

Universidad Nacional Pedro Henríquez Ureña

UNPHU



Facultad de Ciencias y Tecnología

Escuela de Química

“Determinación de la capacidad antioxidante de los extractos de los frutos verdes de Genipa americana L. de República Dominicana”

Trabajo de grado presentado por

Ramón Alonso Pérez Romero

Rosa Elba Veloz Quezada

Para la obtención del grado de

Ingeniero Químico

Santo Domingo, D.N. 2016

ÍNDICE

AGRADECIMIENTOS.....	I
DEDICATORIAS.....	VI
INTRODUCCIÓN.....	IX
OBJETIVOS.....	XII
JUSTIFICACIÓN.....	XIII
.	
PRIMERA PARTE	
FUNDAMENTOS TEÓRICOS.....	1
CAPÍTULO I: ANTECEDENTES.....	2
I.1 Genipa americana L.	2
I.2 Usos comunes de la especie	4
I.3 Valor nutricional.....	5
I.4 Composición química	7
I.5 Estudios sobre la especie	8
CAPÍTULO II: CONCEPTOS.....	10
II.1 Antioxidantes	10
II.1.1 Clasificación de los antioxidantes	10

II.2 Oxidación.....	12
II.2.1 Radicales libres.....	13
II.2.2 Estrés oxidativo.....	14
II.2.3 Mecanismo general de los antioxidantes	15
II.3 Capacidad antioxidante	16

SEGUNDA PARTE

MÉTODOS, INSTRUMENTOS, EXPERIMENTOS Y RESULTADOS	19
--	----

CAPÍTULO III: MÉTODOS E INSTRUMENTOS.....	20
---	----

III.1 Lugar de la investigación	20
---------------------------------------	----

III.2 Selección de la especie	21
-------------------------------------	----

III.3 Preparación de la muestra	21
---------------------------------------	----

III.3.1 Secado	21
----------------------	----

III.3.2 Extracción	23
--------------------------	----

III.3.2.1 Extracción Soxleth	25
------------------------------------	----

III.3.2.2 Extracción por reflujo	28
--	----

III.3.2.3 Extracción por maceración	29
---	----

III.4 Determinación de la capacidad antioxidante por el método DPPH● (1,1-Difenil-2-picrilhidrazilo)	34
--	----

CAPÍTULO IV: EXPERIMENTOS Y RESULTADOS.....	36
---	----

IV.1 Secado	37	
IV.2 Elección del solvente.....	37	
IV.3 Extracción	38	
IV.4 Determinación de la concentración del extracto	39	
IV.5 Determinación de la capacidad antioxidante	40	
IV.6 Comparación de los valores obtenidos	41	
TERCERA PARTE		
CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	43	
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES.....		44
CAPITULO VI: RECOMENDACIONES.....		45
CUARTA		
PARTE REFERENCIAS	46	
CAPITULO VII: REFERENCIAS		47
QUINTA PARTE		
ANEXOS.....	50	
ANEXO I: FOTOGRAFIAS.....	51	
Genipa americana.....	51	

Parte experimental	53
ANEXO II: Figuras	60
Figura 1. Áreas de distribución de la Genipa americana L.....	60
Figura 2. Fruto verde Genipa americana L.....	60
Figura 3. Descripción de Genipa americana L.....	61
Figura 4. Usos de la Genipa americana L.....	61
Figura 5. Ejemplos de antioxidantes según su clasificación	62
Figura 6. Clasificación de los modelos de ensayo in vitro según su modo de reacción ET o HAT.....	62
Figura 7. Reacciones para la determinación de capacidad antioxidante de ensayos ET y HAT	64
Figura 8. Extractor Soxleth.....	64
Figura 9. Diagrama de equipo para extracción por reflujo	64
Figura 10. Ventajas y desventajas entre la maceración en frío y caliente.	65
Figura 11 Diagrama de preparación de la muestra previo a la extracción	66
Figura 12. Estructura del DPPH antes y después de la reacción con el antioxidante.....	67
Figura 13. Comparación de la capacidad antioxidante entre frutos maduros y frutos verdes de Genipa americana L.....	67
Figura 14. Curva de calibración Trolox.....	68

Figura 15. Relación entre la capacidad antioxidante (AA%) y el In de la concentración ($\mu\text{g/ml}$) para cada uno de los extractos metanólicos y para solución patrón de Ginkgo Bilboa.....	68
Figura 16. Mecanismo propuesto para la reacción de formación de pigmento azul en la Jagua.....	69
Figura 17. Iridoides aislados en la Genipa americana L.....	70
ANEXO III: Tablas	71
Tabla 1. Análisis alimentario por cada 100g de pulpa comestible.....	71
Tabla 2. Punto de ebullición de solventes comúnmente utilizado.....	72
Tabla 3. Comparación de la capacidad antioxidante entre frutos maduros y frutos verdes de genipa americana l.....	73
Tabla 4. Relación de la concentración Trolox y porcentaje de capacidad antioxidante.....	73
Tabla 5. Valores de actividad antioxidante (%aa) en CE_{50} para los extractos metanolicos y para el patrón ginkgo biloba analizados con DPPH.....	74
Tabla 6. Determinación de la concentración del extracto	75
ANEXO IV: Glosario.....	76

Agradecimientos

A **Crystal Reyes**, simplemente sin tenerte a mi lado no visualizaba la culminación de esta etapa, estás en mis logros y fracasos, motivándome, brindándome todo tu apoyo incondicional y esfuerzo inagotable, siempre sacando a relucir mi mejor versión. Gracias a ti he logrado lo que me he propuesto, le has dado un giro de 180 grados a mi vida. Creo que nunca encontraré palabras para expresar todo lo que significas para mi vida, por lo que espero que mis acciones hablen por mí y sientas orgullo de lo que has logrado en mi persona. Gracias por acompañarme en las buenas, en las malas y en todo aquello que no se puede categorizar, te amo.

A mi familia y en especial a mis madres: Ingrid, Iliana, Rosanna. Porque creo que soy la única persona en el mundo con tres madres y los beneficios que eso conlleva.

Mis hermanos por elección Carlos, Joel, Juan Miguel (Yaku), que de algún modo u otro contribuyeron y motivaron para la finalización de este interés personal.

A más que compañeros, mis amigos: Ramón, Winter, Emil, Josué, Laura, Rosa, ustedes facilitaron el camino, ya que contagiaron su compromiso, dedicación y energía para la culminación de este proyecto. En especial a Ramón Sánchez y familia, por su ayuda desinteresada y motivación en la elaboración y culminación de este trabajo.

A todos y cada uno de aquellos profesores que formaron parte de este proceso formativo: Newton, María Alexia, Herrera, Jeanne, Sanlley, Nurys, Elizabeth, Omayra, Porfirio, Sandra, Rafael, Maribel, Tahimy, Jesús Gilberto, Doña Mayra, Josefina y Doris; en general a todo el profesorado y miembro del departamento de química.

En especial quisiera agradecer a Josefina Castillo y Doris Peña, que además de cumplir el rol de maestras, actuaron desde el primer y hasta el último momento como nuestras madres.

A nuestras asesoras, Josefina Castillo y Milagros Patricia López, por el esfuerzo e interés mostrados para la realización de este trabajo de grado.

Ramón Pérez

Agradecimientos

En primer lugar, agradezco a Dios todo poderoso por permitirme realizar este sueño tan anhelado.

A mi madre Yubani Alt. Quezada Figueroa, sin ti mami hoy no fuera la Ingeniera que siempre soñé, gracias por ser unos de los pilares más importantes de mi vida, por mostrarme que el saber no pesa y que siempre piense en volar alto para que así con esfuerzo pueda lograr mis metas.

A mi padre Felipe de Jesús Veloz Sosa y mis hermanos Carlos Jesús, Felipe Rainier y Yesenia Alt. Veloz Quezada que con su empeño, paciencia y apoyo de manera incondicional me han permitido lograr el día de hoy subir un escalón más en mi vida profesional.

A mi esposo Héctor S. De Jesús Jiménez por tu apoyo desde el principio de mi carrera y a mi hijo Ramsés De Jesús Veloz que desde el vientre me acompañó en todo este transcurso del este trabajo de investigación.

A mi amigo de alma Yvan López por siempre estar ahí para mí en los momentos más difíciles.

A mis abuelas por siempre estar ahí en los momentos cuando más necesite un consejo de experiencia.

A mis tíos Fernando Figueroa, Wande Quezada. A mi primo Luis Fernando Figueroa por su apoyo.

A Antonio Santos y mi tía Jesusita Veloz por recibirme en su casa en los primeros 15 días de mi carrera.

A Antonio Tejada, Gregorio de la Rosa, Ángela de la Rosa, Carlos Montero por su apoyo.

A mi maestra Josefina Castillo Silva por sus enseñanzas y consejos, por ser para mí una figura materna cuando me encontraba lejos de mi madre, gracias mil por demostrarme que todo esfuerzo vale la pena y por tantos consejos que me ayudaron a crecer tanto como estudiante como persona.

A mi directora Doris Peña por ser una excelente maestra y directora que me guio durante mis estudios en esta alta casa de estudios, sentando en mi las primeras bases y posteriormente las bases finales de un buen Ingeniero Químico, recibiendo sus más estrictas enseñanzas para que hoy seamos Ingenieros bien preparados para que incursionemos en el mundo de hoy.

A nuestros asesores Patricia López y Josefina Castillo por guiarnos durante este trabajo de investigación que sin ustedes no hubiese sido posible.

A mi compañero de tesis Ramón A. Pérez, por acompañarme a realizar este trabajo de investigación.

A mis demás compañeros Ramón A. Sanchez, Josué Peña, Laura Rivera, Luis Emilio Winter, Wander Yamil Pérez, Jarolin De los Santos, Onaldi Rodríguez por acompañarme durante todo el transcurso de mi carrera.

Rosa Veloz

Dedicatoria

Dedico este trabajo de grado a todas aquellas personas que de manera indirecta o directa formaron parte en esta etapa de mi vida, en especial a dos personas Crystal Reyes y mi abuelo Ramón Pérez Martínez, el cual espero vea cumplido en mi persona el sueño de haber cursado esta carrera.

Ramón Pérez

Dedicatoria

Dedico este trabajo de investigación en primer lugar a Dios por darme la fortaleza para poder culminar esta meta tan importante, a mi familia de manera especial, a mi madre, a mi hermano Carlos y mi hijo Ramsés por ser mi inspiración y mi fuerza para poder llegar a la etapa final de mi carrera con éxito.

Rosa Veloz

INTRODUCCIÓN

Introducción

A través del tiempo el ser humano ha dado uso a extractos provenientes de la flora que le rodea, los que aún no eran comprendidos en su totalidad, han reportado a través de la historia beneficios a su salud. La comunidad científica se ha dado a la tarea de confirmar y determinar estas aseveraciones mediante el uso de distintos métodos analíticos, los cuales no solo determinan la eficacia de estos extractos, sino que además determinan sus distintas propiedades físico-químicas, con el fin de que puedan ser utilizadas de la manera más efectivamente posible.

Dentro de este gran grupo se encuentra la especie conocida como *Genipa americana* L. (Jagua), la cual es un árbol nativo del bosque amazónico, donde sus flores, frutos e inclusive su tronco, son usados desde la construcción de hogares hasta la elaboración de colorantes a partir de sus extractos, los que además son utilizados con fines médicos-farmacológicos, ya que a partir de la identificación de sus diversos componentes se ha confirmado que estos pudiesen contribuir de alguna manera al desarrollo de nuevos medicamentos.

En este proyecto se evaluará la actividad antioxidante de los extractos de frutos verdes de *Genipa americana* L. obtenidos por distintos métodos, determinando así el procedimiento más apropiado para dicha extracción y posterior comparación, así como, usos que podrían tener los extractos de este vegetal.

La estructura del trabajo la conforman cinco partes, divididas en capítulos, la primera que abarca los capítulos I y II se desarrollarán los antecedentes y conceptos respectivamente, en éstos se mencionarán los aspectos del fruto a estudiar y conceptos tales como antioxidantes, especies oxidantes, capacidad antioxidante, entre otros. La segunda parte conformada por los capítulos III y IV, donde se describe los métodos e instrumentos utilizados para la obtención del extracto y su posterior evaluación de su capacidad antioxidante. La tercera; capítulo V y VI, trata las conclusiones y recomendaciones. La cuarta y quinta parte recogen las referencias y anexos en los capítulos VII y VIII respectivamente.

OBJETIVOS

Objetivos

Objetivo General

- Determinar la capacidad antioxidante de los extractos de frutos verdes de la Genipa americana L.

Objetivos Específicos

- Indicar el método de extracción más apropiado entre: maceración, reflujo y Soxleth.
- Obtener el extracto de frutos verdes de Genipa americana L.
- Determinar la capacidad antioxidante del extracto obtenido.
- Comparar los resultados obtenidos sobre capacidad antioxidante de frutos verdes con valores ya reportados sobre los frutos maduros.

Justificación

La República Dominicana es un país que no queda rezagada en el interés por la investigación de sustancias naturales provenientes de vegetales; que en los últimos años presenta un evidente crecimiento debido al descubrimiento de compuestos que presentan beneficios a la salud humana, asimismo este aumento en las investigaciones es debido a la percepción del consumidor de que las sustancias naturales a diferencia de las sintéticas no presentan resultados adversos al ser consumidas.

