



ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO

FACULTAD DE CIENCIAS

ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA

**“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LAS HOJAS Y
FRUTOS DE LA FEIJOA (*Acca sellowiana*)”**

TESIS DE GRADO

PREVIA LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE

BIOQUÍMICO FARMACÉUTICO

PRESENTADO POR

MAYRA GARDENIA CARVAJAL AGUILAR

TUTOR

Dra. SUSANA ABDO

RIOBAMBA – ECUADOR

2015

DEDICATORIA

“El éxito se logra mediante el deseo de superación, la constancia y el no desanimarse nunca; convirtiendo cada paso en una meta y cada meta en un paso”.

A mis padres Wilson y Blanca quienes son el pilar fundamental en mi vida, con su amor, comprensión y apoyo incondicional que supieron motivarme para seguir siempre hacia adelante.

A mis hermanos Maricela y David, por entenderme, por no dejarme desfallecer, y así poder llevar acabo cada meta trazada.

A mis sobrinos Mateo y Salome quienes con risas y travesuras me dan mucha felicidad y llenan de alegría mi vida.

A toda mi familia le dedico este un escalón más de éxito en mi vida de muchos que vendrán.

AGRADECIMIENTO

A Dios por haberme dado la vida, por iluminarme en todo momento y permitirme cumplir una etapa más en mi formación profesional.

A mis padres porque gracias a sus esfuerzos, sus consejos y sobre todo su infinita paciencia he logrado culminar mi carrera profesional.

A la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo por abrir sus puertas hacia el conocimiento científico, al personal docente por prepararnos para un futuro competitivo no solo como los mejores profesionales sino también como mejores personas.

A mi Directora de tesis la Dra. Susana Abdo quien con su gran calidad humana y sabios conocimientos ha sido la guía idónea en el desarrollo y culminación de mi tesis.

Al Dr. Carlos Pilamunga colaborador de tesis, por su tiempo, y su excelente colaboración.

Al Dr. Iván Samaniego por sus ideas y recomendaciones respecto a esta investigación.

A todos mis amigos con quienes he compartido risas, tristezas y enojos por haber hecho de estos largos años de estudio una vivencia inolvidable.

A todos quienes de una u otra forma aportaron su granito de arena, brindándome sus conocimientos y palabras de aliento para seguir siempre adelante.

**ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE
CHIMBORAZO
FACULTAD DE CIENCIAS
ESCUELA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

El Tribunal de Tesis certifica que: El trabajo de investigación: “**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LAS HOJAS Y FRUTOS DE LA FEIJOA (*Acca sellowiana*)**”, de responsabilidad de la señorita egresada Mayra Gardenia Carvajal Aguilar ha sido prolijamente revisado por los Miembros del Tribunal de Tesis, quedando autorizada su presentación.

	FIRMA	FECHA
Dra. Nancy Veloz DECANA FAC. CIENCIAS	_____	_____
Dra. Anita Albuja DIRECTOR ESCUELA BIOQUÍMICA Y FARMACIA	_____	_____
Dra. Susana Abdo DIRECTORA DE TESIS	_____	_____
Dr. Carlos Pilamunga MIEMBRO DEL TRIBUNAL	_____	_____
BQF. Fausto Contero MIEMBRO DEL TRIBUNAL	_____	_____
Ab. Bertha Quintalla COORDINADOR SISBIB – ESPOCH	_____	_____
NOTA DE TESIS	_____	_____

Yo, **Mayra Gardenia Carvajal Aguilar**, soy responsable de las ideas, doctrinas y resultados expuestos en esta Tesis; y el patrimonio intelectual de la Tesis de Grado, pertenece a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO.

MAYRA GARDENIA CARVAJAL AGUILAR

RESUMEN

Se evaluó la actividad antioxidante de las hojas y frutos de la Feijoa (*Acca sellowiana*, Berg) de la Provincia Tungurahua, cantón Patate. La investigación se desarrolló en los Laboratorios de la Facultad de Ciencias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo y en los Laboratorios de Servicios de Análisis e Investigación en Alimentos de la Estación Experimental Santa Catalina del INIAP–Quito.

El contenido de fenoles totales y la actividad antioxidante de los extractos alcohólicos y acuosos de las hojas y los frutos de la Feijoa se determinó a través de los ensayos de decoloración del radical ABTS (2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)); el contenido de fenoles totales mediante el método de Folin - Ciocalteu, y se cuantificó Vitamina C por espectrofotometría.

Se efectuó una comparación con los estándares correspondientes; para la Capacidad Antioxidante por el método ABTS (Trolox) y para fenoles totales (Ácido gálico), los resultados de la actividad antioxidante muestran que todos los extractos fueron capaces de captar radicales ABTS, obteniendo mejores resultados con los extractos alcohólicos.

Los resultados se expresaron; para compuestos fenólicos como mg de ácido gálico (GA) por g de muestra, para la actividad antioxidante en mM Trolox/g muestra y con la ayuda de métodos estadísticos ANOVA y TUKEY se comprobó al menos uno de los extractos presentan diferente actividad antioxidante. En el ensayo de ABTS, en los extractos acuosos; de las hojas y frutos se obtuvo un valor de 5,43mM Trolox/g y 0,10mM Trolox/g respectivamente, y en los extractos alcohólicos se obtuvo un valor de 0,23mM Trolox/g en los frutos y en las hojas 19,67mM Trolox/g.

Las hojas como los frutos de la Feijoa poseen considerable capacidad antioxidante pero la actividad de la hoja es mayor que la fruta, por lo que se recomienda realizar investigaciones en el área de Alimentos para productos nutracéuticos y en el área de Química cosmética para fitomedicamentos.

PALABRAS CLAVE: <Feijoa> <Vitamina C> <Fenoles> <Radical> <Antioxidante>

SUMMARY

The antioxidant activity of the leaves and fruits of Feijoa (*Acca sellowiana* Berg) in Tungurahua Province, canton Patate was evaluated. The research was developed in the laboratories of the Faculty of Sciences in Escuela Superior Politécnica de Chimborazo and Services Laboratories Analysis and Food Reserch of Santa Catalina Experimental Station INIAP – Quito.

The total phenolic content and antioxidant activity of alcoholic and aqueous extracts of the leaves and fruits of the Feijoa was determined through testing discoloration of radial ABTS (2,2-azinobis 3-ethylbenzthiazoline sulfonic); the total phenol by Folin method Ciocalteu, and quantified Vitamin C by spectrophotometry.

A comparison with the corresponding standards was made; Antioxidant Capacity for by the ABTS (Trolox) method and total phenols (Gallic Acid) the results of antioxidant activity show that all extracts were able to capture ABTS radicals. It obtains better results with alcoholic extracts.

The results were expressed; for phenolic compound as mg of gallic acid (GA) per g of sample for antioxidant activity in mM Trolox/g sample and with the help of statistical methods ANOVA and TUKEY. It found at least one of the extracts shows different antioxidant activity. In the ABTS assay, in aqueous extracts; leaves and fruits 5,43 mM Trolox/g and 0,10mMTrolox/g was obtained respectively, and alcoholic extracts a value of 0,23mM Trolox/g in the fruits and in the leaves was obtained 19,67 mm Trolox/g.

The leaves and fruit of Feijoa have considerable antioxidant capacity but the activity of the leaf is greater that the fruit. So, it is recommended to conduct research in Food area for nutraceuticals products and the Chemistry cosmetic for phytomedicines.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ABREVIATURAS
ÍNDICE DE TABLAS
ÍNDICE DE CUADROS
ÍNDICE DE GRÁFICOS
ÍNDICE DE FIGURAS
ÍNDICE DE FOTOGRAFÍAS
ÍNDICE DE ANEXOS
INTRODUCCIÓN

1. MARCO TEÓRICO.....	- 1 -
1.1. ESPECIES REACTIVAS DEL OXÍGENO – ROS (Reactive Oxygen Species) .	- 1 -
1.1.1. DAÑO OXIDATIVO A BIOMOLÉCULAS.....	- 2 -
1.1.2. IMPORTANCIA DE LAS ESPECIES REACTIVAS DE OXIGENO.....	- 3 -
1.2. RADICALES LIBRES	- 3 -
1.2.1. DEFINICIÓN	- 3 -
1.2.2. FORMACIÓN DE LOS RADICALES LIBRES	- 4 -
1.2.3. REACCIONES.....	- 6 -
1.2.4. CLASIFICACIÓN	- 6 -
1.2.5. ESTRÉS OXIDATIVO.....	- 7 -
1.2.6. ENFERMEDADES CAUSADAS POR LOS RADICALES LIBRES.	- 8 -
1.3. ANTIOXIDANTES	- 9 -
1.3.1. HISTORIA.....	- 9 -
1.3.2. DEFINICIÓN.....	- 9 -
1.3.3. CLASIFICACIÓN.....	- 10 -
1.3.4. ANTIOXIDANTES EN LA DIETA	- 13 -
1.3.5. ANTIOXIDANTES Y CÁNCER.....	- 18 -
1.4. POLIFENOLES.....	- 18 -
1.4.1. CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS GENERALES	- 19 -
1.4.2. CLASIFICACIÓN GENERAL.....	- 19 -
1.5. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.....	- 21 -
1.5.1. DEFINICIÓN	- 21 -
1.5.2. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LA FAMILIA MIRTÁCEAE	- 21 -
1.6. FEIJOA (<i>Acca sellowiana</i>).....	- 22 -
1.6.1. ORIGEN	- 22 -
1.6.2. CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA	- 22 -

1.6.3. ETIMOLOGÍA.....	- 23 -
1.6.4. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA.....	- 23 -
1.6.5. CULTIVO	- 25 -
1.6.6. VALOR NUTRICIONAL Y USOS.....	- 25 -
2. PARTE EXPERIMENTAL	- 28 -
2.1. LUGAR DE LA INVESTIGACIÓN	- 28 -
2.2. MUESTRAS, EQUIPOS Y REACTIVOS	- 28 -
2.2.1. MUESTRAS.....	- 28 -
2.2.2. EQUIPOS	- 29 -
2.2.3. REACTIVOS.....	29
2.2.4. MATERIALES.....	30
2.3. TÉCNICAS Y MÉTODOS	- 30 -
2.3.1. RECOLECCIÓN.....	- 30 -
2.3.2. CARACTERIZACIÓN BROMATOLÓGICA DE LAS HOJAS Y FRUTOS DE LA FEIJOA (<i>Acca sellowiana</i>).....	- 31 -
2.3.3. SECADO Y MOLIENDA DE LAS HOJAS DE FEIJOA (<i>Acca sellowiana</i>) ..	- 41 -
2.3.4. LIOFILIZACIÓN DE LOS FRUTOS DE LA FEIJOA (<i>Acca sellowiana</i>)	- 42 -
2.4. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO DE FEIJOA (<i>Acca sellowiana</i>) DROGA SECA.....	- 42 -
2.4.1. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD - Método Gravimétrico.....	- 42 -
2.2.1. DETERMINACIÓN DE CENIZAS TOTALES - Método Gravimétrico	- 43 -
2.4.2. DETERMINACIÓN DE CENIZAS SOLUBLES EN AGUA - Método Gravimétrico.....	- 43 -
2.4.3. DETERMINACIÓN DE CENIZAS INSOLUBLES EN ÁCIDO CLORHÍDRICO - Método Gravimétrico.....	- 44 -
2.5. OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS	- 44 -
2.5.1. ELABORACIÓN DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO (METANÓLICO 70%) DE LAS HOJAS DEL ÁRBOL DE FEIJOA (<i>A. sellowiana</i>).	- 44 -
2.5.2. ELABORACIÓN DEL EXTRACTO ACUOSO DE LAS HOJAS DEL ÁRBOL DE FEIJOA (<i>A. sellowiana</i>).....	- 45 -
2.5.3. ELABORACIÓN DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO (METANÓLICO 70%) DE LOS FRUTOS DEL ÁRBOL DE FEIJOA (<i>A. sellowiana</i>).....	- 45 -
2.5.4. ELABORACIÓN DEL EXTRACTO ACUOSO DE LOS FRUTOS DEL ÁRBOL DE FEIJOA (<i>A. sellowiana</i>).....	- 45 -

2.6. CONTROL DE CALIDAD DE LOS EXTRACTOS	- 46 -
2.6.1. DETERMINACIÓN DE LOS REQUISITOS ORGANOLÉPTICOS.....	- 46 -
2.6.2. DETERMINACIÓN DEL pH – Método potenciométrico.....	- 46 -
2.6.3. DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE REFRACCIÓN - Refractometría.....	- 46 -
2.6.4. DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD RELATIVA - Método Gravimétrico-	46
-	
2.6.5. DETERMINACIÓN DE LOS SÓLIDOS TOTALES – Método Gravimétrico.-	47 -
2.7. ESTUDIO FITOQUÍMICO (SCREENING O TAMIZAJE FITOQUÍMICO)..	- 47 -
2.8. DETERMINACIÓN DE VITAMINA C DE LAS HOJAS Y FRUTOS DEL ÁRBOL DE FEIJOA (<i>Acca sellowiana</i>) MEDIANTE EL MÉTODO REFLECTOMETRICO DE LA MERCK.....	- 51 -
2.8.1. FUNDAMENTO	- 51 -
2.9. DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES DE LAS HOJAS Y FRUTOS DEL ÁRBOL DE FEIJOA (<i>Acca sellowiana</i>) MEDIANTE EL MÉTODO DE FOLIN-CIOCALTEAU	- 53 -
2.9.1. FUNDAMENTO	- 53 -
2.9.2. CURVA DE CALIBRACIÓN	- 55 -
2.10. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LAS HOJAS Y FRUTOS DEL ÁRBOL DE FEIJOA (<i>Acca sellowiana</i>) MEDIANTE EL MÉTODO (2,2'azinobis -(3-etilbenzotiazolin 6 ácido sulfónico) (ABTS).....	- 55 -
2.10.1. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN MADRE.....	- 55 -
2.10.2. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE PERSULFATO DE POTASIO (K ₂ S ₂ O ₈)	- 55 -
2.10.3. PREPARACIÓN DEL RADICAL ABTS•+	- 55 -
2.10.4. CURVA DE CALIBRACIÓN	- 56 -
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	- 58 -
3.1. CARACTERIZACIÓN LA FEIJOA (<i>A.sellowiana</i>).....	- 58 -
3.1.1. EVALUACION SENSORIAL.....	- 58 -
3.2. ANÁLISIS BROMATOLÓGICO	- 59 -
3.3. CONTROL DE CALIDAD DE LA DROGA VEGETAL.....	- 62 -
3.2. DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES ORGANOLÉPTICAS DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO Y ACUOSO DE LAS HOJAS Y FRUTOS DEL ÁRBOL DE FEIJOA (<i>Acca sellowiana</i>).....	- 62 -

3.3. DETERMINACIÓN DE LOS PARAMETROS FÍSICO QUÍMICOS DE LOS EXTRACTOS ALCOHÓLICO y ACUOSOS DE LAS HOJAS DEL ÁRBOL DE FEIJOA.....	- 63 -
3.4. TAMIZAJE FITOQUÍMICO	- 64 -
3.5. DETERMINACIÓN DE VITAMINA C – ÁCIDO ASCORBICO	- 66 -
3.6. CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES EN LOS EXTRACTOS DE LAS HOJAS Y LOS FRUTOS DE FEIJOA (<i>Acca sellowiana</i>) ..	- 68 -
3.7. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE MEDIANTE EL MÉTODO ABTS	- 71 -
CONCLUSIONES	- 75 -
RECOMENDACIONES	- 76 -
BIBLIOGRAFÍA	- 77 -
ANEXOS	- 86 -

ÍNDICE DE ABREVIATURAS

%	Porcentaje
°C	Grados Celsius
µg	Microgramo
µL	Microlitro
ABTS	(2,2-azinobis (3-etilbenzotiazolin-6-sulfonico))
AAT	Actividad Antioxidante Total
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
cm	Centímetros
CoA	Coenzima A
EGA	Equivalentes de Ácido Gálico
g	Gramo
INIAP	Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias
Kg	Kilogramos
L	Litro
m	Metro
mg	Miligramos
min	Minutos
mL	Mililitro
mM	Milimol
Mol	Moles
nm	Nanómetros
pH	Potencial de Hidrógeno
PM	Peso molecular
ppm	Partes por millón
R	Coficiente de relación
RL	Radicales Libres
ROS	Reactive Oxygen Species
TEAC	Capacidad Antioxidante Equivalente en Trolox

INDICE DE ANEXOS

Anexo No. 1	Materia prima utilizada.....	- 86 -
Anexo No. 2	Liofilización de las muestras	- 86 -
Anexo No. 3	Elaboración de extractos.....	- 87 -
Anexo No. 4	Parámetros de calidad de la droga seca y parametros físico químicos de los extractos.....	- 88 -
Anexo No. 5	Tamizaje fitoquímico de las hojas y frutos de la feijoa (<i>Acca sellowiana</i>).	- 89 -
Anexo No. 6	Determinación de polifenoles por el método folin- ciocalteau.....	- 90 -
Anexo No. 7	Determinación de la actividad antioxidante	- 91 -
Anexo No. 8	Ecuación de la recta obtenida para la curva de calibración del estándar de ácido gálico para la determinación del contenido de compuestos fenólicos totales.	- 92 -
Anexo No. 9	Análisis Bromatológico de la FEIJOA.....	- 92 -
Anexo No. 10	Vitamina C.....	- 92 -
Anexo No. 11	Análisis estadístico de contenido de polifenoles en los extractos acuosos y alcohólicos las hojas y frutos de la feijoa.....	- 93 -
Anexo No. 12	Análisis estadístico de actividad antioxidante en los extractos acuosos y alcohólicos las hojas y frutos de la feijoa.....	- 94 -
Anexo No. 13.	Cálculo de Polifenoles	- 100 -

ÍNDICE DE CUADROS

- Cuadro No. 1** Resultados de la evaluación sensorial de las hojas y frutos de la Feijoa (*Acca sellowiana*). Laboratorio de Nutrición Animal y Bromatología. Facultad de Ciencias Pecuarias. ESPOCH, Septiembre 2014..... - 58 -
- Cuadro No. 2** Resultados del análisis bromatológico de las hojas y frutos de la Feijoa (*Acca sellowiana*) por 100 g de muestra. Laboratorio de Nutrición Animal y Bromatología. Facultad de Ciencias Pecuarias. ESPOCH, Septiembre 2014..... - 59 -
- Cuadro No. 3** Determinación de los parámetros de calidad de la droga seca y molida de las hojas del árbol de Feijoa (*A. sellowiana*). Laboratorio de Productos Naturales. Facultad de Ciencias. ESPOCH, Septiembre 2014..... - 62 -
- Cuadro No. 4** Descripción organoléptica del extracto alcohólico y acuoso de las hojas del árbol de Feijoa (*Acca sellowiana*). Laboratorio de Productos Naturales. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Septiembre 2014..... - 62 -
- Cuadro No. 5** Descripción organoléptica del extracto alcohólico y acuoso de los frutos del árbol de Feijoa (*Acca sellowiana*). Laboratorio de Productos Naturales. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Septiembre 2014..... - 63 -
- Cuadro No. 6** Determinación de los parámetros de calidad del extracto alcohólico y acuoso de las hojas y frutos de la Feijoa (*Acca sellowiana*). Laboratorio de Análisis Instrumental. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Septiembre 2014. - 63 -
- Cuadro No. 7** Tamizaje fitoquímico del extracto alcohólico del árbol de Feijoa (*A. sellowiana*). Laboratorio de Productos Naturales. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Octubre 2014.....- 65 -
- Cuadro No. 8** Tamizaje fitoquímico del extracto acuoso del árbol de Feijoa (*A. sellowiana*). Laboratorio de Productos Naturales. Facultad de ciencias. ESPOCH. Octubre 2014..... - 65 -
- Cuadro No. 9** Determinación de Vitamina C de las hojas y frutos de la Feijoa (*A. sellowiana*). Laboratorio de Servicios de Análisis e Investigación en Alimentos (LSAIA). Departamento de Nutrición y Calidad. Estación Experimental Santa Catalina. INIAP. Cutuglahua. Octubre 2014 .. - 66 -

