

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

Determinación de la capacidad antioxidante total y concentración de fenoles totales en *S. americanum* sometida al proceso de escaldado, deshidratado y almacenamiento

Maylena Yadardily Calderón Rubio

Química Bióloga

Guatemala, Mayo del 2011

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS

Determinación de la capacidad antioxidante total y concentración
de fenoles totales en *S. americanum* sometida al proceso de
escaldado, deshidratado y almacenamiento

Informe de Tesis

Presentado por

Maylena Yadardily Calderón Rubio

Para optar al Título de

Química Bióloga

Guatemala, Mayo del 2011

JUNTA DIRECTIVA

Oscar Cóbar Pinto, Ph.D.	Decano
Lic. Pablo Ernesto Oliva Soto, M.A.	Secretario
Licda. Lillian Raquel Irving Antillón, M.A.	Vocal I
Licda. Liliana Vides de Urizar	Vocal II
Lic. Luis Antonio Gálvez Sanchinelli	Vocal III
Br. José Roy Morales Coronado	Vocal IV
Br. Cecilia Liska de León	Vocal V

ACTO QUE DEDICO

Al Eterno Creador del Universo	Por darme la sabiduría y entendimiento necesario para alcanzar mis metas.
Mis padres: Fredy Calderón y Gradiola de Calderón	Por su amor incondicional y darme todo su apoyo para poder alcanzar cada uno de mis objetivos.
Mi esposo: Guillermo Reyes Pérez	Por su amor, apoyo, dedicación y paciencia.
Mis hermanas: Melissa, Karen, Flord’.	Por su cariño, ánimo y compañía.
Mi sobrino: Ary Moshe	Por su alegría imparable
Mis abuelitas: Amparo Maldonado y Minerva Ruiz	Que el Eterno las eleve con su luz de misericordia.
Mi Familia	Por darme ánimo en el transcurso de la carrera.
Amigos	Por compartir alegrías, tristezas, enojos en cada año que compartíamos.

AGREDECIMIENTOS

Universidad de San Carlos de Guatemala Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia	Por abrirme sus puertas y permitirme obtener conocimientos y experiencias en una formación universitaria.
Escuela de Química Biológica Departamento de Bioquímica	Por el apoyo y colaboración brindado para realizar esta investigación.
Asesores: Licda. Julieta Salazar de Ariza Dr. Rubén Velásquez	Por su paciencia, apoyo, orientación y la oportunidad de realizar este proyecto de investigación.
Revisores: Dra. Patricia Saravia Licda. Alba Marina de García	Por su colaboración, tiempo y dedicación en la revisión durante el desarrollo de la tesis.
Licda. Sandra Lima	Por su valiosa ayuda y consejos.
Licdo. Armando Cáceres	Por su colaboración en la obtención de las muestras de <i>S. americanum</i> .
Catedráticos	Por los conocimientos y experiencias brindadas durante mi formación universitaria.
Diagnostico Profesional	Por brindarme el tiempo necesario para lograr culminar este proyecto.

ÍNDICE

I.	RESUMEN	1
II	INTRODUCCIÓN	3
III.	ANTECEDENTES	5
	A. Radicales libres	5
	B. Sistema antioxidantes	6
	C. <i>Solanum americanum</i>	9
	D. Métodos de conservación de hojas comestibles	10
	E. Determinación de antioxidantes	12
IV.	JUSTIFICACIÓN	14
V.	OBJETIVOS	16
VI.	HIPÓTESIS	17
VII.	MATERIALES Y MÉTODOS	
	18	
	A. Universo	18
	B. Muestra	18
	C. Materiales	18
	D. Métodos	20
	E. Diseño estadístico	23
VIII.	RESULTADOS	25
IX.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	28
X	CONCLUSIONES	32
XI.	RECOMENDACIONES	33
XII.	REFERENCIAS	34
XIII	ANEXOS	

I. RESUMEN

En el presente estudio se evaluó el efecto que ejercen los procesos de escaldado, deshidratado y almacenamiento sobre la capacidad antioxidante total y el contenido de fenoles totales en las hojas de *Solanum americanum* (macuy, hierba mora o quilete).

El proceso de escaldado se realizó aplicando vapor de agua a las hojas frescas durante 30 segundos, posteriormente se deshidrataron en una desecadora artesanal por 48 horas. El estudio incluyó el análisis de la capacidad antioxidante total por el método α, α -difeníl- β -picrilhidrazilo (DPPH), y el contenido de fenoles totales por la reacción de Folin Ciocalteu, en los extractos metanólicos de las muestras frescas, escaldadas, deshidratadas y almacenadas en empaque con vacío y sin vacío por 2, 4 y 6 meses.

El análisis estadístico con un valor de significancia $p < 0.05$, indica que el escaldado no disminuye significativamente la capacidad antioxidante total, pero si causo una disminución significativa en la concentración de fenoles totales (perdida del 20 %), La deshidratación de las muestras disminuyó significativamente (las muestras deshidratadas tienen 4.7 veces menos potencia antioxidante que las muestras escaldadas y frescas), así mismo disminuye significativamente la concentración de fenoles totales (perdida del 60%).

Usando el mismo valor de significancia ($p < 0.05$), se demostró que la capacidad antioxidante total no disminuye significativamente durante los 6 meses en almacenamiento en empaque al vacío. Sin embargo, existe una disminución significativa en la capacidad antioxidante cuando es almacenada sin vacío (perdida de potencia antioxidante de 1.2 veces). La concentración de fenoles totales disminuye significativamente (perdida del 9%) después de dos meses en almacenamiento al vacío; de igual manera, el almacenamiento sin vacío evidencia una pérdida significativa entre los 2 y 4 meses de almacenamiento; llegando a ser esta pérdida a los 6 meses hasta de un 20%.

Se concluye que el escaldado no afecta la capacidad antioxidante total y el contenido de fenoles totales en las hojas de *S. americanum*, mientras que el procesamiento de deshidratado sí lo afectó. El almacenamiento al vacío conservó la capacidad antioxidante y contenido de fenoles totales pero no el almacenamiento sin vacío

Pese a la pérdida que se da en *S. americanum* por el deshidratado, el procesamiento de la planta (escaldado y deshidratado) y su conservación al vacío, representa una alternativa para permitir la utilización de este recurso alimenticio más allá de la época de su cosecha, debido a que *S. americanum* aun conserva una buena cantidad de sus propiedades antioxidantes.

II. INTRODUCCION

Un radical libre es un átomo o molécula que posee uno o más electrones no apareados. Los radicales libres son químicamente muy inestables, para estabilizarse buscan un electrón de cualquier molécula vecina, alterando su estructura y convirtiéndola a su vez en otro radical libre. Los radicales libres alteran la estructura química de algunas moléculas, con lo que se puede modificar la estructura celular, y en consecuencia ocasionar enfermedades crónicas degenerativas y procesos de envejecimiento, entre otros (1,2).

La producción de radicales libres en el organismo es común, éstos son producidos continuamente por el propio metabolismo y por agentes tóxicos como el alcohol, el tabaco o la contaminación. Los antioxidantes son de gran importancia porque contribuyen a evitar el daño producido por los radicales libres, ya que poseen una gran afinidad hacia ellos (3).

Los antioxidantes se encuentran en una gran variedad de frutas, vegetales y hierbas, entre las que se puede mencionar a *Solanum americanum* (macuy, hierba mora o quilete). Ésta es una planta nativa de América, que puede ser utilizada como hierba comestible y como planta medicinal. De *S. americanum* se consumen las hojas y puntas cocidas de las plantas en prefloración, en esta tiene mayor cantidad de vitaminas y actividad antioxidante. Las hojas pueden sustituir a las de la espinaca y debido a su alto contenido de proteína, es un buen suplemento de los cereales. Su contenido de carotenos, ácido ascórbico y actividad antioxidante, es apreciable (4).

Por las propiedades nutritivas de *S. americanum*, su crecimiento en forma silvestre y su fácil accesibilidad, esta planta puede ser considerada como un recurso alimenticio de interés para sectores marginados de la población. Además, por su contenido de antioxidantes y metabolitos secundarios, su ingestión frecuente puede tener efectos benéficos sobre la salud de quienes la consumen.