Nuestro país cuenta con una amplia biodiversidad y es pertinente el estudio de estas sustancias en relación a la posible aplicación en mejoras de la salud de los habitantes de nuestra nación, ya que se presentan patrones de alta incidencia de enfermedades relacionadas con la deficiencia de antioxidantes, siendo una de estas el cáncer, el cual representa la tercera causa de mortalidad en nuestro país, en donde 15 de cada 100 personas fallecen a causa de esta enfermedad.

Es debido a las razones anteriormente mencionadas por lo que es necesario buscar nuevas opciones para la resolución de los problemas planteados y la realización de este trabajo de investigación.

PRIMERA PARTE
FUNDAMENTOS TEÓRICOS

CAPITULO I: ANTECEDENTES

I.1 Genipa americana L

La Genipa americana, también conocida como Huito, Caruto, en nuestro país como Jagua, se encuentra ampliamente distribuida en el área tropical y subtropical de América Latina, en países de donde es nativa o ha sido introducida, un área que va desde México y toda la región de América del Sur, incluyendo la región del Caribe, con la excepción de Jamaica. Se cree que es procedente de la región noreste de América del Sur, con especial distinción la región del Amazonas.

Fig. 1. Áreas de distribución de la Genipa americana L.



Fuente: Francis & Carol, 2000

El árbol muestra preferencia a suelos que posean un pH ligeramente ácido, arcilloso y con buen contenido de nutrientes, aunque se debe destacar que puede crecer en un amplio rango de suelos; soporta un índice de precipitación que va desde 800 a 4,500 mm y una temperatura promedio de entre 18 y 28 °C, crece en elevaciones que van desde el nivel del mar hasta los 1,200 metros. La Genipa americana es un árbol que oscila entre 8 a 20 m de altura, sin embargo, se encuentran especímenes de hasta 30 metros. El diámetro del tronco es de 30 a 80 cm y posee una corteza gruesa y suave.

Fig. 2. Fruto verde Genipa americana L.



Fuente: Perez & Veloz, 2016

Su fruto es grande, tipo baya, de 9 a 15 cm de largo, 7 a 9 cm de ancho, con un peso entre 200 y 400 g; tiene una cáscara delgada y corrugada de 1 a 2 cm de espesor, y su pulpa es de color amarillo-marrón. La cavidad central contiene hasta 300 semillas, encerradas en las membranas, las cuales son duras, planas y de color marrón oscuro.

Fig. 3. Descripción de *Genipa americana* L.

Familia	Rubiciae
Género	Genipa
Especie	Americana
Nombres Comunes	Jagua, juito, huito y genipa (en Latinoamérica y áreas españolas), genipap y genipa (inglés), bois de fer (francés) y genipapo (portugués)

Fuente: UNCTAD, 2005

I.2 Usos comunes de la especie

Tradicionalmente, muchas de las partes del árbol han sido utilizadas y convertidas en colorantes, siropes, ingredientes de uso farmacéutico, fungicidas, bebidas, licores, antibióticos; entre otros usos. Estas prácticas se dieron inicialmente en áreas remotas de Latinoamérica, específicamente en el Amazonas.

Los principales usos de la especie han sido la utilización de madera para hacer leña, construcción de casas y elaboración de muebles; la corteza de la que se extraen taninos; su fruta que no posee un valor comestible, aunque se le atribuyen propiedades medicinales, especialmente como un recurso natural alto en hierro, rivoftabina (vitamina B2), sustancias antioxidantes y antibacteriales.

En la siguiente tabla se hace un detalle de los usos por cada uno de sus componentes utilizables.

Fig. 4. Usos de la Genipa americana L.

A. Madera	<ul style="list-style-type: none">• Combustible: leña, carbón• Construcción: construcción rural• Herramientas agrícolas: brazo de arado, mango para herramientas• Maderable: cajas, culatas, arcos de barriles, carretas, entre otros...
B. Corteza	<ul style="list-style-type: none">• Curtiente: curtiente de cueros• Medicinal: infusión empleada para el remedio de la gonorrea
C. Flor	<ul style="list-style-type: none">• Aromatizante: extracción de aceites esenciales para elaboración de fragancias• Melífera: apicultura
D. Fruto	<ul style="list-style-type: none">• Colorantes: tinte negro• Comestible: elaboración de dulces, bebidas refrescantes y fermentadas• Insecticida: utilizada por los indígenas como repelente de insecto (debido a su contenido de fenoles)• Medicinal: astringentes, antiinflamatorias y anti anémicas

Fuente: Perez & Veloz, 2016

I.3 Valor nutricional

La escasez de información de carácter investigativo sobre las características químicas del fruto, dificulta la comparación de estos valores, por lo que se tomará como referencia la investigación patrocinada por las Naciones Unidas en el año 2005 titulada “*United Nations Conference on Trade and Development*”, la cual reúne información sobre

los países en los que se encuentra la *Genipa americana* L. y presenta valores ya promediados de toda la región. Lo cual supone que debido a los diferentes medios (suelo, pH e índice de precipitación) en que se puede encontrar este fruto el mismo tendrá una variación en su composición, en esta investigación se presentan parámetros como porcentaje de humedad, carbohidratos, proteínas, lípidos y calorías, además de esto también se muestra la cuantificación de fibra dietética, calcio, fósforo, hierro, vitamina B, vitamina B2, vitamina C (ácido ascórbico), por lo que se asume que presentará una aproximación más realista en cuanto a lo que pudiésemos hallar en nuestro país, debido a que no se han realizado investigaciones de rigor científico a este fruto.

El porcentaje de humedad obtenido por distintas investigaciones fueron de aproximadamente entre un 65-75%, lo que respalda los parámetros establecidos por las Naciones Unidas, asimismo se reportaron valores de 20.53% de carbohidratos, siendo estos los mayores contribuyentes a las calorías aportadas por esta fruta que es de aproximadamente 99 kilocalorías por cada 100 gramos de fruto (99kcal/100g), esto debido a un bajo valor en lípidos y proteínas, siendo los primeros de 1.60% y los últimos de solo un 0.67%. (Djerassi, Gray, & Kincl, 1960) (Barbosa, 2008) (Sousa & Zerlotti, 2014).

La siguiente tabla presenta el valor nutricional por cada 100g de pulpa comestible del fruto *Genipa americana* L.

Tabla.1. ANÁLISIS ALIMENTARIO POR CADA 100G DE PULPA COMESTIBLE

Calorías	113
Humedad	67.6 g
Proteínas	5.2 g
Lípidos	0.3 g
Glicerina	25.7 g
Fibra	9.4 g
Cenizas	1.2 g
Calcio	40.0 mg
Fósforo	58.0 mg
Hierro	3.6 mg
Vitamina B	0.04 mg
Vitamina B2	0.04 mg
Niacina	0.50 mg
Ácido Ascórbico	33.0 mg

Fuente: UNCTAD, 2005

I.4 Composición química

Los investigadores han mostrado un gran interés en el estudio de la constitución química de la Genipa americana L. y en general de las gardenias, como resultados se han reportado efectos al bienestar del ser humano, al haber ensayado con componentes procedentes del metabolismo secundario de las plantas y/o vegetales, tales como iridoides, monoterpenos, compuestos fenólicos, vitaminas, entre otros.

A continuación, se muestra en detalle algunos de los compuestos aislados e identificados en la actualidad de la *Genipa americana* L.:

- **Lípidos:** ácidos grasos y fitoesteroides como la ergosta-4, 6,22-trieno, 4,4-dimetilcolesta-6,22,24-trieno, β -sitosterol, tremulona, campesterol y estigmasterol.
- **Compuestos fenólicos:** 6,7-dimetóxi-cumarina, taninos.
- **Iridoides:** genipósido, ácido genipínico, tarenosídeo, gardenosídeo, gardenodiol, shanzhisídeo, éster acetílico de ácido desacetilasperulosídico, entre otros.
- **Monoterpenoides:** genipacetal, genipanol
- **Compuestos volátiles:** 2,4-octadieno, estireno, heptadienal, 2,3-dimetil-2-ciclopenteno-1-ona, ácido hexanóico, nonanol, octanoato de metilo, metilbenzaldeído, ácido octanóico, ácido 2-metil-butanóico.
- **Alcaloides:** cafeína.
- **Ácidos y alcoholes orgánicos:** manitol, ácido tartárico.
- **Otros:** hidantoína.

I.5 Estudios sobre la especie

La *Genipa americana* se caracteriza por la presencia de iridoides (ver Anexo II), estos conforman el grupo más grande de monoterpenoides y se caracterizan por tener en su estructura un anillo ciclopentan-dihidropirano. Se pueden clasificar como no glicosilados, glicosilados y secoiridoides. (Sousa & Zerlotti, 2014).

De estos el que en mayor proporción se encuentra es la genipina; la cual fue aislada por primera vez en Brasil (Djerassi, Gray, & Kincl, 1960), y su estructura fue determinada en el año siguiente (Djerassi, et al., 1961) . A medida que ha transcurrido el tiempo se efectuaron numerosas investigaciones en torno a este compuesto y al que se han atribuido diversos efectos farmacológicos, tales como el de hepatoprotector, antiinflamatorio, anticanceroso, antitrombótico, antibacterial, antidiabético, antidepresivo, neuroprotector, así como de reducir el riesgo de gastritis y revertir lesiones gástricas. (Tenesaca, 2012).

Además de las mencionadas propiedades, también ha sido usada como agente entrecruzante en ingeniería de tejidos y como reactivo en ensayos colorimétricos para la identificación de aminoácidos. (Tenesaca, 2012)

CAPITULO II: CONCEPTOS

II.1 Antioxidantes

Inicialmente se definió antioxidante como un producto químico que previniera los efectos del oxígeno; en un principio sus aplicaciones estuvieron más inclinadas hacia los procedimientos industriales, pero la ciencia no tardó mucho tiempo en descubrir la eficiencia de las vitaminas A , C y E como antioxidantes, lo que significó toda una revolución en la comunidad científica ya que rompió los conceptos biológicos imperantes hasta el momento y se abrió un nuevo campo de estudio, el cual hasta hoy en día está encargado de determinar cuál es el papel que cumplen estas sustancias en el organismo.

En la actualidad se define como antioxidante a aquellas sustancias naturales o sintetizadas que cuando se encuentren en presencia de un sustrato oxidable, retardan o previenen la oxidación del sustrato a través de mecanismos muy diversos. (Halliwell & Gutteridge, 1989)

II.1.1 Clasificación de los antioxidantes

Los antioxidantes generalmente se pueden clasificar en dos grandes categorías según su procedencia, en naturales si proviene de medios naturales (alimentos) o sintéticos en caso de ser elaborados por el ser humano.

En la industria los primeros antioxidantes utilizados fueron de origen natural, los que, con el paso del tiempo estos se sustituyeron por sustancias sintéticas, las cuales reducían costos, tenían una pureza controlada y al poseer ese control en la pureza se tenía una capacidad antioxidante más uniforme.

Contradictoriamente en los últimos años se ha destacado una tendencia de alza en el uso de antioxidantes naturales, ya que se ha puesto en tela de juicio por usuarios el uso de los aditivos de origen sintético, los cuales han creado dudas en el consumidor debido a su relación con la aparición de diversas enfermedades. (Criado, 2009)

De igual manera surgen otros tipos de clasificaciones, las cuales subdividen estas sustancias de amplio espectro de acuerdo a si son originados en el organismo o provienen de fuentes externas, es decir de alimentos, aunque estas dos clasificaciones son las que con regularidad encierran el amplio espectro de estas sustancias, se suele utilizar una tercera clasificación llamadas fotoquímicos, la cual es exclusiva de los vegetales. A continuación, se definen cada una de ellas:

- **Vitaminas antioxidantes o antioxidantes exógenos:** dentro de estas podemos encontrar las vitaminas A, E, C, ácido fólico, entre otras, que nuestro cuerpo las puede adquirir mediante la ingesta de comidas o suplementos en nuestra dieta diaria.
- **Enzimas antioxidantes o antioxidantes endógenos:** son las enzimas encargadas de proteger las células contra el estrés oxidativo, dentro de estas

podemos encontrar la superóxido dismutasa (SOD), glutatión, catalasa, entre otras. Estas enzimas también requieren de cofactores tales como selenio, hierro, cobre, zinc, y manganeso para la actividad catalítica óptima.

- **Fotoquímicos oxidantes:** son los antioxidantes utilizados naturalmente por las plantas para protegerse de los radicales libres generados mayormente por los rayos ultra violeta. Estos se dividen en 3 categorías: carotenoides, sulfuro de alilo y polifenoles.

Fig. 5. Ejemplos de antioxidantes según su clasificación

Exógenos	Endógenos	Cofactores
Vitamina E	Glutatión	Cobre
Vitamina C	Coenzima Q	Zinc
Beta-caroteno	Ácido tioctico	Manganeso
Flavonoides	Enzimas: superóxido dismutasa catalasa glutatión peroxidasa	Hierro
Licopeno		Selenio

Fuente: Criado, 2009

II.2 Oxidación

La oxidación es una reacción química de transferencia de electrones a partir de una sustancia a un agente oxidante (Chang & Goldsby, 2013). Las reacciones de oxidación pueden producir radicales libres que a su vez pueden iniciar una reacción en cadena; por lo que la función de los antioxidantes es terminar estas reacciones en cadena,

mediante la eliminación de radicales libres intermedios y la inhibición de otras reacciones de oxidación.