- Cuadro No. 10** Curva de calibración para cuantificación de fenoles totales utilizando como patrón ácido gálico. - 68 -
- Cuadro No. 11** Resultados de la concentración de compuestos fenólicos totales expresados en mg de ácido gálico/g de muestra determinados en los extractos metanólicos y acuosos de las hojas y frutos de la Feijoa. Laboratorio de Servicios de Análisis e Investigación en Alimentos (LSAIA). Departamento de Nutrición y Calidad. Estación Experimental Santa Catalina. INIAP. Cutuglahua. Octubre 2014. - 69 -
- Cuadro No. 12** Curva de calibración para cuantificación de capacidad antioxidante utilizando como patrón Trolox. Laboratorio de Servicios de Análisis e Investigación en Alimentos (LSAIA). Departamento de Nutrición y Calidad. Estación Experimental Santa Catalina. INIAP. Cutuglahua. Noviembre 2014 - 71 -
- Cuadro No. 13** Resultados de la concentración de compuestos fenólicos totales expresados en mg de ácido gálico/g de muestra determinados en los extractos Metanólicos y acuosos de las hojas y frutos de la Feijoa. Laboratorio de Servicios de Análisis e Investigación en Alimentos (LSAIA). Departamento de Nutrición y Calidad. Estación Experimental Santa Catalina. INIAP. Cutuglahua. Octubre 2014. - 72 -

ÍNDICE DE GRÁFICOS

- Gráfico No. 1** Análisis proximal de las hojas y frutos Feijoa (*Acca sellowiana*)..... - 61 -
- Gráfico No. 2** Determinación de Vitamina C de los extractos acuosos de las hojas y los frutos de la Feijoa (*A. sellowiana*). Laboratorio de Servicios de Análisis e Investigación en Alimentos (LSAIA). Departamento de Nutrición y Calidad. Estación Experimental Santa Catalina. INIAP. Cutuglahua. Octubre 2014. - 67 -
- Gráfico No. 3** Curva de absorbancia vs concentración de ácido gálico para cuantificación de fenoles totales. Laboratorio de Servicios de Análisis e Investigación en Alimentos (LSAIA). Departamento de Nutrición y Calidad. Estación Experimental Santa Catalina. INIAP. Cutulagua. Octubre 2014 - 68 -
- Gráfico No. 4** Concentración de compuestos fenólicos totales extraídos en los extractos expresados en mg de ácido gálico por g de muestra. Laboratorio de Servicios de Análisis e Investigación en Alimentos (LSAIA). Departamento de Nutrición y Calidad. Estación Experimental Santa Catalina. INIAP. Cutulagua Octubre 2014 - 70 -
- Gráfico No. 5** Curva de absorbancia vs concentración de Trolox para cuantificación de capacidad antioxidante Laboratorio de Servicios de Análisis e Investigación en Alimentos (LSAIA). Departamento de Nutrición y Calidad. Estación Experimental Santa Catalina. INIAP. Cutuglahua. Noviembre 2014. - 71 -
- Gráfico No. 6** Concentración de compuestos fenólicos totales extraídos en los extractos expresados en mg de ácido gálico por g de muestra. Laboratorio de Servicios de Análisis e Investigación en Alimentos (LSAIA). Departamento de Nutrición y Calidad. Estación Experimental Santa Catalina. INIAP. Cutuglahua. Noviembre 2014..... - 72 -

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura No.1 Mecanismo de reacción del radical superóxido	- 2 -
Figura No.2. Vías de producción de RL y los principales sistemas antioxidantes	- 5 -
Figura No.3 Enfermedades y daños causados por las Especies Reactivas al Oxígeno.....	- 9 -
Figura No.4 Antioxidante neutralizando a un radical libre.....	- 10 -
Figura No.5 Estructura química de la vitamina C	- 14 -
Figura No.6 Mecanismo propuesto para la estabilización de radicales libres por la vitamina C (ácido ascórbico).....	- 15 -
Figura No.7 Estructura química del α -tocoferol (la forma más potente de vitamina E)...	- 16 -
Figura No.8 Mecanismo presentado para la estabilización de radicales libres por la vitamina E (α -tocoferol)	- 16 -
Figura No. 9 Estructura química de B-CAROTENO	- 17 -
Figura No.10 Mecanismo de estabilización de radicales libres por betacaroteno.....	- 17 -
Figura No.11 Estructura del Fenol.....	- 18 -
Figura No.12 Estructura básica de los flavonoides	- 20 -
Figura No.13 Diagrama de flujo de la determinación de compuestos fenólicos de hojas y frutos del árbol de feijoa (<i>Acca sellowiana</i>) mediante el método de Folin ciocalteau.....	- 54 -
Figura No.14 Diagrama de flujo de la determinación de actividad antioxidante de hojas y frutos del árbol de feijoa (<i>Acca sellowiana</i>) mediante el método de ABTS -	- 57 -

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla No.1 Principales especies reactivas del oxígeno (ROS).....	- 1 -
Tabla No.2 Antioxidantes exógenos	- 11 -
Tabla No.3 Fuentes de Antioxidantes en algunos alimentos.....	- 13 -
Tabla No.4 Actividad biológica de algunos compuestos fenólicos	- 20 -
Tabla No.5 Taxonomía de la Feijoa (<i>A. sellowiana</i>)	- 22 -
Tabla No.6 Valor nutricional de la Feijoa (<i>A. sellowiana</i>)	- 25 -
Tabla No.7 Muestras del material vegetal y alimenticio utilizado en la investigación -	28 -
Tabla No.8 Técnicas del tamizaje fitoquímico.....	- 48 -

INTRODUCCIÓN

Los antioxidantes son moléculas que poseen la capacidad de retrasar o inhibir la oxidación ocasionada por las moléculas inestables conocidas como los radicales libres. (Hamid A. et al. 2010) La oxidación es una reacción de transferencia de electrones de una sustancia a un agente oxidante. Las reacciones de oxidación logran provocar radicales libres que comienza reacciones en cadena que perjudican las células (Guerrero, C. 2012)

Los compuestos antioxidantes actualmente se los está utilizando en diferentes aplicaciones en la industria, en los alimentos como inhibidores del pardeamiento, suplementos dietéticos; en la industria cosmética con diversos fines como la eliminación de manchas; en la medicina el estudio se ha realizado para el tratamiento de los accidentes cerebrovasculares, enfermedades neurodegenerativas, el cáncer, en terapias alternativas, etc., pero se han enfocado principalmente en productos nutraceuticos y cosmeceuticos con el objetivo de conseguir una mejor calidad de vida. (Mora, A. 2014)

Los radicales libres son moléculas inestables y muy reactivas que tienen electrones no apareados y que causan daños en el ADN, proteínas, lípidos, membranas celulares y estructurales. Para alcanzar la estabilidad modifican a las moléculas de su alrededor provocando la aparición de nuevos radicales, por lo que se crea una reacción en cadena que dañará a muchas células y logra ser indefinida si los antioxidantes no intervienen. (Venereo, J. 2002).

Durante el metabolismo normal son originados los efectos de los radicales libres y externamente son producidos por estrés oxidativo. Los radicales libres se van incrementando conforme aumenta la edad y los mecanismos de defensa endógenos que los combaten disminuyen, esto va a originar el daño de las estructuras celulares y provocar el envejecimiento acelerado; entre unos de sus efectos está el envejecimiento de la piel. (Katiyar, S. et. al 2001) (Palomino L. et al. 2009).

Las frutas son una fuente potencial de antioxidantes, proporcionan nutrientes como agua, proteínas, carbohidratos, minerales y vitaminas necesarios en una adecuada alimentación. El interés en las propiedades antioxidantes de las frutas es reciente, algunos autores han evaluado la capacidad captadora de radicales libres y el contenido de fenoles de frutas tropicales como mora, mango de azúcar, guayaba, granadilla, fresa, maracuyá, uchuva, lulo, piña, mortiño entre otros (Atala, et al. 2009); (Contreras-Calderón et al. 2010); Lopera et al., 2013); sin embargo, especies nativas de la familia Mirtácea como la Feijoa han sido poco estudiadas. (Zapata, K. et. al. 2013).

El consumo elevado de frutas tiene un impacto positivo en la salud, debido a la presencia de metabolitos capaces de neutralizar especies reactivas del oxígeno. Nuestro organismo no puede fabricar los antioxidantes, por ello necesitamos consumirlos; una ingesta adecuada asegurará los requerimientos necesarios para evitar el estrés oxidativo. (Zapata K. et. al. 2013).

Dentro de la dieta, una de las frutas con alto poder antioxidante es la Feijoa originaria del Brasil y que en los últimos años se adaptó en el Ecuador, se produce en el cantón Patate perteneciente a la provincia de Tungurahua y que poco a poco va incrementando su producción y a su vez el consumo a nivel nacional.

Existen estudios de la planta en otros países, más se realiza este estudio para conocer la adaptación de la Feijoa en nuestro país, a diferente altitud y a diferentes condiciones agroecológicas.

Por esta razón se ha realizado la presente investigación que tiene como objetivo evaluar la actividad antioxidante de las hojas y los frutos de la Feijoa, mediante el control de calidad, cuantificación de fenoles, vitamina C; y evaluación de la actividad antioxidante por el método ABTS, con el fin de contribuir al conocimiento científico de las propiedades antioxidantes de la Feijoa para así incrementar su consumo, abrir un renglón de la economía local y permitir que el fruto compita internacionalmente con otras frutas de alto valor nutracéutico.

CAPÍTULO I

1. MARCO TEÓRICO

1.1.ESPECIES REACTIVAS DEL OXÍGENO – ROS (Reactive Oxygen Species)

Las especies reactivas del oxígeno o conocido como ROS, (Reactive Oxygen Species) por sus siglas en inglés, son compuestos que se derivan de la molécula de oxígeno (O_2) por reducción química parcial. ROS, es un término agrupado que contiene radicales libres: anión superóxido ($O_2^{\bullet-}$), radical hidroxilo (OH^{\bullet}) y ciertas especies no radicales como el peróxido de hidrógeno (H_2O_2).que son oxidantes y/o se convierten fácilmente en radicales libres. (Halliwell, B y Whiteman, M 2004)

Tabla No. 1 Principales especies reactivas del oxígeno (ROS)

Radicales		No radicales	
Hidroxilo	$^{\bullet}OH$	Peróxidos orgánicos	ROOH
Alcoxilo	RO^{\bullet}	Oxígeno singlete	1O_2
Hidroperoxilo	HOO^{\bullet}	Peróxido de hidrógeno	H_2O_2
Superóxido	$O_2^{\bullet-}$	Ácido hipocloroso	HClO
Peroxilo	ROO^{\bullet}	Ácido nitroso	HNO_2
Óxido nítrico	NO^{\bullet}	Catión nitrilo	NO_2^+
Dióxido de nitrógeno	NO_2^{\bullet}	Peroxinitrito	$ONOO^{\bullet}$
		Ácido peroxinitroso	ONOOH
		Alquil peroxinitritos	ROONO
		Ozono	O_3
		Ácido hipobromoso	HBrO

FUENTE: Halliwell B, Whiteman M. (2004).

Las especies reactivas de oxígeno son radicales libres o precursores de radicales. Los electrones giran en pares con un espín particular, en los orbitales a esto se lo conoce como la máxima estabilidad natural; razón por la cual, si existen electrones desapareados en un orbital, se forman especies moleculares altamente reactivas que tienden a robar un electrón de cualquier otro átomo para compensar su deficiencia electrónica. El principal radical libre es el Oxígeno ya que posee dos electrones desapareados (Trejo, A. y Pascual, S. 2011).

1.1.1. DAÑO OXIDATIVO A BIOMOLÉCULAS

Las especies reactivas de oxígeno que actúan como oxidantes biológicos son numerosas, pero el oxígeno (O₂) es el mayor reductor, la simple adición de un protón da lugar a la formación de HO₂•, convirtiéndose en un agente oxidante muy activo.

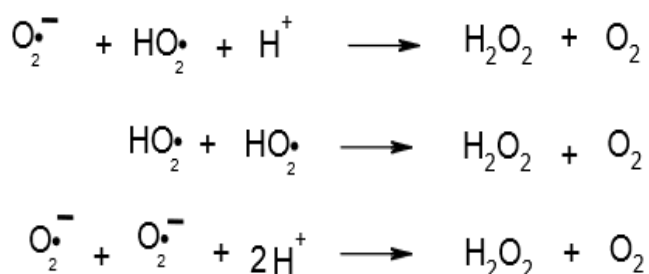


Figura No. 1 Mecanismo de reacción del radical superóxido

FUENTE: Martinez, J. (2007)

Sobre el metabolismo de los principios inmediatos las especies reactivas de oxígeno producen diversas acciones, las mismas que pueden ser el origen del daño celular.

- En las proteínas las ERO pueden inducir en el extremo la fragmentación de proteínas, pero además existen una serie de alteraciones que pueden modificar notablemente su función, modificando con ello el metabolismo, la estructura, el transporte, los receptores, las proteínas reguladoras y los inmunorreguladores, entre otros. Provocan inactivación y desnaturalización.
- En los lípidos donde se produce el mayor daño en un proceso conocido como peroxidación lipídica, afecta a las estructuras ricas en ácidos grasos poliinsaturados, ya

que se altera la permeabilidad de la membrana celular produciéndose edema y muerte celular.

- Ocasionando mutagénesis y carcinogénesis sobre los ácidos nucleicos por medio de la modificación de bases
- En los glicósidos, proceden alterando las funciones celulares tales como las asociadas a la actividad de las interleucinas y la formación de prostaglandinas, hormonas y neurotransmisores. (Trejo, A. y Pascual, S. 2011).

1.1.2. IMPORTANCIA DE LAS ESPECIES REACTIVAS DE OXIGENO

Cumplen un papel muy importante las especies reactivas de oxígeno y a su vez también pueden ejercer efectos tóxicos. Las especies reactivas de oxígeno son producidas como resultado del metabolismo y son fundamentales para la generación de energía, para la síntesis de compuestos biológicamente esenciales y la fagocitosis, siendo este un proceso relevante para el sistema inmunológico. Las ROS desempeñan un rol vital en la traducción de señales, lo cual es importante para la comunicación y función de las células (Papas, A.1999).

Se ha incrementado en los últimos veinte años la evidencia que demuestra que las especies reactivas de oxígeno pueden ser las promotoras de distintas enfermedades entre ellas las más importantes las enfermedades coronarias, el envejecimiento y el cáncer. (Papas, A.1999).

1.2.RADICALES LIBRES

1.2.1. DEFINICIÓN

Los radicales libres (RL) son átomos o grupos de átomos que tienen uno o más electrones desapareados lo cual los hace altamente inestables y reactivos. (Basaga H. 1990)

Estos radicales recorren nuestro organismo deseando robar un electrón de las moléculas estables, con el fin de alcanzar su estabilidad electroquímica por medio de reacciones de óxido-reducción.

Una vez que el RL ha conseguido robar el electrón que necesita para aparear su electrón libre, la molécula estable que se lo cede se convierte a su vez en un nuevo RL, por quedar con un electrón desapareado; iniciándose así una verdadera reacción en cadena que destruye nuestras células; estas reacciones en cadena se combate con la acción de los antioxidantes, los cuales neutralizan los átomos de oxígeno La vida biológica media del RL es de microsegundos; pero tiene la capacidad de reaccionar con todo lo que esté a su alrededor provocando un estrés oxidativo que puede conducir a diversas enfermedades, tales como envejecimiento, problemas del sistema cardiovascular (arterosclerosis), problemas en el sistema nervioso, daño genético (mutaciones y cánceres). (López H. 2013).

1.2.2. FORMACIÓN DE LOS RADICALES LIBRES

La formación de cierta cantidad de radicales libres (RL) en las células es un proceso normal e inevitable, los radicales libres producidos por el cuerpo para llevar a cabo determinadas funciones son neutralizados fácilmente por nuestro propio sistema. (Avello, M.et al. 2006)

1.2.2.1. FUENTES ENDÓGENAS DE RADICALES LIBRES

- a). La autooxidación de compuestos de carbono reducido como son: proteínas, aminoácidos, lípidos, glúcidos y ácidos nucleicos tienen como fin también a la formación de estos compuestos.
- b). Usan el sistema de la NADPH oxidasa generando directamente O_2^- ; las células fagocitarias (neutrófilos, monocitos o macrófagos), estas células generan monóxido de nitrógeno (NO), por acción de la óxido nítrico sintasa sobre la arginina intracelular, como mecanismo de defensa. Da lugar a la formación del $ONOO^-$ la combinación del O_2^- con el NO apto de inducir en las lipoproteínas la peroxidación lipídica.
- c). Da lugar a la formación de la mayoría de estos compuestos la cadena respiratoria, la reducción monovalente de la molécula de oxígeno. A pesar de, el 95 % del oxígeno que respiramos es reducido a H_2O por acción de la citocromo oxidasa- α -3, último eslabón de la cadena de transporte electrónico, por medio de un mecanismo en el que intervienen cuatro centros rédox suministrando, además, la principal fuente de energía (ATP) al organismo.

d). La activación catalítica de varias enzimas del metabolismo intermediario como la xantina y la hipoxantina oxidasa, lipoxigenasa, monoamino oxidasa, aldehído oxidasa, ciclooxigenasa, son fuentes particulares muy importantes de esta producción. (Trejo, A. y Pascual, S. 2011).

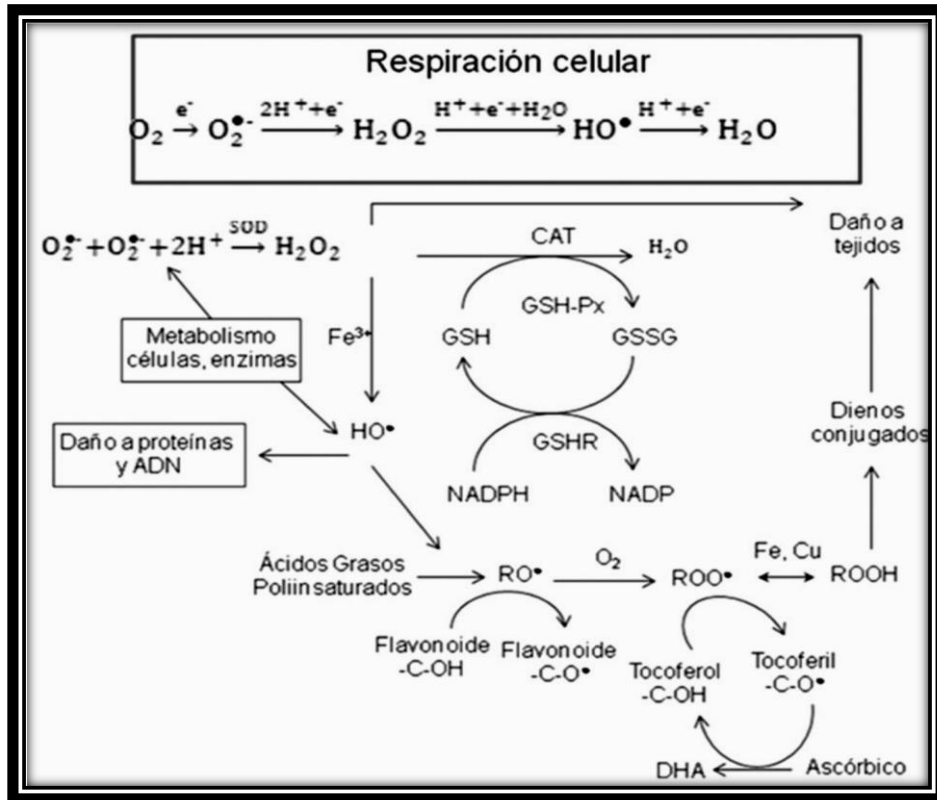


Figura No. 2. Vías de producción de radicales libres y los principales sistemas antioxidantes

FUENTE: Hernández, L. 2013

1.2.2.2. FUENTES EXÓGENAS CON EXCESO DE RADICALES LIBRES

- Alimentos procesados (alimentos sintéticos o tratados con químicos, calor o radiación)
- Alimentos viejos (congelados y enlatados posteriormente recalentados)
- Alimentos quemados (particularmente asados o grillados)
- Productos de procedencia animal, especialmente carnes rojas
- Consumo de tabaco (activo y pasivo)
- Alcohol y café
- Conservantes alimentarios.
- Pesticidas (insecticidas, repelentes y venenos)

- Herbicidas
- Artículos de limpieza, pinturas, pegamentos, agentes de propagación de fuego, limpiadores de muebles, entre otros artículos
- Humo de los vehículos
- Contaminación industrial
- Agua clorada (agua para beber y de las piscinas)
- Exceso de sol (cuando el sol provoca quemaduras, "despellejamiento" y dolor)
- Píldoras anticonceptivas. (Taradellas, J. 2011)

1.2.3. REACCIONES

Según Halliwell (1991), los radicales libres pueden llevar a cabo uno de los siguientes tipos de reacciones:

1. Ceder su electrón desapareado (radical reductor).
2. Aceptar un electrón de la molécula estable para estabilizar el electrón desapareado (radical oxidante).
3. Unirse a una molécula estable.