S. americanum posee un ciclo de vida anual o perenne, crece principalmente durante la época lluviosa del año, por lo que durante la época seca su disponibilidad disminuye apreciablemente. Por ese motivo, es necesario desarrollar métodos de conservación, que permitan tener disponible este recurso alimenticio más allá de la época lluviosa, para que los beneficios como recurso alimenticio sean aprovechados durante todos el año (5).

De los métodos de conservación de vegetales, el escaldado y la deshidratación son de los más utilizados, debido a su poca complejidad tecnológica, su bajo costo y sus buenos resultados. Estos métodos de procesamiento, así como su almacenamiento bajo dos condiciones distintas (al vacío y sin vacío) han sido propuestos para conservar este vegetal. Se han iniciado estudios para determinar el cambio que pueden producir el escaldado, la deshidratación y el almacenamiento; sobre los macronutrientes de esta planta, sin embargo, no se conoce el efecto de este procesamiento sobre la actividad antioxidante. Por esta razón, en este trabajo se pretende determinar el efecto del escaldado, deshidratado y almacenamiento sobre la conservación de la capacidad antioxidante total y concentración de fenoles totales en *S. americanum*. (5).

Para evaluar la capacidad antioxidante se obtuvieron extractos metanólicos de *S. americanum* antes y después de ser sometida a su procesamiento, y durante su almacenamiento al vacío y en atmósfera sin vacío. La capacidad antioxidante total se determinará a través del método de α , α - difenil - β - picrilhidrazilo (DPPH), y el contenido de grupos fenoles por el método de Folin Ciocalteu.

III. ANTECEDENTES

A. Radicales Libres

1. Definición

Son átomos que tienen un electrón desapareado por lo que son muy reactivos ya que tienden a robar un electrón de moléculas estables con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica. (6).

La producción de radicales libres se ve influenciada por los procesos normales del organismo como el metabolismo de los alimentos, la respiración y el ejercicio, la exposición a elementos del medio ambiente, la producción industrial, el tabaco, la radiación, medicamentos, aditivos químicos en los alimentos procesados y pesticidas (7).

No todos los radicales libres son dañinos. Las células del sistema inmune crean radicales libres para defender al organismo de algunas bacterias y virus, pero si no hay un control en la producción de éstos pueden influir en la alteración de la estructura celular, lo cual puede contribuir al apareamiento de enfermedades crónicas degenerativas en el organismo y procesos de envejecimiento, entre otros (1,7,8).

2. Especies Reactivas de Oxígeno (EROs)

Especies reactivas de oxígeno es el término que se aplica colectivamente a las moléculas radicales y no radicales que son agentes oxidantes y son fácilmente convertidos a radicales (6).

Las EROs son indispensables para mantener la homeostasis celular. En los últimos años se ha evidenciado su papel en respuesta a la estimulación por factores de crecimiento que están involucrados en la regulación proliferativa. Sin embargo, si los niveles de moléculas

oxidantes aumentan más que los sistemas enzimáticos antioxidantes, la célula se encuentra sometida a lo que se ha denominado *estrés oxidativo*. El resultado de este incremento en las EROs pueden producir modificaciones en las proteínas, los lípidos y el ADN (9).

Cuando la concentración de especies oxidantes causa más daños de los que la célula puede reparar, puede incluso ocurrir muerte celular. Aun si existe un balance entre los oxidantes y los antioxidantes, pueden ocurrir daños puntuales que quedan sin reparar, pero que no alteran el metabolismo inmediato de las células. Dentro de los daños puntuales se puede mencionar, oxidación y peroxidación de lípidos, desnaturalización de proteínas, despolimerización de polisacáridos, rompimiento de las membranas celulares, inactivación de enzimas, pueden interferir con la inmunogenicidad y provocar carcinogénesis (9).

B. Sistema Antioxidante

Los antioxidantes son una forma de defensa del cuerpo humano, estos inhiben o neutralizan el daño potencial que los radicales libres pueden ocasionar (10).

La eficacia de un antioxidante depende de factores como la concentración, el medio donde actúa y de la habilidad que tenga para interactuar con sistemas regeneradores (11).

Existen antioxidantes endógenos como la superóxido dismutasa, catalasa, glutatión peroxidasa, y antioxidantes exógenos como la vitamina E, vitamina C, carotenos, y fenoles los cuales se adquieren en la alimentación diaria.

1. Antioxidantes Endógenos

a) Superóxido dismutasa (SOD), es una de las enzimas antioxidantes más importantes. Es considerado el mecanismo maestro de defensa de las células para atrapar a los radicales libres. Esta enzima cataliza la dismutación de superóxido en oxígeno y peróxido de hidrógeno (12).

b) Catalasa, que actúa coordinadamente con la SOD y cataliza la eliminación del peróxido de hidrógeno originado por esta última (14).

c) Glutación peroxidasa (GPX), que convierte el peróxido de hidrógeno y los peróxidos lipídicos en moléculas inofensivas antes que puedan formar radicales libres (14).

2. Antioxidantes Endógenos

a) Vitamina C, es un antioxidante hidrosoluble. Figura en la primera línea de defensa antioxidante del plasma, es un poderoso inhibidor de la oxidación de los lípidos. Regenera la vitamina E, es un protector sobre los efectos del tabaco. La vitamina C puede donar electrones para contrarrestar varias especies de radicales libres y oxidantes, y además regresa con facilidad a su estado reducido para ser donador de electrones ubicuos como el glutatión y NADPH.

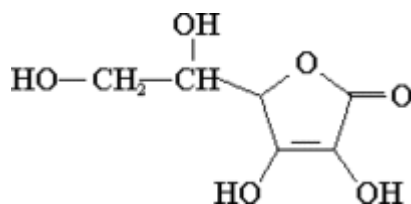


Figura No. 1 Estructura química de la vitamina C

b) Vitamina E, es un antioxidante natural que reacciona con radicales libres solubles en lípidos de la membrana celular. De esta forma mantiene la integridad de la misma dando protección a las células ante la presencia de compuestos tóxicos, metales pesados (plata, mercurio, plomo), drogas y radiaciones. El α - tocoferol se encuentra en las membranas de las lipoproteínas, bloquea la reacción en cadena de la peroxidación lipídica, eliminando a los radicales peroxilo intermediarios. El radical tocoferol es mucho menos reactivo en el ataque de las cadenas laterales de los ácidos adyacentes, es importante en la

protección frente a la aterosclerosis, en lactantes frente a la retinopatía de la premadurez y, quizás, a la hemorragia intracraneal (15).

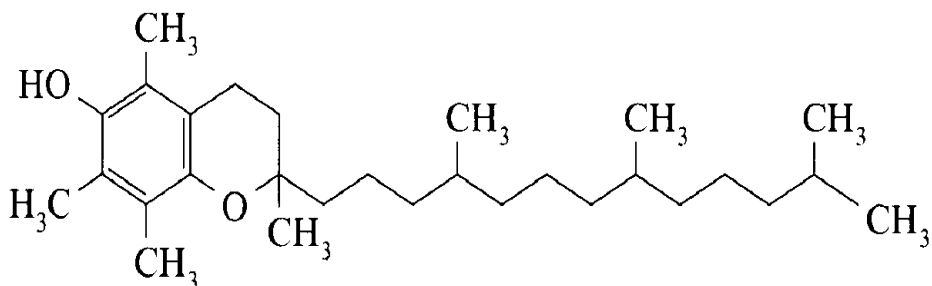


Figura No. 2 Estructura química de la vitamina E

c) Carotenos, los alfa y beta carotenos son precursores de la vitamina A y actúan como nutrientes antioxidantes. Son los únicos carotenoides que se transforman en cantidades apreciables de vitamina A y poseen una fuerte acción antioxidante que se reconoce especialmente por la neutralización del oxígeno por un mecanismo de transferencia energética del radical, formación de un triplete de vitamina A y posterior disipación de esta energía con regeneración de la vitamina. Hay pruebas epidemiológicas crecientes de que sus niveles elevados en el organismo se asocian a una disminución del riesgo de cáncer y de enfermedad cardiovascular, sobre todo en los fumadores (15,16).

