alguna acción farmacológica. (36)

2.3.1.2.1. DETERMINACIÓN DE CENIZAS TOTALES

Se denominan cenizas totales al residuo inorgánico que se obtiene al incinerar una droga, fundamentalmente en su determinación gravimétrica. (35)

Se determina la masa de no menos de 2.0g ni más de 3.0g de la porción de ensayo pulverizada y tamizada con una desviación permisible de 0.5mg en un crisol de porcelana previamente tarado. Se calienta carboniza la porción de ensayo y posteriormente se incinera en un horno mufla a una temperatura de 700 a 750 °C, durante 2 horas. Se enfría el crisol en una desecadora y se pesa, repitiéndose el proceso hasta obtener masa constante. Si el residuo presenta trazas de carbón, se le añaden unas gotas de solución de peróxido de hidrógeno concentrado, ácido nítrico o solución de nitrato de amonio al 10% m/v y se calienta hasta evaporar los solventes. Al enfriar el crisol el residuo es de color blanco o casi blanco. (33)

Cálculos:

$$\%Ct = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} * 100$$

Dónde:

C_t : porcentaje de cenizas totales en base hidratada

M = masa crisol vacío (g)

M_1 = masa del crisol con la porción del ensayo (g)

M_2 = masa del crisol con la ceniza (g) (33)

2.3.1.2.2. DETERMINACIÓN DE CENIZAS SOLUBLES EN AGUA

A las cenizas totales obtenidas según el apartado anterior, se le añadieron de 15 a 20 mL de agua. El crisol se tapó y se calentó suavemente a la llama del mechero durante 5 min. La solución se filtró a través del papel de filtro libre de cenizas. El filtro con el residuo se transfiere al crisol inicial, se carbonizó en un mechero y luego se incineró en un horno mufla de 700 °C – 750 °C, durante 2 horas. Posteriormente se coloca en una desecadora y cuando alcance la temperatura ambiente se pesa. Se repitió el procedimiento hasta alcanzar peso constante. (35)

Cálculos:

$$\%Ca = \frac{M_2 - M_a}{M_1 - M} * 100$$

Donde:

$\% Ca$ = porcentaje de cenizas solubles en agua en base hidratada

M_2 = masa del crisol con las cenizas totales (g)

M_a = masa del crisol con las cenizas insolubles en agua (g)

M_1 = masa del crisol con la muestra de ensayo (g)

M = masa del crisol vacío (g) (33)

2.3.1.2.3. DETERMINACIÓN DE CENIZAS INSOLUBLES EN ÁCIDO CLORHÍDRICO

A las cenizas totales obtenidas se le añaden de 2 a 3 mL de ácido clorhídrico al 10%. La cápsula se tapa con un vidrio reloj y se calienta sobre un baño de agua hirviente durante 10min. Se lava el vidrio reloj con 5mL de agua caliente y se une al contenido de la cápsula. La solución se filtra a través de un papel filtro; se lava el residuo con agua caliente hasta que el filtrado acidulado con ácido nítrico al cual se le añade una o dos gotas de solución de nitrato de plata 0.1M. El filtrado con el residuo se deseca de 100 a 150°C., se transfiere a la cápsula inicial y se incinera en la mufla de 700-750°C., durante dos horas. Posteriormente se coloca en una desecadora y cuando alcance la temperatura ambiente se pesa. Se repite el procedimiento hasta obtener peso constante. (36)

Cálculos

$$\%C_i = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} * 100$$

Donde:

$\%C_i$ = porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico en base hidratada

M= masa del crisol con la porción de ensayo (g)

M_2 = masa del crisol con la ceniza (g)

M_1 = masa del crisol vacío (g) (33)

2.3.2. ELABORACIÓN DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO A PARTIR DE FRUTOS SECOS Y TRITURADOS DE PUNGAL (*Solanum crinitipes*)”.

El proceso utilizado para la obtención del extracto fue por medio de maceración. En un recipiente amplio de color ámbar, se colocaron frutos secos y triturados de pungal (*Solanum crinitipes*)” junto con alcohol al 40% con el fin de humectar, luego se volvió a añadir el alcohol, en una proporción adecuada para obtener una tintura en relación al 50% del peso

de la droga seca. Se dejó en maceración durante 8 días agitando continuamente los días de reposo, pasado este tiempo se filtró, exprimiendo el residuo y el filtrado se recogió en un frasco color ámbar.

2.3.3. CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO

2.3.3.1. DETERMINACIÓN DE REQUISITOS ORGANOLÉPTICOS DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO

- **Olor:** Se toma una tira de papel secante de aproximadamente 1 cm de ancho por 10 cm de largo y se introduce un extremo en la muestra de ensayo. Se huele y se determina si corresponde con la característica del producto. (33)
- **Color:** Se toma un tubo de ensayo limpio y seco y se llena las tres cuartas partes con la muestra de ensayo y se observa el color, transparencia, presencia de partículas y la separación en capas. (33)
- **Sabor:** Característico a las plantas y al solvente. (35)
- **Aspecto:** Se determina observando contra luz la presencia de partículas y/o turbidez en el tubo de ensayo donde se encuentra la muestra. (35)

2.3.3.2. DETERMINACIÓN DEL pH

La acidez o la alcalinidad de las soluciones acuosas se caracterizan por el valor del índice de hidrógeno, pH. El pH es por tanto un índice numérico que se utiliza para expresar la mayor o menor acidez de una solución en función de los iones hidrógenos. Para realizar la determinación se toma una alícuota de 25 mL, de la muestra y procedemos a medir directamente en el equipo de pH previamente calibrado. (33) (36)

2.3.3.3. DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE REFRACCIÓN

Los refractómetros utilizan como principio de medición, la determinación del ángulo límite el cual presenta en el campo visual un contraste claro y otro oscuro. La línea de separación entre ambos campos establece el ángulo límite de la luz incidente. (33)

- En un refractómetro de Abbe, se realiza la medición calibrando el equipo con agua destilada.
- Se levanta la tapa del refractómetro y se limpia con papel filtro.
- Colocar una o dos gotas de la muestra a analizar (extracto)
- Anotar los resultados

Expresión de los resultados:

Se hacen tres lecturas y se calcula el promedio de las mismas. Dos o más lecturas no deben diferir en más de 0.002. Si las determinaciones no se efectúan a la temperatura de referencia se emplea la fórmula siguiente:

$$n_d^{25} = n_d^t + 0.00044 (T - 25)$$

Donde:

n_d^{25} = Índice de refracción a 25°C

n_d^t = Valor leído en la escala del aparato a temperatura

0.00044 y 25 = Factor de corrección matemática

T= temperatura a la que se realiza la lectura (35)

2.3.3.4. DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD RELATIVA

Se entiende por densidad relativa a la relación entre masa de un volumen de la sustancia a ensayar a 25 °C y la masa de un volumen igual de agua a la misma temperatura. Este término equivale a peso específico. Para realizar la determinación, se debe pesar el

picnómetro vacío y seco a 2 °C y llenar con la porción de ensayo, mantener a la temperatura de 25 °C ($\pm 1^\circ\text{C}$) durante 15 min y ajustar el líquido al nivel empleado, si es preciso, una tira de papel para extraer el exceso secar exteriormente el picnómetro. Se pesa cuidadosamente el picnómetro con la porción de ensayo y se repite la operación con el agua destilada a 25 °C, después de limpiar el picnómetro. (33)

Expresión del resultado:

La densidad relativa a 25 °C se calcula por la siguiente fórmula:

$$D_{25} = \frac{M_1 - M}{M_2 - M}$$

Donde:

M_1 = peso del picnómetro con la muestra (g)

M_2 = peso del picnómetro con el agua (g)

M = peso del picnómetro vacío (g) (35)

2.3.3.5. DETERMINACIÓN DE SÓLIDOS TOTALES

Transferir a una cápsula previamente tarada, 5 mL de muestra y llevar a baño María, completar la evaporación en estufa a 105 °C., por 3 horas, pesar las cápsulas, y repetir el procedimiento hasta peso constante con intervalos de 30 minutos. Los resultados se expresan en porcentaje de sólidos totales y se reportan en cifras enteras, según su fórmula. (36)

$$St = \frac{Pr - P}{V} * 100$$

Cálculo:

St = sólidos totales

Pr = masa en g. de la capsula más el residuo

P = masa en g.de la cápsula vacía

V = volumen de la porción del ensayo en mL

100= factor matemático

2.3.4. TAMIZAJE FITOQUÍMICO

El tamizaje fitoquímico constituye una de las etapas que nos ayuda a determinar cualitativamente los principales grupos de constituyentes químicos presentes en las plantas. (34)

La planta fresca, seca o el residuo de una extracción; es sometida a una extracción sucesiva según el esquema de la Figura N° 16, al extracto se le mide el volumen obtenido y se le calcula su concentración, esto es, gramos de sustancias extraídas por ml de extracto. (33)

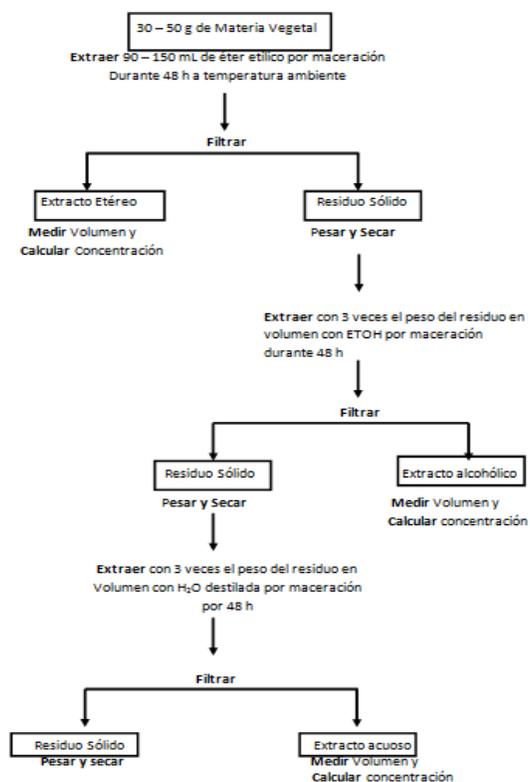
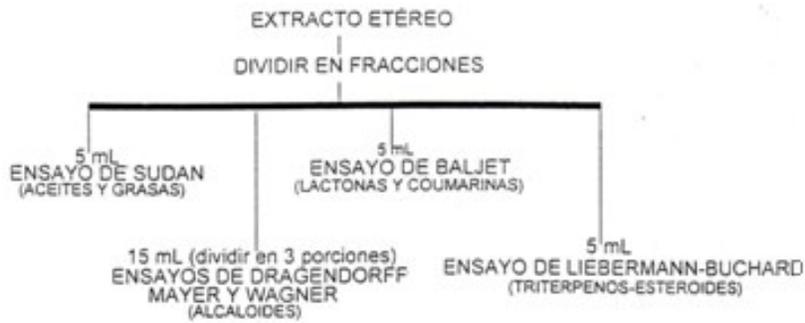
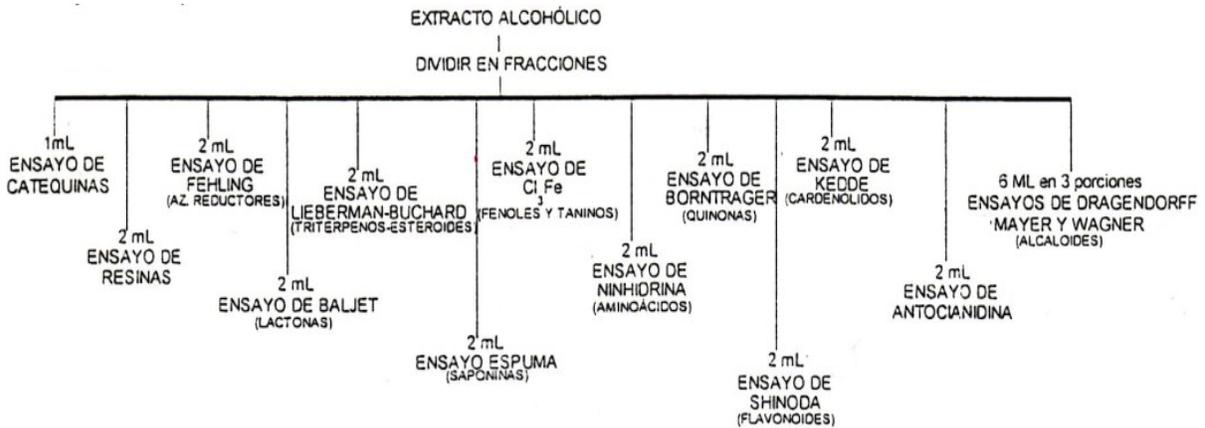


FIGURA N° 16. Tamizaje Fitoquímico (30)



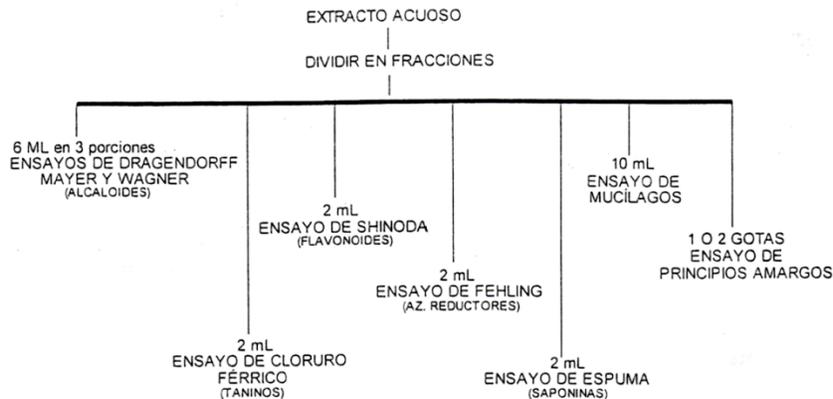
FUENTE: NORMAS RAMALES. DROGAS CRUDAS Y EXTRACTOS Y TINTURAS. NRSP 309, 311 Y 312. MINSAP 1992.

FIGURA N° 17. Esquema de las reacciones a realizar en el extracto de éter etílico



FUENTE: NORMAS RAMALES. DROGAS CRUDAS Y EXTRACTOS Y TINTURAS. NRSP 309, 311 Y 312. MINSAP 1992.

FIGURA N° 18. Esquema de las reacciones a realizar en el extracto alcohólico



FUENTE: NORMAS RAMALES. DROGAS CRUDAS Y EXTRACTOS Y TINTURAS. NRSP 309, 311 Y 312. MINSAP 1992.