En cualquiera de los tres casos, la situación resultante es la génesis de otro radical químicamente agresivo:



Esto lo hace muy inestable, extraordinariamente reactivo y de vida efímera, con una enorme capacidad para combinarse inespecíficamente en la mayoría de los casos, así como con la diversidad de moléculas integrantes de la estructura celular: carbohidratos, lípidos, proteínas, ácidos nucleicos y derivados en cada una de estas macromoléculas. (Carhuapoma, M. 2006)

1.2.4. CLASIFICACIÓN

1. Radicales libres inorgánicos o Primarios

Se forman por transferencia de electrones sobre el átomo de oxígeno, por tanto representan distintos estados en la reducción de este y se caracterizan por poseer una vida media muy corta; estos son el radical hidroxilo, el óxido nítrico y anión superóxido.

2. Radicales libres orgánicos o Secundarios

Se pueden producir por la transferencia de un electrón de un radical primario a un átomo de una molécula orgánica o por la reacción de 2 radicales primarios entre sí, tienen una vida media un poco más larga que los primarios; los principales átomos de las biomoléculas son: nitrógeno azufre y oxígeno (Venereo, J. 2002)

3. Intermediarios estables relacionados con los radicales libres del oxígeno

Se incluye aquí un grupo de especies químicas que a pesar de no ser radicales libres, son generadoras de estas sustancias o repercuten de la reducción o metabolismo de ellas, entre las que están el oxígeno singlete, el hidroperóxido orgánico, el peróxido de hidrógeno, el ácido hipocloroso, el peroxinitrito. (Mayor, R. 2010)

1.2.5. ESTRÉS OXIDATIVO

En circunstancias explícitas la producción de radicales libres puede incrementarse en forma descontrolada, situación conocida con el nombre de estrés oxidativo.

El concepto expresa la existencia de un desequilibrio entre las velocidades de producción y de destrucción de las moléculas tóxicas que da lugar a un aumento en la concentración celular de los radicales libres. (Antioxidantes y radicales libres, 2014)

Cuando el estrés oxidativo afecta a sustratos biológicos, el desequilibrio redox que lo caracteriza, se traduce en un daño oxidativo a diversas macromoléculas. Cuando el daño oxidativo es intenso, sostenido en el tiempo, y no logra ser revertido, esto conducirá a la aparición de ciertas patologías. Ej.: enfermedades cardiovasculares, cáncer, distrofia muscular, enfermedades autoinmunes, esclerosis múltiple, Alzheimer, etc. (Alomar, M. 2014)

1.2.6. ENFERMEDADES CAUSADAS POR LOS RADICALES LIBRES.

El estrés oxidativo ocurre en los organismos que, por mala nutrición, enfermedad u otras causas, pierden el equilibrio entre radicales libres y antioxidantes. Es en esta situación de estrés oxidativo en la que se manifiestan las lesiones que producen los radicales libres, que reaccionan químicamente con lípidos, proteínas, carbohidratos y ADN al interior de las células, y con componentes de la matriz extracelular, por lo que pueden desencadenar un daño irreversible que, si es muy extenso, puede llevar a la muerte celular. (Antioxidantes y radicales libres. 2014)

Enfermedades o procesos asociados al daño oxidativo en las moléculas biológicas:

- ENVEJECIMIENTO: Peroxidación de los ácidos grasos de la membrana celular y daño del ADN.
- ATEROESCLEROSIS: Peroxidación de lípidos en las partículas de LDL con daño de otros componentes.
- CANCER: Daño del ADN.
- CATARATAS: Modificaciones irreversibles en las proteínas.
- PROCESOS INFLAMATORIOS CRÓNICOS: Activación de genes relacionados con la respuesta inflamatoria.

Contribuyen al proceso del envejecimiento los radicales libres cuando quitan el electrón que les hace falta de las células del tejido colágeno de la piel, dando como consecuencia, que la piel pierda su elasticidad al dañarse las fibras elásticas y la aparición precoz de arrugas y sequedad. Los RL aportan también al crecimiento anormal de las células, al perder éstas, la capacidad de “reconocer” las células vecinas. Esa proliferación sin control se produce en los tumores benignos y malignos. (Taradellas, J. 2011)

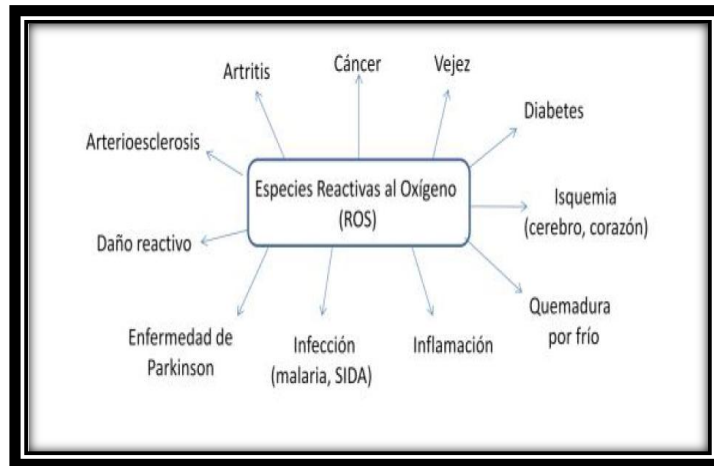


Figura No. 3. Enfermedades y daños causados por las Especies Reactivas al Oxígeno.

1.3. ANTIOXIDANTES

1.3.1. HISTORIA

Originalmente el término antioxidante fue utilizado para referirse específicamente a un producto químico que previniera el consumo de oxígeno. Los antioxidantes se han utilizado por primera vez en el siglo XIX en la industria del caucho, cuando se observó que algunas moléculas, identificadas empíricamente, podrían retardar la degradación y permitir la optimización del proceso de vulcanización. En el siglo XX, los antioxidantes se introducen en el arsenal de la industria alimentaria que emerge, como una herramienta clave para frenar la degradación oxidativa de los alimentos almacenados. (Ursini F. 2014).

1.3.2. DEFINICIÓN

Un antioxidante es una molécula capaz de retardar o prevenir la oxidación (pérdida de uno o más electrones) de otras moléculas. La oxidación es una reacción química de transferencia de electrones de una sustancia a un agente oxidante. Las reacciones de oxidación pueden producir radicales libres que comienzan reacciones en cadena que dañan las células. Los antioxidantes terminan estas reacciones quitando intermedios del radical libre e inhiben otras reacciones de oxidación oxidándose ellos mismos. Debido a esto es que los antioxidantes son a menudo agentes reductores tales como tioles o polifenoles. (Martínez, J. 2014)

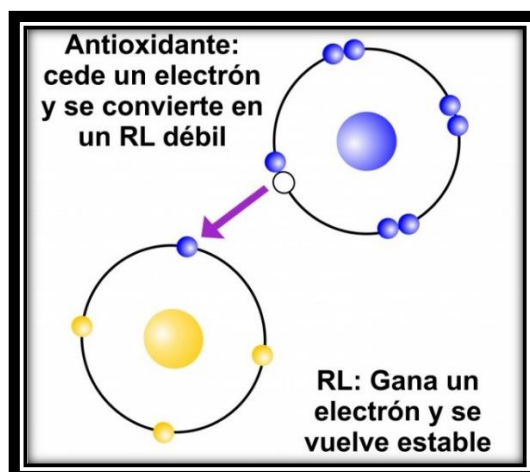


Figura No. 4 Antioxidante neutralizando a un radical libre.

Por su estructura química los antioxidantes frenan la formación de Radicales Libres (RL), previenen o tratan las enfermedades causadas por el estrés oxidativo, o a su vez los antioxidantes son un conjunto de compuestos químicos o productos biológicos que contrarrestan de una manera directa o indirecta los efectos nocivos de los radicales libres u oxidantes, tales como oxidación a lípidos, proteínas y ácidos nucleicos, alterando las funciones celulares. (López A, et. al 2012).

Para protegerse de los daños causados por los RL, el cuerpo genera ciertas sustancias conocidas como antioxidantes, sin embargo en situaciones de estrés, mala alimentación, deficiencia en el sistema inmunológico, la cantidad de estos antioxidantes llega a ser notoriamente insuficiente. Para ello es de vital importancia alimentarse de manera adecuada reforzando la dieta con alimentos ricos en antioxidantes, o dependiendo el caso tomar complementos de los mismos. Entre los más conocidos están la vitamina A, el Selenio, la vitamina C, la vitamina E, el Betacaroteno, la melatonina, la coenzima Q10 y los bioflavonoides. (Stevens, N. 1998).

1.3.3. CLASIFICACIÓN

1.3.3.1. Según su origen

1. Antioxidantes endógenos (Enzimáticos).

Normalmente son bio-sintetizados por el organismo, son las enzimas (proteínas) con capacidad antioxidante que no se consumen al reaccionar con los radicales libres y son dependientes de sus cofactores tales como el cobre, el hierro, el zinc, el magnesio y selenio.

Mecanismos enzimáticos del organismo; incluye a enzimas como superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión peróxidasa (GSH-PX), tiorredoxina reductasa, glutatión reductasa y la coenzima Q. Algunas enzimas necesitan cofactores metálicos como selenio, cobre, zinc y magnesio para poder realizar el mecanismo de protección celular. (Antioxidantes y radicales libres. 2014)

2. Antioxidantes exógenos (No enzimáticos)

Son introducidos por la dieta y a diferencia de las enzimas se consumen al reaccionar con los radicales libres, y deben ser reemplazados y se depositan en las membranas celulares impidiendo la lipoperoxidación (vitaminas E y C y del caroteno).

Los antioxidantes exógenos están determinados por una serie de compuestos llamados depuradores de radicales libres, los mismos que intervienen logrando retrasar la generación y acción de los radicales libres. (Hernández, L. 2013)

Tabla No.2 Antioxidantes exógenos

Antioxidante	Fuente	Acción antioxidante	Efectos secundarios.
Vitamina E (tocoferol)	Aguacate, camote, espárragos, espinacas, tomate, brócoli, zanahoria, aceites (oliva, maíz, cártamo, soya), cereales, arroz integral, lentejas, yema de huevo, mantequilla, plátano, moras, frutos secos.	Mantiene la integridad de la membrana celular, protege la destrucción de la vitamina A, retarda el envejecimiento celular.	NRN
Vitamina C (ac. ascórbico)	Acelgas, tomates, perejil, pimiento verde, coliflor, coles de Bruselas, nabos, grosellas, cítricos, melón, kiwi, fresas.	Inhibidor de la oxidación de lípidos, regenera a la vitamina E, ofrece protección contra todo tipo de cánceres.	Su ingesta en grandes cantidades puede ocasionar presencia de cálculos en riñones o vías urinarias.
β-Caroteno (pro-vitamina A)	Zanahoria, tomates, espinacas, melón, melocotón, mango.	Protege al DNA, detiene el deterioro de tejidos.	Su consumo excesivo produce descamaciones de la piel, caída del cabello, debilidad, ahogo y vómito.
Flavonoides (polifenólicos)	Espinacas, cebolla, ajo, té verde, vino, manzanas, peras, cítricos.	Quela metales.	NRN
Oligoelementos Selenio (Se), Zinc (Zn), Manganeso (Mn), Cobre (Cu)	Carne, pescado, cereales integrales, lácteos, ajo, cebollas, brócoli, frutos secos, te, piña, vísceras, cacao y derivados.	Forman parte del núcleo activo de las enzimas con actividad antioxidante, mantienen en buen estado las funciones hepáticas, cardíacas y reproductoras, protector contra el cáncer.	El Se, es el más tóxico de los minerales, su ingestión en dosis altas produce pérdida de cabello, alteración de uñas y dientes, náuseas, vómito y aliento a leche agria.

NRN: No se reportan efectos nocivos por exceso en su consumo.

Fuente: (Delgado L. et. al 2010)

1.3.3.2. Según la zona donde actúan:

Los antioxidantes impiden que otras moléculas se unan al oxígeno, al reaccionar-interactuar más rápido con los radicales libres del oxígeno y las especies reactivas del oxígeno que con el resto de las moléculas presentes, en un determinado microambiente - membrana plasmática, citosol, núcleo o líquido extracelular.

Lipófilo.- es el comportamiento de toda molécula, la misma que posee afinidad por los lípidos. En una disolución o coloide, las partículas lipófilas tienden a acercarse y mantener contacto con los lípidos (Cajas, P. 2012).

Los que ejercen su acción a nivel de la membrana lipídica son: la vitamina E; los polifenoles, flavonoides; y los carotenos

Hidrófilo.- es el proceder de toda molécula que goza de afinidad por el agua. En una disolución o coloide, las partículas hidrófilas tienden a acercarse y conservar contacto con el agua. (Cajas, P. 2012).

Los que actúan en medio acuoso: el ácido ascórbico (conocido generalmente como vitamina C). Los relacionados con metales pesados: transferrina, lactoferrina, ferritina y ceruloplasmina. (Licata, M. 2014)

1.3.4. ANTIOXIDANTES EN LA DIETA

En la dieta alimenticia diaria se debe incluir a alimentos ricos en antioxidantes naturales ya que estos son importantes para la salud, en el organismo se da un equilibrio entre oxidantes y antioxidantes, más cuando se rompe este equilibrio a favor de los oxidantes se produce un estrés oxidativo el mismo que está implicado en muchos factores fisiopatológicos, es por ello importante el consumo de alimentos que contenga gran cantidad de antioxidantes para que de esta forma se pueda mantener el equilibrio entre oxidantes y antioxidantes y a medida que la persona va envejeciendo este balance está a favor de los oxidantes y es de suma importancia el consumo de alimentos ricos en antioxidantes para poder contrarrestarlos, es importante el consumo de frutas, frutos secos como almendras, seguido por las verduras, hortalizas, legumbres y cacao.

Entre los antioxidantes más importantes en los alimentos cabe destacar: vitamina C, carotenoides, vitamina E y en la actualidad los flavonoides.

(Llanga, B. 2014).

Tabla No.3 Fuentes de Antioxidantes en algunos alimentos

Fuente	Antioxidante
Frijol de soya	Isoflavonas, ácidos fenólicos
Aceites y semillas de aceites	Tocoferoles y tocotrienoles; sesamol y sustancias relacionadas, resinas de aceites de olivo, fosfolipidos
Té verde, té negro	Polifenoles, catequinas
Café	Ésteres fenólicos

Vino tinto	Ácido fenólico
Frutas y vegetales	Ácido ascrobico, acidos hidroxicarboxilicos, flavonoides, carotenoides.
Romero, sábila	Ácido carnósico, ácido rosmarímico
Cítricos	Bioflavonoides, chalconas
Cebollas	Quercetina, camferol
Aceitunas	Polifenoles, catequinas
Cacao	Compuestos fenólicos
Avena y salvado	Varios compuestos derivados de la lignina

1.3.4.1. Ácido ascórbico o Vitamina C

La Vitamina C, o ácido Ascórbico, es una de las vitaminas hidrosolubles, que se disuelven en agua, presentes en las partes acuosas de los alimentos. Nuestro organismo sólo puede almacenar una cantidad limitada y el exceso es fácilmente eliminado por la orina.

La vitamina C se absorbe mayoritariamente en el duodeno y yeyuno proximal mediante un mecanismo de transporte activo dependiente del sodio. (Valls V. 2009).

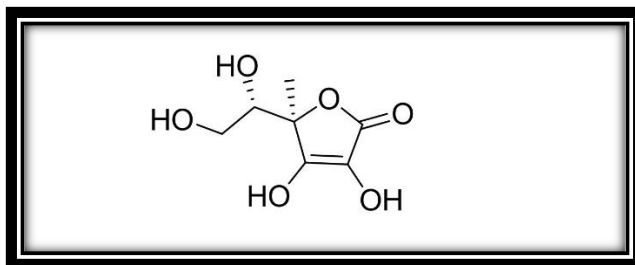


Figura No. 5 Estructura química de la vitamina C

La vitamina C es un antioxidante que ejerce en medios acuosos, entre ellos el fluido ocular el líquido pleural y el espacio intersticial. Este antioxidante actúa conjuntamente con otros antioxidantes primarios como la vitamina E y los carotenoides, así como en conjunto con las enzimas antioxidantes. La vitamina C se ayuda con la Vitamina E regenerando el α -tocoferol desde el radical α -tocoferilo en membranas y lipoproteínas. La mayoría de plantas y animales sintetizan ácido ascórbico a partir de la glucosa; pero, los humanos son incapaces de sintetizarlo y requieren adquirir de la dieta. (Griffiths, H.et. al. 2001)

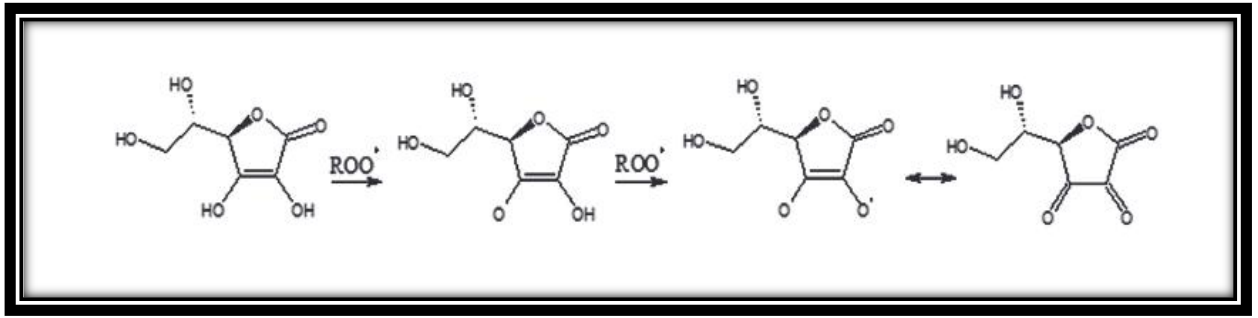


Figura No. 6 Mecanismo propuesto para la estabilización de radicales libres por la vitamina C (ácido ascórbico).

El ácido ascórbico es el único antioxidante endógeno en plasma que logra proteger contra el daño peroxidativo provocado por radicales peróxido. En la FIGURA No.6 se plasma la donación de un electrón realizada por el ácido ascórbico lo que produce el radical semidihidroascorbil, que puede nuevamente ser oxidado para dar dihidroascorbato (Griffiths H.et. al. 2001)

Los cítricos, los tomates, las patatas son los alimentos que se encuentran entre los alimentos que tienen alto contenido de vitamina C. En la actualidad la recomendación para la ingesta diaria de vitamina C es para mujeres 75 mg/día y de 90 mg/día para hombres.