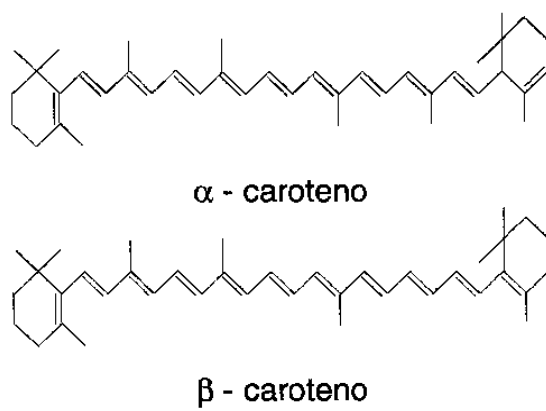


Figura No. 3 Estructura química de carotenos.

d) Compuestos fenólicos y polifenólicos, constituyen una clase de metabolitos secundarios biosintetizados por el reino vegetal. Los polifenoles comprenden un amplio rango de sustancias que poseen uno o más anillos aromáticos con por lo menos un grupo hidroxilo. Entre ellos podemos mencionar a los flavonoides, isoflavonoides, antraquinonas, antocianidinas y xantonas, a los ácidos fenólicos que se presentan como polifenoles polimerizados o en forma de pequeños monómeros (ej: ácido cafeínico y el ácido cumarínico), a los fenoles simples, a los ácidos hidroxycinámicos, a los fenilpropenos, a las ligninas, etc. Los mismos actúan generalmente como capturadores y estabilizadores de radicales libres, pudiendo producir quelación de metales aquellos que poseen en su estructura grupos carboxílicos (17).

También han sido reportados trabajos que atribuyen su acción antioxidante al inhibir enzimas prooxidantes como la lipooxigenasa. El mecanismo de protección de los polifenoles ocurre en el estado inicial y más efectivamente durante el estado de propagación de la oxidación, por captura de los radicales libres, inhibiendo de esta manera la reacción en cadena (17,18)

C. *Solanum americanum*

S. americanum es una planta silvestre nativa de América, también es conocida como macuy, hierva mora o quilete, posee un ciclo de vida anual o perenne por lo que su mayor crecimiento se da en la época lluviosa del año. En tamaño alcanza hasta un metro de altura, tiene un tallo pubescente, hojas que pueden estar en pares o bien solitarias lanceoladas, tiene un ápice agudo, frutos globosos negros cuando están maduros y miden de 4 – 8 mm de diámetro. (19)

Se consumen las hojas y puntas cocidas de las plantas en prefloración, etapa en la que tiene mayor cantidad de vitaminas y actividad antioxidante. Aunque se consume principalmente en las áreas rurales por su bajo costo, también se encuentra fácilmente en

los mercados de áreas urbanas. *S. americanum* tiene un sabor herbáceo, olor ligeramente fétido, y las sustancias nocivas que pueda tener, se elimina con la cocción. Las hojas pueden sustituir a las de la espinaca debido a su alto contenido de proteína, es un buen suplemento de los cereales. Su contenido de carotenos y ácido ascórbico es de 1883 y de 92 mg por 100g respectivamente. Posee por cada 100 gramos de peso seco un valor energético de 45 kcal, 5.1 gramos de proteínas totales, 0.8 gramos de grasa total, 7.3 gramos de carbohidratos, 85 gramos de agua, 226 mg de calcio, 74 mg de fósforo, 12.6 mg de hierro, 0.20 mg de tiamina y 0.35 mg de riboflavina (20,5).

IC₅₀ es la forma de expresión de la actividad antioxidante, que es la cantidad de sustancia requerida para dar un 50 por ciento de disminución de la absorbancia del reactivo α, α – difenil- β – picril- hidrazilo (DPPH) (22).

Un estudio realizado por Caballeros K se encontró que los extractos metanólicos de *S. americanum* poseen un IC₅₀ de 0.960 mg valor que refleja una mayor actividad antioxidante que la uva negra sin cáscara, la cual posee un IC₅₀ de 1.890 mg. Al compararla con la hoja de Chomtee (*Lycianthes synanthera*) se observa que *S. americanum* tiene menor actividad antioxidante, ya que chomtee presenta un IC₅₀ de 0.894 mg. (21).

D. Métodos de conservación de hojas comestibles

1. Escaldado al vapor

Es un calentamiento de corta duración destinado a inactivar enzimas propias de un alimento de forma que se detenga su actividad metabólica y cese la degradación del alimento, entre las enzimas que producen estas degradaciones se encuentran la catalasa, lipooxigenasa, y la peroxidasa. Con esta técnica se reduce la cantidad de oxígeno presente en la hierba, con lo que se impide la oxidación de la misma, y por lo tanto la conservación de la capacidad antioxidante (23).

El escaldado puede producir efectos indeseables en el alimento ya que produce pérdida de nutrientes por disolución tal como sales minerales, vitaminas hidrosolubles y otros componentes solubles en agua (23).

El escaldado debe ser considerado una operación de estabilización complementaria, y no un método de conservación por sí sólo; por lo que debe aplicarse combinado con otra técnica como el deshidratado o la refrigeración (23).

2. Deshidratado

La deshidratación es un método de conservación de los alimentos que consiste en reducir a menos del 13% su contenido de agua, tiene como objetivo inhibir el efecto de los microorganismos y enzimas, logrando con esto que se puedan almacenar por un tiempo mayor, reducir el peso de los alimentos, y por lo mismo se favorece su transporte (24, 25).

Hay varias técnicas para deshidratar, la más económica y que no necesita de energía eléctrica es la que utiliza el sol como fuente de calor. Para hacer más eficiente la deshidratación se utiliza un ventilador para hacer circular el aire caliente y de esta forma extraer el agua de los alimentos en un tiempo menor y más uniforme (26).

Las ventajas del deshidratado que se identificaron en un estudio realizado por Segura E. incluyen la obtención de productos de fácil reconstitución, reducción en el peso y volumen del alimento, facilidad de transporte, conservación y disponibilidad en épocas de no cosecha, requerimientos y costos bajos. Además los alimentos secos y deshidratados son más concentrados que cualquier otra forma de productos alimenticios preservados (27)

Entre las desventajas del deshidratado pueden incluirse la pérdida de algunos nutrimentos (proteínas, vitaminas), pérdida de algunos atributos sensoriales (olor, color, sabor, etc), y puede presentarse oscurecimiento no enzimático (28).

E. Determinación de Antioxidantes

Dentro de las metodologías estandarizadas en Guatemala para determinar antioxidantes se puede mencionar:

1. Actividad antioxidante total.

El método DPPH (α,α -difeníl – β -picrilhidrazilo) evalúa la capacidad que tiene un posible antioxidante para neutralizar un radical. El reactivo DPPH es un radical estable que presenta una intensa coloración violeta y que absorbe radiación a 517 nm, de forma que su concentración se puede determinar mediante métodos espectrofotométricos. En esta metodología se determina la concentración inicial de DPPH y la concentración resultante una vez que se ha añadido el extracto metanólico, de manera que una disminución de la absorción de radiación se traduce en una disminución de la concentración de DPPH debida a la cesión de electrones de la especie antioxidante. Los resultados son expresados como la concentración de inhibición al 50% (IC₅₀). Los valores obtenidos generalmente son de baja denominación cuando los extractos poseen alta actividad antioxidante y de alta denominación cuando poseen escasa actividad antioxidante (29).

2. Fenoles Totales

El método de Folin-Ciocalteu detecta la concentración de fenoles mediante la formación de sales de tungsteno y molibdeno cuantificable por espectrofotometría a 765nm. Este ensayo es el más específico que existe para la determinación de fenoles, ya que otros métodos como las determinaciones espectrofotométricas directas son menos precisas debido a la diferencia en absorbancia molar específica, y el color presente de sustancias no-fenólicas. (30).

En vista que la determinación de la capacidad antioxidante total mide todos los antioxidantes presentes en *S. americanum*, es importante realizar un análisis específico para

determinar la concentración de fenoles totales presentes en la planta, ya que un mayor contenido de fenoles se asocia con una mejor actividad antioxidante. Ésto es debido a que los compuestos fenólicos tienen la capacidad de proteger a las células contra el daño oxidativo, además, se les ha atribuido una gran diversidad de efectos terapéuticos, tales como antiinflamatorios, hepatoprotectores, entre otros, y tienen una estabilidad mayor que la del ácido ascórbico.