FIGURA N° 19. Esquema de las reacciones a realizar en el extracto acuoso

2.3.4.1. Ensayo de Dragendorff

Permite reconocer en un extracto la presencia de alcaloides, para ello, si la alícuota del extracto está disuelta en un solvente orgánico, este debe evaporarse en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 mL de ácido clorhídrico al 1 % en agua. Si el extracto es acuoso, a la alícuota se le añade 1 gota de ácido clorhídrico concentrado, (calentar suavemente y dejar enfriar hasta acidez). Con la solución acuosa ácida se realiza el ensayo, añadiendo 3gotas del reactivo de Dragendorff, si hay opalescencia se considera (+), turbidez definida (++) , precipitado (+++). (33)

2.3.4.2. Ensayo de Mayer

Proceda de la forma descrita anteriormente, hasta obtener la solución ácida. Añada una pizca de cloruro de sodio en polvo, agite y filtre. Añada 2 ó 3 gotas de la solución reactiva de Mayer, los resultados se clasifican de la misma forma. (33)

2.3.4.3. Ensayo de Wagner

Se parte al igual que en los casos anteriores de la solución ácida, añadiendo 2 ó 3 gotas del reactivo, clasificando los resultados de la misma forma. (33)

2.3.4.4. Ensayo de Liebermann-Burchard

Permite reconocer en un extracto la presencia de triterpenos y/o esteroides. Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en cloroformo, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 mL de cloroformo. Se adiciona 1 mL de anhídrido acético y se mezcla bien. Por la pared del tubo de ensayos se dejan resbalar 2-3 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar. (33)

Un ensayo positivo se tiene por un cambio rápido de coloración:

1. Rosado-azul muy rápido.
2. Verde intenso-visible aunque rápido.
3. Verde oscuro-negro-final de la reacción.

A veces el ensayo queda en dos fases o desarrollo de color. Muy pocas veces puede observarse el primer cambio. El tercer cambio generalmente ocurre cuando el material evaluado tiene cantidades importantes de estos compuestos. (33)

Para realizar este ensayo no puede haber agua en el medio de reacción pues ésta con el ácido sulfúrico reacciona de forma violenta y puede ocurrir un accidente.

2.3.4.5. Ensayo de Sudán

Permite reconocer en un extracto la presencia de compuestos grasos, para ello, a la alícuota de la fracción en el solvente de extracción, se le añade 1 mL de una solución diluida en agua del colorante Sudan III o Sudan IV. Se calienta en baño de agua hasta evaporación del solvente. La presencia de compuestos grasos se considera positiva si aparecen gotas o una película coloreada de rojo en el seno del líquido o en las paredes del tubo de ensayos respectivamente. (35)

2.3.4.6. Ensayo de Baljet

Permite reconocer en un extracto la presencia de compuestos con agrupamiento lactónico, en particular Coumarinas, aunque otros compuestos lactónicos pueden dar positivo al ensayo. Para ello, si la alícuota del extracto se encuentra en alcohol, debe evaporarse el solvente en baño de agua y redisolverse en la menor cantidad de alcohol (1 mL). En estas condiciones se adiciona 1mL de reactivo, considerándose un ensayo positivo la aparición de una coloración o precipitado rojo (++ y +++) respectivamente. (35)

2.3.4.7. Ensayo de Borntrager

Permite reconocer en un extracto la presencia de quinonas. Para ello si la alícuota del extracto no se encuentra en cloroformo, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1 mL de cloroformo. Se adiciona 1 mL de hidróxido de sodio, hidróxido de potasio ó amonio al 5 % en agua. Se agita mezclando las fases y se deja en reposo hasta su ulterior separación. Si la fase acuosa alcalina (superior) se colorea de rosado o rojo, el ensayo se considera positivo. Coloración rosada (++) , coloración roja (+++). (35)

2.3.4.8. Ensayo de resinas

Para detectar este tipo de compuesto, se adiciona 2 mL de la solución alcohólica, 10 mL de agua destilada. La aparición de un precipitado, indica un ensayo positivo. (35)

2.3.4.9. Ensayo del cloruro férrico

Permite reconocer la presencia de compuestos fenólicos y/o taninos en un extracto vegetal. Si el extracto de la planta se realiza con alcohol, el ensayo determina tanto fenoles como taninos. A una alícuota del extracto alcohólico se le adicionan 3 gotas de una solución de tricloruro férrico al 5 % en solución salina fisiológica (cloruro de sodio al 0.9 % en agua). Si el extracto es acuoso, el ensayo determina fundamentalmente taninos. A una alícuota del extracto se añade acetato de sodio para neutralizar y tres gotas de una solución de tricloruro férrico al 5 % en solución salina fisiológica, un ensayo positivo puede dar la siguiente información general:

1. Desarrollo de una coloración rojo-vino, compuestos fenólicos en general.
2. Desarrollo de una coloración verde intensa, taninos del tipo pirocatecólicos.
3. Desarrollo de una coloración azul, taninos del tipo pirogalotánicos. (33)

2.3.4.10. Ensayo de catequinas

Para ello, tome de la solución alcohólica obtenida una gota, con la ayuda de un capilar y aplique la solución sobre papel de filtro. Sobre la mancha aplique solución de carbonato de sodio. La aparición de una mancha verde carmelita a la luz UV, indica un ensayo positivo. (35)

2.3.4.11. Ensayo de antocianidinas

Permite reconocer en los extractos vegetales la presencia de estas estructuras de secuencia C6-C3-C6 del grupo de los flavonoides. Se calientan 2 mL del extracto etanólico 10 min. con 1 mL de HCL conc. Se deja enfriar y se adiciona 1 mL de agua y 2 mL de alcohol amílico. Se agita y se deja separar las dos fases. La aparición de color rojo a marrón en la fase amílica, es indicativa de un ensayo positivo. (33)

2.3.4.12. Ensayo de la espuma

Permite reconocer en un extracto la presencia de saponinas, tanto del tipo esterooidal como triterpénica. De modo que si la alícuota se encuentra en alcohol, se diluye con 5 veces su volumen en agua y se agita la mezcla fuertemente durante 5-10 minutos. El ensayo se considera positivo si aparece espuma en la superficie del líquido de más de 2 mm de altura y persistente por más de 2 minutos. (35)

2.3.4.13. Ensayo de Shinoda

Permite reconocer la presencia de flavonoides en un extracto de un vegetal. Si la alícuota del extracto se encuentra en alcohol, se diluye con 1 mL de ácido clorhídrico concentrado y un pedacito de cinta de magnesio metálico. Después de la reacción se espera 5 minutos, se añade 1 mL de alcohol amílico, se mezclan las fases y se deja reposar hasta que se separen. Si la alícuota del extracto se encuentra en agua, se procede de igual forma, a partir de la

adición del ácido clorhídrico concentrado. El ensayo se considera positivo, cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, carmelita o rojo; intenso en todos los casos. (35)

2.3.4.14. Ensayo de Fehling

Permite reconocer en un extracto la presencia de azúcares reductores. Para ello, si la alícuota del extracto no se encuentra en agua, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo redisolverse en 1-2 mL de agua. Se adicionan 2 mL del reactivo y se calienta en baño de agua 5-10 minutos la mezcla. El ensayo se considera positivo si la solución se colorea de rojo o aparece precipitado rojo. (35)

2.3.4.15. Ensayo de Kedde

Permite reconocer en un extracto la presencia de glicósidos cardiotónicos. Una alícuota del extracto en etanol se mezcla con 1 mL del reactivo y se deja reposar durante 5 a 10 minutos. Un ensayo positivo es en el que se desarrolla una coloración violácea persistente durante 1 a 2 horas. (35)

2.3.4.16. Ensayo de mucílagos

Permite reconocer en los extractos de vegetales la presencia de esta estructura tipo polisacárido, que forma un coloide hidrófilo de alto índice de masa que aumenta la densidad del agua donde se extrae. Para ello una alícuota del extracto en agua se enfría a 0°-5 °C y si la solución toma una consistencia gelatinosa el ensayo es positivo. (35)

2.3.4.17. Ensayo de ninhidrina

Permite reconocer en los extractos vegetales la presencia de aminoácidos libres o de aminas en general. Se toma una alícuota del extracto en alcohol, o el residuo de la concentración en

baño de agua, si el extracto se encuentra en otro solvente orgánico, se mezcla con 2 mL de solución al 2% de ninhidrina en agua. La mezcla se calienta 5 – 10 minutos en baño de agua. Este ensayo se considera positivo cuando se desarrolla un color azul violáceo. (35)

2.3.4.18. Ensayo de principios amargos

El ensayo se realiza saboreando 1 gota del extracto acuoso o del vegetal reconociendo el sabor de cada uno de los principios, bien diferenciado por el paladar. (35)

2.3.5. ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO DEL MARCADOR QUÍMICO: FLAVONOIDES TOTALES EXPRESADO COMO PORCENTAJE DE QUERCETINA

1. Mezclar 1 g de droga en polvo con 10 mL de metanol por 5 min en un baño de agua (60°C)
2. Tomar 5mL de la solución metanólica y concentrar hasta obtener 2 mL.
3. Colocar 1 mL de agua y 10 mL de acetato de etilo, agitar por 10 min.
4. Separar la fase de etil acetato y concentrar hasta obtener un volumen de 1mL.
5. Usar el concentrado para la cromatografía.
6. Se aplica 10µL del concentrado en una placa cromatográfica de sílica gel 60 F₂₅₄ con la ayuda de un capilar.
7. Dejar secar después de cada aplicación
8. Se introduce la placa en la cuba cromatográfica, hasta que el solvente recorra las $\frac{3}{4}$ partes de la placa.
9. Retirar de la cuba y dejar secar para luego observar en la lámpara UV 365 nm
10. Revelar la placa y dejar secar, calentar en la estufa y anotar los Rf. (35)

Adsorbentes: Sílica gel 60 F₂₅₄

Sistema de solventes: Cloroformo – acetona – ácido fórmico (75:16,5:8,5)

Revelador: H₂SO₄ – Vainillina (35)

Cálculo:

$$Rf = \frac{\text{distancia recorrida de la muestra}}{\text{distancia recorrida del solvente}}$$

2.3.6. OBTENCION DE EXTRACTOS A PARTIR DE FRUTOS SECOS Y TRITURADOS DE PUNGAL (*Solanum crinitipes*). EN DIFERENTES SOLVENTES.

Para poder obtener los diferentes extractos a partir de frutos secos y triturados de pungal (*Solanum crinitipes*). Se empleó un método de extracción por medio de reflujo. Los solventes ensayados y las temperaturas de tratamiento fueron los siguientes: agua destilada a 90 °C, metanol al 70% a 30°C, acetona al 75% a 30°C y etanol al 20% a 30°C. La relación sólido-líquido empleada fue 1 a 10 (1 g de muestra seca y triturada cada 10 mL del solvente). Los solventes fueron agregados a la temperatura de tratamiento seleccionada. El tiempo de tratamiento fue 4 horas.

2.3.7. CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES EN LOS EXTRACTOS DE FRUTOS SECOS Y TRITURADOS DE PUNGAL (*Solanum crinitipes*).

Los compuestos fenólicos son oxidados por el reactivo de Folin - Ciocalteu. Este reactivo contiene una mezcla de ácido fosfotúngstico ($H_3PW_{12}O_{40}$) y el ácido fosfomolibdico ($H_3PMo_{12}O_{40}$), que se reduce por oxidación de los fenoles, originando óxidos de tungsteno (W_8O_{23}) y de molibdeno (Mo_8O_{23}), de color azul. La coloración azul producida es proporcional a la concentración de compuestos fenólicos presentes, y posee una absorción máxima a 765 nm.

El procedimiento emplea el ácido gálico como compuesto de referencia para elaborar la curva de calibración.

Para la elaboración de la curva de calibración utilizando como referencia el ácido galico se preparó soluciones a 20, 40, 60 y 80 ppm de concentración.

Para ejecutar el ensayo en los extractos de frutos secos y triturados de pungal (*Solanum crinitipes*). Se prepara las muestras en el siguiente orden en un matraz de 10 mL aforado colocar:

1. 100uL de muestra (extracto)
2. 5000uL de agua destilada
3. 500uL de reactivo de Folin – Ciocalteu
4. 2000uL de Carbonato de sodio al 20%
5. Aforar la mezcla con agua destilada
6. Esperar por 30 min para estabilizar la reacción
7. Leer la mezcla en el espectrofotómetro a 765 nm.

2.3.8. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE FRUTOS SECOS Y TRITURADOS DE PUNGAL (*Solanum crinitipes*). ENSAYO DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE SEGÚN EL MÉTODO ENZIMÁTICO DE INHIBICIÓN DE LA POLIFENOLOXIDASA.

2.3.8.1. Extracto Enzimático

Se homogeneiza 10g de pulpa de manzana en 20ml de buffer acetato de sodio/ácido acético (pH 5). Se centrifuga a 20.000rev/min y se utiliza el sobrenadante como solución enzimática.

2.3.8.2. BUFFER

Acetato de sodio/ácido acético pH 5. Se prepara primeramente las soluciones de acetato de sodio y ácido acético de la siguiente manera:

Solución concentrada A: Se diluye 11,55ml de ácido acético glacial (CH₃COOH) en un litro de agua destilada (solución 0.2M).

Solución concentrada B: Se diluye 16,41g de acetato de sodio anhidro (CH₃COONa) ó 27,22g de acetato de sodio trihidratado (CH₃COONa*3H₂O) en un litro de agua destilada (solución 0.2M también).

Se mezclan los volúmenes de soluciones concentradas presentadas a continuación, y se aforó a 100 ml con agua destilada para obtener los valores mencionados de pH.

ml A	ml B	pH
14.8	35.2	5.0

2.3.8.3. SUSTRATO

Catecol 0,5M preparado en el buffer acetato. Para lo cual se pesa exactamente 0,2752g de catecol (peso molecular 110,06g/mol) y se diluye con 5ml de buffer acetato de sodio/ácido acético cantidad que es suficiente para los análisis. Cabe destacar que el catecol se prepara para cada análisis ya que se degrada fácilmente por factores ambientales tales como la luz y el oxígeno del aire.

2.3.8.4. MUESTRA A ENSAYAR

Las muestras de las que se mide la capacidad antioxidante son preparadas a tres diferentes concentraciones: 10.000µg/ml, 1000 µg/ml y 100 µg/ml, de manera que al ser agregadas las otras sustancias las concentraciones finales son de: 1000 µg/ml 100 µg/ml y 10 µg/ml.

A estas muestras se las prepara pesando 0,0500g del extracto de la planta se pasa a un vial limpio y seco diluyéndola con 5ml de DMSO (Dimetilsulfóxido) lo que da como resultado tener una solución con una concentración de 10.000µg/ml.

Sucesivamente se realiza diluciones al décimo para obtener las concentraciones de 1000 µg/ml y 100 µg/ml Al agregar las otras soluciones como son el catecol, el extracto enzimático y el buffer se obtiene las siguientes concentraciones: 1000 µg/ml, 100 µg/ml y 10 µg/m que se considerarán responsables de la actividad antioxidante.

2.3.8.5. EL ANTIOXIDANTE

Como agente antioxidante positivo se utiliza la vitamina C estimando las mismas concentraciones de las muestras a ensayar Dicha solución se la prepara diluyendo 0,0500g de vitamina C en 5ml de buffer 10.000µg/mL; se la diluye al décimo con buffer y se obtiene la solución de 1000 µg/ml y 100 µg/ml.

La adición del solvente, la muestra, el sustrato, y las enzimas se realiza en un balón aforado de 10ml. Se da inicio a la reacción mediante la adición de extracto enzimático y se comienza inmediatamente a leer y anotar la absorbancia.

Se anotaran las lecturas que da el espectrofotómetro cada 15 segundos desde el inicio del experimento hasta que hayan transcurrido 120 segundos. Es decir se realizan ocho lecturas.