Los pacientes con enfermedades crónicas como el cáncer, la diabetes, los fumadores son quienes necesitan mayores dosis en su dieta habitual. El déficit de ácido ascórbico tiene lugar a la aparición del escorbuto, enfermedad que se ve raramente en los países desarrollados. Los síntomas se desarrollan con niveles plasmáticos inferior a 0,15 mg/dl. El escorbuto se caracteriza por la debilidad, dolor articular o lesiones cutáneas en forma de petequias, sangrado de encías, facilidad para desarrollar hematomas o retraso en la curación de las heridas. Las manifestaciones cutáneas más características son las pápulas purpúricas hiperqueratósicas perifoliculares y la presencia de pelos ensortijados. (Valdés, F.2006).

1.3.4.2. Vitamina E

El vocablo vitamina E es la descripción genérica para todos los tocoferoles y tocotrienoles que presentan actividad biológica de alfa-tocoferol, siendo éste el antioxidante natural más efectivo en fase lipídica y en la parte externa de las lipoproteínas, por tanto opera a nivel de membranas o lipoproteínas. (Valls, V. 2009)

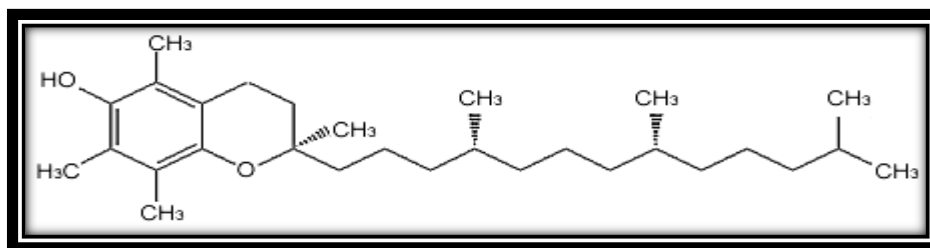


Figura No. 7 Estructura química del α -tocoferol (la forma más potente de vitamina E)

La vitamina E es liposoluble imprescindible para diversas funciones biológicas. Una de las más importantes funciones que cumple es la de antioxidante de las membranas biológicas, sitio el cual protege los ácidos grasos poli-insaturados y otros componentes de las membranas celulares de los radicales libres; esta función garantiza la estabilidad de las membranas de células como los leucocitos y las plaquetas frente a variados tipos de agresiones. (Valls, V. 2009)

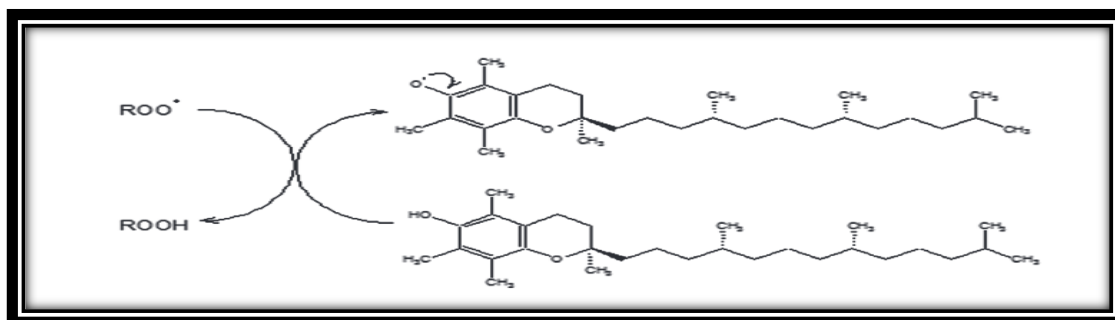


Figura No. 8 Mecanismo presentado para la estabilización de radicales libres por la vitamina E (α -tocoferol)

El mecanismo que se presenta para la estabilización de RL por la vitamina E se muestra en la FIGURA No. 8. Donde la vitamina E logra reaccionar con los radicales lipídicos, para de esta manera formar la vitamina E radical tomando en cuenta que es poco reactiva como para reaccionar con ácidos grasos poliinsaturados, actuando de esta manera en la reacción de la peroxidación lipídica como finalizador de la cadena. Esta vitamina E radical es muy estable ya que el electrón desapareado del átomo de O_2 puede ser deslocalizado dentro de la estructura del anillo aromático. (Griffiths H. et al. 2001)

1.3.4.3. Carotenoides

Al referirse a los carotenoides nos referimos a los precursores de la vitamina E ya que hay más de 600 carotenoides, dentro de ellos alrededor de 50 son precursores de la vitamina A o retinol. Dentro de la dieta alimenticia la vitamina A puede ser ingerida por medio de los alimentos de origen animal, en su mayoría en forma de esteres de retinilo o también en forma de carotenoides, principalmente el β -caroteno que se encuentran en los alimentos de origen vegetal. (Valls, V. 2009)

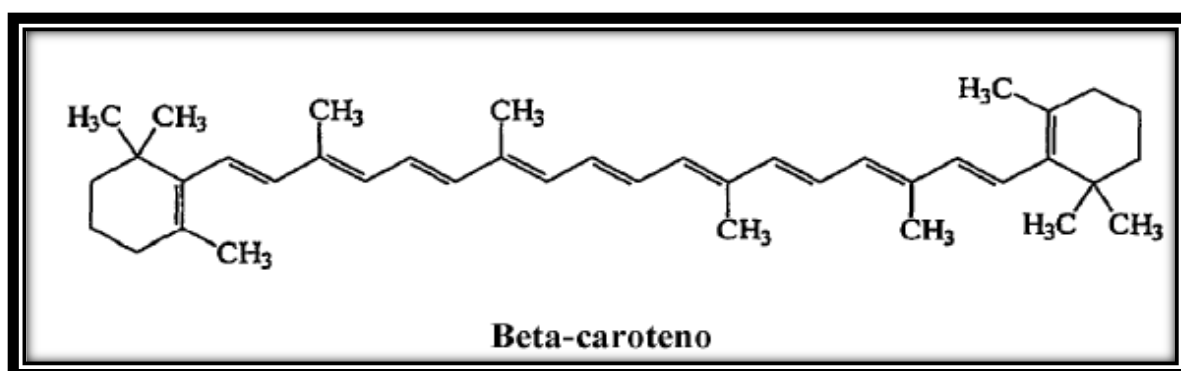


Figura No. 9 Estructura química de B-CAROTENO

En los carotenoides el papel biológico no se encuentra limitado únicamente a la protección del aparato fotosintético de las plantas frente a la afectación de la luz o a la producción de retinoides; además se ha indicado que: previene el daño por fotosensibilidad en bacterias, humanos y animales; disminuye el daño genético y las transformaciones malignas; inhibe la inducción tumoral provocada por los rayos UV y agentes químicos y disminuye en humanos las lesiones premalignas. (Krinsky, N. 1989).

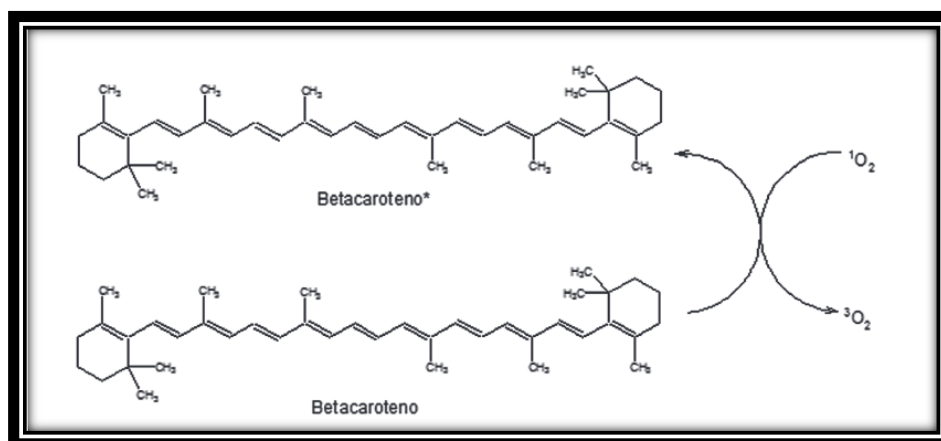


Figura No. 10 Mecanismo de estabilización de radicales libres por betacaroteno

En la FIGURA No.10 se presenta el mecanismo el mismo que está determinado por su capacidad para estabilizar el oxígeno singlete y así nuevamente convertirlo a su forma menos reactiva (triplete) a expensas de una activación intramolecular. (Krinsky, Norman. 1989).

1.3.5. ANTIOXIDANTES Y CÁNCER

Evidencian más de 150 estudios epidemiológicos una correlación inversa entre la ingesta de antioxidantes y el riesgo de adquirir diversos tipos de tumores y tienden a señalar al β -caroteno como el agente protector en enfermedades tumorales. Como posible mecanismo se reconoce que el ADN puede dañarse y por ende, sufrir mutaciones por lesión directa de los RL sobre las bases, o en forma directa afectando la actividad de las proteínas específicas que lo repara (proto-oncogen), o lo frena (supresores). El tabaquismo también produce un alto grado de estrés oxidativo por diversos mecanismos, ocasionando a la misma carcinogénesis a nivel pulmonar. (Carhuapoma, M. 2006)

1.4. POLIFENOLES

Los polifenoles son un conjunto heterogéneo de moléculas, comparten la característica de tener en su estructura diversos grupos bencénicos sustituidos por funciones hidroxílicas; son un amplio grupo de compuestos, producto del metabolismo secundario de las plantas, donde desempeñan diversas funciones de protección al ataque de patógenos o herbívoros y son pigmentos que atraen a los polinizadores. (Caravaca, E. 1999).

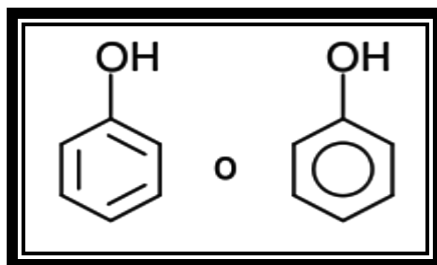


Figura No. 11 Estructura del Fenol

En su estructura presentan un anillo benceno con por lo menos un grupo hidroxilo (fenólico). Se pueden clasificar los compuestos fenólicos según su origen biosintético y su complejidad estructural, tomando en cuenta que el grupo más sencillo corresponde a los

fenoles debidamente llamados. Tenemos a los flavonoides que son aproximadamente la mitad de los compuestos fenólicos que se encuentran presentes en las plantas, los mismos que se pueden clasificar en 5 diferentes grupos: antocianinas (pigmentos), flavonoides menores (que incluyen flavonas, dihidroflavonoles y dihidrochalconas), flavonoles, isoflavonoides y taninos. (Arriaga, I. 2007)

1.4.1. CARACTERÍSTICAS QUÍMICAS GENERALES

De los compuestos fenólicos lo más destacable son sus propiedades antioxidantes; por una parte son muy susceptibles a ser oxidados y por otra son los cuales impiden que los metales catalicen las reacciones de oxidación, es de esta manera que los grupos hidroxilo, al estar unidos a un anillo bencénico, dan la posibilidad de que el doblete del átomo de oxígeno interactúe con los electrones del anillo, razón por lo cual se les confiere unas características especiales respecto al resto de alcoholes. También pueden actuar de quelantes (sobre todo los fenoles no flavonoides) y constituir complejos con metales di o trivalentes, especialmente con el aluminio y el hierro, lo que consigue poseer también implicaciones nutricionales. (Gimeno, E. 2004)

1.4.2. CLASIFICACIÓN GENERAL

De distintas maneras se puede clasificar a los polifenoles debido a su diversidad estructural. Por su estructura química tenemos 2 grandes grupos:

1. No flavonoides

Entre ellos hay dos subgrupos:

- Fenoles no carboxílicos: C6, C6-C1, C6-C3.
- Ácidos fenoles: derivados del ácido benzoico C6-C1 y derivados del ácido cinámico C6-C3.

2. Flavonoides (C6-C3-C6)

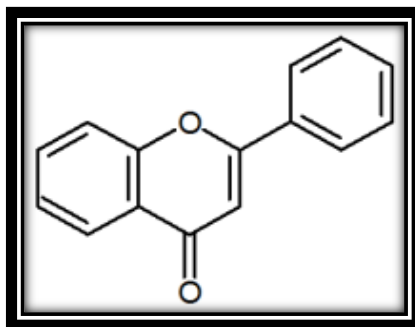


Figura No. 12 Estructura básica de los flavonoides

Formados por 2 grupos bencénicos unidos por un puente tricarbonado.

Subgrupos:

- Antocianos; flavononas, flavanoles y flavanonoles; flavanoles, taninos condensados y lignanos

Son derivados fenólicos los flavonoides los cuales son sintetizados en cantidades sustanciales por las plantas. Alrededor de 4000 aproximadamente conforman los compuestos identificados, son derivados metoxilados, glicosilados del 2-fenilbenzo- γ -pirano e hidroxilados. Tienen una actividad antioxidante y una gran capacidad para capturar radicales libres, de igual forma que las antocianidinas tienen actividad diurética además poseen también acción laxante. (Naranjo, A. 2013)

Tabla No.4 Actividad biológica de algunos compuestos fenólicos

Fenoles simples	Antioxidante, antitumoral, antiviral, antibacteriana
Lignanos	Antitumoral, antiviral
Quinonas	Antitumoral, antiviral
Xantonas	Antitumoral, antiviral, citotóxica, mutagénica, antibacteriana, anti-inflamatoria
Flavonoides	Antiinflamatoria, antibacteriana, antialérgica, diurética, antiviral, antiproliferativa, captador de radicales libres, antihipertensivo, estrogénica
Cumarinas	Anticoagulante, antitumoral, fotosensibilizante, antiviral

1.5. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

1.5.1. DEFINICIÓN

Halliwe y Gutteridge (1998), definieron como actividad antioxidante a toda sustancia que hallándose presente a bajas concentraciones, con respecto a las de un sustrato oxidable (biomolécula) retarda o previene la oxidación de dicho sustrato. El antioxidante al reaccionar con el radical libre (RL), le cede un electrón oxidándose a su vez y transformándose en un radical libre débil, con escasos o nulos efectos tóxicos y que en algunos casos como la vitamina E, pueden regenerarse a su forma primitiva por la acción de otros antioxidantes.

Los antioxidantes tienen diferentes mecanismos de acción; unos impiden la formación de los RL o especies reactivas (sistema de prevención), otros inhiben la acción de los radicales libres (sistema barrador) y otros favorecen la reparación y la reconstitución de las estructuras dañadas (sistemas de reparación). (Halliwell B .et al. 1998)

1.5.2. ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LA FAMILIA MIRTÁCEAE

La familia Mirtácea posee alrededor de 131 géneros y unas 4620 especies, producen aceites esenciales, son fuente importante de madera lo que resulta notable en las especies de eucalipto (*Eucalyptus resinifera*). Entre las que producen frutos comestibles tenemos la guayaba (*Psidium guajava*, L.) y la pomarrosa (*Syzygium jambos*); tienen valor ornamental debido a sus llamativas flores *Eucalyptus*, *Myrtus*, *Callistemon*, *Leptospermum*, *Acca*, *Myrrhinium*. Los frutos de la mayoría de las especies Neotropicales son comestibles. Entre ellas se destaca *Psidium guajava* (Guayaba), *Eugenia uniflora* (Pitanga), *E. brasiliensis* (Cereza brasilera), *Myrciaria cauliflora* (Jaboticaba). (Fredes, C. et al. 2013).

La familia Mirtácea tiene gran importancia económica, al encontrarse en ella plantas de gran interés y utilidad al poseer una elevada actividad antioxidante, un alto contenido de compuestos fenólicos. Es conocida por la alta concentración de terpenos de su follaje. Igualmente numerosas especies tienen sus frutos comestibles con un gran potencial nutricional y funcional. (Vilela A et al. 2011)

1.6. FEIJOA (*Acca sellowiana*)



FUENTE: CARVAJAL, M 2014.
FOTOGRAFÍA No. 1 ÁRBOL DE FEIJOA (*Acca sellowiana*)

1.6.1. ORIGEN

Es una fruta subtropical, conocida en el sur de Brasil, noreste de Argentina, Uruguay y este de Paraguay, desde los tiempos prehispánicos. (Mateo, J. 2005). La especie fue descrita por primera vez por Otto Berg en 1854 quien se basó en colectas realizadas por Friedrich Sellow en 1819. (Feijoa. 2014). Es conocida en la Costa Azul francesa desde 1890, cuando fue introducida por el Prof. Edouard André, de la Escuela de Horticultura de Versailles, a través de semillas de Argentina. En 1990 fue introducida en California, donde se ha extendido su cultivo. En Uruguay se cultiva comercialmente hace 50 años. Es cultivada y muy apreciada en Nueva Zelanda. (Hernández J. et al. 1992). En la actualidad se cultiva en Brasil, Uruguay, Colombia, Argentina, en el sur de Estados Unidos, Australia, Nueva Zelanda, Israel y Francia.

1.6.2. CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA

Tabla No.5 Taxonomía de la Feijoa (A. sellowiana)

Reino :	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Subclase:	Rosidae
Orden:	Myrtales
Familia:	Myrtaceae
Subfamilia:	Myrtoideae
Tribu:	Myrteae
Género:	Acca
Especie:	A. sellowiana (BERG. 1855) BURRET 1942

1.6.3. ETIMOLOGÍA

El nombre de Feijoa recibió gracias al botánico Don da Silva Feijoa; sellowiana, en memoria de Friedrich Sellow (1789-1831), naturalista y viajero alemán que colectó plantas en Brasil y Uruguay y llevó por primera vez la Feijoa a Europa.

NOMBRE COMÚN: Feijoa (en todo el mundo); *castellano*: guayabo grande, guayabo chico (Uruguay); *portugués*: goiaba serrana, goiaba verde, goiaba abacaxí (Brasil); *inglés*: pineapple guava (Estados Unidos). (Hernández J. et al. 1992)

1.6.4. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

Arbusto o pequeño árbol de 3-5 m de altura, muy ramificado. Tallos cilíndricos, de color ceniza rojizo, desprendiendo pequeñas placas de la corteza. (Hernández J. et al 1992)

1.6.8.1. Hojas



FUENTE: CARVAJAL, M 2014.

FOTOGRAFÍA No. 2. HOJAS DE FEIJOA (Acca sellowiana)

Son elípticas de 4 a 8 cm de longitud con bordes enteros o ligeramente ondulados, opuestas, pecioladas, consistentes, de color verde intenso, liso y brillante en el haz, mientras que en el envés son blanquecinas y tomentosas.

1.6.8.2. Flores



FUENTE: CARVAJAL, M 2014.
FOTOGRAFÍA No. 3. FLORES DE FEIJOA (Acca sellowiana)

Las flores son grandes 2 -3 cm, muy vistosas, con cuatro pétalos rojos carmín y largos estambres de un rojo muy intenso. Cáliz con 4 sépalos blancos y corola con 4 pétalos céreos, curvados, de color blanco en el exterior y rosados por el interior. Estambres numerosos de color rojo muy salientes. Los pétalos son comestibles, de sabor similar a la miel.

1.6.8.3. Fruto



FUENTE: CARVAJAL, M 2014.
FOTOGRAFÍA No. 4. FRUTOS DE FEIJOA (Acca sellowiana)

Es una baya, blonga de 4 a 7 cm × 3 a 5 cm, verde oscuro en la madurez, con aromas agradables propios. La piel es de color verde intenso y lisa. La fructificación requiere clima fresco. La pulpa es carnosa, color blanquecino, sabor agridulce, contienen de 20 a 40 semillas comestibles y que no son advertidas por el paladar. Tiene un agradable sabor que difícilmente puede ser descrito comparándolo al de otros frutos conocidos, se asemeja al de la piña, kiwi y emana un agradable aroma. La pulpa puede consumirse con o sin la piel. Se caracterizan por su alto contenido de yodo, (3mg/100g).