Una planta puede presentar una elevada capacidad antioxidante total pero poseer un bajo contenido de fenoles, lo cual es indicativo de que la capacidad antioxidante se debe al efecto combinado de diversos factores, como puede ser la presencia de otro tipo de metabolitos antioxidantes, o bien, una actividad pro-oxidativa que se contrapone al potencial antioxidante (31).

IV. JUSTIFICACIÓN

Las células del organismo están constantemente expuestas a la acción de los radicales libres. Éstos pueden causar modificaciones químicas de proteínas, lípidos y ácidos nucleicos. Los radicales libres han estado asociados al incremento de enfermedades crónicas degenerativas como aterosclerosis y la artritis reumatoide. Los antioxidantes son una forma de defensa del cuerpo humano contra los radicales libres, inhiben o neutralizan el daño potencial que éstos pueden ocasionar (1).

Los antioxidantes se encuentran en una gran variedad de frutas, vegetales y hierbas, entre las que se puede mencionar *Solanum americanum* (macuy, hierba mora o quilete). En Guatemala, poblaciones que tienen poco acceso a alimentos consumen hierbas silvestres las cuales recolectan en lugares cercanos a su vivienda. Para estas poblaciones estas hierbas silvestres, entre las que se puede contar a *S. americanum*, son un recurso alimenticio importante. *S. americanum* destaca por su composición nutricional, su contenido de sustancias antioxidantes y otros metabolitos secundarios por lo que su consumo frecuente puede tener efectos benéficos sobre la salud.

Debido a que *S. americanum* está poco disponible durante la época seca, el desarrollo de procesos de conservación, pueden determinar que éste recurso alimenticio pueda ser aprovechado durante todo el año. El éxito de un proceso de conservación de alimentos radica en una pérdida poco significativa de compuestos con propiedades nutritivas. En el caso de *S. americanum*, también es deseable la conservación de sus propiedades antioxidantes.

Actualmente, en la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia se está estudiando el escaldado, la desecación artesanal y el almacenamiento al vacío, como alternativa para la conservación de vegetales de hoja, sin que se afecte apreciablemente el contenido de macronutrientes y otros compuestos de interés. Por este motivo, es importante conocer qué efecto tiene este tipo de procesamiento y almacenamiento sobre la actividad antioxidante de

S. americanum. De esta forma, se conoció si el efecto benéfico de los antioxidantes está presente en esta planta después de ser procesada, y si es aprovechable en este sentido durante todo el año. Esto permitirá valorizarla como recurso alimenticio funcional.

V. OBJETIVOS

A. OBJETIVO GENERAL

Determinar el efecto del proceso de escaldado, deshidratado y almacenamiento sobre la conservación de la capacidad antioxidante total y concentración de fenoles totales en *Solanum americanum*.

B. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar la actividad antioxidante total en la muestra fresca y después del procesamiento de escaldado y deshidratado.
2. Determinar la concentración de fenoles totales de la muestra fresca y después del procesamiento de escaldado y deshidratado.
3. Determinar la actividad antioxidante total de muestras procesadas (escaldada y deshidratada) al cero, dos, cuatro y seis meses de almacenamiento en empaque al vacío y en empaque en atmósfera no controlada.
4. Determinar la concentración de fenoles totales de muestras procesadas (escaldada y deshidratada) al cero, dos, cuatro y seis meses de almacenamiento en empaque al vacío y en empaque en atmósfera no controlada.
5. Evaluar la influencia del procesamiento, tiempo y condiciones de almacenamiento sobre la actividad antioxidante total.
6. Evaluar la influencia del procesamiento, tiempo y condiciones de almacenamiento sobre la concentración de fenoles totales.

VI. HIPÓTESIS

El proceso de escaldado, deshidratado y almacenamiento no influye en la actividad antioxidante de *Solanum americanum*.

El proceso de escaldado, deshidratado y almacenamiento no influye la concentración de fenoles totales de *Solanum americanum*.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

A. Universo

Planta *Solanum americanum*

B. Muestra

1, 500 gramos de hojas frescas silvestres de *Solanum americanum*.

C. Materiales

1. Recursos humanos

- Maylena Yadardily Calderón Rubio (tesista)
- Dr. Rubén D. Velásquez Miranda (asesor)
- Licda. Julieta Salazar de Ariza (asesora)

2. Equipo

- Balanza semianalítica (Máximo 160 g Mínimo 0.00 g)
- Horno (100°C +/- 1)
- Termómetro (0 -100 °C)
- Baño de María (90 +/- 5)
- Desecadora de vidrio
- Refrigeradora (4 a 7 °C)
- Vortex
- Agitador magnético
- Magnetos
- Espectrofotómetro Genesys100v thermospectronic

- Potenciómetro o pHmetro
- Balanza Analítica (Máximo 310 g Mínimo 0.02 g)
- Vasos de precipitar 250 ml
- Tubos de ensayo 10 ml
- Balón volumétrico de 100 ml
- Frasco de vidrio color ámbar con capacidad de 100 a 250 ml y tapón de rosca
- Gradillas para tubos con capacidad de 10 ml
- Pipetas automáticas 5 – 50 μ l
- Pipetas automáticas 100 – 1000 μ l
- Puntas para pipetas
- Olla de aluminio con capacidad de 500 ml
- Coladores de Aluminio 25 cm de diámetro
- Bandejas para desecadora 60cm X 60 cm de madera
- Máquina para empacar al vacío

3. Reactivos

- Metanol grado comercial
- Agua desmineralizada grado comercial
- Reactivo de Folin Ciocalteu
- Solución de carbonato de sodio (Na_2CO_3) 10% p/v
- Ácido gálico ($\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_5$) en solución 1mg/ml
- Reactivo DPPH (α,α -difeníl – β -picrilhidrazilo)
- Ácido acético 0.2 M
- Acetato sódico 0.2 M
- Hidróxido de Sodio
- Carbonato de calcio
- Nitrógeno gaseoso

4. Formularios

- Formulario para la recolección de muestra en campo (Anexo 1).
- Formulario para el registro de volúmenes totales de extracto (Anexo 2).
- Formulario para registro de datos obtenidos de la capacidad antioxidante (Anexo 3).
- Formulario para el registro de datos del contenido de fenoles (Anexo 4).
- Formulario para peso seco de la muestra vegetal (Anexo 5).

D. Métodos

1. Obtención de la muestra vegetal

- Se colectaron muestras de hojas de *Solanum americanum* (quilete, macuy o hierva mora) de la finca San José ubicada en el Km. 158, Mazatenango Suchitepequez.
- Las muestras fueron seleccionadas según el grado de maduración de frutos ya que éstas deben estar tiernas.
- Las muestras frescas se introdujeron en bolsas de tela y se transportaron en hielera hacia el laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia un día después de la colecta.
- Las muestras se guardaron en refrigeración y al día siguiente se lavaron con agua para eliminar residuos y se seleccionaron 12 gramos para preparar los extractos y el resto para el proceso de escaldado, deshidratado y almacenamiento.

2. Preparación del extracto vegetal de *Solanum americanum* con muestra fresca

- Para la preparación del extracto a partir de las muestras frescas se pesaron 4 g y se agregó 50ml de metanol.
- Se saturó la atmósfera con nitrógeno gaseoso por 30 segundos.
- Se agitó por dos horas utilizando un agitador magnético, protegiendo la muestra de la luz.

- Se repitieron las extracciones con fracciones de 50 ml hasta que el extracto se obtenga incoloro.
- Se midió el volumen total de cada extracto.
- Se repitió el procedimiento para obtener por triplicado los extractos de la planta.

3. Procesamiento de muestras frescas.

- Las muestras frescas se sometieron al proceso de escaldado al vapor.
- Se colocó agua en una olla y se llevó a ebullición
- Se colocó un colador de aluminio sobre la olla, de manera que el vapor del agua saliera por los agujeros.
- Se colocaron las hojas en el colador y se sometieron al vapor por 30 segundos.
- Una vez escaldadas las hojas se colocaron en un cedazo el cual se colocó en una desecadora eléctrica por 24 a 48 horas, hasta que las hojas presentaron textura quebradiza.
- De las muestras deshidratadas se empacaron 120 gramos al vacío y 60 gramos sin vacío para su posterior análisis a los dos meses, a los cuatro meses y a los seis meses.