Primeramente se lleva a cero el aparato con buffer acetato, ya que este es el solvente que interviene en mayor volumen dentro del experimento. Se lee primeramente el blanco, luego las diluciones de muestra de menor a mayor concentración y por último un testigo positivo; la vitamina C que efectivamente tiene poder antioxidante. Este procedimiento se repite por dos ocasiones más en cada muestra las lecturas son tomadas a una longitud de onda de 420 nm.

TABLA N° 5. Esquema de ensayo de actividad antioxidante

Volumen en mL	Blanco	1 Dilución	2 Dilución	3 Dilución	Vitamina C
Buffer	2.4	2.1	2.1	2.1	2.1
Sustrato	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
Muestra	-	0.3	0.3	0.3	0.3

Extracto enzimático	0.3	0.3	0.3	0.3	0.3
---------------------	-----	-----	-----	-----	-----

Se considera como inhibición nula la absorbancia correspondiente al blanco, en el que las enzimas actuaron libremente sobre el catecol. Asimismo, se toma como inhibición absoluta la que presenta la cubeta con el antioxidante de poder previamente probado. El porcentaje de inhibición se determina relacionando la lectura del blanco con la lectura de cada uno de los extractos.

TABLA N° 4. DESCRIPCIÓN DEL DISEÑO EXPERIMENTAL

Numero de repeticiones	Extractos en solventes				Estandar
	Agua	Cetona	Metanol	Etanol	Ac. ascórbico
R1	A1	A2	A3	A4	A5
	B1	B2	B3	B4	B5
	C1	C2	C3	C4	C5
R2	A1	A2	A3	A4	A5
	B1	B2	B3	B4	B5
	C1	C2	C3	C4	C5
R3	A1	A2	A3	A4	A5
	B1	V2	B3	B4	B5
	C1	C2	C3	C4	C5

A = 10 ppm
 B = 100ppm
 C = 1000ppm

CAPÍTULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSION

En la presente investigación a través de métodos cualitativos y cuantitativos identificaremos la presencia de compuestos fenólicos y su poder antioxidante en un sistema enzimático, los resultados presentados son el promedio de tres repeticiones para poder realizar una valoración estadística sustentable se analizaran los distintos solventes experimentales, medios de extracción sus expresiones más representativas y determinar la relación entre concentración de compuestos fenólicos y su actividad antioxidante.

3.1. CONTROL DE CALIDAD DROGA CRUDA

Para realizar el control de calidad se utilizó frutos secos y triturados de pungal (*Solanum crinitipes*) con muestras por triplicado para cada prueba, con lo que se obtuvo los siguientes resultados:

3.1.1. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD

CUADRO N° 1. RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE LA HUMEDAD DE LA DROGA SECA Y TRITURADA DE FRUTOS DE PUNGAL (*Solanum crinitipes*)". LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JUNIO DEL 2012.

	% HUMEDAD	LIMITE DE HUMEDAD
Planta seca	9.92 ± 0.17	Hasta 14%

Este parámetro de calidad sirve para determinar la proliferación bacteriana y micótica. Los resultados obtenidos en el cuadro N° 1 indica que el contenido de humedad presente en los frutos secos y triturados de pungal (*Solanum crinitipes*) es de 9.92% con una variación estándar de ± 0.17 ; valor que en comparación con el límite máximo admitido (14%) por la Norma Ecuatoriana de Fitoterápicos, se encuentra dentro de los valores aceptados, como recomendación general es necesario trabajar con la droga seca en el momento de su obtención y si va a ser almacenada mantenerla en un lugar libre de humedad y de luz.

3.1.2. DETERMINACIÓN DE CENIZAS

Este parámetro de control de calidad da el porcentaje de minerales presentes en las plantas, sirve para establecer el grado de limpieza de materias primas vegetales, las cenizas solubles e insolubles sirven para determinar adulteraciones en los vegetales y las cenizas insolubles en ácido son una medida de la materia arenosa proveniente de la cosecha de las especies vegetales. Cuando hay un alto contenido de cenizas, superior a la especificación se sugiere la presencia de un adulterante inorgánico. (34) (36)

CUADRO N° 2. RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE CENIZAS TOTALES DE LA DROGA SECA Y TRITURADA DE FRUTOS DE PUNGAL (*Solanum crinitipes*)". LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JUNIO DEL 2012.

	%CENIZAS TOTALES	ESPECIFICACIÓN
Planta seca	5.91 \pm 0,02	Hasta 12 %

El cuadro N° 2 indica que el porcentaje del contenido de cenizas totales fue de 5.91 \pm 0,02 valor que se encuentran dentro de los límites aceptados para drogas vegetales por la USP (33), el mismo que indica el contenido de minerales presentes en la muestra.

CUADRO N° 3. RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE CENIZAS SOLUBLES EN AGUA DE LA DROGA SECA Y TRITURADA DE FRUTOS DE PUNGAL (*Solanum crinitipes*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JUNIO DEL 2012.

	%CENIZAS SOLUBLES EN AGUA	ESPECIFICACIÓN
Planta seca	4.17 ± 0,0097	7 %

El cuadro N° 3 indica que el porcentaje de cenizas solubles en agua fue de 4.17% ± 0,0097 que corresponde al material de tipo orgánico presente en la muestra, lo que se encuentra dentro de los límites establecidos (7%) dada por la Norma Ecuatoriana de Fitoterápicos.

CUADRO N° 4. RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE CENIZAS INSOLUBLES EN ÁCIDO CLORHÍDRICO DE LA DROGA SECA Y TRITURADA DE FRUTOS DE PUNGAL (*Solanum crinitipes*)". LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JUNIO DEL 2012.

	%CENIZAS INSOLUBLES EN HCl	ESPECIFICACIÓN
Planta seca	2.43 ± 0,0102	5 %

El porcentaje de cenizas insolubles en HCl indicado en el cuadro N° 4, demuestra que el valor encontrado (2.43 ± 0,0102) se encuentra dentro de los límites aceptados (5%) en la Norma Ecuatoriana de Fitoterápicos, lo que indica que la droga seca no tiene una presencia considerable de materia arenosa.

3.2. CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE FRUTOS SECOS Y TRITURADOS DE PUNGAL (*Solanum crinitipes*)”.

El análisis de control de calidad se realizó a partir del extracto obtenido por maceración con alcohol al 40% de frutos secos y triturados de pungal (*Solanum crinitipes*)” se colocó 30 g de materia seca y triturada en un volumen de 120 ml de alcohol al 40%.

3.2.1. DETERMINACIÓN DE REQUISITOS ORGANOLÉPTICOS DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO

CUADRO N° 5. RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN ORGANOLÉPTICA DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE FRUTOS SECOS Y TRITURADOS DE PUNGAL (*Solanum crinitipes*)”. LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JUNIO DEL 2012.

Parámetro	Resultado
Olor	Herbal fuerte
Color	Pardo
Sabor	Amargo
Aspecto	Líquido, sin precipitaciones

En la determinación de las características organolépticas indicada en el cuadro N° 5 se muestra todos los parámetros propios de los frutos de pungal (*Solanum crinitipes*)”.los mismos que no se basan en ningún estándar para su comparación debido a que son propios con las características normales de aspecto, olor, color y sabor (amargo de los alcaloides, y compuestos fenolicos presentes en la muestra) al haber sometido la droga seca a un proceso de extracción.

3.2.2. DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO

CUADRO N° 6. RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE LOS PARÁMETROS FÍSICOS DEL EXTRACTO HIDROALCOHÓLICO DE FRUTOS SECOS Y TRITURADOS DE PUNGAL (*Solanum crinitipes*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JUNIO DEL 2012.

Parámetro	Resultado
pH	6.47
Índice de refracción	1.426
Densidad relativa	0.9538
Sólidos totales	14.38%

De acuerdo con los resultados indicados en el cuadro N° 6, el pH del extracto fue de 6.47 lo que representa un pH muy cercano a la neutralidad del extracto, el índice de refracción fue de 1.426 lo que demuestra la presencia de compuestos extraídos por el solvente al ser comparado con el índice de refracción del agua 1.333, la densidad del extracto es menos denso que el agua ya que el resultado fue de 0.9538, el porcentaje de sólidos totales que abarca sales y residuos orgánicos fue de 14.38%, lo que nos indica la gran cantidad de metabolitos secundarios extraídos por el solvente empleado para la maceración.

3.2.3. TAMIZAJE FITOQUÍMICO

El tamizaje fitoquímico ayuda a determinar cualitativamente la presencia de los principales metabolitos secundarios, se utilizaron pruebas cualitativas mediante cambios en la muestra de ensayo mediante formación de precipitados o cambios de coloración en la muestra de ensayo.

CUADRO N° 7. RESULTADOS DEL TAMIZAJE FITOQUIMICO DEL EXTRACTO DE FRUTOS SECOS Y TRITURADOS DE PUNGAL (*Solanum crinitipes*). LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JUNIO DEL 2012.

ENSAYO	METABOLITO	EXTRACTO		
		ETÉR EO	ALCOHÓLIC O	ACUOSO
SUDÁN	ACEITES Y GRASAS	+		
BALJET	LACTONAS Y CUMARINAS	+	+	
DRAGENDORFF	ALCALOIDES	-	+++	+++
WAGNER	ALCALOIDES	+	+++	+++
LIEBERMANN- BUCHARD	TRITERPENOS Y/O ESTEROIDES	++	++	
CATEQUINAS	CATEQUINAS		+++	
RESINAS	RESINAS		-	
FEHLING	AZUCARES REDUCTORES		+	-
ESPUMA	SAPONINAS		++	+++
FeCl ₃	TANINOS		++	++
BORNTRAGER	ANTRAQUINONAS		+++	
SHINODA	FLAVONOIDES		+	++
ANTOCIANIDINAS	FLAVONOIDES		-	
MUCILAGOS	MUCILAGOS			-
PRINCIPIOS AMARGOS	PRINCIPIOS AMARGOS			+

+++ : ALTA EVIDENCIA
 ++ : EVIDENCIA
 + : BAJA EVIDENCIA
 - : NEGATIVO

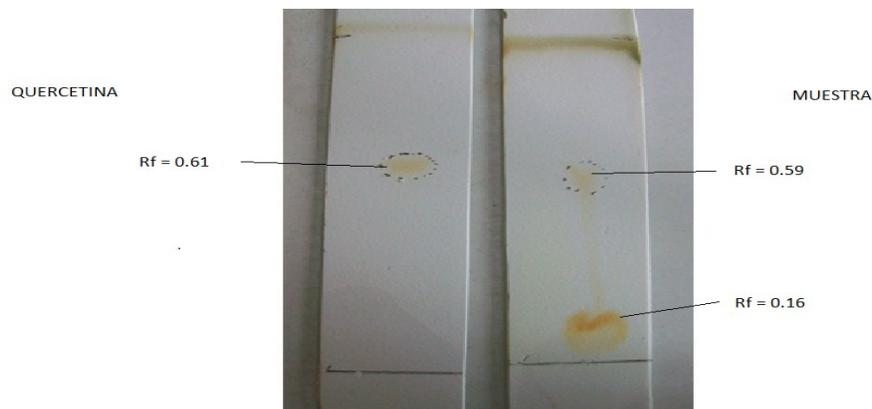
Los resultados del tamizaje fitoquímico indicados en el cuadro N° 7, realizado en los extractos etéreo, alcohólico y acuoso; obtenidos mediante el uso de solventes de diferente polaridad, por medio de extracciones sucesivas, permitió analizar y comprobar los metabolitos presentes en los frutos de pungal (*Solanum crinitipes*).

Mediante reacciones sencillas de identificación se encontró la presencia de alcaloides este grupo de metabolitos secundarios son los más representativos en la familia *solanaceae* teniendo como compuestos más representativos la solanidina y la solasodina (De la Rosa Ávila Noé México 2010), saponinas, catequinas, taninos, triterpenos y/o esteroides, antraquinonas, flavonoides en una concentración elevada, además se identificaron otros compuestos en menor concentración entre los que se encuentran aceites, azúcares reductores, lactonas y cumarinas, y principios amargos. Esta variación de metabolitos se puede dar debido a la influencia de varios factores como climáticos, de almacenamiento, o propios de la planta ya que en el momento de recolección ciertos metabolitos se encuentran en baja concentración y no sobrepasan los límites de detección de los métodos y reactivos empleados. (34)

La presencia de flavonoides en las partes aéreas de esta planta, concuerda con lo descrito en Alonso J. (3) y también en Muñoz O., Montes M., Wilkomirsky T. (20), lo que permite verificar junto con las demás propiedades de los flavonoides descritas anteriormente, los efectos diuréticos y antioxidantes relacionados con la pérdida de peso (18) (72) (78),

3.2.4. ANÁLISIS CROMATOGRÁFICO DEL MARCADOR QUÍMICO: FLAVONOIDES TOTALES EXPRESADO COMO PORCENTAJE DE QUERCETINA

El análisis cromatográfico permite separar e identificar compuestos contenidos en una mezcla mediante el cálculo de los Rf de cada una de las manchas. Se utilizó placas de sílica gel y un sistema de solventes cloroformo: acetona: ácido fórmico (75:16,5:8,5) y como revelador H₂SO₄-Vainillina.



FOTOGRAFÍA N° 1. PLACA CROMATOGRFÍA EN CAPA FINA DE LA MUESTRA DE FRUTO DE PUNGAL (*Solanum crinitipes*)".COMPARADOS CON QUERCETINA, EN PLACAS DE SILICA GEL 60 F₂₅₄.

CUADRO N° 8. RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE LOS Rf DE LA LA MUESTRA DE FRUTO DE PUNGAL (*Solanum crinitipes*)"EN CROMATOGRFÍA DE CAPA FINA. REALIZADO EN EL LABORATORIO DE FITOQUÍMICA. ESPOCH. JUNIO 2012.

MANCHA OBSERVADA	Rf	COMPUESTO ENCONTRADO	COLOR
1	0,16		Amarillo
2	0,59	Quercetina	Amarillo
3	0,61	Quercetina	Amarillo

Debido a la gran riqueza de metabolitos secundarios que posee este fruto y tomando como punto referencial los compuestos fenolicos se decidió realizar una cromatografía específica para flavonoides debido a que son un grupo muy representativo de los compuestos fenolicos el ensayo se lo realizo en una muestra de extracto de fruto de pungal (*Solanum crinitipes*)", es por ello que la muestra se corrió con un estándar de quercetina evidenciado en la mancha 3, la misma que posee un Rf = 0,61, que es muy similar a la presentada por el recorrido de la muestra mancha 2 que posee un Rf = 0.59 (Fotografía N° 1), para realizar su

identificación se comparó los Rf encontrados con los citados en Wagner H. 1996 (30), es así que los flavonoides presentes en el fruto podrían ser:

Rf₂= 0,31 Quercetin-3-O rutinoside (rutin)

Rf₃= 0,64 Quercetina

En el libro de fitoquímica presentado por Mahmoud y Nawwer 1999 describen la presencia de quercetina 3- glucósidos en las hojas de solanaceae lo que corrobora la cromatografía ensayada en el presente estudio.

3.3. CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES EN LOS EXTRACTOS DE FRUTOS SECOS Y TRITURADOS DE PUNGAL (*Solanum crinitipes*).