1.6.5. CULTIVO

La Feijoa crece en una amplia variedad de suelos. Las mejores cosechas, sin embargo, provienen de plantas que crecen en suelos bien drenados con un pH entre 5,5 y 7,0. Son bastante tolerantes a la sal, pero la salinidad disminuye el crecimiento y reduce los rendimientos. (Feijoa cultivo. 2014)

Son resistentes y tolerantes a temperaturas extremas de -7°C a 40°C , la producción de flores es pobre en las zonas con menos de 50 horas de enfriamiento, prefieren inviernos fríos y veranos moderados (25°C a 33°C); el sabor de la fruta es mucho mejor en zonas frías. Un árbol de Feijoa madura sana puede producir alrededor de 200 kg de fruta cada temporada; algunos cultivares injertados de Feijoa son auto-fértiles. La mayoría no lo son, y requieren un polinizador. (Feijoas crecimiento 2014)

1.6.6. VALOR NUTRICIONAL Y USOS

Tabla No.6 Valor nutricional de la Feijoa (A. sellowiana)

Feijoa (A. sellowiana)	
Valor nutricional por cada 100 g	
Energía 60 kcal 230 kJ	
Carbohidratos	12.92 g
• Azúcares	8.2 g
• Fibra alimentaria	6.4 g
Grasas	0.6 g
Proteínas	0.98 g
Tiamina (vit. B ₁)	0.006 mg (0%)
Riboflavina (vit. B ₂)	0.018 mg (1%)
Niacina (vit. B ₃)	0.295 mg (2%)
Ácido pantoténico (vit. B ₅)	0.233 mg (5%)
Vitamina B ₆	0.067 mg (5%)
Ácido fólico (vit. B ₉)	23 µg (6%)
Vitamina C	32.9 mg (55%)
Vitamina E	0.16 mg (1%)
Vitamina K	3.5 µg (3%)
Calcio	17 mg (2%)
Hierro	0.14 mg (1%)
Magnesio	8 mg (2%)
Manganeso	0.084 mg (4%)

Fósforo	19 mg (3%)
Potasio	172 mg (4%)
Sodio	3 mg (0%)
Zinc	0.06 mg (1%)
% CDR diaria para adultos.	
Fuente: Feijoa, raw en la base de datos de nutrientes de USDA.	

Posee una condición de fruta exótica, de muy buenas características organolépticas, y con una producción no muy difundida. Según Hardy y Michael (1970) reportan que las características aromáticas se deben a la presencia de benzoatos de etilo y metilo que representan el 90% de las sustancias volátiles, responsables de la característica resistente de la fruta.

Desde el punto de vista nutricional, el fruto de feijoa se caracteriza por su alto contenido de yodo y vitamina C (Hoffmann, A et al.1994). La feijoa posee características inmunológicas y antioxidantes, gracias a que es un fruto rico en bioflavonoides, polifenoles activos como la catequina, leucoantocianinas, flavonoides, proantocianidinas y naftoquinonas (Ebrahimzadeh M. et al. 2008); tiene propiedades anticancerígenas e influye en la secreción de citoquinas en el intestino (Nakashima, H et al.2005). El fruto tiene actividad antimicrobiana, que junto con las propiedades antioxidantes, permite considerarlo como materia prima para producción de nuevos medicamentos (Vuotto M et al. 2000), que permitan prevenir, entre otras, enfermedades cardiovasculares, cáncer e infecciones.

A nivel empírico, el uso de feijoa sobre heridas e infecciones en la piel acelera y mejora el proceso de cicatrización. Además los frutos de feijoa son ricos en fibra, potasio, fósforo, magnesio, azúcar y calcio (Parra A. y Fischer G. 2013)

Los frutos de feijoa son ricos en vitamina C, polifenoles, terpenos, taninos, esteroides, saponinas, flavonoides hidrocarburos, minerales, yodo, y benzoato de etilo lo afirma Binder y Flath (1989).

La feijoa se presenta como un fruto rico en flavonoides, los cuales poseen actividades inmunológicas y antioxidantes (Ielpo M et al., 2000). Debido a las expectativas

comerciales del cultivo y a la importancia nutricional y medicinal de este fruto es importante optimizar el manejo agronómico del mismo. Sin embargo, en Colombia, no hay publicaciones científicas de estudios anatómicos del crecimiento y desarrollo del fruto que permitan implementar prácticas de manejo con el propósito de mejorar su calidad. (Rodríguez M, et al 2010)

Actualmente, se consume su fruta al estado fresco, deshidratada o enlatada; además se utiliza en la fabricación de vino, pulpa para yogurt, aromas, néctares y perfumes. (Usos Feijoa 2014)

Presenta beneficios para tratamientos complementarios en el exceso de Colesterol debido a su alta concentración de pectinas, que contribuyen a bajar y estabilizar los niveles de colesterol y también para controlar la Hipertensión. (Feijoa usos. 2014).

La Feijoa estimula la regeneración celular y disminuye el envejecimiento celular; la presencia de pectinas regula la digestión. Es de gran importancia para tratar problemas de anemia. (Perea, M.et. al 2010)

CAPÍTULO II

2. PARTE EXPERIMENTAL

2.1. LUGAR DE LA INVESTIGACIÓN

La presente investigación se llevó a cabo en los siguientes laboratorios de la ESPOCH:

- Laboratorio de Nutrición Animal y Bromatología (Facultad de Ciencias Pecuarias).
- Laboratorio de Fitoquímica (Facultad de Ciencias).
- Laboratorio de Química Instrumental (Facultad de Ciencias).

Y en el Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP), Laboratorio de Servicio de Análisis e Investigación en Alimentos (LSAIA) del Departamento de Nutrición y Calidad (DNC) de la Estación Experimental Santa Catalina (EESC).

2.2. MUESTRAS, EQUIPOS Y REACTIVOS

2.2.1. MUESTRAS

La materia prima que se usó en la presente investigación está detallada en la siguiente tabla.

Tabla No.7 Muestras del material vegetal y alimenticio utilizado en la investigación

MUESTRA	SITIO DE RECOLECCIÓN	DÍA DE RECOLECCIÓN	ESTADO DE MADURACIÓN
Hojas y Frutos del árbol de Feijoa	Provincia Tungurahua-Cantón Patate.	Sábado 20 de Septiembre, 2014	Semi-maduro

2.2.2. EQUIPOS

- Agitador de Tubos Vórtex (MIXER)
- Balanza analítica de precisión 0.1g Shimadzu, modelo AUX 220
- Baño Ultrasonido (COLE PARMER 8892)
- Baño María
- Bomba de vacío.
- Congelador
- Cronómetro digital Thomas Scientific
- Centrifuga
- Espectrofotómetro UV-VIS 2600
- Estufa (MEMMERT).
- Liofilizador
- Licuadora
- Mufla (VULCAN Y SNOL)
- pH metro (HANNA INSTRUMENT Y HANNA WATERPROOF)
- Refractómetro (BAUSCH Y LOMB)
- Reflectómetro RQ flex 16970

2.2.3. REACTIVOS

- Ácido gálico
- Ácido clorhídrico
- Agua bidestilada
- Agua destilada
- Alcohol amílico
- Carbonato de sodio al 20 %
- Cloruro de sodio
- 2,2'-azinobis (ácido 3-
etilbenzotiazolina-6-sulfónico)
(ABTS)
- Etanol
- Éter etílico
- Magnesio metálico
- Metanol
- Merckoquant Test ácido ascórbico, el tubo contiene 50 tirillas analíticas
- Persulfato de Potasio
- Reactivo de Dragendorff
- Reactivo de Mayer
- Reactivo de Wagner
- Reactivo de Baljet
- Reactivo de Folin-Ciocalteu
- Solución de Fehling
- Tricloruro férrico

2.2.4. MATERIALES

- Balones ámbar aforados de 25ml
- Balones aforados de 100 y 250 mL.
- Bureta de 25 y 50 mL.
- Cápsulas de porcelana
- Celdas plásticas
- Crisoles
- Cuchillo
- Dispensador de agua
- Embudo de vidrio.
- Espátula.
- Frascos de vidrio ámbar.
- Gradilla porta tubos de ensayo
- Guantes quirúrgicos
- Mandil
- Mascarilla
- Micropipetas de 1000 y 100 μL regulables
- Mortero con pistilo.
- Olla de acero inoxidable.
- Papel absorbente.
- Papel de Aluminio.
- Papel Filtro.
- Pera de succión.
- Pinza para capsula
- Pinzas para bureta.
- Pinzas para tubos.
- Picnómetro de 10 mL.
- Pipetas pasteur
- Pipetas graduadas de 1, 5, 10 y 25 mL.
- Pizeta.
- Puntas plásticas para micropipetas
- Soporte universal.
- Termómetro.
- Trípode.
- Tubos de ensayo de vidrio de punta cónica de 10mL
- Tubos de ensayo de vidrio
- Varilla de agitación.
- Vasos de Precipitación de 50, 100, 150, 250, 500 y 1 000 mL.

2.3. TÉCNICAS Y MÉTODOS

2.3.1. RECOLECCIÓN

La muestra de Feijoa (*Acca sellowiana*) se recolectó en la provincia de Tungurahua - Cantón Patate.

2.3.2. CARACTERIZACIÓN BROMATOLÓGICA DE LAS HOJAS Y FRUTOS DE LA FEIJOA (*Acca sellowiana*)

2.3.2.1. ANÁLISIS SENSORIAL

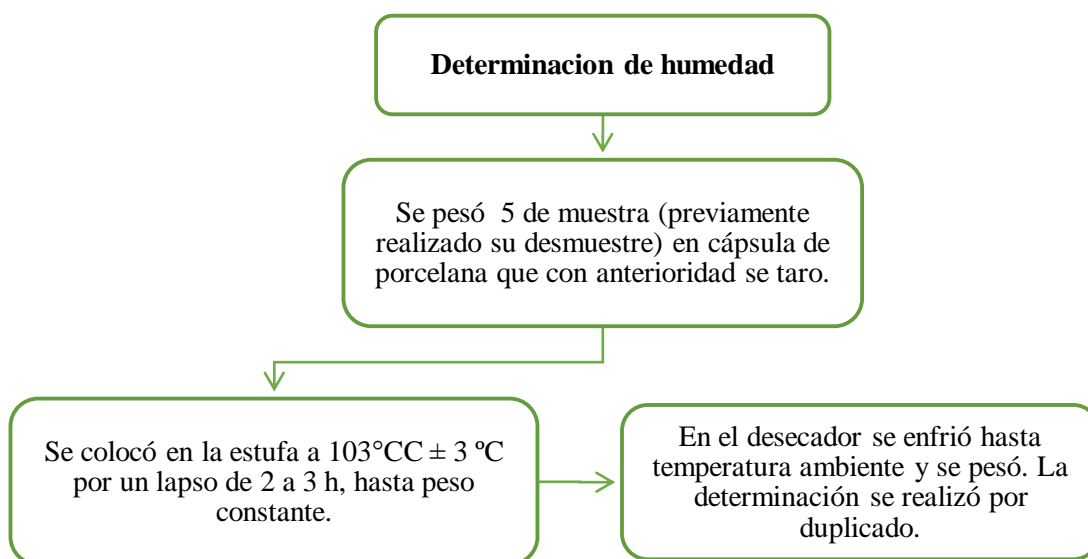
Los atributos sensoriales son: color, apariencia, textura, sabor y olor.

2.3.2.2. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD - MÉTODO DESECACIÓN EN ESTUFA DE AIRE CALIENTE

Fundamento

En los alimentos es de gran importancia el contenido de humedad, es un paso obligado en el análisis calcular el porcentaje de agua por la pérdida de peso debida a su eliminación por calentamiento (evaporación del agua), mediante la desecación en estufa de aire caliente a 103°C durante 24 horas. El agua se encuentra en los alimentos especialmente en dos formas: agua disponible o libre y agua enlazada o ligada. El agua libre es la forma predominante, se puede congelar o se libera con facilidad por evaporación o por secado. El agua ligada o enlazada está combinada o unida en alguna forma química o a través de puentes de hidrogeno a grupos iónicos o polares que no puede alinearse fácilmente (Lucero O. 2010)

Procedimiento:



Cálculos:

$$(\%)Humedad = \left(\frac{m_1 - m_2}{m_1 - m} \right) \times 100$$

FÓRMULA No.1

Dónde:

m= masa de la capsula en g

m₁= masa de la capsula con la muestra en g

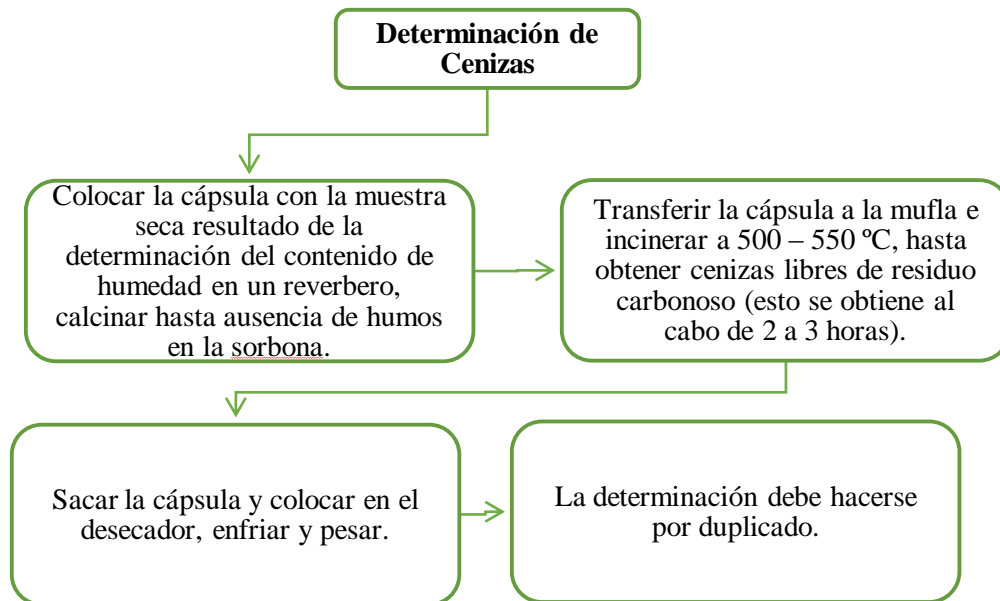
m₂= masa de la capsula en g con la muestra después del calentamiento

2.3.2.3. DETERMINACIÓN DE CENIZAS. MÉTODO INCINERACIÓN EN MUFLA

Fundamento

La determinación de cenizas con el método incineración en mufla involucra la oxidación de toda la materia orgánica presente en una cantidad exactamente pesada de muestra homogénea, y su pesada posterior de las cenizas blancas resultantes, de la combustión total en una mufla o en un horno a 550 °C. (Lucero O. 2010).

Procedimiento



Cálculos

$$\%Cbs = \frac{m_2 - m}{m_1 - m} \times 100$$

FÓRMULA No.2

Dónde:

%Cbs = Porcentaje de ceniza en base seca

m = masa de la cápsula vacía en gramos

m1 = masa de la cápsula con la muestra antes de la incineración en ramos.

m2 = masa de la cápsula con las cenizas después de la incineración en gramos.

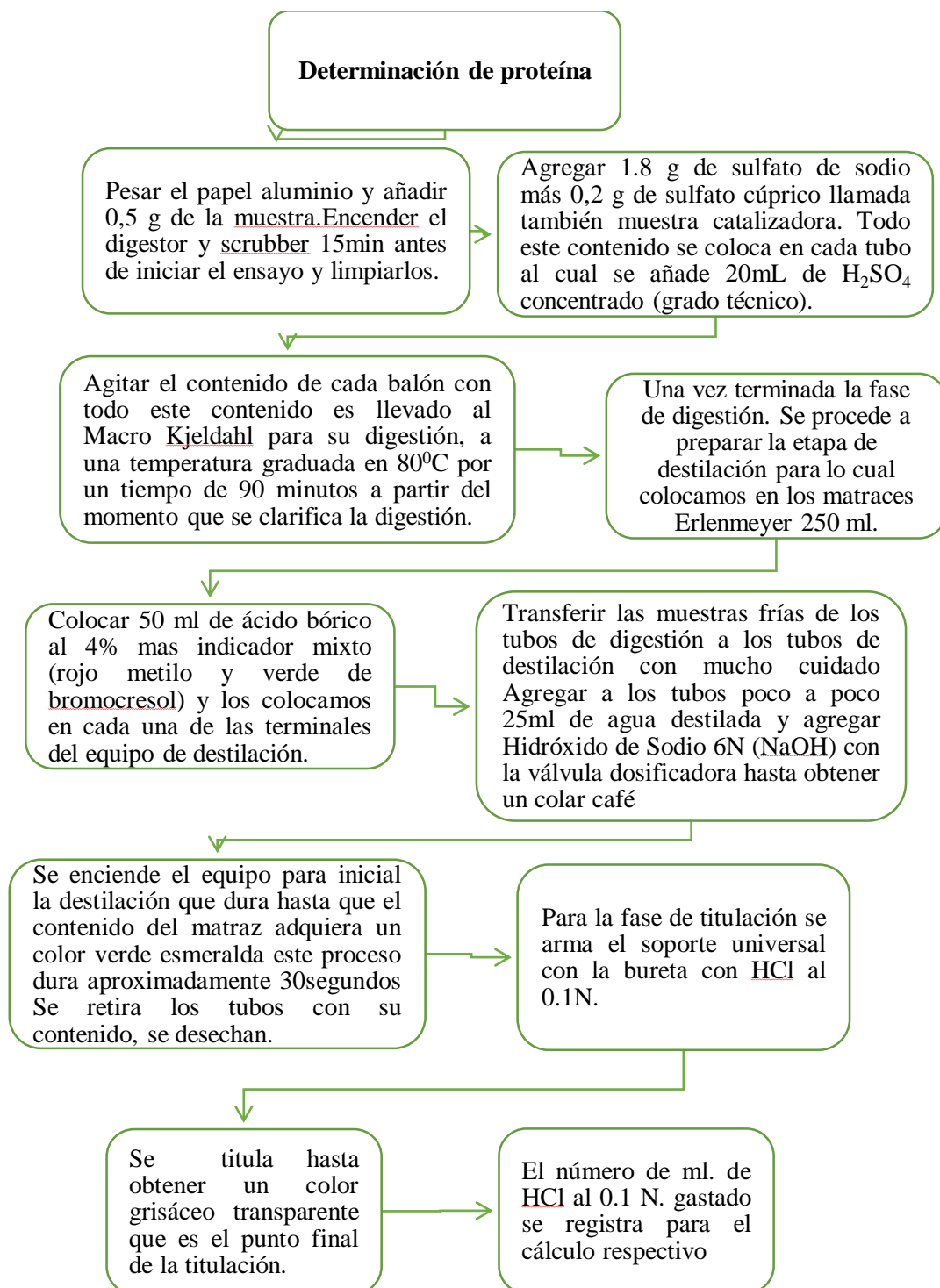
2.3.2.4. DETERMINACIÓN DE PROTEÍNA. MÉTODO MACRO-KJELDHAL

Fundamento

Se somete a un tratamiento oxidativo la muestra con ácido sulfúrico concentrado en presencia de una mezcla catalizadora, los compuestos como grasas y proteínas son destruidas hasta llegar a formar CO₂ y agua, se descomponen las proteínas con la formación de sulfato de amonio, este sulfato en medio ácido es resistente y solamente en medio básico sucede su destrucción con desprendimiento de amoníaco, este amoníaco es

retenido en una solución de ácido bórico al 2.5% y titulado con HCl al 0.1 N. El contenido en proteína de la muestra se calcula teniendo en cuenta el contenido medio en nitrógeno de la muestra en análisis. (Flores C. 2012)

Procedimiento



Porcentaje de Proteína:

$$\%P \text{ cruda en base seca} = \frac{V \times 0.014 \times 100 \times F \times N}{m}$$

FÓRMULA No.3

Donde:

V= ml de HCl gastado durante la titulación

N= Normalidad del HCL

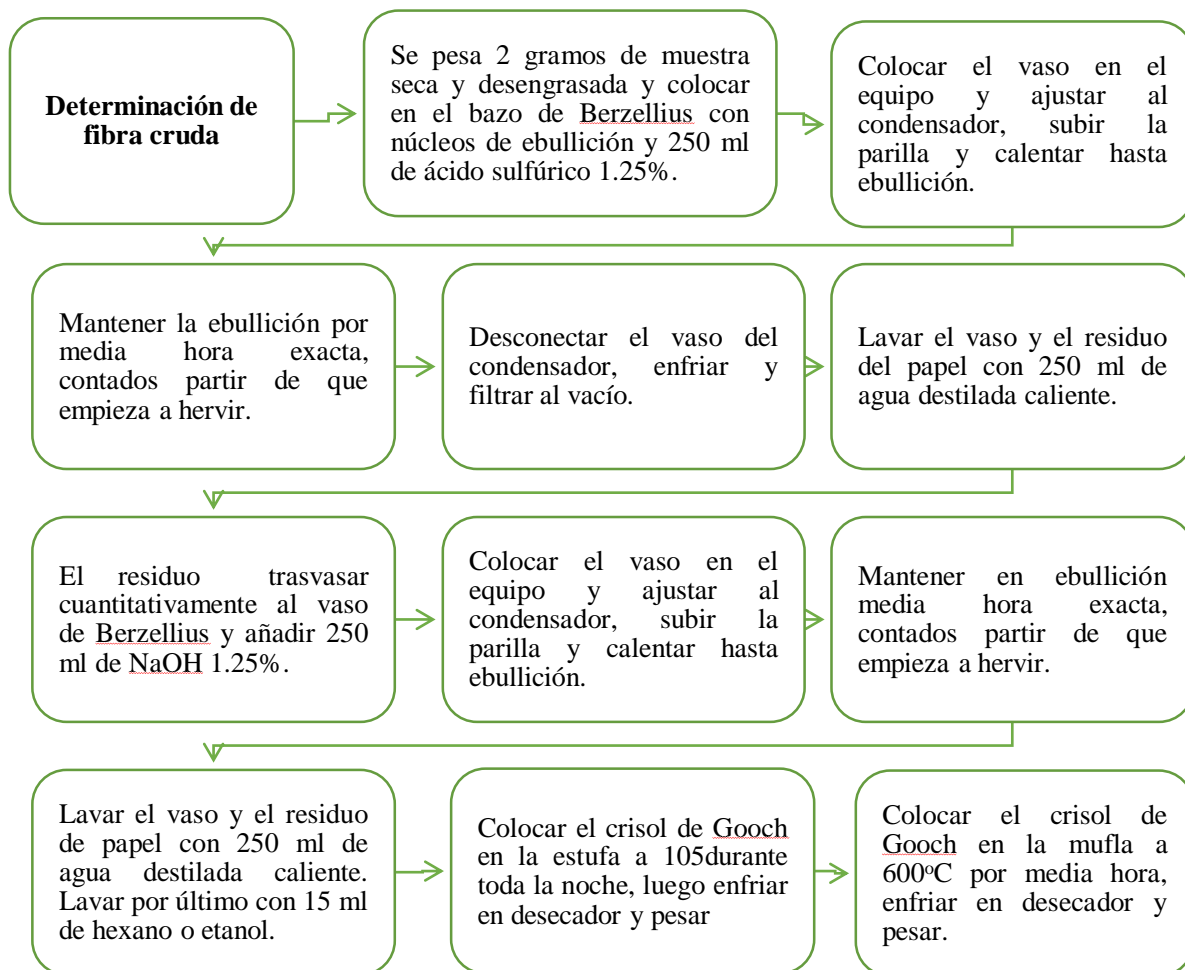
F= Factor de Nitrógeno para convertir a proteínas. 6.25 para verduras y frutas

m= Peso de la muestra

2.3.2.5. DETERMINACIÓN DE FIBRA CRUDA. MÉTODO DE WEENDE

Principio

Fibra cruda es la pérdida de masa que incumbe a la incineración del residuo orgánico que queda en seguida de la digestión con soluciones de ácido sulfúrico e hidróxido de sodio en condiciones específicas.



Cálculos

Porcentaje de Fibra:

$$\%Fibra\ cruda\ base\ seca = \frac{P_1 - P}{m} \times 100$$

FÓRMULA No.4

Dónde:

F = fibra cruda en base seca y desengrasada

P1 = masa del crisol más el residuo desecado en la estufa

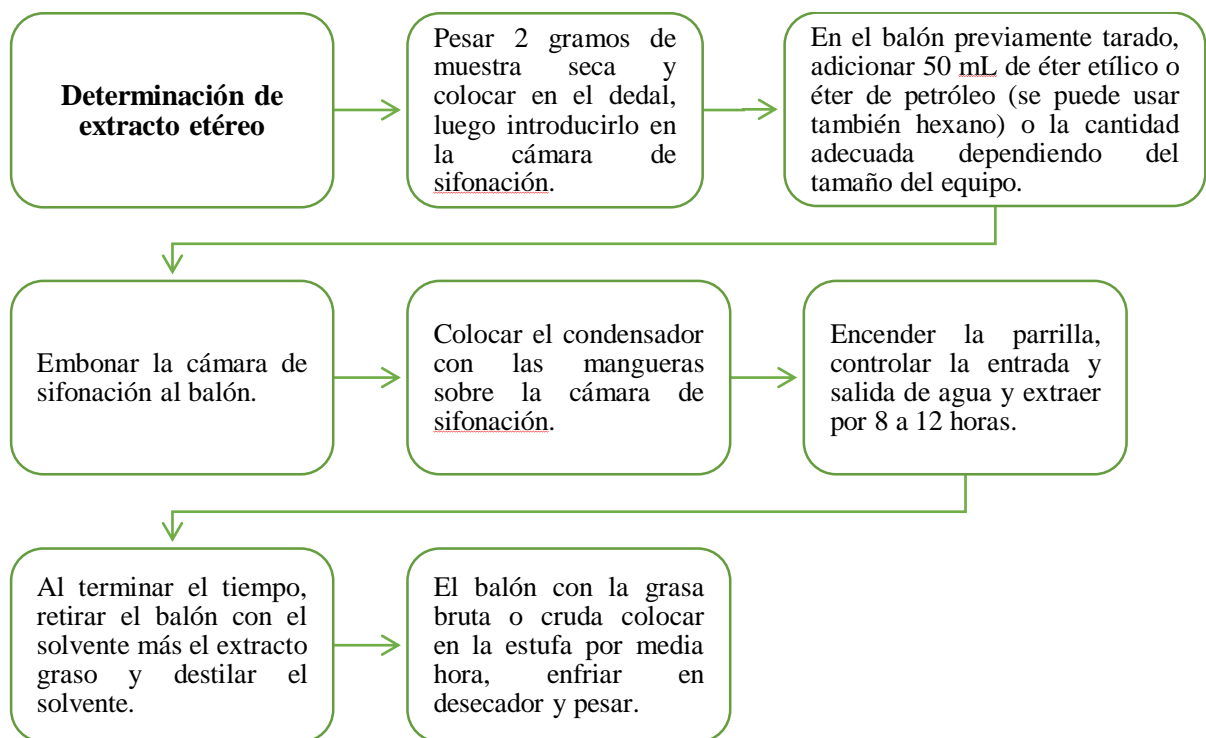
P = masa del crisol más la ceniza de la incineración en mufla en g.

m = masa de la muestra seca y desengrasada tomada para la determinación en g.

2.3.2.6. DETERMINACIÓN DE EXTRACTO ETÉREO. MÉTODO SOXHLET

Fundamento

Se considera grasa al extracto etéreo que se obtiene cuando la muestra es sometida a extracción con éter etílico. El extractor utilizado en el siguiente método es el Soxhlet el cual utiliza un sistema de extracción cíclica de los compuestos solubles en éter que se encuentran en el alimento. Insoluble en agua y soluble en disolventes orgánicos apolares. Proporcionan energía y son la principal reserva energética del organismo. Fuente de ácidos grasos esenciales, transporte de combustible metabólico y disolvente de algunas vitaminas. Influyen en la absorción de las proteínas y en la calidad de la grasa que se deposita en el cuerpo. (Lucero O. 2010)



Cálculos:

$$\%Ex. E BS = \frac{P_1 - P}{m} \times 100$$

FÓRMULA No.5

%Ex. E BS= grasa cruda o bruta en muestra seca expresado en porcentaje en masa.

P1= masa del balón más la grasa cruda o bruta extraída en gramos.

P= masa del balón de extracción vacío en gramos

m= masa de la muestra seca tomada para la determinación en gramos.

Grasa bruta en base húmeda:

$$\% \text{ Grasa fruta en base húmeda} = \% \text{Ex. E BS} \frac{(100 - \text{humedad})}{100}$$

FÓRMULA No.6

2.3.2.7. EXTRACTO LIBRE NO NITROGENADO (ELNN)

$$\% \text{ELnN} = 100 - \sum (\% \text{H} + \% \text{C} + \% \text{F} + \% \text{Ex. E} + \% \text{P})$$

FÓRMULA No.7

Dónde:

%ELnN= porcentaje de carbohidratos digeribles.

%H= porcentaje de humedad

%C porcentaje de cenizas

%F= porcentaje de fibra

%Ex. E= porcentaje de extracto etéreo

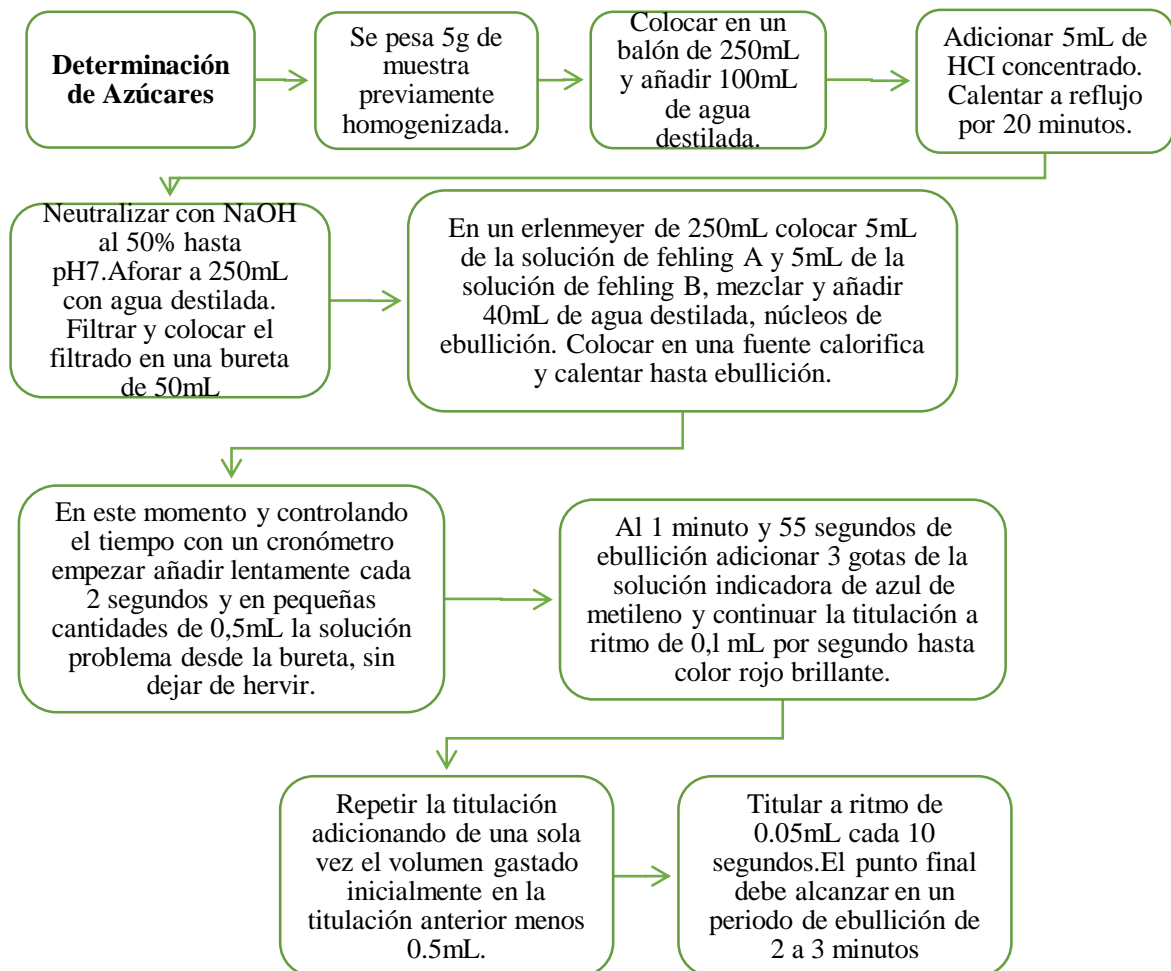
%P= porcentaje de proteína

2.3.2.8. DETERMINACIÓN DE AZÚCARES TOTALES: MÉTODO DE FEHLING

Fundamento

Los azúcares que poseen en su estructura grupo

Se trata de una reacción redox en la que el grupo aldehído (reductor) de los azúcares es oxidado a grupo ácido por el Cu_2^+ que se reduce a Cu^+ . Tanto los monosacáridos como los disacáridos reductores reaccionan con el Cu_2^+ dando un precipitado rojo de óxido cuproso



Cálculos:

$$\%AT = \frac{A \times F}{W - V}$$

FÓRMULA No. 8

Dónde:

%AT = porcentaje de azúcares Totales

A= aforo de la muestra

F= título de Fehling

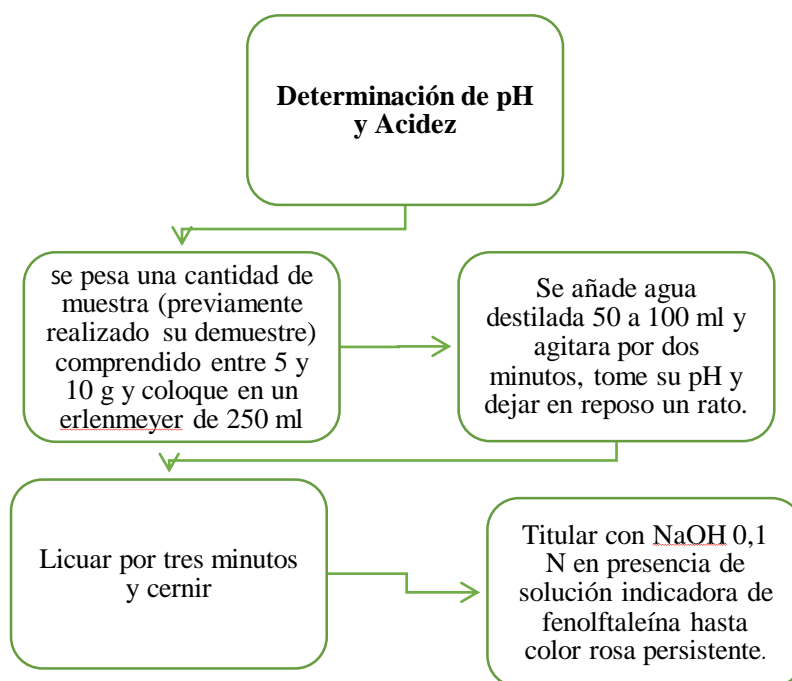
W= peso de la muestra en g

V= volumen de la solución problema gastado en la titulación

2.3.2.8. DETERMINACIÓN DE pH Y ACIDEZ.

Fundamento

Se determina la acidez por titulación con NaOH diluido y se coloca indicador en la muestra por lo que se espera el viraje a color rosado, con lo que se evalúa con el volumen del titulante gastado



Cálculos

$$\%Acidez = \frac{VNaOH \times N NaOH \times meq Acido málico}{W muestra} \times 100$$

FÓRMULA No.9

Donde:

ml NaOH = ml de hidróxido de sodio titulados.

N NaOH = Normalidad de hidróxido de sodio.(0,1N) meq.

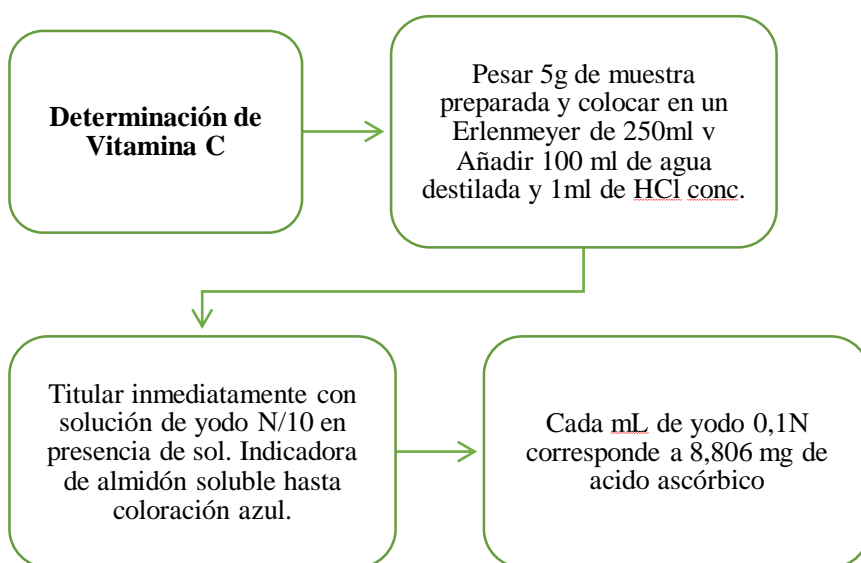
Ac. Málico = mili equivalentes del ácido málico. (0,06704)

W muestra = peso de la muestra utilizados en gramos.

2.3.2.9. DETERMINACIÓN DE VITAMINA C- MÉTODO DEL YODO

Fundamento

El procedimiento de las titulaciones consiste en colocar una de las sustancias en una bureta, y la otra en un matraz aforado, dependiendo de las circunstancias. A la sustancia colocada en el matraz se le añade un reactivo indicador. Las titulaciones o valoraciones acido-base son empleadas para determinar concentraciones de sustancias químicas con precisión y exactitud



CÁLCULOS

$Vitamina\ C = \text{Volumen consumido yodo} \times \text{Normalidad del yodo}$

FÓRMULA No. 10

2.3.3. SECADO Y MOLIENDA DE LAS HOJAS DE FEIJOA (*Acca sellowiana*)

Procedimiento

La muestra fresca se limpió, se lavó con abundante agua destilada para dejarla libre de polvo o vestigios de contaminación y se dejó secar al ambiente.

Secado en bandejas

- Se dejó por 3 días en el deshidratador con ventiladores de aire
- En los secadores a gas con una temperatura de 28 a 32°C se colocó por dos días.
- Se sacó de las bandejas y se pasó al molino.

Molienda

- Se molió y se homogenizó la muestra en el molino.
- Se tamizó la muestra para separar el polvo de la fibra.
- Se guardó la muestra en bolsas de papel bien cerradas para que no ingrese humedad

2.3.4. LIOFILIZACIÓN DE LOS FRUTOS DE LA FEIJOA (*Acca sellowiana*)

Las frutas se lavaron, se despulparon y se congelaron rápidamente a -18°C; evitando la acumulación de cristales de hielo.

Una vez ya congelada la pulpa se colocó en el liofilizador por 48 horas a una temperatura constante 40°C; donde se secó por sublimación de hielo de la pulpa congelada; aquí ocurrió la sublimación, es decir la pulpa de la Feijoa pasó directamente de sólido a gas sin pasar por líquido.

Se guardó en frascos ámbar; se puede almacenar por períodos muy largos con reducciones muy bajas de sus características organolépticas, físicas, químicas y biológicas.

La liofilización se realizó con ayuda de un liofilizador Labconco modelo 1400 (tipo armario), a una temperatura de -40 C y 0,13 mbar de presión. .

2.4. ANÁLISIS FÍSICO-QUÍMICO DE FEIJOA (*Acca sellowiana*) DROGA SECA

Se realiza el control de calidad con la finalidad de evaluar cada uno de los parámetros y determinar si cumplen con los límites establecidos.