4. Preparación del extracto de *Solanum americanum* con muestra escaldada y seca.

- Se pesaron 2 g de las muestras deshidratadas, se colocaron en un balón volumétrico de 100ml y se agregó 50ml de metanol.
- Se saturó la atmósfera con nitrógeno gaseoso por 30 segundos.
- Se agitó por dos horas utilizando un agitador magnético, protegiendo la muestra de la luz.
- Se repitieron las extracciones con fracciones de 50ml hasta que el extracto se obtuvo incoloro.
- Se midió el volumen total de cada extracto.

- Se repitió el procedimiento para cada muestra (Seca y escaldada) y se obtuvieron extractos por triplicado.
5. Determinación de la actividad antioxidante utilizando DPPH (α,α -difeníl – β -picrilhidrazilo)
- Se preparó una serie de cuatro tubos de reacción por ensayo
 - Al primer tubo que es el blanco del control se le agregó 1ml de una solución tampón de acetato y 2ml de metanol
 - Al segundo tubo, llamado tubo control, se le agregó 1ml de tampón de acetato, 1.5ml de metanol y 0.5ml de solución metanólica de DPPH (0.0219% p/v).
 - Al tercer tubo, blanco del ensayo, se le agregó 1ml de tampón de acetato, 1.9 ml de metanol y 0.1 ml del extracto de la muestra
 - Al cuarto tubo, de ensayo, se le agregó 1 ml de tampón de acetato, 1.4 ml de metanol, 0.1 ml del extracto de la muestra y 0.5 ml de solución de DPPH.
 - Se agitó en vortex por 30 segundos e incubó a temperatura ambiente por 30 minutos, protegiéndolo de la luz.
 - Se realizó la lectura de la absorbancia en el espectrofotómetro, a una longitud de onda de 517 nm contra el blanco respectivo.
 - Se calculó el porcentaje de disminución de la ABS (517) causado por el extracto $[(\text{Abs control} - \text{Abs muestra}) / (\text{Abs control}) * 100 = \% \text{ Abs (517)}$
 - Se graficó la concentración del extracto (Eje X) vrs % Abs (517) (eje Y). Se interpolará el valor de IC₅₀.
 - La actividad antioxidante se expresó en términos de la concentración de inhibición al 50 por ciento (IC₅₀), que es la concentración del extracto requerida para dar un 50 por ciento de disminución de la absorbancia de DPPH
6. Determinación de compuestos fenólicos
- Se preparó una curva patrón con 4 ml de ácido gálico disuelto en agua en concentración entre 0.625 – 6.25 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$.

- Se agregó un blanco con 8.0 ml de agua, 0.8 ml de reactivo Folin - Ciocalteu y 1.6 ml de Na_2CO_3 al 10 % y 50 μl de muestra
- Al segundo tubo se le agregó 3.90 ml de agua, 0.4 ml de reactivo de Folin Ciocalteu y 0.8 ml de Na_2CO_3 al 10% y 100 μl de muestra.
- Se mezcló bien y se colocó en baño maria de 90 a 100 °C por 1 minuto. Se realizó la lectura de la absorbancia a 765 nm.
- Utilizando una curva patrón se calculó la concentración de compuestos fenólicos totales, expresados como equivalentes de ácido gálico/g de peso seco.

7. Determinación del peso seco de la muestra vegetal.

- Se realizó por triplicado el siguiente procedimiento para la muestra fresca, escaldada y deshidratada.
- Se introdujo un vidrio reloj en un horno a 100°C por una hora, se retiró y se dejó en una desecadora hasta que alcanzó la temperatura ambiente en (aproximadamente 15 minutos). Se determinará peso.
- Se repitió el procedimiento hasta obtener un peso constante (tara).
- Se agregó exactamente 1 gramo de muestra se colocó en un horno a 100°C por una hora, se retiró y se introdujo en una desecadora hasta que alcanzó la temperatura ambiente (aproximadamente 15 minutos). Se determinó el peso.
- Se repitió el procedimiento hasta que se alcance un peso constante.
- Se restó la tara y se determinó el peso seco de la materia vegetal expresado como mg materia seca/g de materia vegetal.

E. Diseño Estadístico

Tipo de estudio: Experimental de una fase

Diseño experimental: factorial 2 X 4 con dos factores, condiciones de almacenamiento y tiempo de almacenamiento.

Factores

- Condiciones de almacenamiento
 - Deshidratado y almacenado al vacío
 - Deshidratado y almacenado en atmósfera no controlada (no vacío)
- Tiempo de almacenamiento
 - Tiempo Cero
 - Tiempo 2 meses
 - Tiempo 4 meses
 - Tiempo 6 meses

Se realizaron ocho repeticiones por conveniencia.

Análisis estadístico

Se evaluó si hay diferencia o no en los factores individuales e interacciones por medio de un análisis de varianza para un diseño factorial, con un nivel de significancia del 5%.

Para evaluar la diferencia entre tiempos de almacenamiento se realizó la prueba de Dunnett comparando contra tiempo “0” (Control)

La interacción condición – tiempo, se analizó con la prueba de intervalos múltiples de Duncan.

La diferencia en condiciones del almacenaje se describió con los promedios generales entre dichas condiciones.

La evaluación de los tratamientos (escaldado y deshidratado) se realizó con un análisis de varianza en una vía utilizando la muestra fresca como control y se comparó por medio de la prueba de Dunnett, a un nivel de significancia $\alpha = 0.05$.

VIII. RESULTADOS

Se determinó el efecto del proceso de escaldado, deshidratado y almacenamiento sobre la conservación de la capacidad antioxidante total y concentración de fenoles totales en *Solanum americanum*.

La tabla 1 muestra los resultados obtenidos de la capacidad antioxidante total y contenido de fenoles totales, en las muestras de *Solanum americanum* escaldadas y posteriormente deshidratadas. La capacidad antioxidante total para la muestra fresca posee un IC50 de 0.156, después de ser sometida al proceso de escaldado aumentó 0.94 veces su potencia, y luego del procesamiento de escaldado y deshidratado su potencia disminuye 4.7 veces con respecto a la muestra fresca. La concentración de fenoles totales de la muestra fresca corresponde a 79.7 Eq. de Ácido gálico/g peso seco. Se observó que el proceso de escaldado disminuye su concentración en un 20% y el procesamiento de escaldado y deshidratado disminuye un 68.3% comparándolo con la concentración de fenoles presentes en la muestra fresca.

El análisis de variancia realizado demostró que existe diferencia entre los tratamientos ($p < 0.05$) (Anexo 6), para identificar en qué tratamiento ocurre la mayor pérdida de la capacidad antioxidante total y contenido de fenoles se realizó la prueba de Dunnet (Anexo 7), la cual indicó que el proceso de escaldado no disminuye la capacidad antioxidante total ($p > 0.05$), sin embargo: después del escaldado y deshidratado sí disminuyó ($p < 0.05$). El contenido de fenoles totales en la planta después del escaldado y deshidratado presenta diferencia frente al control (muestra fresca) ($p < 0.05$).

Tabla 1. Actividad antioxidante total y contenido de fenoles totales en *S. americanum* de la muestra fresca, escaldada y deshidratada.

Tratamiento	Actividad antioxidante total (IC50) ¹		Fenoles totales (Eq.Ac.Gál/g peso seco) ⁴	
	Media ²	Sd ³	Media ²	Sd ³
Fresco	0.156	0.059	79.7	2.0
Escaldado	0.148	0.007	64.2	2.7
Escaldado + deshidratado	0.712	0.366	25.3	1.5

Fuente: datos experimentales

¹ Concentración de inhibición al 50 por ciento expresada en mg de peso seco

² Media de ensayos realizados por triplicado

³ Desviación estándar de ensayos realizados por triplicado

⁴ Concentración basada en ácido gálico como estándar

La tabla 2 muestra los resultados obtenidos de la capacidad antioxidante total y el contenido de fenoles totales de las muestras de *S. americanum*, según el tipo y tiempo de almacenamiento. Se pudo observar que a lo largo del tiempo en almacenamiento al vacío, la actividad antioxidante total no disminuye; sin embargo, la concentración de fenoles totales disminuye 9% a partir de 2 meses, 10 % a los 4 meses y 13 % a los 6 meses con respecto a la concentración inicial. Durante el almacenamiento sin vacío, la actividad antioxidante total disminuye su potencia 1.2 veces, la mayor pérdida ocurre a partir del cuarto mes. En cuanto a los fenoles totales, existe pérdida gradual a lo largo del tiempo de almacenamiento; la disminución de la concentración de fenoles totales desde el tiempo inicial hasta los 6 meses es del 20%.