II.2.2.1 Radicales libres

Son aquellas moléculas inestables y muy reactivas, que poseen un electrón desapareado. Para conseguir la estabilidad modifican a moléculas de su alrededor provocando la aparición de nuevos radicales. Como consecuencia, se desencadena un ciclo en el que se dañará a una cantidad indefinida de células y el cual puede ser infinito si no intervienen los antioxidantes.

El metabolismo de los alimentos, la respiración y el ejercicio; son ejemplos de procesos normales del organismo que producen radicales libres, de igual manera, se producen en el ambiente como consecuencia de la polución industrial, radiación, medicamentos, aditivos químicos en los alimentos procesados y pesticidas.

No todos los radicales libres son peligrosos, por ejemplo, las células del sistema inmune crean radicales libres para matar bacterias y virus, de no haber una regulación por parte de los antioxidantes, también podrían verse afectadas células sanas.

Entre los daños que pueden producir los radicales libres a nivel celular se pueden citar los siguientes:

- Atacan a los lípidos y proteínas de la membrana celular por lo que la célula no puede realizar sus funciones vitales.

- Atacan al ADN impidiendo que tenga lugar la replicación celular y contribuyendo al envejecimiento celular.

II.2.2 Estrés oxidativo

Las células cuentan con un mecanismo de protección, pero cuando este sistema falla, se produce un desequilibrio que produce la generación de especies oxidantes, produciendo lo que conocemos como el estrés oxidativo, que es el proceso donde las especies reactivas del oxígeno atacan los lípidos, inactivan proteínas o dañan el ADN.

El estrés oxidativo es causado por un desequilibrio entre la producción de especies reactivas del oxígeno (ERO) y la capacidad de un sistema biológico de detoxificar rápidamente los reactivos intermedios o reparar el daño resultante. Una oxidación moderada provocada por este fenómeno puede desencadenar la apoptosis, mientras que si es muy intensa podría provocar la necrosis.

Las ERO pueden ser clasificadas de acuerdo a si son radicales o no radicales, a continuación, se muestra dicha clasificación:

- **Radicales:** ion superóxido ($O_2\bullet$), radical hidroxilo ($\bullet OH$), alcoxilo ($RO\bullet$), peroxilo ($ROO\bullet$) y óxido de nitrógeno ($NO\bullet$)

- **No radicales:** peróxido de hidrógeno (H₂O₂), oxígeno singulete O₂ y peroxinitrito (ONOO).

II.2.3 Mecanismo general de los antioxidantes

Cada antioxidante posee una afinidad hacia un determinado radical libre o varios de ellos; por lo que, unos actúan impidiendo la formación de los radicales libres y/o especies reactivas (sistema de prevención), otros inhiben la acción de los radicales libres (sistema barredor) y, por último, algunos favorecen la reparación y la reconstitución de las estructuras biológicas dañadas (sistema de reparación). En el caso de las enzimas antioxidantes es necesaria la incorporación de ciertos oligoelementos, también llamados cofactores, tales como el cobre, hierro, zinc, selenio y manganeso para que estas puedan desarrollar su efecto protector.

A continuación, se presenta como describieron Gutteridge & Halliwell (1994), el mecanismo general de los antioxidantes:



En donde R• es la especie reactiva del oxígeno, AH es el antioxidante, RH es el producto del desplazamiento de la especie reactiva del oxígeno y A• un nuevo radical.

La teoría detrás de los antioxidantes es que el radical libre de la especie reactiva del oxígeno se transforme en la molécula RH y esta a su vez libera un nuevo radical A•, el cual a diferencia del radical R•, no es una especie lo suficientemente reactiva para

seguir dando lugar a reacciones de propagación, y se destruye o une con otro radical libre, dando entonces una molécula estable. (Gutteridge & Halliwell, 1994)

II.3 Capacidad Antioxidante

Partiendo de la definición de antioxidante mostrada en el presente trabajo, definimos capacidad antioxidante como la relación del extracto obtenido y su disposición de impedir la oxidación del sustrato con el que entra en contacto. Esta capacidad antioxidante no puede ser medida directamente, los métodos utilizados miden el efecto que ha de tener el compuesto para prevenir o impedir la oxidación.

Tomando en consideración la reacción química que ocurre al momento de entrar en contacto el sustrato oxidable y la sustancia antioxidante, se puede asignar dos categorías de ensayo para la determinación de la capacidad antioxidante, la primera en la que se realiza una transferencia de átomos hidrogeno (HAT), y la segunda se basa en la medición de transferencia de electrones (ET).

Fig. 6. Clasificación de los modelos de ensayo in vitro según su modo de reacción ET o HAT

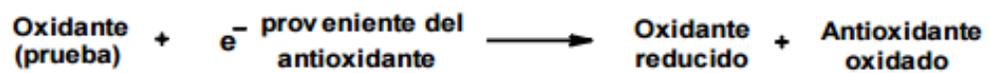
Clasificación	Ensayo
Ensayos basados en la transferencia de electrones (ET)	<ul style="list-style-type: none"> a) Acido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico (ABTS\bullet+) b) 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH\bullet) c) Poder de reducción antioxidante del hierro (FRAP) d) N,N-dimetil-p-fenilendiamina (DMPD) e) Capacidad de reducción antioxidante del cobre (CUPRAC)
Ensayos basados en la transferencia de átomos de hidrógeno (HAT)	<ul style="list-style-type: none"> a) Capacidad de absorción del radical oxígeno (ORAC) b) Parámetro antioxidante de captura de radicales (TRAP) c) Inhibición de la oxidación del ácido linoleico d) Inhibición de la oxidación de los lípidos de baja densidad (LDL)

Fuente: Tovar, 2013

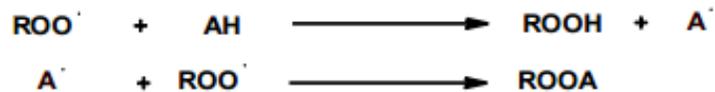
En la siguiente figura se muestran las reacciones generales específicas de los ensayos antes descritos:

Fig. 7. Reacciones para la determinación de capacidad antioxidante de ensayos ET y HAT

Ensayos ET



Ensayos HAT



Fuente: Huang, Ou, & Prior, 2005

SEGUNDA PARTE
MÉTODOS, INSTRUMENTOS, EXPERIMENTOS Y RESULTADOS

CAPITULO III: MÉTODOS E INSTRUMENTOS

III.1 Lugar de la investigación

Este proyecto de investigación se dividió en dos etapas, la primera fue realizada en las instalaciones de la Universidad Nacional Pedro Henríquez Ureña, en donde se efectuó todo lo concerniente a la preparación de la muestra, y una segunda etapa que consistió en la determinación de la capacidad antioxidante, la cual fue elaborada en las instalaciones de la Universidad Autónoma de Santo Domingo (UASD).

III.2 Selección de la Especie

Se recolectaron los frutos verdes de *Genipa americana* L. en San Francisco de Macorís, provincia Duarte, República Dominicana. Como medida de preselección se tomaron frutos que presentaron buen aspecto visual, es decir, que no mostraron ningún tipo de magulladuras o marcas en sus cascaras y fuesen del mismo productor, a fin de tener una mejor referencia en cuanto a la relación de los resultados a obtener y las condiciones del medio en donde se desarrolla el fruto, ya que la variación en el pH del suelo, precipitación de agua recibida, y demás factores podrían afectar la composición del mismo y por lo tanto de alguna manera podría verse reflejado en los resultados a exponer. (ver Anexo I)

III.3 Preparación de la Muestra

III.3.1 Secado

El secado es el proceso que implica la eliminación de agua de una muestra. Dependiendo del resultado deseado, esta puede realizarse de dos maneras, una desecación lenta, en la cual se busca estimular la acción enzimática y una desecación rápida a fin de evitarla. En general el proceso de desecado puede dividirse en dos categorías:

- **Secado Natural**

Es un proceso lento y económico que consiste en dejar que la muestra de manera natural, evapore lentamente el agua contenida.

- **Secado Artificial**

Es generalmente el método más adecuado para la desecación de una muestra ya que es de corta duración y muy útil en situaciones en donde la humedad de la muestra sea elevada. Consiste en la aplicación de una temperatura controlada por medio de la utilización de túneles de secado, estufas al vacío, torres de secado, entre otros equipos. Se toma como regla general que las hojas, flores y frutos deben secarse entre 20 y 40 °C, mientras que las cortezas y raíces entre 30 y 65 °C. (Evans, 1991)

En el secado artificial se hace constancia de la existencia de más métodos, como la liofilización, que se caracteriza por sublimar el hielo de un producto congelado. Frente a métodos tradicionales ésta presenta ventajas debido a que la baja temperatura impide la alteración de cualquier componente con sensibilidad al calor, mantiene de mejor manera las características y aspecto original del alimento, la humedad residual es baja, a su vez presenta los inconvenientes de que requiere de una gran inversión en equipos y de costo energético. Es por estos últimos inconvenientes, por lo que no se utilizó este método.

Materiales y equipos

- Balanza Analítica.
- Agua destilada.
- Horno de Calefacción.
- Rayador.
- Espátula.
- Beaker.
- Sacos.
- Caja de cartón.

Procedimiento

El procedimiento a seguir será dividido en dos vertientes, que dependerá del método utilizado. A continuación, se detallarán las instrucciones a seguir para ambos métodos.

- **Secado natural**

1. Pesar los frutos.
2. Exponer los frutos al ambiente.
3. Pesar los frutos para comprobar la eliminación de masa de agua.

- **Secado artificial**

1. Pesar los frutos.
2. Colocar los frutos en el horno calefactor por un tiempo y temperatura determinados.
3. Pesar los frutos para comprobar la eliminación de masa de agua.

III.3.2 Extracción

Es el proceso en el que se realiza una separación de sustancias en una muestra, por la aplicación de uno o varios solventes, en el cual se obtendrán al menos dos componentes, el extracto, que es la solución diluida en el solvente y su residuo, que son aquellos componentes no solubles en el solvente o mezcla de estos utilizados.

La velocidad y la eficiencia de la extracción es afectada por diversos factores, principalmente por aquellos que afectan la solubilidad directamente, tales como la temperatura, concentración del solvente, tamaño de partículas, porosidad y agitación.

En la siguiente tabla se muestran algunos de los solventes utilizados con regularidad en extracción orgánica y sus respectivos puntos de ebullición.

Tabla 2. PUNTO DE EBULLICIÓN DE SOLVENTES COMÚNMENTE UTILIZADOS

Solvente	Temperatura Ebullición (°C)
Éter etílico	34.6
Diclorometano	39.6
Éter de petróleo	30-40
Cloroformo	61.2
Metanol	64.7
Etanol-Benceno	65
Hexano	68
Etanol tolueno	73
Acetato de etilo	77
Etanol	78.4
Benceno	80.1
Ciclohexano	80.7
Ácido fórmico	100.8
Dioxano	101.1
Tolueno	110.6

Fuente: Perez & Veloz, 2016

Para el proceso de extracción se considerará la utilización de distintos métodos a fin de determinar cuál de estos es el más conveniente para la obtención de la muestra y posterior a esto comparar resultados en cuanto a capacidad antioxidante, los métodos considerados fueron los siguientes:

- Extracción por maceración.
- Extracción por reflujo.
- Extracción Soxleth.

Los solventes más utilizados para extracciones de iridoides y polifenoles para su posterior determinación de capacidad antioxidante son alcoholes (etanol, metanol, propanol, entre otros), y mezclas de estos con agua a diferentes porcentajes. La utilización de diferentes solventes y métodos afecta considerablemente la cantidad total de polifenoles e iridoides obtenidos (\mp 25%) y la capacidad antioxidante (Hasta en un 30%) en frutas y vegetales. (Tomson, Kruma, & Galoburda, 2012)

III.3.2.1 Extracción Soxleth

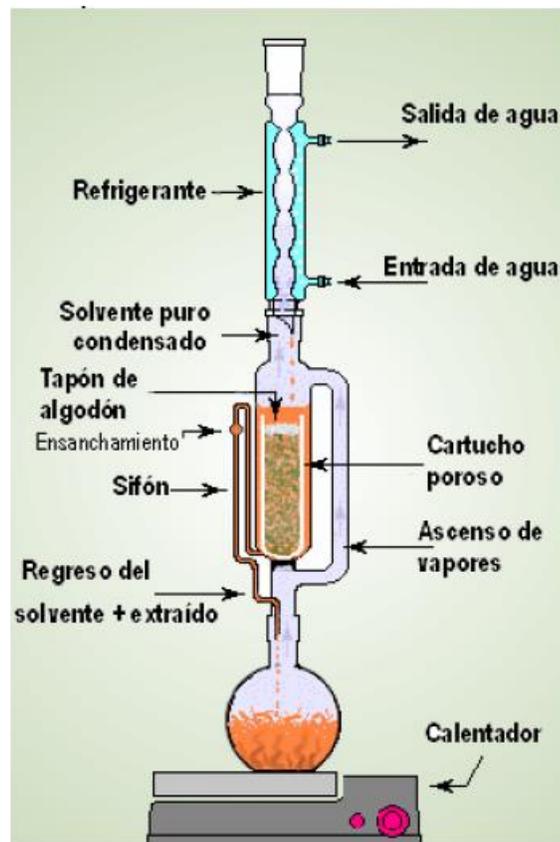
El extractor Soxleth es un equipo de vidrio que se utiliza para la extracción de compuestos contenidos en un sólido, a través de un solvente afín. Típicamente, para una extracción Soxleth se requiere donde el compuesto deseado tiene una solubilidad limitada en un solvente.