2.4.1. DETERMINACIÓN DE HUMEDAD - *Método Gravimétrico*

Promueve la proliferación de microorganismos la humedad, de esta manera altera cada uno de sus componentes, el límite de aceptación de humedad se encuentra en un rango de 8-14%. (MIRANDA, M. 2000).

$$H = \frac{m_2 - m}{m_2 - m} * 100$$

FÓRMULA No.11

H = Pérdida de peso por desecación (%).

m = Peso de la capsula más la muestra (g).

m₁ = Peso de la capsula más la muestra (g).

m₂ = Peso de la capsula más la muestra (g).

100 = factor matemático para los cálculos.

2.2.1. DETERMINACIÓN DE CENIZAS TOTALES - *Método Gravimétrico*

Al incinerar la muestra del vegetal a ser analizado se obtiene un residuo orgánico (cenizas).

Formula

$$\% \text{ cenizas} = (P_3 - P_1 / P_2 - P_1) \times 100$$

FÓRMULA No.12

C = porcentaje de cenizas totales en base hidratada.

P₁ = masa del crisol vacío (g)

P₂ = masa del crisol con la porción de ensayo (g)

P₃ = masa del crisol con la ceniza (g)

100 = factor matemático para los cálculos. (MIRANDA, M., 2006)

2.4.2. DETERMINACIÓN DE CENIZAS SOLUBLES EN AGUA - *Método Gravimétrico*

Las cenizas solubles en agua son la diferencia en peso que existe entre las cenizas totales y el residuo después del tratamiento de las cenizas totales con agua. (MIRANDA, M., 2006).

$$\%CA = \frac{m_2 - ma}{m_1 - m} * 100$$

FÓRMULA No.13

%CA= porcentaje de cenizas solubles en agua en base hidratada.

m₂= masa del crisol con las cenizas totales (g).

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

m₁ = masa del crisol con la muestra de ensayo (g).

m = masa del crisol vacío.

100 = factor matemático.

2.4.3. DETERMINACIÓN DE CENIZAS INSOLUBLES EN ÁCIDO CLORHÍDRICO

- Método Gravimétrico

Las cenizas insolubles en ácido son el residuo el mismo que se obtiene luego de hervir las cenizas totales con ácido clorhídrico diluido y llevar a la combustión el material insoluble sobrante. (MIRANDA, M. 2006).

$$\%Ci = \frac{m_2 - m}{m_1 - m} * 100$$

FÓRMULA No.14

%Ci= porcentaje de cenizas insolubles en ácido clorhídrico en base hidratada.

m₁= masa del crisol con la porción de ensayos (g).

m = masa del crisol vacío (g).

m₂= masa del crisol con las cenizas ácido clorhídrico (g).

100= factor matemático.

2.5. OBTENCIÓN DE LOS EXTRACTOS

Para la elaboración de los extractos se aplicó la metodología adaptada por el INIAP

2.5.1. ELABORACIÓN DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO (METANÓLICO 70%) DE LAS HOJAS DEL ÁRBOL DE FEIJOA (*A. sellowiana*).

1. Se pesó 0,5 g de muestra seca de las hojas del árbol de Feijoa en tubos cónicos de plástico de 10ml.
2. Se añadió 5mL de metanol y se colocó en el agitador de tubos por 2 minutos.
3. Por 5 minutos se los dejó en el ultrasonido.
4. Se centrifugó por 10 minutos y se obtuvo el sobrenadante para los análisis.

5. El paso 2, 3, 4 se repitió por cuatro veces y se obtiene el extracto, este se aforó a 25 ml con metanol al 70%.
6. Se guardó el extracto en un frasco ámbar.

2.5.2. ELABORACIÓN DEL EXTRACTO ACUOSO DE LAS HOJAS DEL ÁRBOL DE FEIJOA (*A. sellowiana*)

1. Se pesó 0,5 g de muestra seca de las hojas del árbol de Feijoa en tubos cónicos de plástico de 10ml.
2. Se añadió 5mL de agua bidestilada y se colocó en el agitador de tubos por 2 minutos.
3. Por 5 minutos se los dejó en el ultrasonido
4. Se centrifugó por 10 minutos y se obtuvo el sobrenadante para los análisis.
5. El paso 2, 3, 4 se repitió por cuatro veces y se obtuvo así el extracto, este se afora a 25 ml con metanol al 70%.
6. Se guardó el extracto en un frasco ámbar.

2.5.3. ELABORACIÓN DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO (METANÓLICO 70%) DE LOS FRUTOS DEL ÁRBOL DE FEIJOA (*A. sellowiana*).

1. Se pesó 0,5 g de muestra liofilizada de los frutos del árbol de Feijoa en tubos cónicos de plástico de 10ml.
2. Se añadió 5mL de metanol y se colocó en el agitador de tubos por 2 minutos
3. Por 5 minutos se los dejó en el ultrasonido
4. Se centrifugó por 10 minutos y se obtuvo el sobrenadante para los análisis.
5. El paso 2, 3, 4 se repitió por cuatro veces consiguiendo así el extracto, este se aforó a 25 ml con metanol al 70%.
6. Se guardó el extracto en un frasco ámbar.

2.5.4. ELABORACIÓN DEL EXTRACTO ACUOSO DE LOS FRUTOS DEL ÁRBOL DE FEIJOA (*A. sellowiana*)

1. Se pesó 0,5 g de muestra liofilizada de los frutos del árbol de Feijoa en tubos cónicos de plástico de 10ml.
2. Se añadió 5mL de agua bidestilada y se colocó en el agitador de tubos por 2 minutos.

3. Por 5 minutos se los dejó en el ultrasonido
4. Se centrifugó por 10 minutos y se obtuvo el sobrenadante para los análisis.
5. El paso 2, 3, 4 se repitió por cuatro veces y así se obtuvo el extracto, este se aforó a 25 ml con metanol al 70%.
6. Se guardó el extracto en un frasco ámbar.

2.6. CONTROL DE CALIDAD DE LOS EXTRACTOS

Para realizar el control de calidad de los extractos de Feijoa (*Acca sellowiana*) que permitió establecer la calidad del extracto obtenido a partir de la droga cruda se utilizaron los siguientes métodos de análisis físico – químicos. Los procedimientos están basados en la metodología de Farmacognosia y productos naturales. (Normas Ramales. de drogas crudas y extractos y tinturas Miranda M (2006).

2.6.1. DETERMINACIÓN DE LOS REQUISITOS ORGANOLÉPTICOS

Para la determinación estos requisitos utilizamos los órganos de los sentidos, a los extractos se procedió a analizar el aspecto, color, olor, sabor.

2.6.2. DETERMINACIÓN DEL pH – Método potenciométrico.

La acidez o la alcalinidad de las soluciones acuosas se determinan por el valor del índice de hidrógeno (pH).

2.6.3. DETERMINACIÓN DEL ÍNDICE DE REFRACCIÓN - Refractometría

Es una constante muy característica de cada una de las sustancias representa la relación existente entre el seno del ángulo de incidencia de la luz y el seno del ángulo de refracción cuando la luz pasa oblicuamente a través del medio.

2.6.4. DETERMINACIÓN DE LA DENSIDAD RELATIVA - Método Gravimétrico

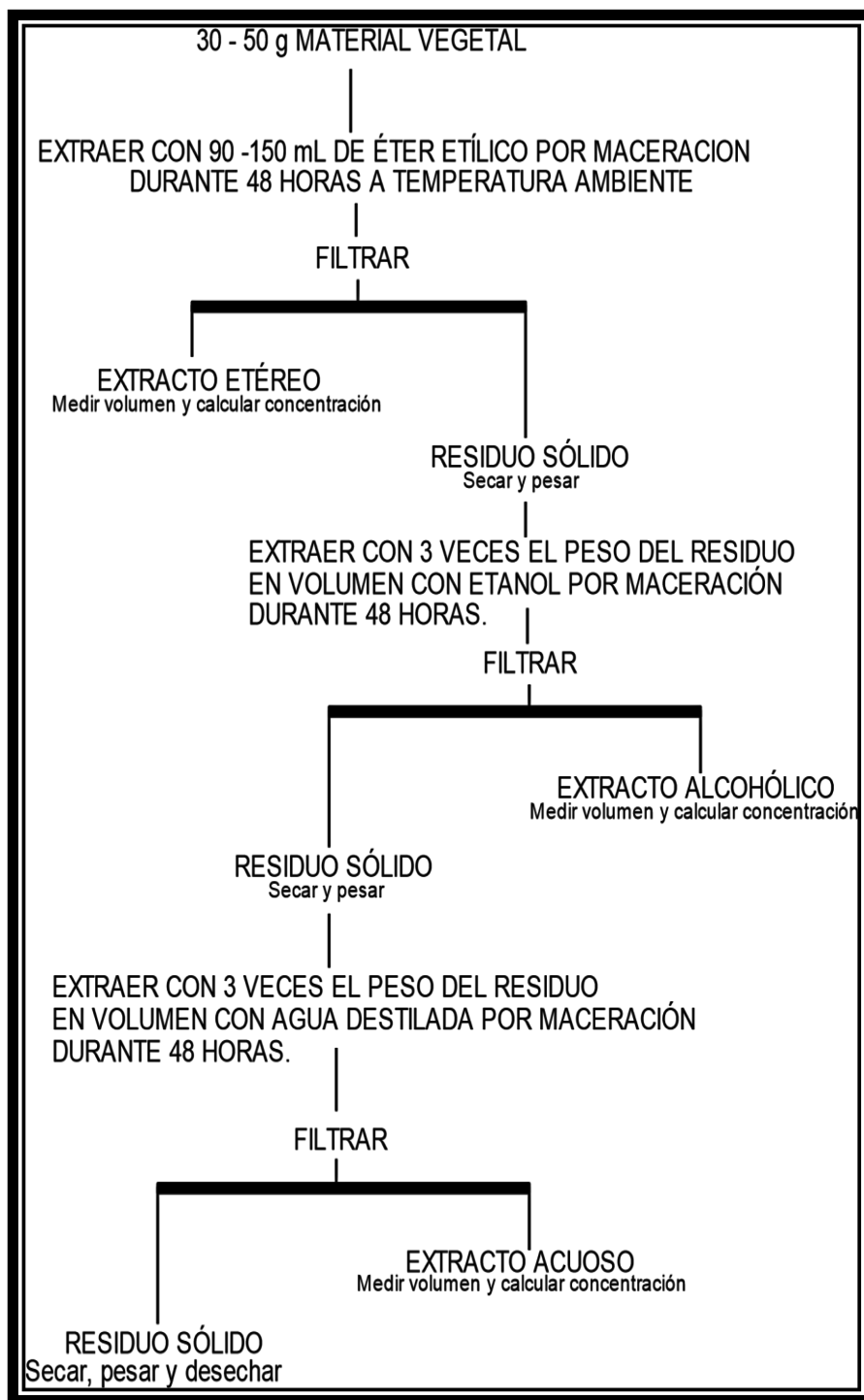
A la densidad relativa se la conoce como la relación que existe entre la masa de un volumen de la sustancia a ensayar a una temperatura de 25°C y a similar temperatura la masa de un volumen igual de agua. Este término equivale a peso específico.

2.6.5. DETERMINACIÓN DE LOS SÓLIDOS TOTALES – *Método Gravimétrico.*

Se entiende por sólidos totales a los residuos de material que quedan en un recipiente después de la evaporación de una muestra y su consecutivo secado en estufa posteriormente de la evaporación de una muestra y su sucesivo secado en estufa a una temperatura definida de 105°C.

2.7. ESTUDIO FITOQUÍMICO (SCREEENING O TAMIZAJE FITOQUÍMICO).

El estudio fitoquímico tiene como finalidad aislar e identificar los diferentes tipos de compuestos que biosintetiza la planta (los que podrá tener o no alguna actividad o toxicidad). Las hojas secas y el fruto liofilizado de la planta de Feijoa son sometidos a extracciones sucesivas y a las siguientes pruebas siguiendo la metodología de Miranda (2006).



FUENTE: MIRANDA, M. 2002

FIGURA No.13. Extracciones sucesivas del material vegetal.

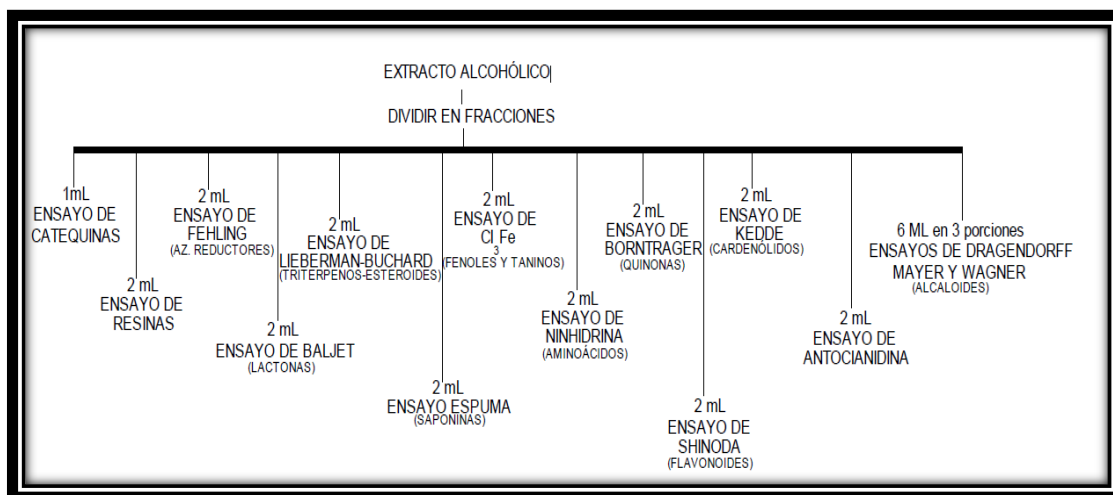
Se aplicaron solo las pruebas destinadas a la determinación de metabolitos presentes en el extracto alcohólico en base a las técnicas descritas en la tabla siguiente:.

Tabla No.8 Técnicas del tamizaje fitoquímico

Ensayo	METABOLITO	PROCEDIMIENTO	RESULTADO
Antocianidinas	Estructuras de secuencia C6-C3-C6 del grupo de los flavonoides.	Se calientan 2 mL del extracto metanólico 10 minutos con 1 mL de HCl concentrado. Se deja enfriar y se adiciona 1 mL de agua y 2 mL de alcohol amílico. Se agita y se deja separar las dos fases.	La aparición de color rojo a marrón en la fase amílica.
Baljet	Lactonas.	Si la alícuota del extracto se encuentra en alcohol, debe evaporarse el solvente en baño de agua y re disolverse en la menor cantidad de alcohol (1 mL). En estas condiciones se adiciona 1 mL de reactivo.	La aparición de una coloración o precipitado rojo (++) y (+++) respectivamente.
Borntrager	Quinonas.	Si la alícuota del extracto no se encuentra en cloroformo, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo re disolverse en 1 mL de cloroformo. Se adiciona 1 mL hidróxido de sodio, hidróxido de potasio o amonio al 5% en agua. Se agita mezclando las fases y se deja en reposo hasta su ulterior separación.	Si la fase acuosa alcalina se colorea de rosado o rojo. Coloración rosada (++) , coloración roja (+++).
Catequinas	Catequinas	Tome una gota de la fracción alcohólica, con la ayuda de un capilar y aplique la solución sobre papel filtro. Sobre la mancha aplique solución de carbonato de sodio.	Verde carmelita a la luz UV.
Cloruro Férrico	Compuestos fenólicos y/o taninos.	Si el extracto es acuoso se añade acetato de sodio para neutralizar y tres gotas de una solución de tricloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica a una alícuota del extracto alcohólico se adiciona el reactivo.	Coloración rojo – vino, verde intenso, azul.
Dragendorff	Alcaloides.	Si la alícuota del extracto está disuelta en un solvente orgánico, éste debe evaporarse, en un baño de agua y el residuo re disolverse en 1 mL de ácido clorhídrico al 1 % en agua.	Si hay opalescencia se considera (+) turbidez definida (++) , precipitado (+++).

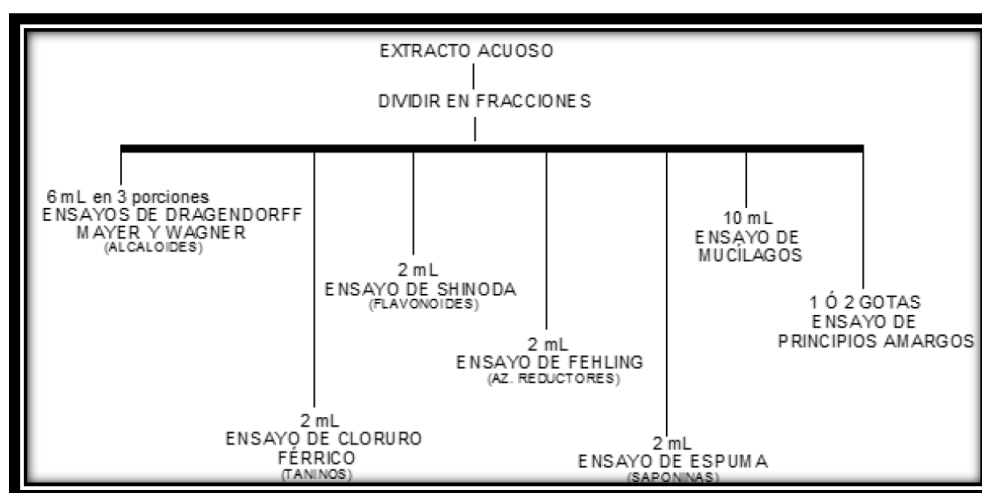
		Si el extracto es acuoso, a la alícuota se le añade 1 gota de ácido clorhídrico concentrado. Con la solución acuosa ácida se realiza el ensayo, añadiendo 3 gotas del reactivo.	
Espuma	Saponinas.	Si la alícuota se encuentra en alcohol, se diluye con 5 veces su volumen en agua y se agita la mezcla fuertemente durante 5–10 min.	Si aparece espuma en la superficie del líquido.
Fehling	Azúcares Reductores.	Si la alícuota del extracto no se encuentra en agua, debe evaporarse el solvente en baño de agua y el residuo se disuelve en 1–2 mL de agua. Se adicionan 2mL del reactivo y se calienta en baño de agua 5–10 min la mezcla.	Solución se colorea de rojo o aparece precipitado rojo.
Liebermann-Burchard	Triterpenos y/o esteroides.	Se adiciona 1mL de anhídrido acético y se mezcla bien. Por la pared del tubo de ensayo se dejan resbalar 2-3 gotas de ácido sulfúrico concentrado sin agitar.	1. Rosado 2. Verde intenso – visible 3. Verde oscuro – negro
Resinas	Resinas.	Adicione a 2mL de la solución alcohólica, 10 mL de agua destilada.	Precipitado.
Shinoda	Flavonoides.	Si la alícuota del extracto se encuentra en alcohol, se diluye con 1 mL de ácido clorhídrico concentrado y un pedacito de cinta de magnesio metálico. Después de la reacción se espera 5 minutos, se añade 1 mL de alcohol amílico, se mezclan las fases y se deja reposar hasta que se separen.	Cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, carmelita o rojo; intenso en todos los casos.
Wagner y Mayer		Se parte de igual manera en los casos anteriores de la solución ácida, añadiendo 2 ó 3 gotas del reactivo.	

Posteriormente en cada extracto por separado se procede según los siguientes esquemas:



FUENTE: MIRANDA, M. 2002

FIGURA No. 10. Esquema de las reacciones a realizar en el extracto alcohólico.



FUENTE: MIRANDA, M. 2002

FIGURA No. 11. Esquema de las reacciones a realizar en el extracto alcohólico.

2.8. DETERMINACIÓN DE VITAMINA C DE LAS HOJAS Y FRUTOS DEL ÁRBOL DE FEIJOA (*Acca sellowiana*) MEDIANTE EL MÉTODO REFLECTOMETRICO DE LA MERCK.

2.8.1. FUNDAMENTO

El ácido ascórbico reduce el ácido molibdofosfórico amarillo a azul de fosfomolibdeno, cuya concentración se determina por reflectometría, que es una técnica basada en la interacción entre la luz y la materia, la luz es una forma de energía que se expresa en parámetros de onda, por la óptica geométrica se detectó la reflexión.