Para realizar la cuantificación de compuestos fenólicos totales en los extractos: metanólico, etanólico, cetónico y acuoso se elaboró una curva de calibración tomando en cuenta la oxidación de los compuestos fenólicos en presencia del reactivo de folin y como estandar de referencia se utilizó ácido galico a diferentes concentraciones, como resultado del ensayo se obtuvo la siguiente ecuación el método empleado para la cuantificación de compuestos fenólicos fue tomado de la tesis de Paladino S. Universidad Nacional de Cuyo Mendoza Argentina. (17)

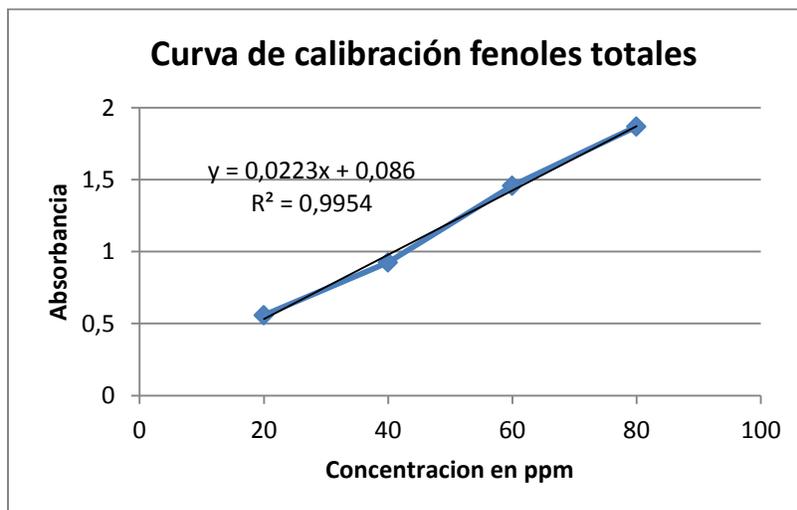


GRÁFICO N° 1. CURVA DE ABSORBANCIA VS CONCENTRACIÓN DE ACIDO GALICO PARA CUANTIFICACIÓN DE FENOLES TOTALES. A UNA LONGITUD DE ONDA DE 765 nm. LABORATORIO DE ANALISIS INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO DEL 2012.

CUADRO N° 9. RESULTADOS CUANTIFICACION DE COMPUESTOS FENOLICOS TOTALES EN LOS EXTRACTOS DE FRUTOS SECOS Y TRITURADOS DE PUNGAL (*Solanum crinitipes*) A UNA LONGITUD DE ONDA DE 765 nm. LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO DEL 2012.

Extracto	Absorbancia	ug Fenoles/ml Extracto	fenol g/g muestra seca	%
Acetona 75% a 30°C	0,962	39.268	0.039	3.93
Etanol 20% a 30°C	0.911	36.981	0.092	9.25
Metanol 70% a 30°C	0.971	39.671	0.066	6.61
Agua 90 °C	0.931	37.892	0.189	18.95

En el cuadro N° 9 se indica que las absorbancia de los extractos a 750 nm resultado del promedio de 3 repeticiones fue de 0,962, 0.911, 0.971 y 0.931 y remplazando este valor en la ecuación de la curva de calibración del ácido galico (Gráfico N° 1), se obtuvo una concentración de 39.268, 36.981, 39.671 y 37.892 ug fenoles/ml extracto respectivamente para los extractos de Acetona 75% a 30°C, Etanol 20% a 30°C, Metanol 70% a 30°C y Agua 90 °C de fruto seco y triturado de pungal (*Solanum crinitipes*)” y que corresponde a una concentración de 0.039, 0.092, 0.066 y 0.189 g de fenoles totales/g de muestra seca obteniendo un % de compuestos fenólicos totales del 3.93%, 9.25%, 6.61% y 18.95% de esta manera se evidencia la concentración de compuestos fenólicos totales en relación a la capacidad de extracción de los diferentes solventes utilizados bajo las condiciones térmicas ya indicadas. Al comparar los resultados obtenidos con respecto a los alcanzados por Toor y col. (2006) quienes publicaron contenidos de fenoles en diferentes especies de *solanaceae*. sp. Entre 3% y 6% en muestras secas y trituradas de las distintas partes de la planta estudiadas existe una relación media entre lo obtenido y los datos de investigaciones

previas. Los resultados mostrados en el cuadro N° 9 están basados en los datos y cálculos del anexo N° 7

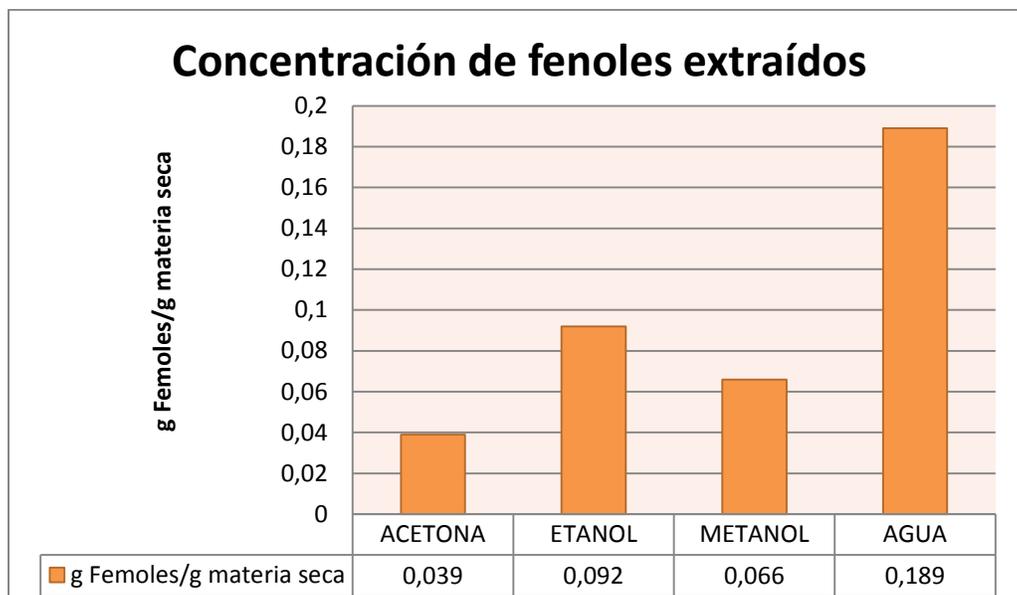


GRÁFICO N° 2. CONCENTRACIÓN DE FENOLES EXTRAÍDOS EN LOS DIFERENTES SOLVENTES UTILIZADOS.

El Gráfico N° 2 evidencia de mejor manera la capacidad de extracción de los fenoles totales de los distintos solventes ensayados según los datos del Cuadro N° 9

CUADRO N° 10. ANÁLISIS ESTADÍSTICO CONCENTRACION DE COMPUESTOS FENOLICOS TOTALES EN LOS EXTRACTOS DE FRUTOS SECOS Y TRITURADOS DE PUNGAL (*Solanum crinitipes*)". LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO DEL 2012.

GRUPOS	Acetona	Etanol	Metanol	Agua
N	3	3	3	3
Media	0.0390	0.0923	0.0660	0.1893
Varianza	0.0000	0.0003	0.0000	0.0003
Desviación Típica	0.0000	0.0006	0.00000	0.0006
Mínimo	0.0390	0.0920	0.0660	0.1890
Máximo	0.0390	0.0930	0.0660	0.1900

De acuerdo a los datos indicados en el Cuadro N° 10, N representa el número de repeticiones del ensayo en cada grupo, el valor de la media indica el valor promedio de la concentración de compuestos fenólicos totales para cada grupo de solventes, la varianza y la desviación típica nos indica la homogeneidad de los datos y la reproducibilidad del ensayo dando un parámetro referencial de eficiencia y eficacia en la ejecución de la cuantificación de los fenoles totales en los distintos extractos obtenidos en relación al solvente utilizado. Como es de esperarse no debe existir una varianza ni desviación marcada de los datos con respecto a la media del grupo ya que las repeticiones fueron realizadas bajo las mismas condiciones en cada grupo.

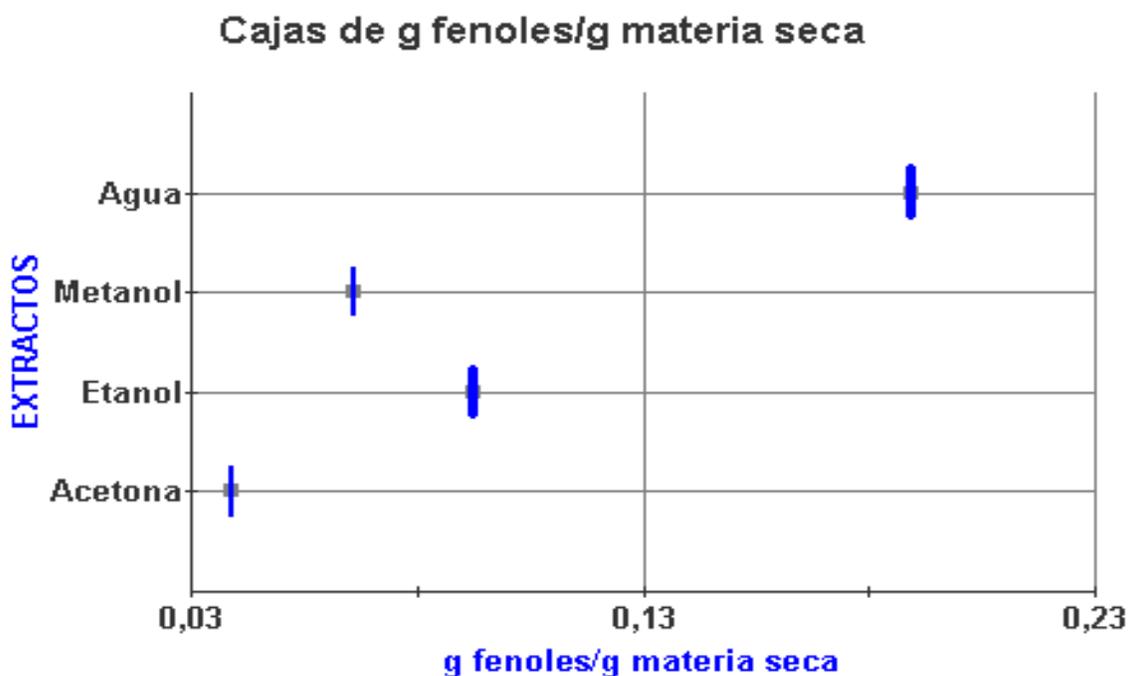


GRÁFICO N° 3. CAJAS DE MEDIAS Y DESVIACIÓN DE LOS DATOS CONCENTRACIÓN DE COMPUESTOS FENOLICOS TOTALES EN LOS EXTRACTOS DE FRUTOS SECOS Y TRITURADOS DE PUNGAL (*Solanum crinitipes*).

El gráfico N° 3 muestra de una mejor manera la tendencia de los datos, los valores de las medias de cada grupo analizado y su interrelación con respecto a la cantidad de fenoles totales presentes en cada grupo de ensayo de tal manera que se observa que el grupo que utilizo agua a 90 °C como extraente teniendo un total del 0.189 fenol g/g muestra seca

tiene un mejor desempeño al momento de extraer los compuestos fenólicos, mientras que el de más bajo accionar es el grupo que utilizo Acetona 75% a 30°C que mostro un total de 0.039 , La reproducibilidad de los datos dentro de cada grupo es muy alta puesto que las cajas de todos los grupos no presentan una dispersión significativa dentro de su análisis.

CUADRO N° 11. CONCENTRACIÓN DE COMPUESTOS FENOLICOS TOTALES EN LOS EXTRACTOS DE FRUTOS SECOS Y TRITURADOS DE PUNGAL (*Solanum crinitipes*). ANOVA UN FACTOR COMPARACIONES MÚLTIPLES. MÉTODO: TUKEY HSD AL 95.00%. LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO DEL 2012.

TRATAMIENTO	N	Media	Grupos Homogéneos	
Acetona	3	0.0390	X	
Metanol	3	0.0660	X	
Etanol	3	0.0923	X	
agua	3	0.1893	X	
Entre grupos	P - Valor		0.0003	
Contraste			Diferencia	+/- Límite
Acetona VS Etanol			*-0.0533	*0.0011
Acetona VS Metanol			*-0.0270	*0.0011
Acetona VS Agua			*-0.1503	*0.0011
Etanol VS Metanol			*0.0263	*0.0011
Etanol VS Agua			*-0.0970	*0.0011
Metanol VS Agua			*-0.1233	*0.0011

*Diferencia estadísticamente significativa.

El cuadro N° 11 indica en la columna de grupos homogéneos que no existen grupos homogéneos esto quiere decir que cada grupo de análisis tiene su propio desarrollo independiente en la acción de extraer los compuestos fenólicos de la materia vegetal seca y triturada, por otra parte evidenciamos que el grupo con mayor eficiencia en la extracción de compuestos fenólicos es el que utilizo como solvente el agua seguido del etanol , metanol y como solvente de menor capacidad extractiva de compuestos fenolicos tenemos al que empleo acetona en el proceso de extracción.

En el cuadro de comparación múltiple basada en las diferencias de las medias entre grupos tenemos que todos los grupos presentan una diferencia estadísticamente significativa entre sí por lo que cada grupo de ensayo tiene que ser analizado individualmente, por último la confirmación de la hipótesis alternativa de las comparaciones múltiples es confirmada por el p - valor que es de 0.0003 aceptando las diferencias estadísticas entre grupos.

3.4. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE FRUTOS SECOS Y TRITURADOS DE PUNGAL (*Solanum crinitipes*).

La actividad antioxidante de los distintos extractos ha sido valorada en función de su capacidad de inhibir la oxidación de la polifenoloxidas extraída de la manzana para esto se ha realizado el ensayo trabajando con los extractos obtenidos a distintas concentraciones, para calcular su porcentaje de inhibición se lo realiza en función de la actividad enzimática de la polifenoloxidas en el blanco. Y como agente de comparación de eficacia se utiliza una solución estandar de Ac. Ascórbico bajo las mismas condiciones que los extractos a ensayar.

Los resultados son el producto de 3 repeticiones de los ensayos datos que se observan en el Anexo N° 8

CUADRO N° 12. RESULTADOS ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE FRUTOS SECOS Y TRITURADOS DE PUNGAL (*Solanum crinitipes*)". 10 ppm A UNA LONGITUD DE ONDA DE 420 nm. LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO DEL 2012.

Extracto	% Inhibición de la oxidación
Agua 90 °C	38,26
Metanol 70% a 30°C	53,91
Etanol 20% a 30°C	60
Acetona 75% a 30°C	0,87

Ac. Ascórbico	97,39
---------------	-------

Al observar los resultados de porcentaje de inhibición encontramos que el extracto etanólico es el que presenta una mayor actividad antioxidante con un 601 % de inhibición de la oxidación y como extracto menos efectivo en relación a su actividad antioxidante tenemos que el extracto acetónico tan solo alcanza un 0.87 % de inhibición de la oxidación mientras que el extracto acuoso y metanólico alcanzaron un 38.26% y un 53.91% respectivamente de inhibición de la oxidación, si comparamos estos valores con el 97.39% de inhibición de la oxidación alcanzado por el Ac. Ascórbico vemos que en el mejor de los casos el extracto etanólico es el mejor aunque este valor no sea significativo en una relación estadística con el estándar de Ac. Ascórbico mientras que los demás extractos no cumplen la expectativa de actividad antioxidante esperada.