La extracción Soxhlet se fundamenta en las siguientes etapas:

1. Colocación del solvente en un balón.
2. Ebullición del solvente que se evapora hasta un condensador a reflujo.
3. El condensado cae sobre un recipiente que contiene un cartucho poroso con la muestra en su interior.

4. Ascenso del nivel del solvente cubriendo el cartucho hasta un punto en que se produce el reflujo y devuelve el solvente con el material extraído al balón.
5. Se vuelve a producir este proceso la cantidad de veces necesaria para que la muestra quede agotada. Lo extraído se va concentrando en el balón del solvente.

Fig. 8. Extractor Soxhleth



Fuente: Wikispaces, 2015

Su funcionamiento consiste en hacer hervir en el matraz el disolvente con el cual se va a extraer la materia sólida deseada que se encuentra en la muestra depositada en

el cartucho del equipo. Los vapores del disolvente ascienden por el extractor y se condensan en el refrigerante cayendo gota a gota sobre el cartucho.

Materiales

- Muestra.
- Solvente.
- Horno Eléctrico.
- Equipo Soxleth.
- Soportes, aros y pinzas.
- Cristalería.
- Papel filtro.
- Cuchillo.
- Espátula.
- Balanza Analítica.

Procedimiento

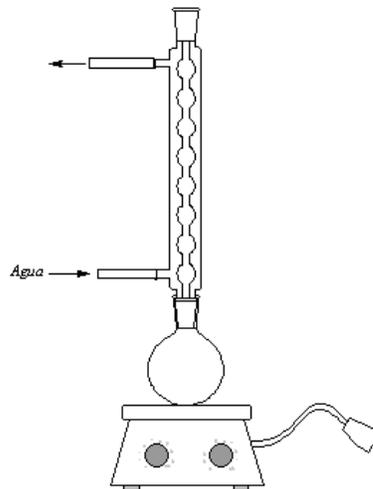
1. Pesar la cantidad de muestra deseada y colocarla dentro del cartucho.
2. Introducir el solvente en el balón.
3. Montar el equipo de la manera descrita en el diagrama.
4. Iniciar el proceso a la temperatura deseada.

Al finalizar el proceso se deja enfriar la muestra, se filtra y se guarda en un frasco que impida la acción de la luz sobre los extractos, a fin de evitar reacciones indeseadas en el mismo.

III.3.2.2 Extracción por reflujo.

El reflujo es una técnica experimental de laboratorio para el calentamiento de reacciones que transcurren a temperatura superior al ambiente y en las que conviene mantener un volumen de reacción constante ya que no permite la pérdida del solvente.

Fig. 9. Diagrama de equipo para extracción por reflujo.



Fuente: Wikimedia, 2016

Materiales

- Muestra.
- Solvente.
- Pedazo de tela e hilo.
- Balanza analítica.

- Matraz redondo.
- Refrigerante de bolas o de serpentín y mangueras.
- Soportes, aro, nueces y pinzas.
- Horno eléctrico.

Procedimiento

1. Pesar previamente la muestra. De preferencia es que la misma se encuentre seca.
2. Introducir el material en la bolsa de tela y cerrarla con un hilo.
3. Introducir en el matraz el solvente a utilizar.
4. Iniciar la operación.

Para la preservación de la muestra se sigue el mismo procedimiento expuesto en la sección de extracción Soxleth.

III.3.2.3 Extracción por maceración

Se entiende por maceración al contacto prolongado durante cierto tiempo de la muestra sólida con el solvente, por lo que es un proceso de extracción de sistemas sólido-líquido, la cual constituye una mezcla homogénea, debido a la solubilidad presentada por la materia prima en la solución extractante. En este método el solvente actúa simultáneamente sobre todas las porciones de la muestra. (Trillo, 1993)

Es el procedimiento de extracción más simple. El tiempo de maceración es diverso. Las distintas Farmacopeas prescriben tiempos que oscilan entre cuatro y diez días. “Cuanto mayor sea la relación entre el líquido extractivo y la droga, tanto más favorable será el rendimiento”. (Voigt, 1982)

Existen dos métodos de maceración de acuerdo a la temperatura, caliente y frío, los cuales serán descritos a continuación:

- **Maceración en frío.**

Consiste en sumergir el producto en un recipiente con la cantidad suficiente para cubrir totalmente lo que se desea macerar, esto se lleva a cabo por un lapso de tiempo largo, dependiendo de la materia prima que se vaya macerar.

- **Maceración con calor.**

Este método consiste al igual que la maceración en frío en el contacto de las fases, con la diferencia de la aplicación de temperatura, lo que provoca que el tiempo que se desea macerar difiere de la maceración en frío ya que el uso de calor acelera el proceso de extracción.

La siguiente tabla presenta las diferentes ventajas y desventajas de los métodos antes mencionados.

Fig. 10. Ventajas y desventajas entre la maceración en frío y caliente

Maceración en frío	Maceración en calor
Proceso lento	Proceso Rápido
Utilización de equipos sencillos	Utilización de equipos sofisticados
Bajo consumo energético	Alto consumo energético
Preservación de la mayoría de componentes en el extracto	Degradación de los componentes termolábiles

Fuente: Perez & Veloz, 2016

Materiales

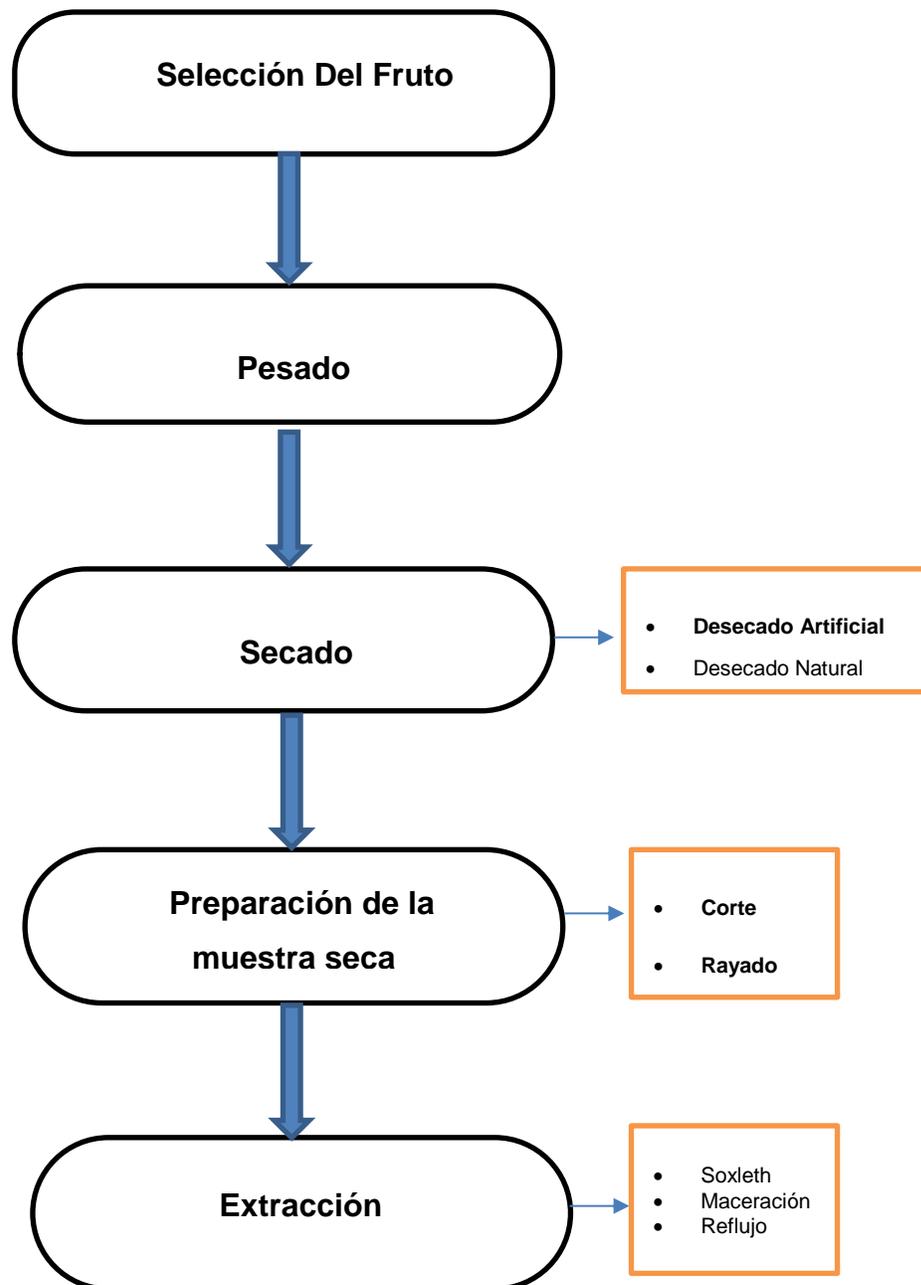
- Muestra.
- Solvente.
- Frascos ámbar.
- Balanza analítica.
- Espátula.
- Horno eléctrico.
- Mortero.

Procedimiento

- 1) Pesar la muestra.
- 2) Agregar el solvente al recipiente en el que realizará la maceración.
 - 2.1) En caso de ser una maceración pasiva, solo se añade la muestra al recipiente con el solvente y se deja el tiempo ya determinado, agitándolo de manera esporádica.
 - 2.2) En caso de ser una maceración con intervención mecánica, en primer lugar, se lleva la muestra al mortero, se agrega solvente y se comprime suavemente, se agrega nuevamente una cantidad de solvente para repetir el proceso, este proceso se repite tres veces.
- 3) Filtrar la muestra pasado 48 horas, usando papel filtro y a éste primer macerado, se lo almacena protegido de la luz.
- 4) Repetir el paso dos, tres veces. Con esto se busca obtener la mayor cantidad de extracto posible a partir de una muestra determinada.

A continuación, se presenta un diagrama del trabajo a realizar para la preparación de las muestras del fruto para efectuar el proceso de extracción:

Fig. 11. Diagrama de preparación de la muestra previo a la extracción



Fuente: Pérez & Veloz, 2016

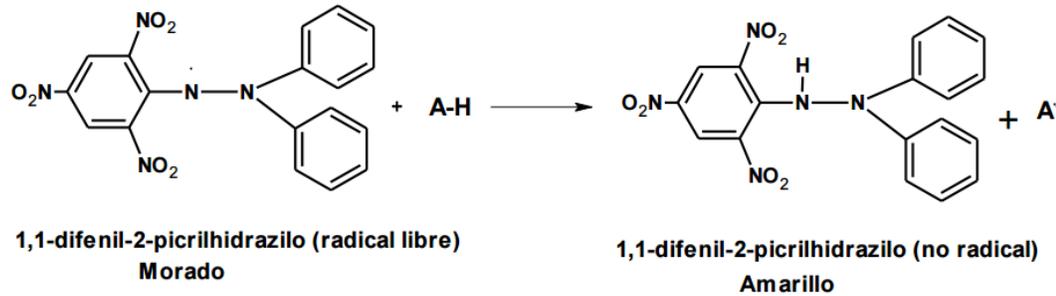
III.4 Determinación de la Capacidad Antioxidante por el Método DPPH• (1,1-Difenil-2-picrilhidrazilo).

Este método fue propuesto por Marsden Blois (Blois, 1958), en el cual se demostró por primera vez la capacidad del radical libre DPPH• para aceptar un átomo de hidrógeno (H•) proveniente de una molécula de cisteína. La molécula 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH) es conocida como un radical libre estable debido a la deslocalización de un electrón desapareado sobre la molécula completa, por lo cual la molécula no se dimeriza, como es el caso de la mayoría de los radicales libres.

La deslocalización del electrón también intensifica el color morado intenso típico del radical, el cual absorbe en metanol a 517 nm. Cuando la solución de DPPH reacciona con el sustrato antioxidante que puede donar un átomo de hidrógeno como se muestra en la figura No. 12, el color morado se desvanece. El cambio de color es monitoreado espectrofotométricamente y es utilizado para la determinación de los parámetros para las propiedades antioxidantes.

El tiempo promedio de alcanzar el equilibrio en la reacción redox es de unos 120 minutos, pero el mismo es modificado a conveniencia del investigador por lo que el tiempo puede ser reducido hasta un intervalo de 20-30 minutos. (Ohja, Mishra, & Chaudbury, 2012)

Fig. 12. Estructura del DPPH antes y después de la reacción con el antioxidante.



Fuente: Alam, y otros, 2011

Los resultados del ensayo DPPH• se han presentado de diferentes maneras. La mayoría de los estudios expresan los resultados como el valor de la concentración máxima de la media inhibitoria (IC_{50}), definido como la cantidad de antioxidante necesario para disminuir la concentración inicial de DPPH al 50%; otro valor estadístico utilizado es el EC_{50} , que se define como la concentración necesaria para alcanzar el 50% del máximo efecto. Estos valores se calculan graficando el porcentaje de inhibición contra la concentración del extracto. (Qi-hui, Ai-nong, & Xiao-feng, 2011).

Materiales

- Extracto Vegetal.
- Metanol.
- Agua destilada.
- Trolox.
- DPPH•.
- Micropipeta.
- Espectrofotómetro.