El análisis de varianza realizado demostró que el almacenamiento al vacío no disminuye la capacidad antioxidante total ($p > 0.05$), pero sí se observa una disminución en la concentración de fenoles totales ($p < 0.05$). Cuando la muestra es empacada sin vacío existe una disminución en la capacidad antioxidante total y en la concentración de fenoles totales ($p < 0.05$) (Anexo 8).

El análisis de rangos múltiples de Duncan (Anexo 9) indica que la diferencia en la capacidad antioxidante total que se observó a lo largo de 6 meses no es significativa ($p > 0.05$), sin embargo, la concentración de fenoles totales disminuyó del tiempo inicial a la cuantificada a los 2 meses ($p < 0.05$); esa disminución no se incremento en los siguientes meses de almacenamiento ($p > 0.05$). Cuando la muestra es empacada sin vacío, existe una pérdida significativa de la capacidad antioxidante a partir de cuatro 4 meses de almacenamiento ($p < 0.05$). En el caso del contenido de fenoles totales, su concentración presenta diferencia significativa entre los tiempos de almacenamiento estudiados ($p < 0.05$).

Tabla 2 Capacidad antioxidante total y contenido de fenoles totales de *S. americanum*, en almacenamiento al vacío y sin vacío, en diferentes tiempos de almacenamiento.

Tipo De Almacenamiento	Tiempo De Almacenamiento	Parámetro de medición			
		Actividad antioxidante total (IC50) ¹		Fenoles totales (Eq.Ac.Gál/g peso seco) ⁴	
		Media ²	Sd ³	Media ²	Sd ³
Atmósfera al vacío	Tiempo cero	0.712	0.036	25.3	1.5
	tiempo 2 meses	0.724	0.012	23.3	0.5
	tiempo 4 meses	0.715	0.017	22.9	1.3
	tiempo 6 meses	0.727	0.016	22.3	1.4
Atmósfera sin vacío	Tiempo cero	0.712	0.036	25.54	1.5
	tiempo 2 meses	0.738	0.635	23.61	1.7
	tiempo 4 meses	0.741	0.553	20.97	0.5
	tiempo 6 meses	0.830	0.456	20.59	0.5

Fuente: datos experimentales

¹ Concentración de inhibición al 50 por ciento expresada en mg de peso seco.

² Media de ensayos realizados por triplicado

³ Desviación estándar de ensayos realizados por triplicado

⁴ Concentración basada en ácido gálico como estándar

IX. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

S. americanum es una planta consumida generalmente en áreas rurales, ya que se encuentra disponible de manera silvestre, o en mercados de áreas rurales y urbanas a un bajo costo. Posee una capacidad antioxidante y un valor nutritivo importante.

Debido a que *S. americanum* está poco disponible durante la época seca del año, se han desarrollado procesos de conservación para aprovechar este recurso alimenticio durante todo el año, los procesos aplicados incluyeron: el escaldado, con el objetivo de inactivar enzimas y detener la actividad metabólica de la planta, el deshidratado, reduce al menos un 13% el contenido de agua e inhibe el efecto de microorganismos y enzimas. Por último, se almacenó al vacío y sin vacío (23, 24, 25).

Las muestras de *S. americanum* estudiadas se obtuvieron de forma silvestre en una finca de Mazatenango, siendo colectadas y transportada aplicando las condiciones óptimas recomendadas para prevenir pérdidas en el contenido de actividad antioxidante y fenoles totales.

Para la determinación de la capacidad antioxidante se utilizó el método DPPH por ser un método rápido y sencillo, que no requiere de un equipamiento sofisticado y no es necesario generar el radical puesto que el DPPH se comercializa. La concentración de fenoles totales se realizó por el método Folin-Ciocalteu por considerarse el ensayo más específico que existe para la determinación de fenoles, ya que otros métodos como las determinaciones espectrofotométricas directas son menos precisas debido a la diferencia en absorbancia molar específica, y el color presente de sustancias no-fenólicas (30, 32)

Los resultados indican que el escaldado no disminuye significativamente ($p > 0.05$) la capacidad antioxidante total de *S. americanum*; pero sí hay una disminución significativa ($p < 0.05$) en el contenido de fenoles totales, esto se podría explicar por la solubilidad de los fenoles, ya que durante el escaldado puede ocurrir pérdida de sustancias por disolución

y al encontrarse los fenoles en contacto con vapor de agua durante 30 segundos, parte de ellos se disolvieron. Esta pérdida no se reflejan la capacidad antioxidante total, debido a que el método de DPPH cuantifica sustancias antioxidantes liposolubles, o bien una actividad pro – oxidativa que se contrapone al potencial antioxidante (23,31).

La muestra fresca presentó una actividad antioxidante con un IC50 de 0.156, lo cual coincide con lo reportado en un estudio realizado por Lima S. en el 2003, para la misma hoja al utilizar el mismo método y el mismo solvente (18).

El proceso de deshidratado aplicado a las muestras implicó exposición a la luz, al oxígeno y a temperatura mayor de 40 °C, estos cambios físicos afectan a la capacidad antioxidante debido a que existen compuestos antioxidantes sensibles a la luz, temperatura y oxidación en presencia de oxígeno, entre los que se pueden mencionar los carotenos, tocoferoles y los compuestos fenólicos, lo anterior puede explicar la disminución significativa ($p < 0.05$) en la capacidad antioxidante de las muestras, la cual fue 4.7 veces menos potente que la muestra fresca. La concentración de fenoles totales disminuyó significativamente ($p < 0.05$) un 63.8 % en comparación con la muestra fresca. (33,34).

La capacidad antioxidante total no disminuye significativamente ($p > 0.05$) cuando se almacena al vacío, esto es debido a que al reducir la concentración de oxígeno por debajo del uno por ciento, se logra que los procesos oxidativas se retrasen en mas de cuatro veces su tiempo de reacción. (35,36).

Los fenoles totales presentaron una pérdida significativa ($p < 0.05$) al segundo mes de almacenamiento al vacío, esto pudo ser debido a que el vacío se realizó con una máquina doméstica en la cual no es posible controlar la cantidad de oxígeno dentro del empaque, por lo tanto dentro del mismo pudo permanecer un porcentaje de oxígeno mayor al uno por ciento lo cual favoreció la oxidación de los fenoles al ser estos susceptibles a la oxidación por el oxígeno, sin embargo, esta pérdida ya no es significativa ($p > 0.05$) en los siguientes meses de almacenamiento (37).

El almacenamiento en atmósfera normal disminuye significativamente ($p > 0.05$) la capacidad antioxidante total y la concentración de fenoles totales, esto es debido a que el oxígeno favorece la oxidación de sustancias químicas presentes en los tejidos vegetales.

Los resultados del estudio demuestran que la primera hipótesis planteada se comprobó parcialmente porque el proceso de escaldado y almacenamiento al vacío no influyeron en la capacidad antioxidante total. La siguiente hipótesis no se cumplió ya que el escaldado deshidratado y almacenamiento influyeron en la concentración de fenoles totales.

Al comparar los resultados obtenidos en este trabajo con otros estudios, se puede observar que *S. americanum* después de haber sido escaldado, deshidratado y almacenado por 6 meses al vacío posee una propiedad antioxidante comparable al de otras plantas comestibles de Guatemala analizadas en fresco. Mientras *S. americanum* procesada y almacenada tiene un $IC_{50} = 0.727$ y 22.3 Eq. de fenoles por gramo, *S. wendlandii* (Quixtan) posee un $IC_{50} = 0.274$ y 12.3 Eq. de fenoles por gramo, *C. longirostrata* (Chipilin) $IC_{50} = 0.680$ y 21.4 Eq. de fenoles por gramo, *C. micrantha* (Anillito) y 16.9 fenoles por gramo, Chomtee (*Lycianthes synanthera*) $IC_{50} = 0.894$, (21, 22).