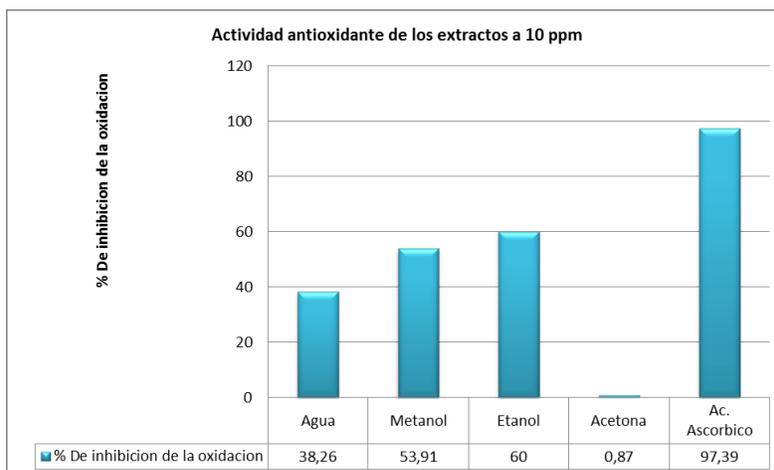


GRÁFICO N° 4. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE FRUTOS SECOS Y TRITURADOS DE PUNGAL (*Solanum crinitipes*)¹⁷. 10 ppm.

El Gráfico N° 4 evidencia de mejor manera la actividad antioxidante de cada extracto utilizado para el ensayo en relación al estándar de Ac. Ascórbico según los datos del Cuadro N° 12.

CUADRO N° 13. ANÁLISIS ESTADÍSTICO ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE FRUTOS SECOS Y TRITURADOS DE PUNGAL (*Solanum crinitipes*)". 10 ppm A UNA LONGITUD DE ONDA DE 420 nm. LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO DEL 2012.

GRUPOS	Agua	Metanol	Etanol	Acetona	Ac. Ascórbico
N	3	3	3	3	3
Media	38.2600	53.9133	60.0000	0.8700	97.3900
Varianza	9.0828	63.4926	2.2707	20.4363	6.8128
Desviación Típica	3.0138	7.9682	1.5069	4.5207	2.6100
Mínimo	34.7800	45.2200	58.2600	-1.7400	94.7800
Máximo	40.0000	60.8700	60.8700	6.0900	100.0000

De acuerdo a los datos indicados en el Cuadro N° 13, se puede observar el análisis estadístico para tres repeticiones del ensayo en cada extracto, es claro que el extracto etanólico es el de mejor desempeño los valores de su varianza y desviación de 2.2707 y 1.5069 respectivamente garantizan la homogeneidad de los datos y su reproducibilidad. En el extracto metanólico es el que presenta mayor varianza y por ende mayor dispersión en sus datos a pesar de que la desviación típica es medianamente tolerante los ensayos realizados con este extracto son los más inestables, el extracto acetónico y acuoso tienen una baja relevancia estadística con respecto al estándar de referencia, esto se lo explica debido a la concentración que se está trabajando con los extractos de 10 ppm.

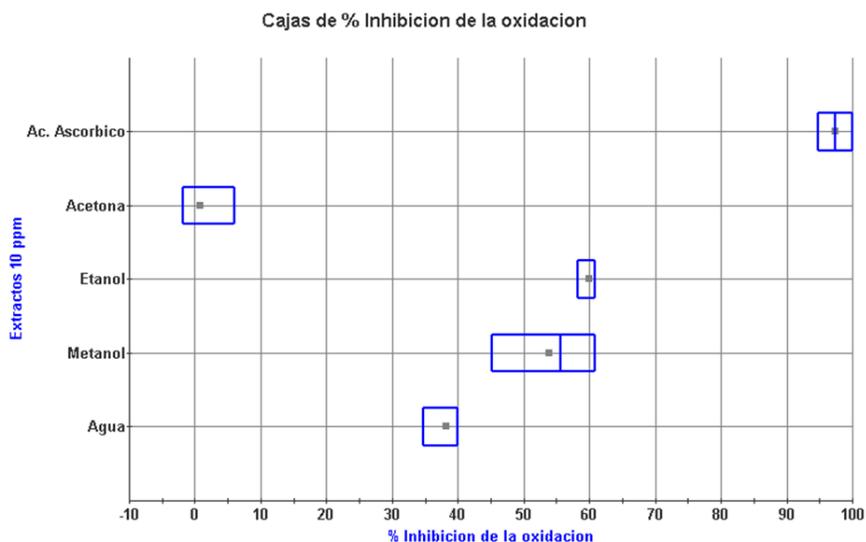


GRÁFICO N° 5. CAJAS DE MEDIAS Y DESVIACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE FRUTOS SECOS Y TRITURADOS DE PUNGAL (*Solanum crinitipes*). 10 ppm.

El gráfico N° 5 expresa de mejor manera la dispersión de los datos dentro de los grupos de análisis y su respectivo porcentaje de inhibición de la oxidación de esta manera tenemos que el extracto etanólico es el mejor el tamaño de su caja es mínimo lo que nos indica la centralización y homogeneidad de los datos, mientras que el extracto que no refleja un comportamiento uniforme es el metanólico su caja es la más grande en relación con los otros extractos. Los extractos acuoso y acetónico presentan baja dispersión en sus datos además que su porcentaje de inhibición de la oxidación es muy bajo estadísticamente no son representativos. Estas consideraciones se las realiza tomando en cuenta el comportamiento del estandar Ac. Ascórbico que prácticamente inhibe por completo la exudación.

CUADRO N° 14. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE FRUTOS SECOS Y TRITURADOS DE PUNGAL (*Solanum crinitipes*)". 10 ppm A UNA LONGITUD DE ONDA DE 420 nm. ANOVA UN FACTOR COMPARACIONES MÚLTIPLES. MÉTODO: TUKEY HSD AL 95.00%. LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO DEL 2012.

TRATAMIENTO	N	Media	Grupos Homogéneos	
Acetona	3	0.8700	X	
Agua	3	38.2600	X	
Metanol	3	53.9133	X	
Etanol	3	60.0000	X	
Ac. Ascórbico	3	97.3900	X	
Entre grupos	P – Valor		0.0003	
Contraste			Diferencia	+/- Límite
Agua VS Metanol			*-15.6533	*12.1433
Agua VS Etanol			*-21.7400	*12.1433
Agua VS Acetona			*37.3900	*12.1433
Agua VS Ac. Ascórbico			*-59.1300	*12.1433
Metanol VS Etanol			-6.0867	12.1433
Metanol VS Acetona			*53.0433	*12.1433
Metanol VS Ac. Ascórbico			*-43.4767	*12.1433
Etanol VS Acetona			*59.1300	*12.1433
Etanol VS Ac. Ascórbico			*-37.3900	*12.1433
Acetona VS Ac. Ascórbico			*-96.5200	*12.1433

El cuadro N° 14 nos indica que existe un grupo homogéneo basados en las medias de los datos de los grupos el que corresponde al extracto metanólico y etanólico a excepción de estos dos grupos todos los demás tienen diferencia estadísticamente significativa por lo que tienen que ser analizado de forma individual con respecto al grupo metanólico y etanólico sus medias son muy próximas por lo que se les podría considerar como que tienen una misma acción pero basándonos en la dispersión de sus datos tal aseveración no es cierta ya que el grupo de extracto metanólico posee una muy amplia dispersión en sus datos .

La hipótesis alternativa de las diferencias múltiples es aceptada ya que el p – valor es de 0.0003 menor al límite de descarte de 0.05.

Jerárquicamente los extractos poseen una actividad antioxidante que va desde el extracto etanólico, metanólico, acuoso y finalmente el acetónico relacionados con su capacidad de inhibir la oxidación, tomando como referencia al blanco y agente de comparación el Ac. Ascórbico.

CUADRO N° 15. RESULTADOS ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE FRUTOS SECOS Y TRITURADOS DE PUNGAL (*Solanum crinitipes*)". 100 ppm A UNA LONGITUD DE ONDA DE 420 nm. LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO DEL 2012.

Extracto	% Inhibición de la oxidación
Agua 90 °C	46.96
Metanol 70% a 30°C	69.57
Etanol 20% a 30°C	69.57
Acetona 75% a 30°C	3.48
Ac. Ascórbico	98.26

En el Cuadro N° 15 podemos observar que el comportamiento del extracto etanólico y metanólico es el mismo posee una inhibición de la oxidación bastante considerable con un 69.57% de inhibición de la oxidación estos extractos son los que mejor desempeño de la actividad antioxidante presentan frente a la del estandar Ac. Ascórbico, los porcentajes de inhibición del extracto acuoso y acetónico 46.96% y 3.48% respectivamente son superiores a los presentados cuando se realizó el ensayo a 10 ppm aun no son considerables ya que el extracto acuoso todavía no marca siquiera el 50 % de la inhibición y el extracto acetónico presenta un porcentaje de inhibición muy ínfimo.

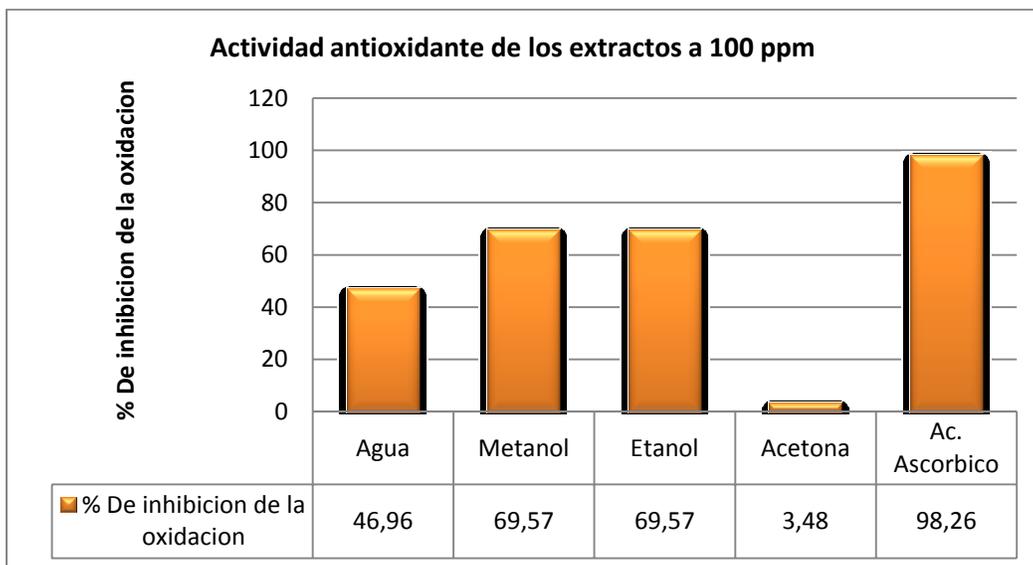


GRÁFICO N° 6. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE FRUTOS SECOS Y TRITURADOS DE PUNGAL (*Solanum crinitipes*). 100 ppm.

El Gráfico N° 6 evidencia de mejor manera la actividad antioxidante de cada extracto utilizado para el ensayo en relación al estándar de Ac. Ascórbico según los datos del Cuadro N° 15.

CUADRO N° 16. ANÁLISIS ESTADÍSTICO ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE FRUTOS SECOS Y TRITURADOS DE PUNGAL (*Solanum crinitipes*). 100 ppm A UNA LONGITUD DE ONDA DE 420 nm. LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO DEL 2012.

GRUPOS	Agua	Metanol	Etanol	Acetona	Ac. Ascórbico
N	3	3	3	3	3
Media	46.9567	69.5667	69.5633	3.4600	98.2600
Varianza	9.0480	2.2533	29.4582	27.2484	2.2707
Desviación Típica	3.0080	1.5011	5.4275	5.2200	1.5069
Mínimo	45.2200	58.7000	63.4800	-1.7400	97.3900
Máximo	50.4300	71.3000	73.9100	8.7000	100.0000

De acuerdo a los datos indicados en el Cuadro N° 16, se puede observar el análisis estadístico para tres repeticiones del ensayo en cada extracto, es como ya fue indicado anteriormente los extractos metanólico y etanólico son los de mejor desempeño en la inhibición de la oxidación con un 69.5667% y 69.5633% respectivamente en el caso del extracto acuoso presenta un 46.9567% de inhibición de la oxidación aun no es un valor considerable estadísticamente no alcanza siquiera el 50% de inhibición, con respecto al extracto acetónico su porcentaje de inhibición no es relevante de análisis tan solo tiene un 3.46% de inhibición de la oxidación.

Analizando las varianzas de los extractos tenemos que el extracto etanólico y acetónico son los que presentan un mayor valor 29.4582 y 27.2484 lo que nos indica la dispersión de los datos para estos extractos, en lo que respecta a la desviación típica todos los valores son considerablemente bajos garantizando homogeneidad en los datos no hay valores extremos dentro de los datos analizados.

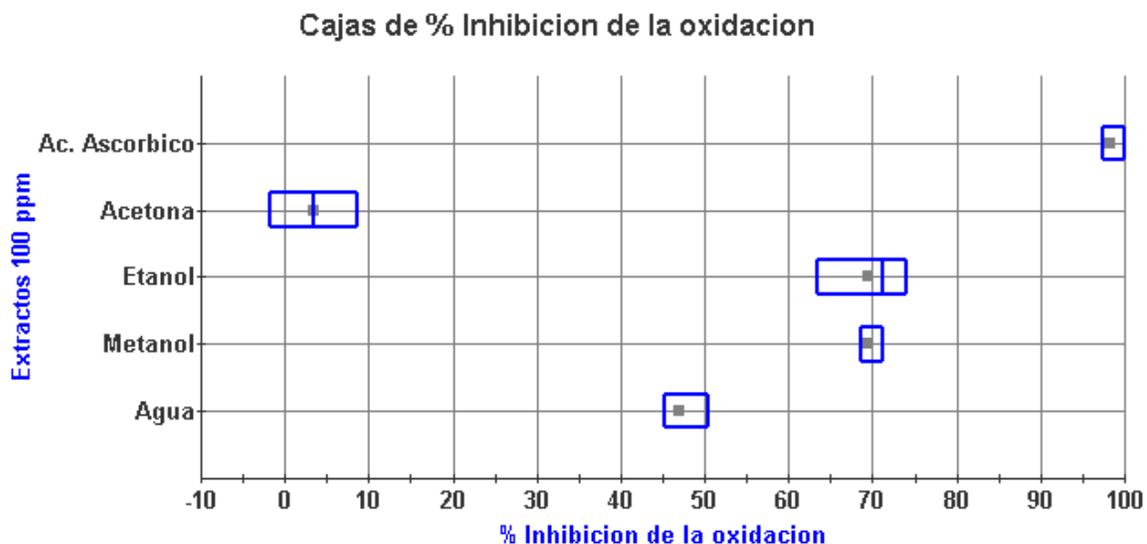


GRÁFICO N° 7. CAJAS DE MEDIAS Y DESVIACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE FRUTOS SECOS Y TRITURADOS DE PUNGAL (*Solanum crinitipes*). 100 ppm.