Capítulo IV: Experimentos y Resultados

A continuación, se desarrollarán cada uno de los pasos seguidos en el capítulo III sobre métodos e instrumentos, en caso de reportar algún resultado los mismos también serán mostrados en este acápite.

IV.1 Secado

La desecación natural se realizó colocando las frutas sobre sacos y exponiéndola a la luz solar, esta se llevó a cabo por un tiempo de una semana y el porcentaje de humedad no tuvo valores similares a los anteriormente reportados. (ver Anexo I)

El desecado por instrumentación tampoco mostro los resultados esperados. En este método se aplicaron temperaturas de 35°C por 1, 2, 3, 5 y 8 horas, la cual se encontraba dentro de los rangos descritos por Evans. Al no haber presentado un valor deseado se procedió a elevar la temperatura, en primer lugar, a 40°C, con lo que se obtuvieron mejores resultados que a la temperatura anterior pero igual estos se encontraban muy distantes de lo reportado, de igual manera sucedió con la temperatura de 50°C, no fue hasta que se elevó a los 60°C, que se presentaron ciertos inconvenientes como perdida de consistencia y la aparición de una coloración azul en todo el fruto. (Ver Anexo I).

La aparición de la pigmentación azul es debido a la reacción de un iridoide con una amina primaria, en este caso la genipina, lo que solo ocurre con frutos verdes; no

hay información en la literatura del porque solo se da la aparición de la pigmentación azul en frutos sin madurar. (Sousa & Zerlotti, 2014) (ver Anexo II)

Aunque en ninguno de los dos métodos se obtuvieron los valores deseados, de igual manera se procedió a la preparación de la muestra para la extracción, los frutos que fueron desecados de manera natural fueron los seleccionados, ya que el desecado por instrumentación representaba un gasto energético innecesario en comparación con los resultados obtenidos.

IV.2 Elección del solvente

Como etapa previa a la extracción se procedió a la determinación del solvente a utilizar, anteriormente se había mencionado que para la extracción de iridoides y polifenoles lo más conveniente era utilizar un alcohol, dentro de estos se mencionaron el metanol, etanol, isopropílico, entre otros. (Tomson, Kruma, & Galoburda, 2012)

Según lo antes mencionado y los reactivos disponibles, el solvente a elegir sería el etanol o metanol, debido que no se aprecia en la literatura una variación perceptible en la eficiencia de extracción frente a otros solventes. (Tomson, Kruma, & Galoburda, 2012)

Fueron realizadas maceraciones en frío, al ser el método que no involucraba ningún tipo de variable entre la muestra y solvente, es decir, no se presentarían variables por aplicación de calor, que podría provocar la degradación de cualquier compuesto. Para efectuar esta prueba se introdujeron 25 gramos de muestra en un frasco con 100 mL del

solvente, para una relación de 4:1. Para efectuar de este experimento se utilizó etanol al 95% y metanol absoluto, la prueba con el etanol no arrojó resultados positivos debido a la presencia nuevamente de la coloración azul, por lo que este fue descartado, mientras que la prueba con metanol fue satisfactoria por lo que este fue el solvente elegido para las demás extracciones. (Ver Anexo I)

IV.3 Extracción

De los 3 métodos utilizados solo uno de ellos presentó los resultados positivos, la extracción por Soxleth, a continuación, se detallan los criterios tomados para la selección de esta técnica.

Para la maceración se tomaron 25g de muestra y se le adicionaron 100 mL de metanol. Se dejaron almacenados en un frasco ámbar, para proteger al extracto de la acción de la luz. El tiempo de remojo fue de una semana, en la que también se percibió la aparición de una pigmentación azul al igual que en el proceso de secado artificial. (ver Anexo I)

En la extracción por reflujo, al igual que en la extracción por maceración se tomaron 25g de muestra y 100 mL de metanol, se llevó el solvente a punto de ebullición durante 2 horas. Al aplicar esta técnica se presentó nuevamente una coloración azul, por lo que también tuvo que ser descartada. (Ver Anexo I).

Por último, se realizó la extracción Soxleth, en esta ocasión se utilizaron 30g de muestra y 200 mL de solvente, a diferencia de los dos métodos anteriores. A medida que

se realizaron las distintas pruebas se pudo percibir que la cantidad de solvente propuesto en el método no era suficiente lo que provocaba que no se completara el sifón.

El tiempo de operación para la obtención del extracto fue de 12 horas, distribuido en dos días, el primero de ocho horas y al siguiente de 4 horas, para poder continuar con la extracción al próximo día se envolvió la muestra con un material oscuro y se dejó inmersa en el solvente con el fin de protegerla de los efectos de la luz solar y del contacto directo con oxígeno, luego de terminado este proceso se almacenó la muestra en un frasco ámbar y fue llevada a refrigeración.

IV. 4 Determinación de la concentración del extracto

Para la determinación de la concentración del extracto se realizó el siguiente procedimiento:

- Se tomó el crisol limpio y se colocó en el horno para su secado a una temperatura de 120 °C durante un periodo de 20 minutos hasta eliminar la humedad.
- Se procedió a pesar el crisol seco y frío, y se repitió el paso anterior hasta obtener un peso constante.
- Se tomaron 1.5 mililitros de la muestra de extracción soxleth que contenía 30 gramos de soluto en 200 mililitros de solvente.

- Con el fin de eliminar el solvente restante en la muestra, se colocó la misma en un crisol limpio y seco, se llevó al horno a una temperatura de 70 °C durante 20 minutos, luego se tomó el crisol más la muestra. Finalizado el tiempo, se dejó enfriar y se procedió a pesar. (ver Anexo I)
- Se repitió el procedimiento anterior tres veces hasta peso constante.

Para determinar la concentración del extracto, se realizó una diferencia en peso entre el peso de la muestra seca y el crisol vacío dando como resultado un promedio de 25.22 miligramos sobre 1.5 mililitros. Es decir, 16.813 mg/mL. (ver Anexo III)

La preparación de la muestra para análisis tuvo una duración de dos días, al tercer día se entregó al laboratorio encargado de realizar la prueba con el fin de evitar la degradación de la misma. (Tenesaca, 2012). (Anexo II)

IV.5 Determinación de capacidad antioxidante

Se realizó una curva estándar del antioxidante de referencia Trolox, con concentraciones desde 1 hasta 32 µg/mL usando metanol absoluto como solvente, con el fin de calibrar el equipo. (ver Anexo II y III)

Se prepararon concentraciones del extracto de 0.5, 2.5, 5, 10, 25, 50, 125, 250, 500, 1000 µg/mL, a las que se les determinó su capacidad antioxidante, mediante observación por espectrofotometría de la absorbancia del reactivo DPPH•. En la tabla 3 se muestran los resultados obtenidos en forma de porcentaje de capacidad antioxidante (%CA) a partir de las concentraciones utilizadas.

En la tabla 3 y figura 12 se muestran los valores obtenidos por Barbosa (frutos maduros) y los determinados en este proyecto (frutos verdes), en forma de la capacidad antioxidante (%CA) en relación con la concentración utilizada ($\mu\text{g/mL}$).

IV.6 Comparación de los valores obtenidos.

Con el objetivo de comparar los resultados de capacidad antioxidantes de los extractos de frutos verdes de *Genipa americana* que se obtuvieron mediante el método (DPPH●), se utilizaron valores obtenidos en una investigación previa (Barbosa, 2008); Barbosa a diferencia de este proyecto utilizó frutos maduros. Para tal comparación, se manejó el valor estadístico EC_{50} . El cálculo del EC_{50} (concentración necesaria para obtener la mitad del efecto máximo estimado en 100% para el extracto), se efectuó haciendo una relación de la capacidad antioxidante a la concentración que ofreció la capacidad antioxidante más próxima al 50 por ciento.

$$EC_{50} = \frac{(0.5) \times X_1}{Y_1}$$

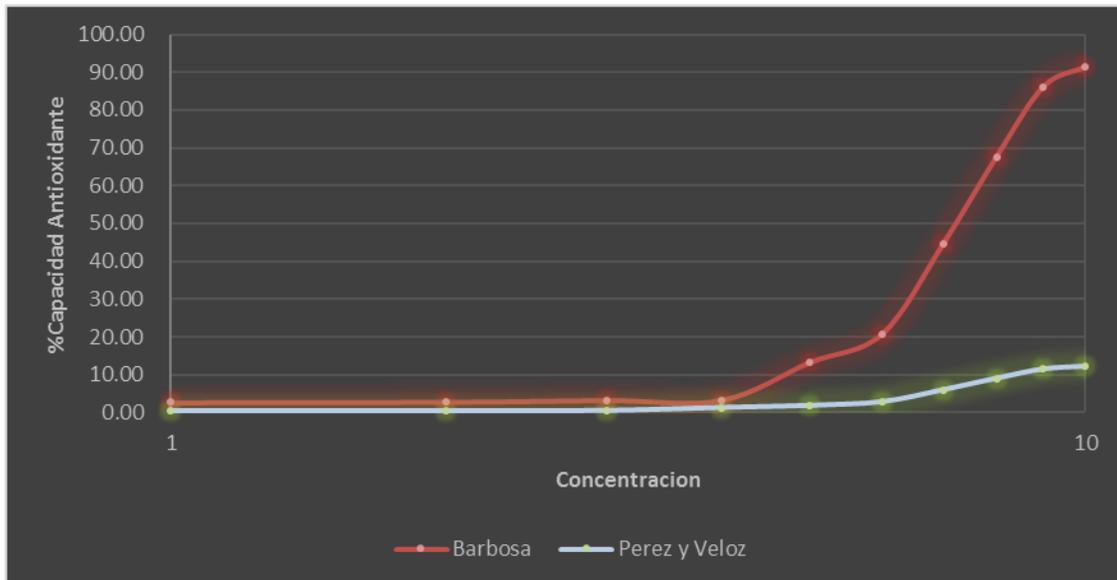
En donde "X₁" es la concentración más próxima al 50% de capacidad antioxidante y "Y₁" es el %CA más próxima a 50%. El resultado obtenido por Barbobsa de EC_{50} fue de 140.5 $\mu\text{g/mL}$, a diferencia de lo obtenido en esta investigación que fue de 4,108.46 $\mu\text{g/mL}$. Lo que indica que los extractos de frutos maduros poseen mayor capacidad antioxidante que los del fruto verde debido a que mientras mayor sea el EC_{50} , menor será su capacidad antioxidante. (ver Anexo III)

Tabla 3. Comparación de la capacidad antioxidante entre frutos maduros y frutos verdes de *Genipa americana* L.

Barbosa		Perez y Veloz	
Concentración Extracto Jagua (μM)	%CA	Concentración Extracto Jagua (μM)	%CA
0.5	2.65 ± 0.45	0.5	0.35 ± 0.16
2.5	2.8 ± 0.26	2.5	0.37 ± 0.08
5	3.24 ± 0.68	5	0.43 ± 0.05
10	3.24 ± 1.11	10	1.2 ± 0.13
25	13.27 ± 0.77	25	1.77 ± 0.96
50	20.79 ± 0.77	50	2.77 ± 0.52
125	44.69 ± 0.44	125	5.96 ± 0.65
250	67.55 ± 1.68	250	9 ± 1.26
500	86.04 ± 0.75	500	11.47 ± 1.37
1000	91.3 ± 0.75	1000	12.17 ± 0.84

Fuente: Pérez & Veloz, 2016

Figura 12. Comparación de la capacidad antioxidante entre frutos maduros y frutos verdes de *Genipa americana* L.



Fuente: Pérez & Veloz, 2016

TERCERA PARTE

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

Capítulo V: Conclusiones

Las conclusiones más significativas obtenidas en este trabajo de grado son las siguientes:

1. La actividad antioxidante del extracto obtenido por el método soxleth, expresada en forma del valor estadístico EC_{50} fue de 4,108.46 $\mu\text{g/mL}$, el cual al ser comparado con lo obtenido por Barbosa en frutos maduros resultó ser aproximadamente veinte y nueve veces menos potente.
2. El método soxleth es la técnica más apropiada debido a que se obtuvo un extracto sin presencia de tonalidad azul a diferencia de las demás metodologías aplicadas.
3. Los métodos tradicionales de secado demostraron ser ineficaces debido a la cantidad de tiempo empleado con proporción a la masa de agua eliminada.
4. El metanol absoluto resultó ser el disolvente más adecuado de los utilizados, ya que la presencia de agua en los demás solventes provocó la aparición de coloración azul.

Capítulo VI: Recomendaciones

A partir de los resultados obtenidos podemos hacer las siguientes recomendaciones:

1. Seleccionar una técnica de secado que no involucre tratamiento térmico.
Ejemplo, la liofilización.
2. Evitar el uso de solventes en solución acuosa.
3. Determinar la capacidad antioxidante mediante el uso de distintos métodos.
4. Evaluar las propiedades antibacteriales y fungicidas que posee este fruto.
5. Considerar el colorante producido como material de tinte en la industria textil.
6. Realizar estudios similares a especies endémicas de nuestro país.