Debido a que *S. americanum* está poco disponible durante la época seca es necesario aplicar los procesos de conservación que permitan que este recurso alimenticio este disponible durante casi todo el año, el escaldado y deshidratado pueden ser utilizados como métodos de conservación ya que a pesar de la pérdida que se da en la concentración de fenoles totales y capacidad antioxidante total, *S. americanum* aun conserva una buena cantidad de antioxidantes. Además, en un estudio realizado por Salazar J. se demostró que en las hojas deshidratadas de *S. americanum* hay una concentración de macronutrientes aproximadamente en 1.4 veces respecto a su estado fresco, por ello, la deshidratación del vegetal hará que este disponible durante todo el año, con lo que se aprovecharan sus propiedades nutricionales (37).

Por ello se recomienda aplicar el escaldado y deshidratado como métodos de conservación artesanales, para que las poblaciones que lo consumen puedan aprovechar sus recursos nutricionales durante todo el año.

X. CONCLUSIONES

A. El escaldado puede ser utilizado como proceso de conservación en plantas comestibles como *S. americanum*, ya que no disminuye significativamente la capacidad antioxidante total ni la concentración de fenoles totales.

B. Aunque existe pérdida en la actividad antioxidante durante el proceso de deshidratado, este puede ser utilizado como método de conservación debido a que *S. americanum* aun posee una cantidad considerable de propiedades antioxidantes.

C. El almacenamiento al vacío conserva mejor la capacidad antioxidante y contenido de fenoles totales que el almacenamiento sin vacío.

XI. RECOMENDACIONES

- A. Realizar determinaciones de otras sustancias antioxidantes como vitamina C y carotenos en hojas frescas, procesadas y almacenadas de *S. americanum*.
- B. Evaluar los cambios organolépticos que suceden en *S. americanum* al deshidratarlo y almacenarlo por 6 meses.
- C. Realizar estudios de aceptabilidad y preferencia de *S. americanum* deshidratado con consumidores adultos.
- D. Dar a conocer la información obtenida en el estudio para promover el consumo de hierbas.

XII. REFERENCIAS

1. Galindo F. Antioxidantes y radicales libres. Rev. La Guía 2009;106:1-2
2. Teow C. *et al.* Antioxidant activities, Phenolic and β -carotene Contents of Sweet Potato Genotypes with Varying Flesh Colours. Rev. Elsevier 2007;103:829-838.
3. Rodríguez JM., Menéndez JR., Trujillo Y. Radicales Libres en el Estrés Oxidativo. Rev. Med milit 2001;30:15-20.
4. Tomás MA. Importancia de las Frutas como Alimentos con Alta Actividad Antioxidante. Memorias del Congreso Internacional, Alimentación, nutrición y dietética, Marzo 2002 (p. 1 – 4)
5. Henríquez P. Las Especies Sub-utilizadas: Rico Potencial no Aprovechado. Consultado 23 febrero 2008. <<http://www.fiagro.org/systemfiles.pdf>>
6. Avello M., Suwalsky M. Radicales Libres, Estrés Oxidativo y Defensa Antioxidante Celular. Rev. Ciencia Ahora 2002;17:01-03
7. Jiménez S. Radicales Libres Amigos del Envejecimiento. Consultado 23 de febrero 2008. <http://www.saludpr.com/radicales_libres_amigos_del_envejecimiento.htm>
8. Editon LH., Ramírez C. Alimentos Antioxidantes: Elixir de Juventud. Consultado 23 de febrero 2008. <<http://www.saludaldia.com.ve/antioxidantes.htm>>
9. Leighton F. Daño Oxidativo del ADN en el Desarrollo de Cáncer. Rev. Facultad de Ciencias Biológicas 2000: 41:01-04.

10. Joseph W. Importancia de los Antioxidantes en Nuestra Alimentación. Consultado 23 de octubre 2008. <www.ncagr.com/fooddrug/espanol/documents/Antioxidantes.pdf>
11. Shindo Y. *et al.* Antioxidantes Enzimáticos y no Enzimáticos en la Epidermis y Dermis de la Piel Humana. Escuela de nutrición. Rev. Universidad de Granada 1994; 102: 122-24.
12. Solórzano H. La Superóxido Dismutasa es un Potente Antioxidante. Rev. Terapia bioquímica nutricional 1994;263:1128-30.
13. González R. Efecto del Vimang Sobre la Actividad Serica de Enzimas Antioxidantes en la Periodontitis Experimental. Rev ISCMH 2003;14:01-09.
14. Céspedes T., Sánchez D. Algunos Aspectos Sobre el Estrés Oxidativo, el Estado Antioxidante y la Terapia de Suplementación. Rev. Cubana Cardiol 2000;14:55-60.
15. Ekhard E, Ziggler Y. Conocimientos Actuales Sobre Nutrición, 7.ed. Washington D. C.: Editorial Internacional Life Sciences, 1997. (p 636-642).
16. Garcia L. *et al.* Plantas con Propiedades Antioxidantes. Rev. Cubana Invest Biomed 2001;20:231-5.
17. Romero A. *et al.* Propiedades Antioxidantes de Compuestos Polifenólicos Presentes en Extractos Hidro-Alcohólicos de Soja Fermentada. Rev. Universidad Nacional del Nordeste Argentina 2003: 08:054-059
18. Lima Pimentel S. Evaluación de distintos solventes para el proceso de extracción en la determinación de la actividad antioxidante total de Quilete (*S. americanum*) y mamey (*Mammea americanum*). Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2003. 54 p.

19. Gentry J. *et al.* Flora of Guatemala Part X. 1974, EEUU América. Vol 24, Números 1 y 2.
20. Menchú M. T., Méndez H., Lemus J, Tabla de composición de alimentos de Centro América, 2.ed. Guatemala.: Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá, 2000. p 21.
21. Caballeros K. Optimización de dos métodos para el tamizaje de la actividad antioxidante de extractos vegetales. Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2001. 54 p.
22. Pinetta C. Capacidad antioxidante de algunas plantas comestibles autóctonas de Guatemala. Guatemala: Universidad de San Carlos, (tesis de graduación Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia) 2002. 49 P.
23. Baudis S. Química de los alimentos, 4.ed. Nacualpan de Juárez Mexico.: Editorial McGraw Hill. 2006 (p 391-393).
24. Astiasarán I., Martines A. Alimentos composición y propiedades, Madrid.: Editorial McGraw Hill-interamericana de España, S.A.U. 2000. (p. 185 – 186).
25. Universidad Nacional de Colombia. Cómo conservar mediante la deshidratación y la concentración de alimentos. Rev Universidad Nacional de Colombia 2006;228:01-09
26. Desroier W. Conservación de los Alimentos. Editorial Continental S. A. México. D F.: 1997. (p. 177-193).
27. Segura E., Monroy L., Manrique G., Aplicaciones de la Tecnología de Deshidratación por el Método de Secado de Espumas en Jugos de Frutas Tropicales II. Rev Colombia 1990;18;47-52.

28. Potter N. Ciencias de los Alimentos, 5 ed. Zaragoza España, Edirorial Aspen Publisher. 1999 (P 235-237).
29. Rivero A, Evaluación de la Actividad Antioxidante de Polifenoles de algas marinas, Rev. IUPAC 2006;3:01-10
30. Sanchez R. *et al.* Frutos Tropicales Mínimamente Procesados; Potencial Antioxidante y su Impacto en la Salud. Rev INCI 2007;34:227:232.
31. Phipps SM. Sharaf MHM. Butterweck V. Assessing Antioxidant Activity in Botanicals and other Dietary Supplement. Rev Pharmacopeial forum 2007; 33:810-814.
32. Lacalle A. Antioxidantes en Alimentación: Diferentes formas de expresar su actividad antioxidante. Tipos de unidades y métodos de análisis. Rev. Gencat 2007; 1311:30 -32
33. Licata M. La Conservación de las Vitaminas en los Alimentos, Consultado 05 mayo 2009 <www.zonadiet.com/nutricion/coccion.htm>
34. Calvo M. Bioquímica de los Alimentos, Universidad de Zaragoza, España. 1996, Consultado 05 mayo 2009 <<http://milksci.unizar.es/bioquimica/temas/programasbio.html> >
35. Gobantes R., Gómez R. Envasado de alimentos: Aspectos técnicos del envasado al vacío y bajo atmósfera protectora Rev. Alimen packt ; 20:75-84
36. Gasull E., Becerra D. Caracterización de Polifenoloxidasas Extraídas de Pera. Rev Scielo 2006;17:69-74

37. Salazar J. Aprovechamiento de especies arvenses para consumo humano en comunidades de Jalapa. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. Universidad de San Carlos de Guatemala, 2008. 70p.