El gráfico N° 7 expresa de mejor manera la dispersión de los datos dentro de los grupos de análisis y su respectivo porcentaje de inhibición de la oxidación de esta manera tenemos que el extracto metanólico es el mejor el tamaño de su caja es mínimo lo que nos indica la centralización y homogeneidad de los datos, mientras que los extracto que no refleja un comportamiento uniforme es el etanólico y acetónico sus cajas son las más grandes en relación con los otros extractos. El extracto acuoso presentan baja dispersión en sus datos además que su porcentaje de inhibición de la oxidación está por debajo del 50% estadísticamente no es representativo. Estas consideraciones se las realiza tomando en cuenta el comportamiento del estandar Ac. Ascórbico que prácticamente inhibe por completo la exudación.

CUADRO N° 17. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE FRUTOS SECOS Y TRITURADOS DE PUNGAL (*Solanum crinitipes*)". 100 ppm A UNA LONGITUD DE ONDA DE 420 nm. ANOVA UN FACTOR COMPARACIONES MÚLTIPLES. MÉTODO: TUKEY HSD AL 95.00%. LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO DEL 2012.

TRATAMIENTO	N	Media	Grupos Homogéneos	
Acetona	3	3.4800	X	
Agua	3	46.9567	X	
Metanol	3	69.5633	X	
Etanol	3	69.5667	X	
Ac. Ascórbico	3	98.2600	X	
Entre grupos	P – Valor		0.0004	
Contraste			Diferencia	+/- Límite
Agua VS Metanol			*-22.6100	*10.0751
Agua VS Etanol			*-22.6067	*10.0751
Agua VS Acetona			*43.4767	*10.0751
Agua VS Ac. Ascórbico			*-51.3033	*10.0751
Metanol VS Etanol			0.0033	10.0751
Metanol VS Acetona			*66.0867	*10.0751
Metanol VS Ac. Ascórbico			*-28.6933	*10.0751
Etanol VS Acetona			*66.0833	*10.0751
Etanol VS Ac. Ascórbico			*-28.6967	*10.0751
Acetona VS Ac. Ascórbico			*-94.7800	*10.0751

El cuadro N° 17 nos indica que existe un grupo homogéneo basados en las medias de los datos de los grupos el que corresponde al extracto metanólico y etanólico a excepción de estos dos grupos todos los demás tienen diferencia estadísticamente significativa por lo que tienen que ser analizado de forma individual con respecto al grupo metanólico y etanólico sus medias son las mismas por lo que se les podría considerar como que tienen una misma acción pero basándonos en la dispersión de sus datos tal aseveración no es cierta ya que el grupo de extracto etanólico posee una muy amplia dispersión en sus datos .

La hipótesis alternativa de las diferencias múltiples es aceptada ya que el p – valor es de 0.0004 menor al límite de descarte de 0.05.

Jerárquicamente los extractos poseen una actividad antioxidante que va desde el extracto metanólico, etanólico, acuoso y finalmente el acetónico relacionados con su capacidad de inhibir la oxidación, tomando como referencia al blanco y agente de comparación el Ac. Ascórbico.

CUADRO N° 18. RESULTADOS ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE FRUTOS SECOS Y TRITURADOS DE PUNGAL (*Solanum crinitipes*)". 1000 ppm A UNA LONGITUD DE ONDA DE 420 nm. LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO DEL 2012.

Extracto	% Inhibición de la oxidación
Agua 90 °C	60
Metanol 70% a 30°C	80
Etanol 20% a 30°C	74.78
Acetona 75% a 30°C	9.57
Ac. Ascórbico	99.13

En el Cuadro N° 18. Podemos observar que el comportamiento del extracto metanólico es el de mejor desempeño ya que presenta una inhibición de la oxidación del 80% los

resultados presentados por los extractos etanólico y acuoso corresponden al 74.78% y 60% de la inhibición de la oxidación dichos resultados ya presentan una relevancia estadística de análisis ya que sobrepasan el 50 % de la inhibición y son datos que pueden ser tomados para estudios de mayor indagación, lo que respecta al extracto acetónico ni a una concentración alta de 1000 ppm presenta una inhibición considerable de la oxidación tan solo alcanzo un 9.57% de la inhibición de la oxidación.

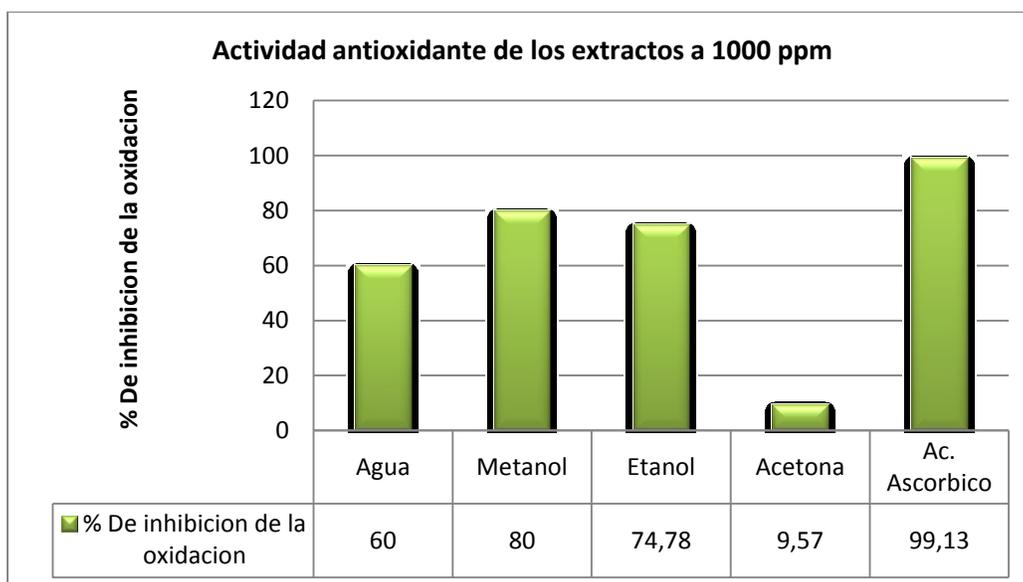


GRAFICO N° 8. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE FRUTOS SECOS Y TRITURADOS DE PUNGAL (*Solanum crinitipes*). 1000 ppm.

El Gráfico N° 8 evidencia de mejor manera la actividad antioxidante de cada extracto utilizado para el ensayo en relación al estándar de Ac. Ascórbico según los datos del Cuadro N° 18.

CUADRO N° 19. ANÁLISIS ESTADÍSTICO ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE FRUTOS SECOS Y TRITURADOS DE PUNGAL (*Solanum crinitipes*). 1000 ppm A UNA LONGITUD DE ONDA DE 420 nm. LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO DEL 2012.

GRUPOS	Agua	Metanol	Etanol	Acetona	Ac. Ascórbico
N	3	3	3	3	3
Media	60.0000	80.0000	74.7800	9.5667	99.1300
Varianza	9.0828	15.8949	2.2707	15.8514	2.2707
Desviación Típica	3.0138	3.9868	1.5069	3.9814	1.5069
Mínimo	58.2600	76.5200	73.9100	6.0900	97.3900
Máximo	63.4800	84.3500	76.5200	13.9100	100.0000

De acuerdo a los datos indicados en el Cuadro N° 19, se puede observar el análisis estadístico para tres repeticiones del ensayo en cada extracto, es como ya fue indicado anteriormente los extractos metanólico, etanólico y acuoso presentan una relevancia estadística de análisis teniendo porcentajes de inhibición de la oxidación de 80%, 74.78% y 60% correspondientemente, el extracto acetónico es el que a pesar de tener una concentración de 1000 ppm presenta una inhibición de la oxidación del 9.5667% que no tiene mayor relevancia dentro del estudio.

Los valores de varianza y desviación típica observados para todos los grupos de ensayo son considerablemente bajos por lo que se garantiza la homogeneidad y centralización de los datos.

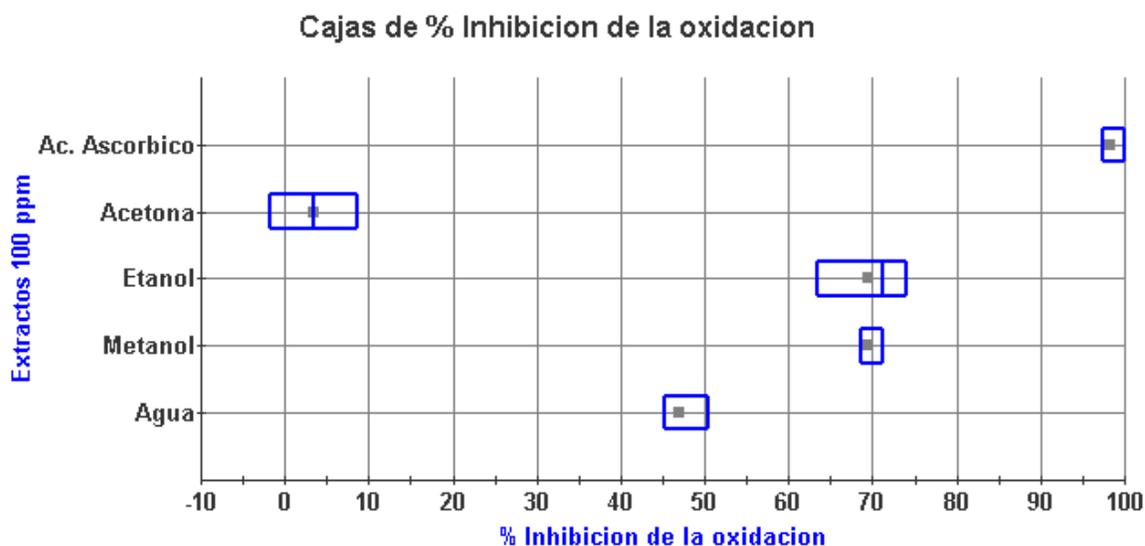


GRÁFICO N° 9. CAJAS DE MEDIAS Y DESVIACIÓN DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE FRUTOS SECOS Y TRITURADOS DE PUNGAL (*Solanum crinitipes*). 1000 ppm.

El gráfico N° 9 expresa de mejor manera la dispersión de los datos dentro de los grupos de análisis y su respectivo porcentaje de inhibición de la oxidación de esta manera tenemos que el extracto metanólico es el mejor el tamaño de su caja es mínimo lo que nos indica la centralización y homogeneidad de los datos, mientras que los extracto que no refleja un comportamiento uniforme es el etanólico y acetónico sus cajas son las más grandes en relación con los otros extractos. El extracto acuoso presentan baja dispersión en sus datos además que su porcentaje de inhibición de la oxidación ahora es relevante estadísticamente esta por sobre el 50%, y el extracto acetónico es el que no presenta un interés estadístico puesto que su porcentaje de inhibición es ínfimo y no tiene importancia.

Estas consideraciones se las realiza tomando en cuenta el comportamiento del estandar Ac. Ascórbico que prácticamente inhibe por completo la exudación.

CUADRO N° 20. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE FRUTOS SECOS Y TRITURADOS DE PUNGAL (*Solanum crinitipes*)". 1000 ppm A UNA LONGITUD DE ONDA DE 420 nm. ANOVA UN FACTOR COMPARACIONES MÚLTIPLES. MÉTODO: TUKEY HSD AL 95.00%. LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO DEL 2012.

TRATAMIENTO	N	Media	Grupos Homogéneos	
Acetona	3	9.5667	X	
Agua	3	60.0000	X	
Metanol	3	74.7800	X	
Etanol	3	80.0000	X	
Ac. Ascórbico	3	99.1300	X	
Entre grupos	P – Valor		0.0007	
Contraste			Diferencia	+/- Límite
Agua VS Metanol			*-20.0000	*8.0951
Agua VS Etanol			*-14.7800	*8.0951
Agua VS Acetona			*50.4333	*8.0951
Agua VS Ac. Ascórbico			*-39.1300	*8.0951
Metanol VS Etanol			5.2200	8.0951
Metanol VS Acetona			*70.1333	*8.0951
Metanol VS Ac. Ascórbico			*-19.1300	*8.0951
Etanol VS Acetona			*65.2133	*8.0951
Etanol VS Ac. Ascórbico			*-24.3500	*8.0951
Acetona VS Ac. Ascórbico			*-89.5633	*8.0951

El cuadro N° 20 nos indica que existe un grupo homogéneo basados en las medias de los datos de los grupos el que corresponde al extracto metanólico y etanólico a excepción de estos dos grupos todos los demás tienen diferencia estadísticamente significativa por lo que tienen que ser analizado de forma individual con respecto al grupo metanólico y etanólico sus medias son muy próximas por lo que se les podría considerar como que tienen una misma acción pero basándonos en la dispersión de sus datos tal aseveración no es cierta ya que el grupo de extracto etanólico posee una muy amplia dispersión en sus datos .

La hipótesis alternativa de las diferencias múltiples es aceptada ya que el p – valor es de 0.0007 menor al límite de descarte de 0.05.

Jerárquicamente los extractos poseen una actividad antioxidante que va desde el extracto metanólico, etanólico, acuoso y finalmente el acetonico relacionados con su capacidad de inhibir la oxidación, tomando como referencia al blanco y agente de comparación el Ac. Ascórbico.

3.5. RELACIÓN ENTRE LA CONCENTRACION DE COMPUESTOS FENOLICOS TOTALES Y LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE FRUTOS SECOS Y TRITURADOS DE PUNGAL (*Solanum crinitipes*).

CUADRO N° 21. RELACION ENTRE LA CONCENTRACION DE COMPUESTOS FENOLICOS TOTALES Y LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE FRUTOS SECOS Y TRITURADOS DE PUNGAL (*Solanum crinitipes*). 1000 ppm. LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO DEL 2012.

Extracto	% Fenoles totales	% Inhibición de la oxidación (1000 ppm)
Acetona 75% a 30°C	3.93	9.57
Agua 90 °C	18.95	60
Etanol 20% a 30°C	9.25	74.78
Metanol 70% a 30°C	6.61	80

El cuadro N° 21 podemos observar la relación existente entre la concentración de los compuestos fenólicos en los extractos y su capacidad de inhibir la oxidación en una concentración de 1000 ppm de extracto:

- El solvente ensayado de Acetona 75% a 30°C presenta una relación directamente proporcional, es el que menos cantidad de compuestos fenólicos totales pudo extraer de una muestra de materia prima seca y triturada de 25 g teniendo un porcentaje de compuestos fenolicos del 3.93% y como consecuencia directa de este resultado su

porcentaje de inhibición de la oxidación enzimática es del 9.57% valores muy bajos y no considerables por su poca significancia estadística.