CUARTA PARTE

REFERENCIAS

Capítulo VII: Referencias

- Alam, B., Chowdhury, N. S., Haque, M. E., Hossain, M. S., Haque, M. E., & Islam, A. (2011). Toxicity Evaluation of Different Fractions of *Oxalis corniculata* Linn. *Journal of Pharmacology and Toxicology*, 337-348.
- Anónimo. (2016, Septiembre 5). <http://www.primalcosmetics.co.uk/>. Retrieved from <http://www.primalcosmetics.co.uk/>
- Anónimo. (2016, 04 12). Recursos Biologicos. Retrieved from <http://www.recursosbiologicos.eia.edu.co/>
- Barbosa, D. d. (2008). AVALIAÇÃO FITOQUÍMICA E FARMACOLÓGICA DE *Genipa americana* L. (RUBIACEAE). Rio de Janeiro.
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant Determinations by the Use of a Stable Free Radical. Stanford: Stanford University.
- Chang, R., & Goldsby, K. A. (2013). Química (11va ed.). McGRAW-HILL.
- Criado, C. (2009). Vitaminas y antioxidantes. Saned.
- Djerassi, C., Gray, J. D., & Kincl, F. A. (1960). Isolation and characterization of genipin. *Journal of Organich Chemistry*.
- Djerassi, C., Nakano, T., James, A. N., Zalkow, H., Eisenbraun, E. J., & Shoolery, J. N. (1961). The Structure of Genipin. *Journal of Organich Chemistry*, 1192-1206.
- Evans, W. C. (1991). Farmacognosia. Interamericana-McGraw-Hill.
- Francis, J. K., & Carol, A. (2000). Bioecología de Árboles Nativos y Exóticos de Puerto Rico y las Indias Occidentales. Río Piedras: USDA.
- Gutteridge, J., & Halliwell, B. (1994). Antioxidants in nutrition, health, and disease. Oxford: Oxford University Press.

- Halliwell, B., & Gutteridge, J. (1989). *Free Radicals in biology and medicine*. Oxford: Oxford University Press.
- Huang, D., Ou, B., & Prior, R. (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53.
- Ohja, H., Mishra, K., & Chaudbury, N. K. (2012). Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results. *Journal of Food Chemistry*, 1036-1046.
- Qi-hui, D., Ai-nong, Y., & Xiao-feng, C. (2011). The effect of heating time on antioxidant activity of Maillard reaction products derived from a L-ascorbic acid and L-methionine model system. *Bioinformatics and Biomedical Engineering, (iCBBE) 2011 5th International Conference* (pp. 1-5). Wuhan: IEEE.
- Sousa, A., & Zerlotti, A. (2014). Influence of the Stage of Ripeness on the Composition of Iridoids and Phenolic Compounds in Genipap (*Genipa americana* L.). *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 10800-10808.
- Tenesaca, S. M. (2012). *Elaboración de cosméticos decorativos a partir de frutos verdes de Genipa americana L.* Escuela Superior Politécnica de Chimborazo.
- Tomsone, L., Kruma, Z., & Galoburda, R. (2012). Comparison of Different Solvents and Extraction Methods for Isolation of Phenolic Compounds from Horseradish Roots (*Armoracia rusticana*). *International Journal of Biological, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering*, 236.
- Tovar, J. (2013). *Determinación de la actividad antioxidante por DPPH y ABTS de 30 plantas recolectadas en la eco región cafetera.*
- Trillo, C. F. (1993). *Tratado de Farmacia Galenica*. Madrid: LUZAN 5-S.A.

- UNCTAD. (2005). United Nations Conference on Trade and Development/BioTrade Facilitation Programme. Market brief in the European Union for selected natural ingredients derived from native species: *Genipa americana*.
- Voigt, R. (1982). Tratado de tecnología Farmacéutica. España: Acriba.
- Wikimedia. (2016, 05 05). Retrieved from Wikimedia: <http://www.wikimedia.org>
- Wikispaces. (2015, 04 10). Retrieved from <http://www.procesbio.wikispaces.com>

QUINTA PARTE

ANEXOS

Anexo I: Fotografías

Genipa americana

Árbol de Jagua



Fuente: Anónimo, 2016

Tronco del árbol Genipa americana



Fuente: Pérez y Veloz, 2016

Frutos verdes Genipa americana (1er Lote)



Fuente: Pérez y Veloz, 2016

Frutos verdes Genipa americana (2do Lote)



Fuente: Pérez y Veloz, 2016

Parte Experimental

Secado Artificial



Fuente: Pérez y Veloz, 2016

Secado Natural



Fuente: Pérez y Veloz, 2016

Frutos secos por desecación natural



Fuente: Pérez y Veloz, 2016

Frutos secos por desecación artificial



Fuente: Anónimo, 2016

Metanol absoluto



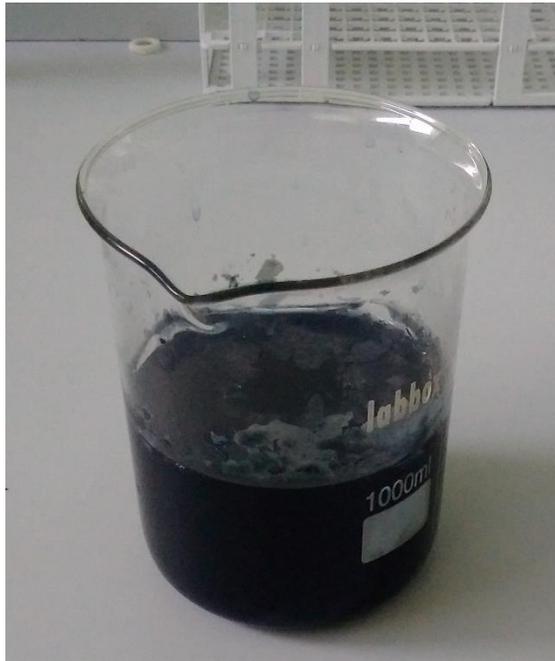
Fuente: Pérez y Veloz, 2016

Etanol al 95% utilizado como solvente



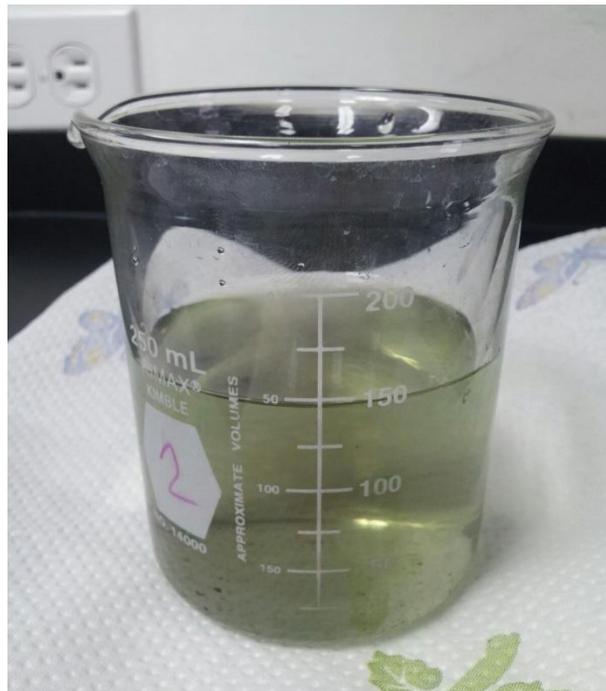
Fuente: Pérez y Veloz, 2016

Resultado de maceración con etanol al 95% (1 semana)



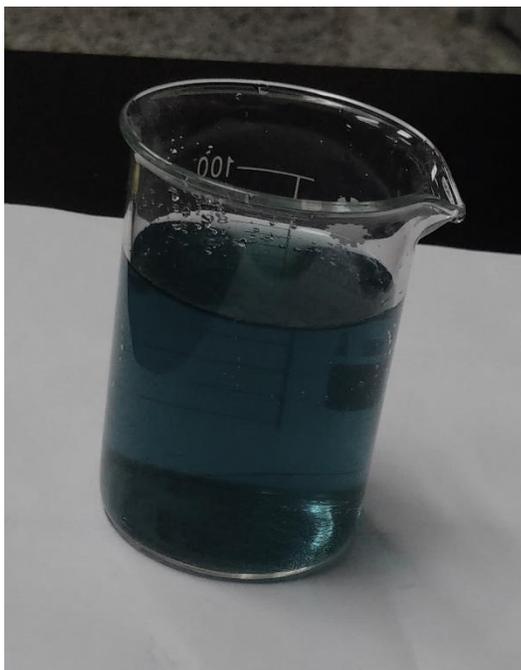
Fuente: Pérez & Veloz, 2016

Resultado de maceración con metanol absoluto (1 semana)



Fuente: Pérez & Veloz, 2016

Extracto obtenido por Maceración (25g muestra 100mL de solvente)



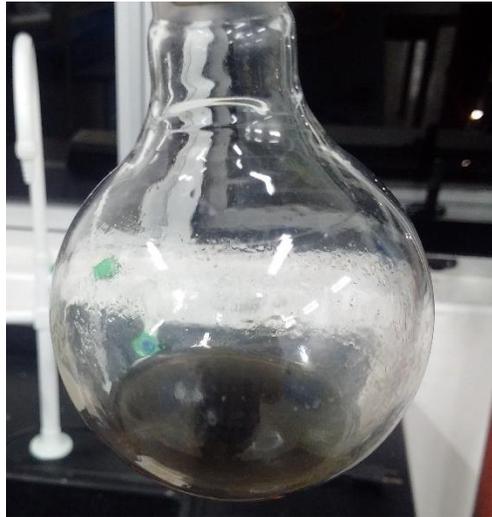
Fuente: Pérez y Veloz, 2016

Extracto obtenido por Reflujo (25g muestra 100mL de solvente)



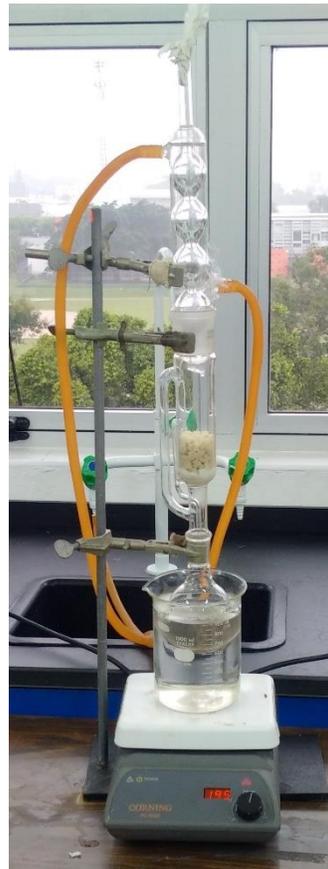
Fuente: Pérez y Veloz, 2016

Extracto obtenido por Soxleth (25g muestra 100mL de solvente)



Fuente: Pérez y Veloz, 2016

Extracto obtenido por Soxleth (30g muestra 200mL de solvente)



Fuente: Pérez y Veloz, 2016

Determinación de la concentración del extracto



Fuente: Pérez y Veloz, 2016

Anexo II: Figuras

Fig. 1. Áreas de distribución de la Genipa americana L.



Fuente: Francis & Carol, 2000

Fig. 2. Fruto verde Genipa americana L.



Fuente: Pérez & Veloz, 2016

Fig. 3. Descripción de *Genipa americana* L.

Familia	Rubiaceae
Género	<i>Genipa</i>
Especie	Americana
Nombres Comunes	Jagua, juito, huito y genipa (en Latinoamérica y áreas españolas), genipap y genipa (inglés), bois de fer (francés) y genipapo (portugués)

Fuente: UNCTAD, 2005

Fig. 4. Usos de la *Genipa americana* L.

A. Madera	• Combustible: Leña, Carbón
	• Construcción: Construcción rural
	• Herramientas agrícolas: brazo de arado, mango para herramientas
	• Maderable: Cajas, culatas, arcos de barriles, carretas, entre otros.
B. Corteza	• Curtiente: Curtiente de cueros
	• Medicinal: Infusión empleada para el remedio de la gonorrea
C. Flor	• Aromatizante: Extracción de aceites esenciales para elaboración de fragancias
	• Melífera: Apicultura
D. Fruto	• Colorantes: Tinte negro.
	• Comestible: Elaboración de dulces, bebidas refrescantes y fermentadas
	• Insecticida: Utilizada por los indígenas como repelente de insecto (debido a su contenido de fenoles)
	• Medicinal: anti astringentes, antiinflamatorias y anti anémicas, entre otras.