XIII ANEXOS

ANEXO No. 1

Formulario para la recolección de muestra en el campo

8. Fecha: _____ Hora: _____
9. Nombre de la Comunidad: _____
10. Ubicación de la Comunidad: _____
11. Nombre común en la comunidad y sinónimos:
- _____
- _____
12. Localización exacta del sitio de recolección:
- _____
- _____
13. Parte de la planta recolectada : _____

ANEXO No. 2

Formulario para el registro de volúmenes totales de extracto

Extracto: FRESCO _____ SECO _____ ESCALDADO _____

Extracto No. _____		Extracto No. _____		Extracto No. _____	
Gramos de Muestra	Metanol ml	Gramos de Muestra	Metanol ml	Gramos de Muestra	Metanol ml
Vol. Final		Vol. Final		Vol. Final	

ANEXO 5

Formulario para peso seco de la muestra vegetal

1. Vidrio de reloj	Muestra Seca	2. Vidrio de reloj	Muestra Seca	3. Vidrio de reloj	Muestra Escaldada	4. Vidrio de reloj	Muestra Escaldada	5. Vidrio de reloj	Muestra Fresca	6. Vidrio de reloj	Muestra Fresca

- 1. _____ g. vidrio reloj - _____ g. muestra = _____ mg. Materia seca/ gramos materia vegetal
- 2. _____ g. vidrio reloj - _____ g. muestra = _____ mg. Materia seca/ gramos materia vegetal
- 3. _____ g. vidrio reloj - _____ g. muestra = _____ mg. Materia seca/ gramos materia vegetal
- 4. _____ g. vidrio reloj - _____ g. muestra = _____ mg. Materia seca/ gramos materia vegetal
- 5. _____ g. vidrio reloj - _____ g. muestra = _____ mg. Materia seca/ gramos materia vegetal
- 6. _____ g. vidrio reloj - _____ g. muestra = _____ mg. Materia seca/ gramos materia vegetal

ANEXO 6

Tabla No. 3 ANDEVA para capacidad antioxidante total entre tratamientos

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado de la media	F	Razón de varianza
Entre grupos	1.8815068	2	0.9407534	2001.6	0.000
Dentro de grupos	0.01128	24	0.00047		
Total	1.8927868	26	0.0727995		

Fuente: Datos Experimentales

El test de bartlett para varianzas iguales $\chi^2(2) = 28.07.08$ Prob> $\chi^2 = 0.000$

Tabla No. 4 ANDEVA para concentración de fenoles totales entre tratamientos

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado de la media	F	Razón de varianza
Entre grupos	13988.3851	2	6994.19253	1532.06	0.000
Dentro de grupos	109.565547	24	4.56523111		
Total	14097.9506	26			

Fuente: Datos Experimentales

El test de bartlett para varianzas iguales $\chi^2(2) = 2.5698$ Prob> $\chi^2 = 0.277$

ANEXO 7

Tabla No. 5 Comparaciones múltiples test de Dunnett (bilateral)^a, para capacidad antioxidante.

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Muestra escaldada	Muestra fresca	-0.00789	.01022	.662	-.0319	.0161
Muestra deshidratada	Muestra fresca	0.55600 *	.01022	.000	.5320	.5800

Fuente: Datos Experimentales

a. Las pruebas t de Dunnett tratan un grupo como control y lo comparan con todos los demás grupos.

*. La diferencia de medias es significativa al nivel .05.

Tabla No. 6 Comparaciones múltiples test de Dunnett (bilateral)^a, para concentración de fenoles totales

(I) Tratamiento	(J) Tratamiento	Diferencia de medias (I-J)	Error típico	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Muestra escaldada	Muestra fresca	-15.53111	1.00722	.000	-17.8975	-13.1647
Muestra deshidratada	Muestra fresca	-54.13889	1.00722	.000	-56.5053	-51.7725

Fuente: Datos Experimentales

a. Las pruebas t de Dunnett tratan un grupo como control y lo comparan con todos los demás grupos.

*. La diferencia de medias es significativa al nivel 0.05.

ANEXO 8

Tabla No. 7 ANDEVA para capacidad antioxidante total de *S. americanum* en empaque al vacío

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado de la media	F	Razón de varianza
Inter-grupos	.001	3	.000	.999	.406
Intra-grupos	.015	32	.000		
Total	.016	35			

Fuente: Datos Experimentales

Tabla No. 8 ANDEVA para concentración de fenoles totales de *S. americanum* en empaque al vacío

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado de la media	F	Razón de varianza
Inter-grupos	54.018	3	18.006	17.254	.000
Intra-grupos	33.395	32	1.044		
Total	87.413	35			

Fuente: Datos Experimentales

Tabla No. 9 ANDEVA para capacidad antioxidante total de *S. americanum* en empaque sin vacío

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado de la media	F	Razón de varianza
Inter-grupos	.072	3	.024	21.254	.000
Intra-grupos	.036	32	.001		
Total	.108	35			

Fuente: Datos Experimentales

Tabla No. 10 ANDEVA para concentración de fenoles totales de *S. americanum* en empaque sin vacío

Fuente	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado de la media	F	Razón de varianza
Inter-grupos	147.126	3	49.042	59.643	.000
Intra-grupos	26.312	32	.822		
Total	173.438	35			

Fuente: Datos Experimentales

ANEXO 9

Tabla No. 11 Test de Duncan para capacidad antioxidante total de *S. americanum* en empaque al vacío.

Duncan ^a		
Tiempo	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1
Inicial	9	.7119
4 meses	9	.7153
2 meses	9	.7236
6 meses	9	.7274
Sig.		.172

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 9.000.
Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Fuente: Datos Experimentales

Tabla No. 12 Test de Duncan para la concentración de fenoles totales de *S. americanum* en empaque al vacío.

Duncan ^a		
Tiempo	N	Subconjunto para alfa = 0.05
		1 2
6 meses	9	22.2911
4 meses	9	22.9433
2 meses	9	23.3022
Inicial	9	25.5478
Sig.		.054

Fuente: Datos Experimentales

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 9.000.
Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Tabla No. 13 Test de Duncan para capacidad antioxidante total de *S. americanum* en empaque sin vacío.

Duncan ^a			
Tiempo	N	Subconjunto para alfa = 0.05	
		1	2
Inicial	9	.7119	
2 meses	9	.7378	
4 meses	9	.7416	
6 meses	9		.8303
Sig.		.085	1.000

Fuente: Datos Experimentales

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 9.000.

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Tabla No. 14 Test de Duncan para capacidad antioxidante total de *S. americanum* en empaque sin vacío

Duncan ^a				
Tiempo	N	Subconjunto para alfa = 0.05		
		1	2	3
6 meses	9	20.5911		
4 meses	9	20.9756		
2 meses	9		23.6044	
Inicial	9			25.5478
Sig.		.375	1.000	1.000

Fuente: Datos Experimentales

a. Usa el tamaño muestral de la media armónica = 9.000.

Se muestran las medias para los grupos en los subconjuntos homogéneos.

Maylena Yadardily Calderón Rubio
Autora

Dr. Rubén Velásquez Miranda
ASESOR

Licda. Julieta Salazar de Ariza
ASESORA

Dra. Patricia Saravia
Revisora

Licda. Alba Marina de García
Revisora

Mcs. Vivian Lucrecia Matta de García
Directora

Ph. D. Oscar Cobar Pinto
Decano