- Con respecto al solvente Agua 90 °C presenta una relación directamente proporcional de comportamiento medio puesto que su porcentaje de extracción de compuestos fenólicos es del 18.95% el más alto de todos los solventes ensayados pero su porcentaje de inhibición de la oxidación enzimática no es el más alto, presenta un porcentaje de inhibición del 60% estadísticamente significativo, la disminución de su actividad antioxidante con respecto a la cantidad de compuestos fenólicos extraídos es explicado por la saturación de los compuestos f fenólicos extraídos en el momento de la valoración de la actividad antioxidante por inhibición de la oxidación. Ya que el comportamiento directamente proporcional es normalizado en los demás extractos sin alteración por factores de concentración de compuestos fenólicos totales.
- En el ensayo de Etanol 20% a 30°C debido a la influencia de su concentración podemos observar una relación directamente proporcional, la cuantificación de sus compuestos fenolicos totales es comparable con su capacidad de inhibir la oxidación enzimática de tal manera que en este ensayo se evidencia un 9.25% de compuestos fenólicos totales con una actividad antioxidante del 74.78% valores que para el propósito principal del presente estudio tienen una significancia estadísticamente muy relevante.
- Por último el ensayo de Metanol 70% a 30°C también tiene una gran significancia estadística para los propósitos del presente estudio, este solvente presenta una polaridad media eficaz en el momento de la extracción de compuestos fenólicos se logró obtener un 6.61% de compuestos fenólicos totales los mismos que en el momento de valorar su capacidad de inhibición de la oxidación enzimática alcanzaron un 80% de efectividad estableciendo que existe una relación directamente proporcional entre compuestos fenolicos totales y actividad antioxidante. Como puntualización se debe expresar que los dos extractos que presentaron un comportamiento homogéneo en el análisis estadístico de comparaciones múltiples para el ensayo de inhibición de la oxidación

enzimática son los correspondientes a los extractos etanólico y metanólico esto se evidencia en la poca diferencia entre sus porcentajes de actividad antioxidante, la relación homogénea entre estos grupos se debe a su naturaleza química (alcohol) y el equilibrio de su polaridad.

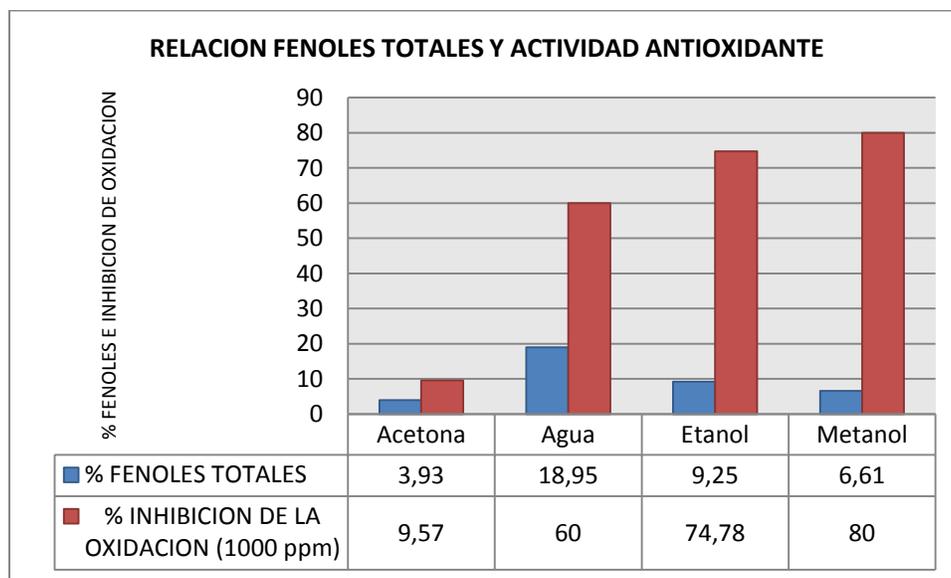


GRÁFICO N° 10. RELACIÓN ENTRE LA CONCENTRACIÓN DE COMPUESTOS FENOLICOS TOTALES Y LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE FRUTOS SECOS Y TRITURADOS DE PUNGAL (*Solanum crinitipes*). 1000 ppm.

El gráfico N° 10 presenta de mejor manera la relación de los compuestos fenólicos totales extraídos en cada solvente ensayado y su correspondiente actividad antioxidante según los datos del Cuadro N° 21.

CAPÍTULO IV

4. CONCLUSIONES

1. Se realizó el control de calidad de frutos secos y triturados de pungal (*Solanum crinitipes*). La materia prima fue adquirida en la provincia de Bolívar, cantón de San Miguel, el mismo que cumplió con los parámetros de calidad requeridos para el presente estudio, los resultados de estas determinaciones se encuentran a partir del Cuadro N° 1 hasta el Cuadro N° 4.
2. En el tamizaje fitoquímico se encontró la presencia de alcaloides, catequinas, saponinas, taninos, triterpenos y/o esteroides, antraquinonas, flavonoides en una concentración elevada, además se identificaron otros compuestos en menor concentración entre los que se encuentran aceites, azúcares reductores, lactonas, cumarinas, y principios amargos demostrados en el Cuadro N° 8, de esta manera evidenciamos la riqueza de compuestos derivados fenolicos los mismos que van a ser responsables de la actividad antioxidante de los distintos extractos que se van a ensayar a partir de frutos secos y triturados de pungal (*Solanum crinitipes*).
3. Al ejecutar los ensayos de extracción de compuestos fenólicos totales con diferentes solventes y condición térmica se determinó que el solvente de mejor accionar en el momento de extraer los compuestos fenolicos de los frutos secos y triturados de pungal (*Solanum crinitipes*), fue el Agua 90 °C ya que por medio de este extracto se pudo lograr una extracción del 18.95 % de compuestos fenolicos totales, y para contrastar con estos resultados se observó que el solvente con menor capacidad de extracción fue el constituido por Acetona 75% a 30°C que tan solo alcanzo un

rendimiento del 3.93% con respecto a los extractos con base Etanol 20% a 30°C, Metanol 70% a 30°C se encontró que obtuvieron un porcentaje de extracción del 9.25% y 6.61% respectivamente valores que son de una importancia significativa para el presente ensayo, estos datos se los describen detalladamente desde el cuadro N° 9 hasta el cuadro N° 11, concluyendo se establece que el solvente de mejor accionar en la extracción de los compuestos fenolicos totales de frutos secos y triturados de pungal (*Solanum crinitipes*), es el constituido por Agua 90 °C obviamente sin dejar de mencionar que los extractos Etanol 20% a 30°C, Metanol 70% a 30°C también presentan un porcentaje de extracción muy considerable

4. Para poder evaluar la actividad antioxidante de los diferentes extractos obtenidos se realizó diluciones de los mismos para poder obtener concentraciones de 10ppm, 100ppm y 1000ppm en el ensayo final junto con los demás componentes para expresar la actividad antioxidante en función de la inhibición de la oxidación enzimática de la polifenoloxidasas, analizando los resultados obtenidos en los distintos ensayos se llega a la conclusión de que los extractos etanólico y metanólico son los de mayor efectividad en la inhibición de la oxidación enzimática alcanzando valores del 74.78% y 80% respectivamente existe una pequeña diferencia en la expresión de sus resultados pero en la descripción y análisis estadístico se los califica como grupos homogéneos es decir que tienen el mismo accionar al momento de evaluar su actividad antioxidante, con respecto al extracto acuoso existe un porcentaje de inhibición de la oxidación del 60% valor estadístico muy significativo aunque no alcanza el porcentaje de los extractos con mayor actividad antioxidante su estudio es de gran relevancia, por último el extracto acetónico es el de peor desempeño puesto que tan solo alcanza un 9.57% de inhibición de la oxidación valor que no tiene una significancia dentro del presente estudio. Al comparar los porcentajes de inhibición de los extractos obtenidos con relación al estandar de ácido ascórbico observamos que el comportamiento del estandar es homogéneo a cualquier concentración y que los extractos ensayados

están muy cerca al valor de inhibición absoluta de la oxidación. Estos datos se los describe detalladamente desde el cuadro N° 12 hasta el cuadro N° 20.

5. Al evaluar la relación entre la concentración de compuestos fenólicos en los distintos extractos y su actividad antioxidante se describe un comportamiento directamente proporcional es decir a mayor concentración de compuestos fenólicos mayor actividad antioxidante, pero hay que realizar una puntualización a pesar de que el extracto acuoso es el de mayor capacidad extractiva de compuestos fenólicos su porcentaje de inhibición de la oxidación enzimática no es el más elevada esto se lo explica debido a la saturación de los compuestos fenólicos que forman macromoléculas reduciendo la actividad total de este extracto a pesar de este fenómeno el extracto acuoso tienen una gran actividad antioxidante, una vez explicado esto tenemos que los extractos metanólico y etanólico presentan un comportamiento similar con respecto a su actividad antioxidante y extracción de compuestos fenólicos seguidos por el extracto acuoso que posee una actividad antioxidante considerable con respecto a los extractos de mayor desempeño es relevante para el presente estudio los resultados obtenidos por este extracto, y finalmente se encuentra el extracto cetónico que posee una pobre extracción de compuestos fenólicos por lo que su actividad antioxidante es ínfima en relación a los otros extractos. Estos datos se encuentran detallados en el cuadro N° 21

CAPÍTULO V

5. RECOMENDACIONES

1. Se recomienda realizar estudios individualizados en las diferentes partes del fruto de pungal (*Solanum crinitipes*) para identificar donde se concentran los compuestos fenólicos y realizar un análisis más exhaustivo reduciendo la posibilidad de algunas interferencias.
2. Para obtener una idea más clara del efecto antioxidante del fruto de pungal (*Solanum crinitipes*) se recomienda realizar un estudio in vivo de tal manera se podría analizar su efecto antioxidante en un sistema biológico sustentable y real así se podrán cotejar los resultados obtenidos en el presente estudio y evaluar rendimientos con probables casos de incremento o disminución de la actividad antioxidante de los frutos de pungal (*Solanum crinitipes*) en un ensayo in vivo.
3. Debido a la gran riqueza de metabolitos secundarios se recomienda realizar un estudio de aislamiento y tratamiento de los compuestos fenólicos de los frutos de pungal (*Solanum crinitipes*) para darles mayor estabilidad y pureza y así ensayar una aplicación tecnológica en cualquier área ya sea alimenticia o farmacéutica como ejemplo.

CAPÍTULO VI

6. RESUMEN

La investigación “Relación entre la actividad antioxidante, y concentración de compuestos fenolicos contenidos en el fruto del pungal (*Solanum crinitipes*)”. Buscó comparar la cantidad de compuestos fenolicos extraídos en diferentes solventes y su actividad antioxidante

Empleando un método experimental deductivo, utilizando frutos de pungal (*Solanum crinitipes*). Acetona, Etanol, Metanol y Agua relación 1 g de planta 10 ml de solvente los ensayos se efectuaron por espectrofotometría uv-visible en el laboratorio de análisis instrumental; Facultad de Ciencias; Escuela Superior Politécnica de Chimborazo periodo de Junio a Julio del 2012.

Para cuantificar los compuestos fenolicos se elaboró una curva de calibración con ácido galico. Para valorar la actividad antioxidante se realizó el método de inhibición de la oxidación enzimática de la polifenoloxidasas de la manzana. Obteniendo los siguientes resultados: Metanol 6.61% fenoles, 80% inhibición; Etanol 9.25% fenoles, 74.78% inhibición; Agua 18.95% fenoles, 60% inhibición y Acetona 3.93% fenoles, 9.57% inhibición. Estos datos fueron analizados estadísticamente mediante la aplicación del programa G-Stat 2.0 usando el método ANOVA un Factor Comparaciones Múltiples. Método: Tukey HSD al 95.00% de sensibilidad.

Concluyendo el extracto Metanólico y Etanólico poseen una actividad similar son grupos homogéneos, y el extracto de menor desempeño es el Acetonico la relación es directamente proporcional entre concentración de compuestos fenolicos y actividad antioxidante.

Demostrando la riqueza en compuestos fenolicos y su gran actividad antioxidante se recomienda continuar los estudios de esta investigación en un sistema in vivo para poder relacionar los datos obtenidos desarrollar técnicas de purificación y establecer potenciales campos de aplicación...

SUMMARY

The research “ Relationship between antioxidant activity and concentration of phenolic compounds contained in the fruit of pungal (*solanum crinitipes*)” seeks to compare the amount of phenolic compounds extracted in different solvents their antioxidant activity by using an experimental deductive method and pungal fruit (*solanum crinitipes*). Acetone, ethanol, methanol and water ratio 1g 10 ml of solvent plant tests were performed by uv-visible spectrophotometry in the Instrumental Analysis Laboratory, Science faculty, Superior Polytechnic School of Chimborazo period June – July 2012.

A calibration curve with gallic acid was elaborated to quantify the phenolic compounds. The inhibition method was applied to evaluate the antioxidant activity of the enzymatic oxidation of apple polyphenoloxidase. The following results were obtained, methanol 6.61% phenol, 80% inhibition; ethanol 9.25% phenol, 74.78% inhibition; water 18.95% phenol, 60% inhibition and acetone 93% phenol, 9.57% inhibition. These data were statistically analyzed by applying the G- Stat 2.0 program by using the method ANOVA a multiple comparisons factor. Method: Tukey HSD to 95.00% sensitivity.

It is concluded that the methanolic and ethanolic extract have similar activity and they are homogeneous groups and the lower performance extract acetone, the relationship between phenolic compounds concentration and antioxidant activity is directly proportional.

The richness in phenolic compounds and high antioxidant activity is demonstrated. It is recommended to further study this research in a live system to relate the data obtained develop purification techniques and establish potential areas of application.

CAPÍTULO VII

7. BIBLIOGRAFÍA

1. **ALONSO, J.**, Tratado de fitofármacos y nutraceuticos., 2a ed., Buenos Aires - Argentina., Editorial Corpus., 2004., Pp. 875-876.
2. **ASPILLAGA, A.**, Detección de compuestos fenolicos antioxidantes en alimentos y evaluación de algunos mecanismos responsables de su biodisponibilidad., Santiago de Chile - Chile., Pontificia Universidad Católica de Chile., 2004., Pp. 27-38.
3. **BARROS, C.**, Los aditivos en la alimentación de los Españoles y la legislación que regula su autorización y uso., 2a ed., Madrid - España., Editorial Visión Libros., 2009., Pp. 66-69.
4. **CUBERO, N., MONFERRER, A., VILLALTA, J.**, Aditivos alimentarios., 1a ed., Madrid - España., Ediciones Editorial Prensa., 2002., Pp. 417, 422, 435-440.
5. **DEANNA, M., y otros.**, Fitoquímica Orgánica., Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico Universidad Central de Venezuela., 2a ed., Caracas - Venezuela., Editorial Torino., 2002., Pp. 214-225

6. **FESTY, D.**, Guía práctica de antioxidantes ¿Qué son? ¿Qué función realizan? ¿Qué beneficios aportan?., Madrid - España., Ediciones Robinbook., 2007., Pp. 158-161.
7. **FLANZY, C.**, Enología Fundamentos Científicos y Tecnológicos., 2a ed., Madrid - España., AMV Ediciones., 2009., Pp. 214-225.
8. **FOGLER, H.**, Elementos de Ingeniería de la reacciones químicas., 3a ed., México Df - México., Editorial Prentice Hall., 2000., Pp. 410-420.
9. **GARCIA, C., SOLIZ, M.**, Manual de fitoterapia., 1a ed., Madrid - España., Elseiver Masson., 2007., Pp. 30-47.
10. **GARCIA, C., SOLIZ, M.**, Manual de fitoterapia., 1a ed., Madrid - España., Elseiver Masson., 2007., Pp. 30-47.
11. **POKOMY, J., YANISHILEVA, N.**, Antioxidantes de los alimentos aplicaciones prácticas vacuancias y ciencias de los alimentos., 1a ed., Madrid - España., Acrabia., 2004., Pp. 135, 147, 156.
12. **TAIZ, N., ZEIGER, E.**, Fisiología Vegetal., Volumen 1., 1a ed., Madrid - España., Universidad Jaume L., 2003., Pp 143-150.
13. **WAGNER, K., BLADT, S.**, Plant Drug Analysis. 2a ed., Berlin - Alemania., Springer., 1996., Pp. 195-210

14. **YOUNGSON, R.**, Antioxidantes y radicales libres., 2a ed., Madrid - España., Editorial EDAF., 1994., Pp. 47-69.