Fuente: Perez & Veloz, 2016

Fig. 5. Ejemplos de antioxidantes según su clasificación

Exógenos	Endógenos	Cofactores
Vitamina E	Glutación	Cobre
Vitamina C	Coenzima Q	Zinc
Beta-caroteno	Ácido Tioctico	Manganeso
Flavonoides Licopeno	Enzimas: Superoxidodismutasa (SOD) Catalasa Glutación Peroxidasa	Hierro Selenio

Fuente: Criado, 2009

Fig. 6. Clasificación de los modelos de ensayo in vitro según su modo de reacción ET o HAT

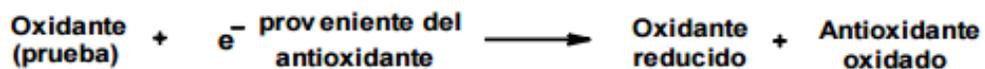
Clasificación	Ensayo
Ensayos basados en la transferencia de electrones (ET)	f) Acido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico (ABTS \bullet +)
	g) 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH \bullet)
	h) Poder de reducción antioxidante del hierro (FRAP)
	i) N,N-dimetil-p-fenilendiamina (DMPD)
	j) Capacidad de reducción antioxidante del cobre (CUPRAC)

<p>Ensayos basados en la transferencia de átomos de hidrógeno (HAT)</p>	<p>e) Capacidad de absorción del radical oxígeno (ORAC)</p> <p>f) Parámetro antioxidante de captura de radicales (TRAP)</p> <p>g) Inhibición de la oxidación del ácido linoleico</p> <p>h) Inhibición de la oxidación de los lípidos de baja densidad (LDL)</p>
---	---

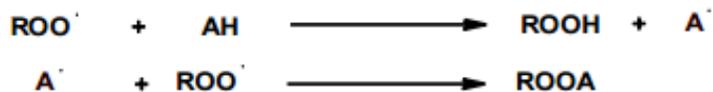
Fuente: Tovar, 2013

Fig. 7. Reacciones para la determinación de capacidad antioxidante de ensayos ET y HAT

Ensayos ET

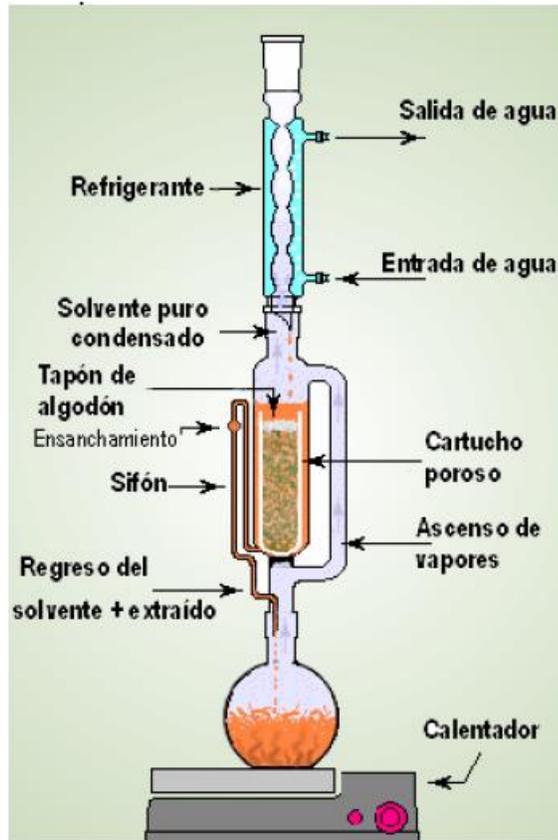


Ensayos HAT



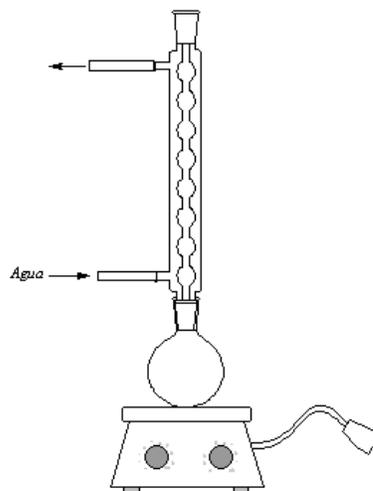
Fuente: Huang, Ou, & Prior, 2005

Fig. 8. Extractor Soxhleth



Fuente: Wikispaces, 2015

Fig. 9. Diagrama de equipo para extracción por reflujo



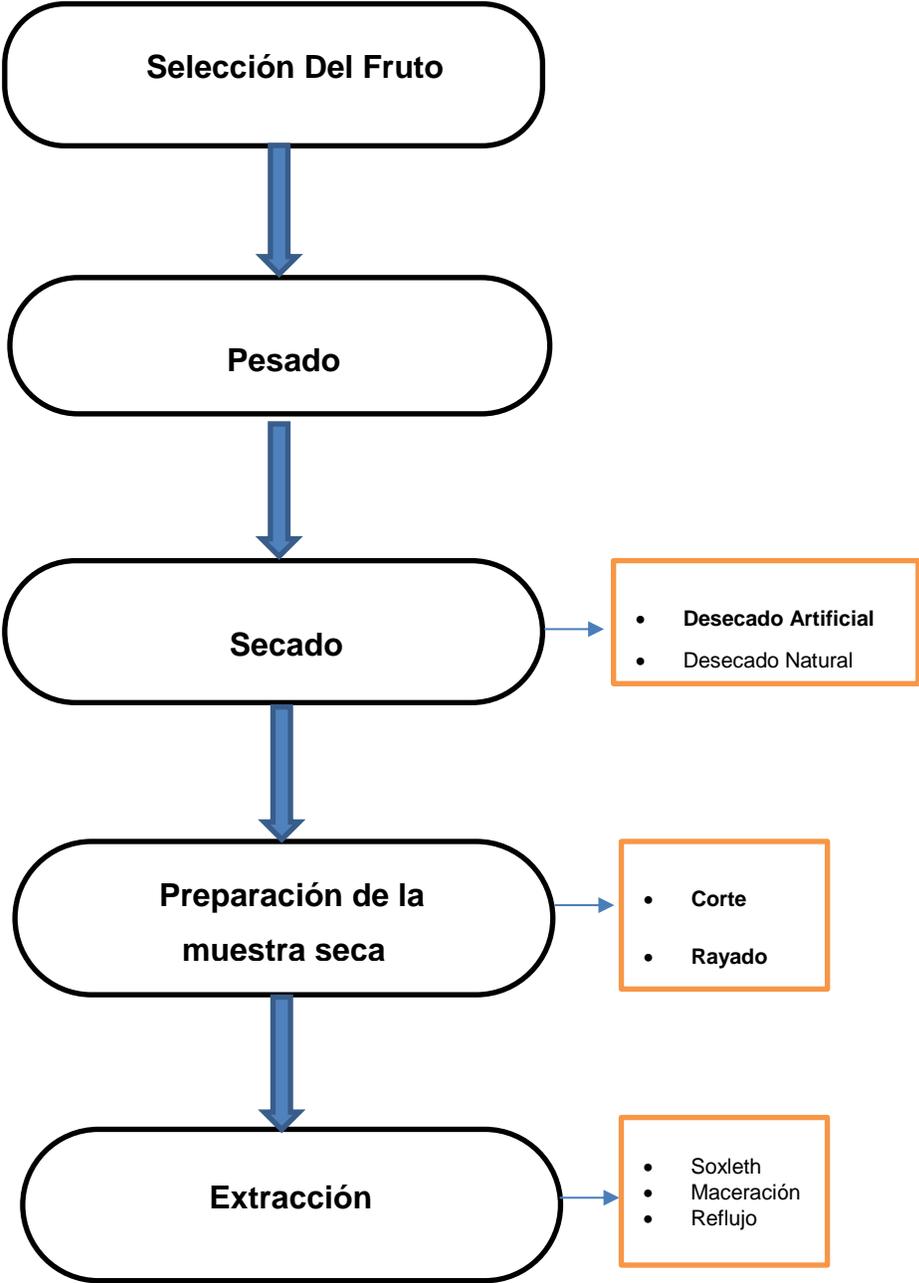
Fuente: Wikimedia, 2016

Fig. 10. Ventajas y desventajas entre la maceración en frío y caliente

Maceración en frío	Maceración en calor
Proceso lento	Proceso Rápido
Utilización de equipos sencillos	Utilización de equipos sofisticados
Bajo consumo energético	Alto consumo energético
Preservación de la mayoría de componentes en el extracto	Degradación de los componentes termolábiles

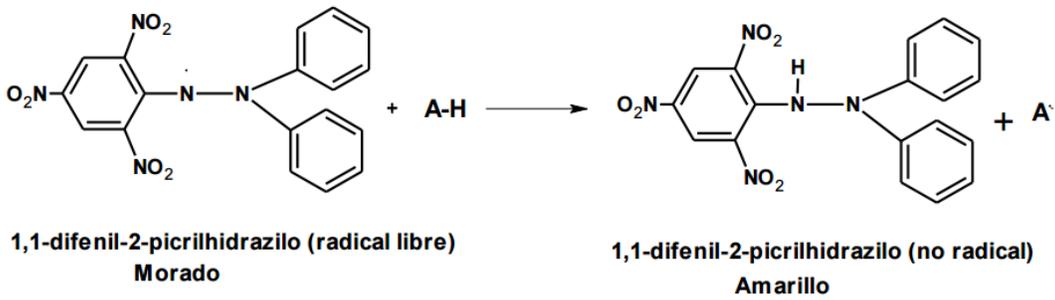
Fuente: Perez & Veloz, 2016

Fig. 11. Diagrama de preparación de la muestra previo a la extracción



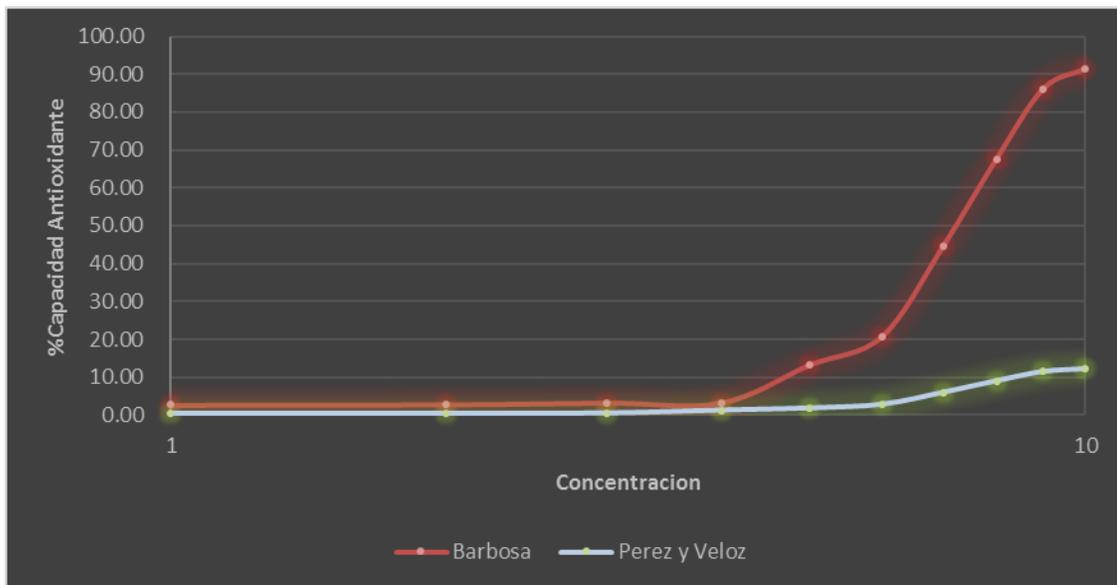
Fuente: Perez & Veloz, 2016

Fig. 12. Estructura del DPPH antes y después de la reacción con el antioxidante



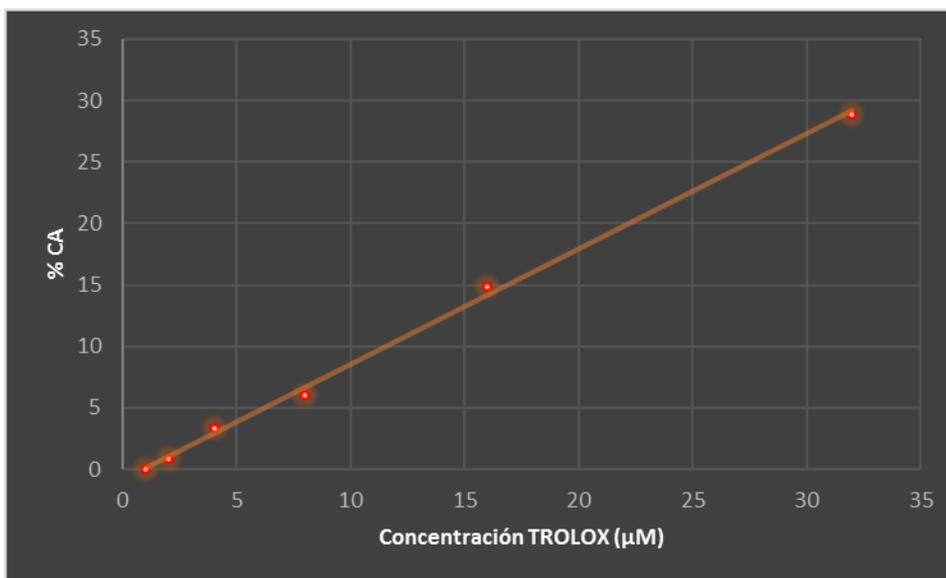
Fuente: Alam, y otros, 2011

Fig. 13. Comparación de la capacidad antioxidante entre frutos maduros y frutos verdes de *Genipa americana* L.



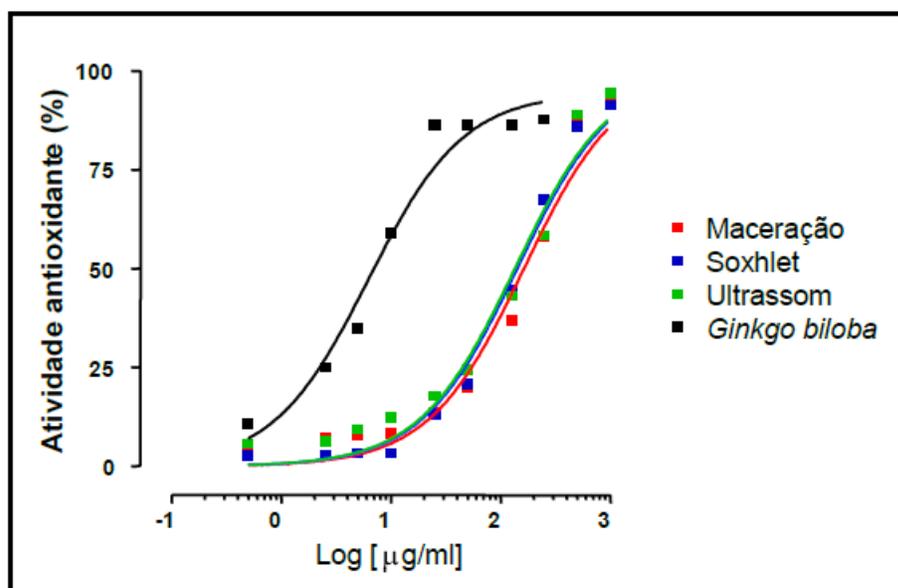
Fuente: Pérez & Veloz, 2016

Fig. 14. Curva de calibración Trolox



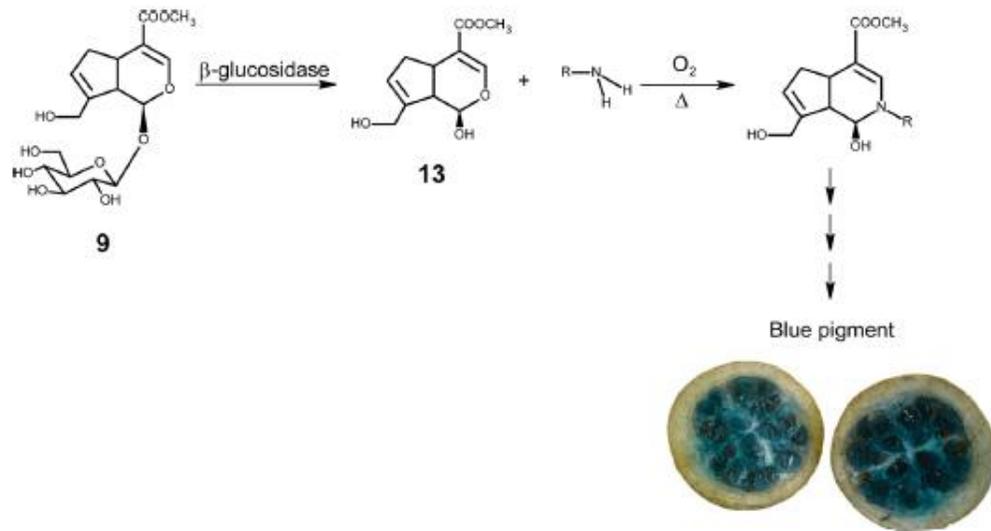
Fuente: Pérez & Veloz, 2016

Fig. 15. Relación entre la capacidad antioxidante (AA%) y el ln de la concentración (µg/ml) para cada uno de los extractos metanólicos y para solución patrón de Ginkgo Bilboa.



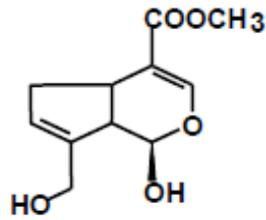
Fuente: Barbosa, 2008

Fig. 16. Mecanismo propuesto para la reacción de formación de pigmento azul en la Jagua.

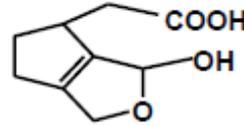


Fuente: Sousa & Zerlotti, 2014

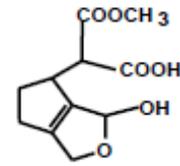
Figura 17. Iridoides aislados en la Genipa americana L.



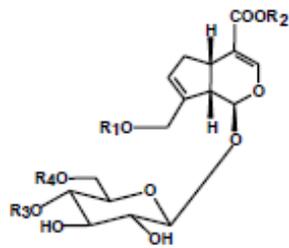
1 genipina



2 Ácido genípico



3 Ácido genípico



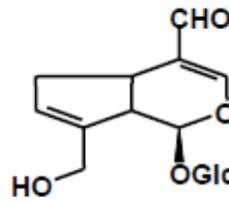
4 $R_1=R_2=R_3=R_4=H$ (ácido geniposídico)

5 $R_1=R_2=R_3=H, R_4=CH_3$ (geniposideo)

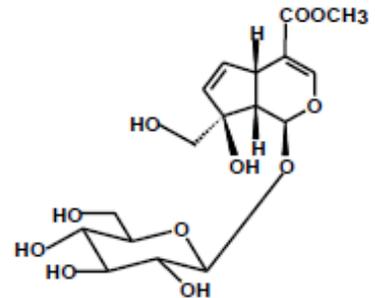
10 $R_1=R_4=H, R_2=CH_3, R_3=Glc$ (genamesideo C)

11 $R_1=Glc, R_2=CH_3, R_3=R_4=H$ (genamesideo D)

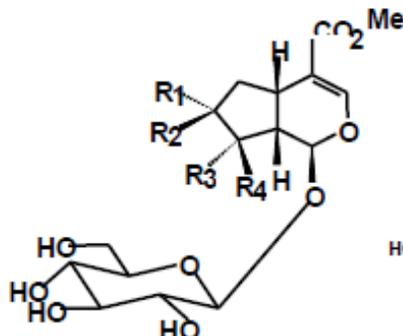
12 $R_1=R_3=H, R_2=CH_3, R_4=Glc$ (genipina gentiobiosideo)



6 tarenosideo

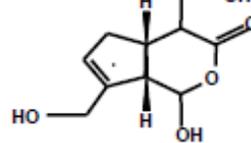


7 gardenosideo

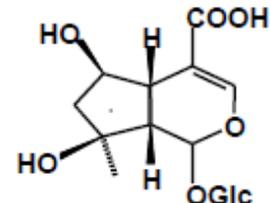


8 $R_1=R_4=OH, R_2=H, R_3=CH_2OH$ (genamesideo A)

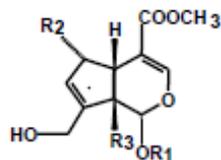
9 $R_1=H, R_2=R_3=OH, R_4=CH_2OH$ (genamesideo B)



15 gardendiol



17 shanzhisideo



16 $R_1=Glc, R_2=OH, R_3=H$
(éster acetílico do ácido desacetilasperulosídico)

Fuente: Barbosa, 2008

Anexo III: Tablas

Tabla.1. ANÁLISIS ALIMENTARIO POR CADA 100G DE PULPA COMESTIBLE

Calorías	113
Humedad	67.6 g
Proteínas	5.2 g
Lípidos	0.3 g
Glicerina	25.7 g
Fibra	9.4 g
Cenizas	1.2 g
Calcio	40.0 mg
Fósforo	58.0 mg
Hierro	3.6 mg
Vitamina B	0.04 mg
Vitamina B2	0.04 mg
Niacina	0.50 mg
Ácido Ascórbico	33.0 mg

Fuente: UNCTAD, 2005

Tabla 2. PUNTO DE EBULLICIÓN DE SOLVENTES COMÚNMENTE UTILIZADOS

Solvente	Temperatura Ebullición (°C)
Éter Dietílico	34.6
Diclorometano	39.6
Éter de Petróleo	30-40
Cloroformo	61.2
Metanol	64.7
Etanol-Benceno	65
Hexano	68
Etanol tolueno	73
Acetato de etilo	77
Etanol	78.4
Benceno	80.1
Ciclohexano	80.7
Ácido Fórmico	100.8
Dioxano	101.1
Tolueno	110.6

Fuente: Perez & Veloz, 2016

Tabla 3. COMPARACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE ENTRE FRUTOS MADUROS Y FRUTOS VERDES DE GENIPA AMERICANA L.

Barbosa		Perez y Veloz	
Concentración Extracto Jagua (μM)	%CA	Concentración Extracto Jagua (μM)	%CA
0.5	2.65 ± 0.45	0.5	0.35 ± 0.16
2.5	2.8 ± 0.26	2.5	0.37 ± 0.08
5	3.24 ± 0.68	5	0.43 ± 0.05
10	3.24 ± 1.11	10	1.2 ± 0.13
25	13.27 ± 0.77	25	1.77 ± 0.96
50	20.79 ± 0.77	50	2.77 ± 0.52
125	44.69 ± 0.44	125	5.96 ± 0.65
250	67.55 ± 1.68	250	9 ± 1.26
500	86.04 ± 0.75	500	11.47 ± 1.37
1000	91.3 ± 0.75	1000	12.17 ± 0.84

Fuente: Pérez & Veloz, 2016

Tabla 4. RELACION DE LA CONCENTRACION Trolox Y PORCENTAJE DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

Concentración Trolox (μM)	%CA
1	0
2	0.8
4	3.35
8	6.02
16	14.85
32	28.91

Fuente: Pérez & Veloz, 2016

TABLA 5. VALORES DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE (%AA) EN CE₅₀ PARA LOS EXTRACTOS METANOLICOS Y PARA EL PATRON GINKGO BILOBA ANALIZADOS CON DPPH.

Tabela 7 - Valores de atividade antioxidante (AA%) e CE₅₀ (µg/ml) para os extratos metanólicos e para o padrão *Ginkgo biloba* testados com DPPH*.

Maceração		Soxhlet		Ultrassom		<i>Ginkgo biloba</i>	
Concentração (µg/ml)	AA% (Média±dp)						
0,5	4,86±0,77	0,5	2,65±0,45	0,5	5,75±0,44	0,5	10,77±1,35
2,5	7,37±0,67	2,5	2,80±0,26	2,5	6,49±0,92	2,5	25,07±1,12
5	7,96±0,45	5	3,24±0,68	5	9,29±0,44	5	34,96±1,17
10	8,41±0,89	10	3,24±1,11	10	12,39±0,00	10	59,00±1,68
25	13,57±1,68	25	13,27±0,77	25	17,85±0,51	25	86,43±0,25
50	20,06±0,68	50	20,79±0,77	50	24,34±0,89	50	86,28±0,44
125	36,87±1,02	125	44,69±0,44	125	43,21±1,02	125	86,43±0,25
250	57,96±1,17	250	67,55±1,68	250	58,41±0,89	250	87,76±1,28
500	88,67±1,31	500	86,04±0,75	500	89,00±0,28	-	-
1000	91,62±0,50	1000	91,30±0,75	1000	94,42±0,57	-	-
*CE ₅₀	162,1±3,81	*CE ₅₀	140,5±2,45	*CE ₅₀	135,4±1,36	*CE ₅₀	6,25±0,09

*CE₅₀ = concentração suficiente para se obter metade do efeito máximo estimado em 100% (média±erro padrão); AA%= média e desvio padrão da média para 3 leituras de atividade antioxidante.

Fuente: Barbosa, 2008

TABLA 6. DETERMINACION DE LA CONCENTRACION DEL EXTRACTO

Muestra	M_{inicial} (g)	M_{seco} (g)	M_{seco} – M_{inicial} (g)	Sólidos Solubles en 1.5 ml (mg)
1	26.4780	26.5027	0.0247	24.70
2	25.4133	25.4383	0.025	25.00
3	26.8754	26.9003	0.0249	24.90
4	25.1484	25.1788	0.0304	26.10
5	25.1989	25.2242	0.0253	25.30
6	26.4773	26.5026	0.0253	25.30
7	25.4130	25.4377	0.0247	24.70
8	26.8746	26.8900	0.0154	25.90
9	25.1482	25.1728	0.0246	24.60
10	25.1990	25.2247	0.0257	25.70

Fuente: Pérez & Veloz, 2016

Anexo IV: Glosario

- **Antioxidante:** molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación de otras moléculas.
- **Cofactores:** también llamados oligoelementos, son componentes no proteicos, termoestables y de baja masa molecular que son necesarios para la acción de una enzima.
- **DPPH●:** método utilizado para la determinación de capacidad antioxidante de diversas sustancias naturales.
- **EC₅₀:** concentración de una sustancia en un medio que se espera produzca un cierto efecto en el 50% de los organismos testeados de una población bajo ciertas condiciones.
- **Enzima:** son biomoléculas especializadas en la catálisis de las reacciones químicas que tienen lugar en la célula.
- **ERO:** especies reactivas del oxígeno. Incluyen iones de oxígeno, radicales libres y peróxidos, tanto orgánicos como inorgánicos. Son generalmente moléculas altamente reactivas debido a la presencia de una capa de electrones de valencia no apareada.
- **Extracto:** sustancia que, en forma concentrada, se extrae de otra utilizando un solvente, de la cual conserva sus propiedades.
- **Iridoides:** grupo de monoterpenos, que presentan como esqueleto de carbono el 1-isopropil-2,3-dimetilciclopentano, denominado como iridano.

- **Oxidación:** reacción química de transferencia de electrones de una sustancia a un agente oxidante.
- **Radical Libre:** especie química caracterizada por poseer uno o más electrones desapareados; extremadamente inestable y con gran poder reactivo.
- **Tanino:** derivados del metabolito secundario de las plantas; compuestos fenólicos, no nitrogenados. Sustancia muy astringente, la cual se emplea principalmente en el curtido de pieles y en la elaboración de ciertos fármacos.
- **Trolox:** homólogo hidrosoluble de la vitamina E. Es universalmente empleado como estándar en diversos ensayos de actividad antioxidante.