15. **ALMENDARIZ, R.**, Porcentaje de germinación del pungal (*Solanum crinitipes*) probando cuatro tipos de sustratos y cuatro tipos de coberteras., Tesis Ingeniero Agrónomo., Universidad Estatal de Bolívar., Facultad de Ciencias Agropecuarias., Guaranda., Tesis., 2004., Pp. 36, 39, 40, 56.

16. **MONTESDEOCA, G.**, Elaboración y control de calidad de comprimidos fitofarmacéuticos de ajeno (*Artemisia absinthium* L.), romero (*Rosmarinus officinalis* L.) y manzanilla (*Matricaria chamomilla* L.) para combatir la menstruación dolorosa., Tesis Bioquímica y Farmacia., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Facultad de Ciencias., Riobamba., Tesis., 2010., Pp. 47-49, 77.

17. **PALADINO, S.**, Actividad antioxidante de los compuestos fenolicos contenidos en las semilla de la vid (*Vitis vinífera*., Tesis Maestría en Alimentos., Mendoza., Universidad Nacional de Cuyo., Facultad de Ciencias Agrarias., Mendoza – Argentina., Tesis Pp. 85, 87 , 95-115, 120, 135

18. **PILCO, G.**, Comprobación del efecto adelgazante de la tintura de apio (*Apiumgraveolens*) y el perejil (*Petroselinumsativum*) en voluntarios con sobrepeso., Tesis Bioquímica y Farmacia., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Facultad de Ciencias., Riobamba., Tesis., 2012., Pp. 32, 33, 35-48.

19. **REDROBÁN, K.**, Comprobación del efecto cicatrizante de los extractos hidroalcohólico de berro (*Nasturtium officinale*) y llantén (*Plantago major*) en ratones (*Mus musculus*)., Tesis Bioquímica y Farmacia., Escuela Superior

Politécnica de Chimborazo., Facultad de Ciencias., Riobamba., Tesis., 2012., Pp. 43, 46, 47, 52.

- 20. TORRES, M.,** Determinación de la actividad antioxidante de los extractos clorofórmico, etanólico y acuoso del arrayan, calaguala. canayuyo, y tipoi.. Tesis Bioquímica y Farmacia., Escuela Superior Politécnica de Chimborazo., Facultad de Ciencias., Riobamba., Tesis., 2012., Pp. 35, 46, 48, 53, 65-72, 74.

BIBLIOGRAFÍA DE INTERNET

- 21. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE 45 HIERBAS CHINAS Y RELACIÓN CON SUS CARACTERÍSTICAS EN MEDICINA TRADICIONAL CHINA.**

<http://www.e-digitalis.com/articles.php?id=125>

2012/07/21

- 22. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE PLANTAS MEDITERRÁNEA.**

<http://tesis.com.es/documentos/actividadantioxidanteplantasdistribucion-mediterranea-aislamiento-identificacion-aplicaciones/>

2012/08/22

- 23. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE** plantas salvajes mar negro de Turquía

<http://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=3138831>

2012/07/27

- 24. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE IN VITRO DE EXTRACTOS DE TALLOS DE *POLYGALA* SP.**

[http://www.Actividad antioxidante in vitro de extractos de tallos de Polygala sp.](http://www.Actividad%20antioxidante%20in%20vitro%20de%20extractos%20de%20tallos%20de%20Polygala%20sp.)

2012/08/23

25. ANTIOXIDANTES

<http://buenasalud.net/2012/09/27/importancia-de-los-antioxidantes-naturales.html#>

2012/06/22

26. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE HOJAS DE GINKGO.

<http://upcommons.upc.edu/pfc/bitstream/2099.1/10636/1/PFC>

2012/06/22

27. COMPUESTOS FENOLICO (Polifenoles) Buenavida.

<http://www.buenavida.com.mx/2009/09/compuestos-fenolicos-polifenoles/>

2012/07/09

28. COMPUESTOS FENÓLICOS

<http://clubensayos.com/Ciencia/CompuestosFen%C3%B3licos/201368.html>

2012/07/20

29. COMPUESTOS FENOLICOS

<http://es.scribd.com/doc/92520307/COMPUESTOS-FENOLICOS>

2012/08/21

30. COMPUESTOS FENÓLICOS DEL ACEITE DE OLIVA VIRGEN

<http://www.elsevier.es/es/revistas/clinica-investigacionarteriosclerosis-15/interaccion-los-compuestos-fenolicos-aceite-oliva-virgen90057809-originales-2011>

2012/07/28

31. COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES

<https://research.cip.cgiar.org/confluence/pages/viewpage.action?pageId=33456>

246

2012/05/12

32. ESTUDIO DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN TOMATES

http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S18517162007000200008&script=sci_arttext

2012/08/01

33. ESTUDIO DE LOS COMPONENTES ANTIOXIDANTES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN TOMATES

http://www.scielo.org.ar/scielo.php?pid=S185117162007000200008&script=sci_arttext

2012/08/05

34. ETNOBOTÁNICA EN LOS ANDES DEL ECUADOR

<http://profesores.usfq.edu.ec/fdelgado/Ecologia%20Humana/articulosdigitales/>

2012/05/01

35. EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y ANALISIS DEL CONTENIDO DE COMPUESTOS FENÓLICOS EN EXTRACTOS DE MACROALGAS DEL CARIBE COLOMBIANO

http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S012140042009000100015&script=sci_arttext

2012/05/28

36. EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE SIETE PLANTAS MEDICINALES PERUANAS

http://www.medicina.usmp.edu.pe/horizonte/2008_I/Art4_Vol8_N1.pdf

2012/05/26

37. FITOTERAPIA

<http://cengallei.files.wordpress.com/2008/03/xurdimento-febreiro-2008-2-de-7.pdf>

2012/08/01

38. INVESTIGACIÓN DE LOS ANTIOXIDANTES DEL TOMILLO

[http://repositorio.bib.upct.es/dspace/bitstream/10317/159/2/proyecto%](http://repositorio.bib.upct.es/dspace/bitstream/10317/159/2/proyecto%20)

2012/06/30

39. LA ETNOBOTÁNICA EN EL ECUADOR

<http://www.biologia.puce.edu.ec/imagesFTP/2878.Etnobotanica.pdf>

2012/05/12

40. POLIFENOLES, ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE,

<http://www.neotropico.net/spanish/Noticias/NoticiaMuestra.asp?Id=10>

2012/07/29

41. QUÍMICA DE SOLANUM VERBASCIFOLIUM L

[http://www.tlalpan.uvmnet.edu/oiid/download/Qu%C3%ADmica%](http://www.tlalpan.uvmnet.edu/oiid/download/Qu%C3%ADmica%20)

2012/06/24

42. RADICALES LIBRES, ANTIOXIDANTES NATURALES

http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S071804622006000200010&script=sci_arttext

2012/07/25

43. VEGETACIÓN DEL PARQUE NACIONAL LLANGANATES

<http://www.ibcperu.org/doc/isis/6588.pdf>

2012/05/08

CAPÍTULO VIII

8. ANEXOS

ANEXO N° 1 MATERIA PRIMA



FOTOGRAFÍA N° 2 frutos de pungal (*Solanum crinitipes*)



FOTOGRAFÍA N° 3 frutos secos y triturados de pungal (*Solanum crinitipes*)

ANEXO N° 2 EQUIPOS USADOS EN EL CONTROL DE CALIDAD DE LA MATERIA PRIMA



FOTOGRAFÍA N° 4 Balanza Analítica



FOTOGRAFÍA N° 5 Estufa



FOTOGRAFÍA N° 6 Mufia



FOTOGRAFÍA N° 7 Desecador

**ANEXO N° 3 EQUIPOS USADOS EN EL CONTROL DE CALIDAD DEL EXTRACTO
HIDROALCOHOLICO**



FOTOGRAFÍA N° 8 pH-metro



FOTOGRAFÍA N° 9 Refractómetro

**ANEXO N° 4 EQUIPOS USADOS EN LA ELABORACION DE LOS EXTRACTOS CON
DISTINTOS SOLVENTES**



FOTOGRAFÍA N° 10 Obtención de extractos por reflujo.

**ANEXO N° 5 EQUIPOS USADOS EN LA CUANTIFICACION DE COMPUESTOS FENOLICOS Y
ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.**



FOTOGRAFÍA N° 11 Espectrofotómetro

ANEXO N° 6 TAMIZAJE FITOQUÍMICO



FOTOGRAFÍA N° 12 Ensayo de la espuma. Frutos de pungal (*Solanum crinitipes*)



FOTOGRAFÍA N° 13 Ensayo de Dragendorff. Frutos de pungal (*Solanum crinitipes*)



FOTOGRAFÍA N° 14 Ensayo de Shinoda. Frutos de pungal (*Solanum crinitipes*)



FOTOGRAFÍA N° 15 Ensayo de Borntrager. Frutos de pungal (*Solanum crinitipes*)

ANEXO N° 7. BASE DE DATOS CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENOLICOS TOTALES EN LOS EXTRACTOS DE FRUTOS SECOS Y TRITURADOS DE PUNGAL (*Solanum crinitipes*).

CUADRO N° 22. DATOS DE CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENOLICOS TOTALES EN LOS EXTRACTOS DE FRUTOS SECOS Y TRITURADOS DE PUNGAL (*Solanum crinitipes*). A UNA LONGITUD DE ONDA DE 765 nm. LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO DEL 2012.

CONCENTRACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS							
Extractos	Absorbancia	Promedio	ug Fenoles/ml Extracto	Promedio	g Fenoles/g materia seca	Promedio	% Fenoles
Acetona 75% a 30°C	0,959	0,962	39,148	39,268	0,039	0,039	3,93
	0,964		39,372		0,039		
	0,962		39,283		0,039		
Etanol 20% a 30°C	0,909	0,911	36,906	36,981	0,092	0,092	9,25
	0,912		37,040		0,093		
	0,911		36,996		0,092		
Metanol 70% a 30°C	0,974	0,971	39,821	39,671	0,066	0,066	6,61
	0,967		39,507		0,066		
	0,971		39,686		0,066		
Agua 90 °C	0,933	0,931	37,982	37,892	0,190	0,189	18,95
	0,929		37,803		0,189		
	0,931		37,892		0,189		

Cálculos para determinar la concentración de los compuestos fenólicos por gramo de muestra. Cada solvente tiene su propio factor de dilución en función de la curva de calibración.

$$\text{Fenoles Acetona} = \frac{39.148 \text{ ug}}{\text{ml}} * \frac{25 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} * \frac{100 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} * \frac{250 \text{ ml}}{25 \text{ g fruto}} * \frac{1 \text{ g}}{1 \times 10^6 \text{ ug}} = 0.039 \text{ g / g fruto}$$

$$\text{Fenoles Etanol} = \frac{36.906 \text{ ug}}{\text{ml}} * \frac{25 \text{ ml}}{2 \text{ ml}} * \frac{100 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} * \frac{250 \text{ ml}}{25 \text{ g fruto}} * \frac{1 \text{ g}}{1 \times 10^6 \text{ ug}} = 0.092 \text{ g / g fruto}$$

$$\text{Fenoles Metanol} = \frac{39.821 \text{ ug}}{\text{ml}} * \frac{25 \text{ ml}}{3 \text{ ml}} * \frac{100 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} * \frac{250 \text{ ml}}{25 \text{ g fruto}} * \frac{1 \text{ g}}{1 \times 10^6 \text{ ug}} = 0.066 \text{ g / g fruto}$$

$$\text{Fenoles Agua} = \frac{37.982 \text{ ug}}{\text{ml}} * \frac{25 \text{ ml}}{1 \text{ ml}} * \frac{100 \text{ ml}}{5 \text{ ml}} * \frac{250 \text{ ml}}{25 \text{ g fruto}} * \frac{1 \text{ g}}{1 \times 10^6 \text{ ug}} = 0.190 \text{ g / g fruto}$$

ANEXO N° 8. BASE DE DATOS ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE FRUTOS SECOS Y TRITURADOS DE PUNGAL (*Solanum crinitipes*).

CUADRO N° 23. DATOS ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE FRUTOS SECOS Y TRITURADOS DE PUNGAL (*Solanum crinitipes*)". A UNA LONGITUD DE ONDA DE 420 nm. LABORATORIO DE ANÁLISIS INSTRUMENTAL. FACULTAD DE CIENCIAS. ESPOCH. JULIO DEL 2012.

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE FRUTOS SECOS Y TRITURADOS DE PUNGAL (<i>Solanum crinitipes</i>)					
Extractos	Concentración	Ab/min (Actividad)		% Inhibición de la oxidación	% Inhibición Promedio
Blanco		0.038	0,038	0	0
		0.039			
		0.038			
Agua	1000 ppm	0,016	58,261	60,00	
		0,014	63,478		
		0,016	58,261		
	100 ppm	0,021	45,217	46,96	
		0,019	50,435		
		0,021	45,217		
	10 ppm	0,025	34,783	38,26	
		0,023	40,000		
		0,023	40,000		
Metanol	1000 ppm	0,006	84,348	80,00	
		0,008	79,130		
		0,009	76,522		
	100 ppm	0,011	71,304	69,57	
		0,012	68,696		
		0,012	68,696		
	10 ppm	0,021	45,217	53,91	
		0,017	55,652		
		0,015	60,870		
Etanol	1000 ppm	0,010	73,913	74,78	
		0,009	76,522		
		0,010	73,913		
	100 ppm	0,010	73,913	69,57	
		0,011	71,304		
		0,014	63,478		
	10 ppm	0,015	60,870	60,00	
		0,016	58,261		
		0,015	60,870		

Acetona	1000 ppm	0,035	8,696	9,57
		0,033	13,913	
		0,036	6,087	
	100 ppm	0,039	-1,739	3,48
		0,037	3,478	
		0,035	8,696	
	10 ppm	0,036	6,087	0,87
		0,039	-1,739	
		0,039	-1,739	
Ac. Ascórbico	1000 ppm	0,001	97,391	99,13
		0,000	100,000	
		0,000	100,000	
	100 ppm	0,000	100,000	98,26
		0,001	97,391	
		0,001	97,391	
	10 ppm	0,000	100,000	97,39
		0,002	94,783	
		0,001	97,391	