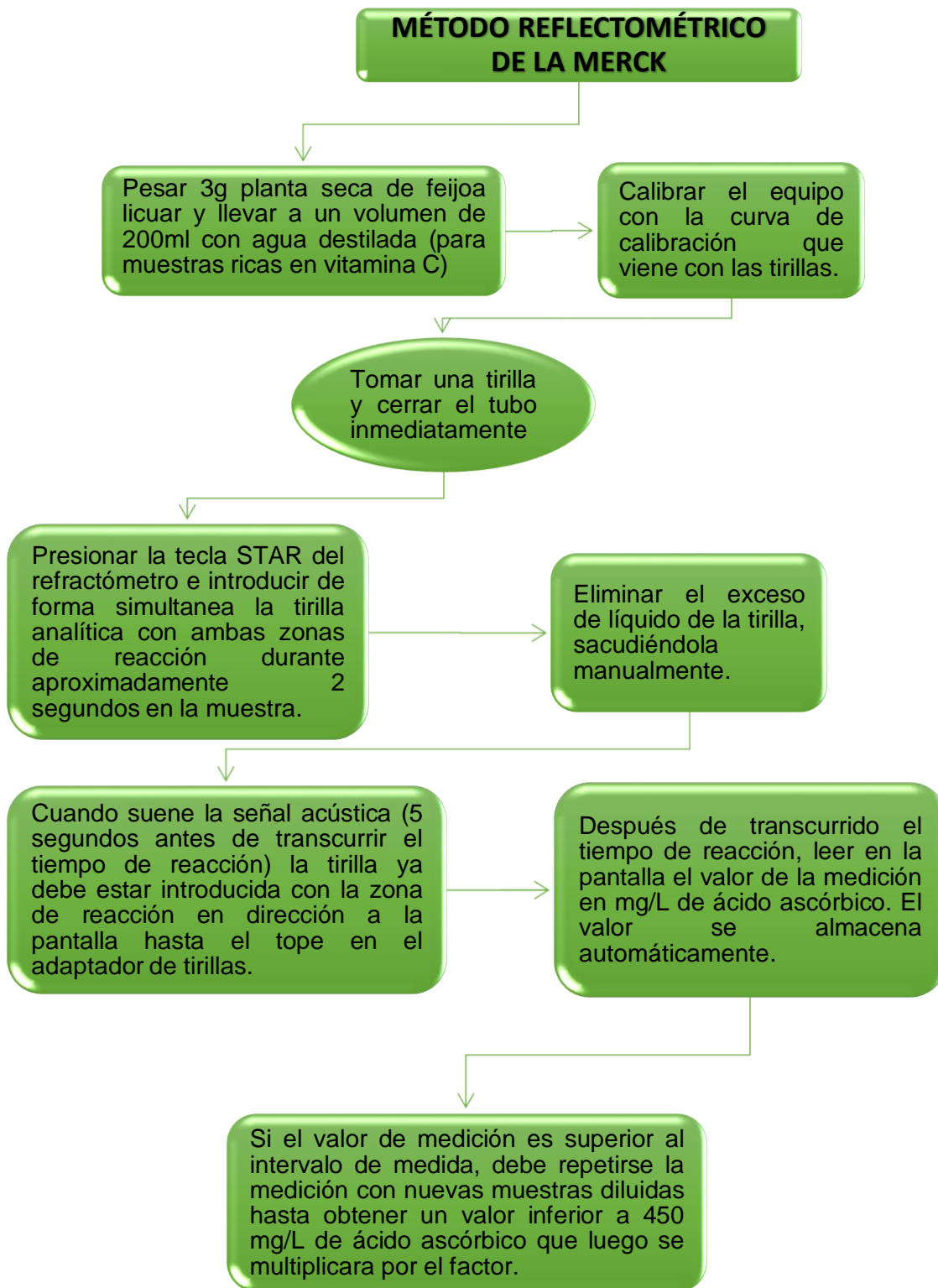


FIGURA No. 12 Diagrama de flujo de la determinación de vitamina C de hojas y frutos del árbol de feijoa (*Acca sellowiana*) mediante el método reflectométrico de la merck

2.9. DETERMINACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES DE LAS HOJAS Y FRUTOS DEL ÁRBOL DE FEIJOA (*Acca sellowiana*) MEDIANTE EL MÉTODO DE FOLIN-CIICALTEAU

2.9.1. FUNDAMENTO

Los compuestos fenólicos son oxidados por el reactivo de Folin-Ciocalteu. Este reactivo contiene una mezcla de ácido fosfotúngstico ($H_3PW_{12}O_{40}$) y el ácido fosfomolibdico ($H_3PMo_{12}O_{40}$), que se reduce por oxidación de los fenoles, originando óxidos de tungsteno (W_8O_{23}) y de molibdeno (Mo_8O_{23}), de color azul. La coloración azul producida es proporcional a la concentración de compuestos fenólicos presentes, y posee una absorción máxima a 765 nm. (Palomino L. et al. 2009).

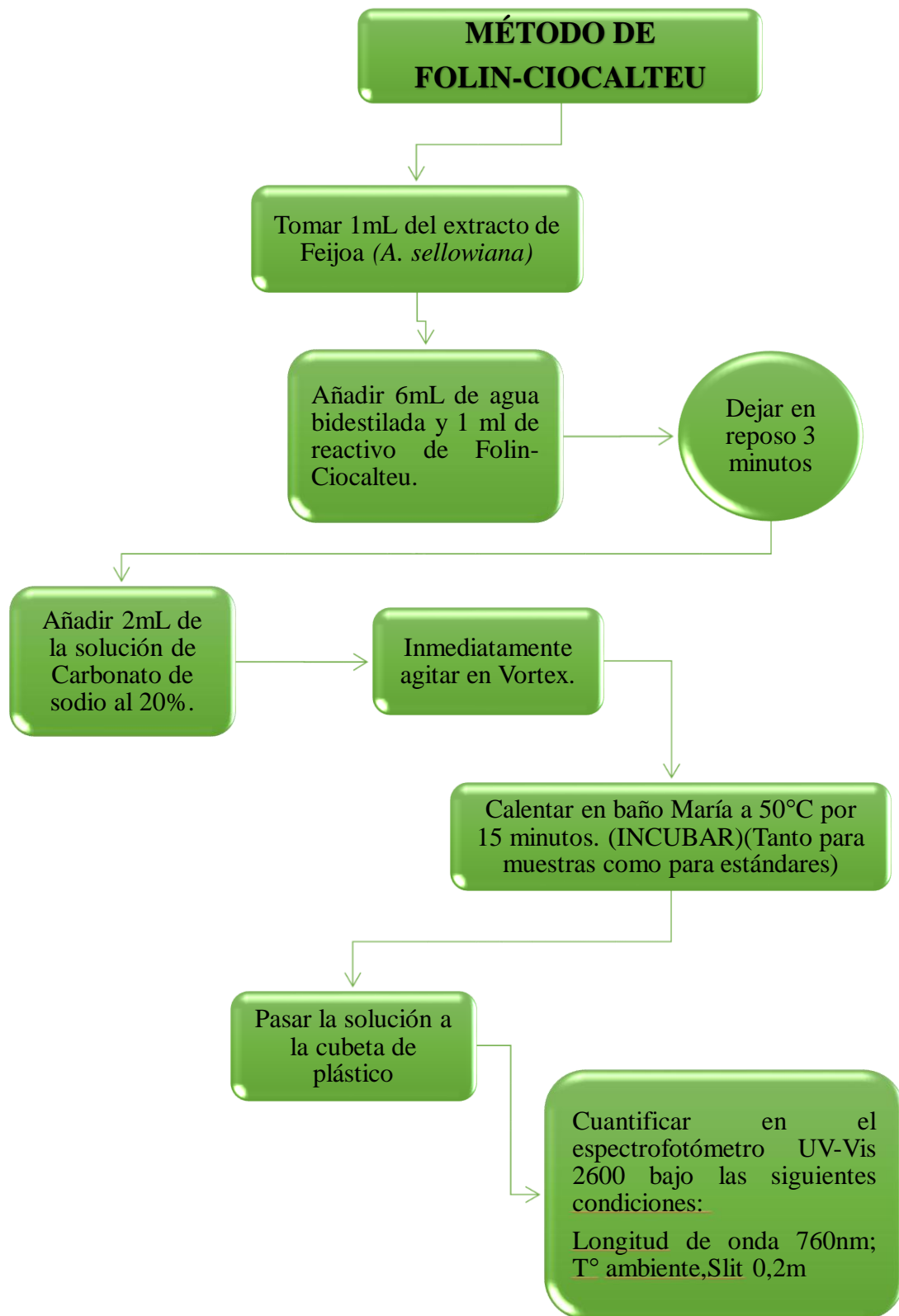


Figura No. 13 Diagrama de flujo de la determinación de compuestos fenólicos de hojas y frutos del árbol de feijoa (*Acca sellowiana*) mediante el método de Folin ciocalteau.

2.9.2. CURVA DE CALIBRACIÓN

Se elaboró una curva de calibración para determinar la concentración de los compuestos fenólicos totales para lo cual se utilizó el ácido gálico como estándar de referencia; se preparó soluciones en concentraciones de 5, 10, 40, 80, 100, 140 y 200 ppm.

Se estableció la ecuación de la recta para la curva de calibración en base al estándar de ácido gálico preparado a diferentes concentraciones y se midió a una longitud de onda de 765nm.

2.10. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LAS HOJAS Y FRUTOS DEL ÁRBOL DE FEIJOA (*Acca sellowiana*) MEDIANTE EL MÉTODO (2,2'azinobis -(3-etilbenzotiazolin 6 ácido sulfónico) (ABTS).

El método ABTS que se basa en la decoloración del catión radical $ABTS^{\bullet+}$. Al inicio el radical ABTS es de color azul oscuro a la adición de un agente antioxidante determina su decoloración.

2.10.1. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN MADRE

Se preparó una solución madre de ABTS (7mM), para ello se pesó exactamente 0,09601g de ABTS 2,2'azinobis -(3-etilbenzotiazolin 6 ácido sulfónico) y se disolvió en 25 mL de agua bidestilada.

2.10.2. PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE PERSULFATO DE POTASIO (K₂S₂O₈)

Se preparó una solución de Persulfato de Potasio K₂S₂O₈ (2,45mM), para ello se pesó 0,0165g de K₂S₂O₈ y se disolvió en 25 mL de agua bidestilada.

2.10.3. PREPARACIÓN DEL RADICAL ABTS^{•+}

En un frasco ámbar, se colocó 3mL de la solución madre ABTS (7mM) y 3 mL de la solución de Persulfato de Potasio K₂S₂O₈ (2,45mM), se homogenizó y se cubrió con papel

aluminio. La solución se incubó de 12 a 16 horas a temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) antes de su utilización.

La solución tiene un periodo de uso de 2 días en refrigeración.

Una vez formado el radical $\text{ABTS}^{\bullet+}$ se diluyó con etanol hasta obtener un valor de absorbancia comprendido entre 0,70 ($\pm 0,1$) a 754 nm (longitud de onda de máxima absorción)

2.10.4. CURVA DE CALIBRACIÓN

Se preparó una curva de calibración con Trolox, inicialmente se partió de una solución de Trolox a 200mM, para lo cual se pesó 0,050g de reactivo de Trolox y se aforó a 100mL con etanol al 96%. De esta solución se tomó alícuotas de 2,5; 3,75; 5; 6,25; 7,5; 8,75 y se aforó a 25 mL con una concentración para la curva de calibración de 200, 300, 400, 500, 600 y 700 mM respectivamente.

Los resultados se expresan en mM Trolox / g muestra

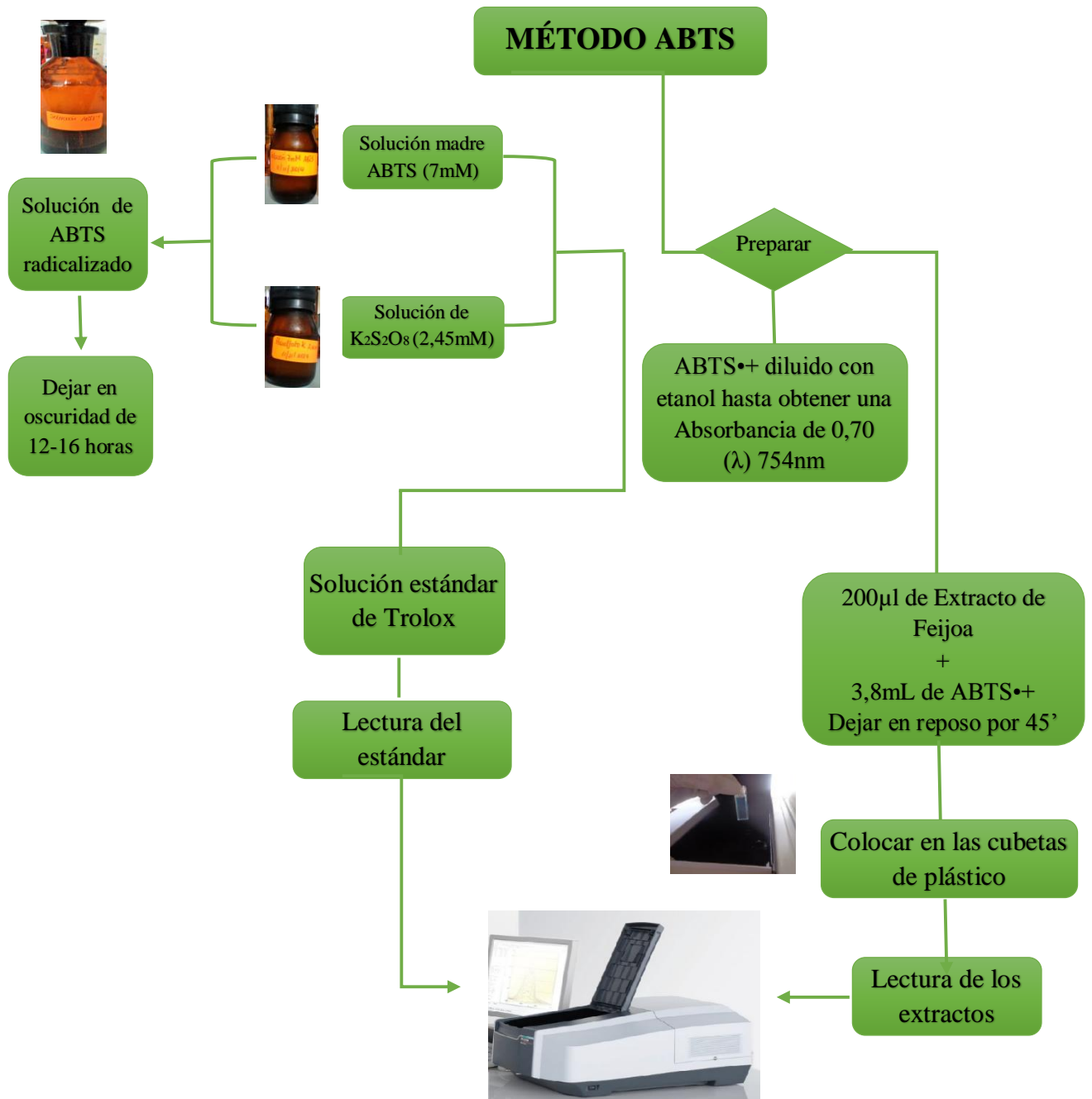


Figura No. 14 Diagrama de flujo de la determinación de actividad antioxidante de hojas y frutos del árbol de feijoa (*Acca sellowiana*) mediante el método de ABTS

CAPITULO III

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este capítulo se exponen en tablas los datos experimentales, con una media de los valores obtenidos de cada uno de las determinaciones analizadas.

3.1. CARACTERIZACIÓN LA FEIJOA (*A. sellowiana*)

3.1.1. EVALUACION SENSORIAL

Cuadro No. 1 Resultados de la evaluación sensorial de las hojas y frutos de la Feijoa (*Acca sellowiana*). Laboratorio de Nutrición Animal y Bromatología. Facultad de Ciencias Pecuarias. ESPOCH, Septiembre 2014

PARÁMETROS	HOJAS DE FEIJOA	FRUTOS DE FEIJOA
COLOR	Verde	Verde
OLOR	Herbario	Fragante
SABOR	Herbario	Acido-dulce
TEXTURA	Normal	Blanda

En el CUADRO No.1 se observa la evaluación sensorial de las hojas y frutos de la Feijoa análisis primordial que se realizó para conocer la idoneidad en la recolección de la materia prima para realizar posteriormente el análisis bromatológico y el análisis fitoquímico.

Se saboreó un sabor ácido en los frutos y esto dependió de la etapa de maduración del fruto, en esta investigación se trabajó con frutos semi-maduros. El fruto posee un color verde, el mismo que no varía en la maduración. Según estudios realizados por (Amarante et al., 2008), al aumentar la temperatura se promueve la maduración y por ende la degradación de la clorofila en feijoa la cual no cambia de color debido a la genética de la fruta, variando solamente la tonalidad del verde.

Hardy y Michael (1970) reportan que las características aromáticas se deben a la presencia de benzoatos de etilo y metilo que representan el 90% de las sustancias volátiles, responsables de la característica presentes en la fruta.

Después de ser cosechadas, las feijoas maduran desde adentro hacia afuera; la fruta demasiado madura presenta pérdida de sabor (disminución de la concentración de sólidos solubles y acidez) y oscurecimiento de la pulpa y de las semillas (Thorp y Klein, 1987).

3.2. ANÁLISIS BROMATOLÓGICO

Cuadro No. 2 Resultados del análisis bromatológico de las hojas y frutos de la Feijoa (*Acca sellowiana*) por 100 g de muestra. Laboratorio de Nutrición Animal y Bromatología. Facultad de Ciencias Pecuarias. ESPOCH, Septiembre 2014

PARÁMETRO	FRUTOS	Referencia bibliográfica	HOJAS
Humedad	86,66 ± 0,24	84,94	54,31 ± 0,09
Ceniza	0,64 ± 0,07	0,56	5,34 ± 0,03
Proteína	0,82 ± 0,12	0,98	6,60 ± 0,29
Fibra	5,55 ± 0,15	6,4	14,60 ± 0,11
Grasa	0,38 ± 0,09	0,60	0,68 ± 0,08
ELnN	6,09 ± 0,16	6,52	18,47 ± 0,14
Azúcares	6,86 ± 0,15	8,20	3,98 ± 0,07
pH	2,9 ± 0,12	3,0-3,5	5,68 ± 0,12
Acidez	2,7 ± 0,08	1,6-2	----
°Brix	8 ± 0,2	10-12	----

± Desviación estándar para dos repeticiones.

(Fuente: USDA Base de Datos Nacional de Nutrientes)

En el CUADRO No.2 se plasman los resultados del análisis bromatológico de las hojas frescas y la pulpa de los frutos de Feijoa valores reportados en 100 gramos de muestra, los valores analizados del fruto concuerdan con los datos bibliográficos USDA más al realizar el análisis estadístico aplicando el test t Student para una cola, se reporta que existe diferencia altamente significativa a un nivel de confianza del $\alpha=0,05$ entre los valores de humedad, fibra, azúcares, acidez y grados Brix de la muestra comparados con la fuente bibliográfica, debiéndose esto a varios factores entre los más importantes el estado de

madurez, el fruto en este análisis se encontraba en estado semi-maduro, también influye las condiciones ambientales en las que se desarrolló el fruto. Se reporta además con la ayuda del test t que no existe diferencia significativa en los contenidos de ceniza, proteína, grasa, ElnN y pH.

Los frutos de Feijoa presentan una cantidad considerable de fibra, lo que hace que sea un buen laxante; el contenido de fibra ayuda a proteger la mucosa del colon, disminuyendo el tiempo de exposición a las toxinas, así como la unión a los productos químicos que causan cáncer en el colon.

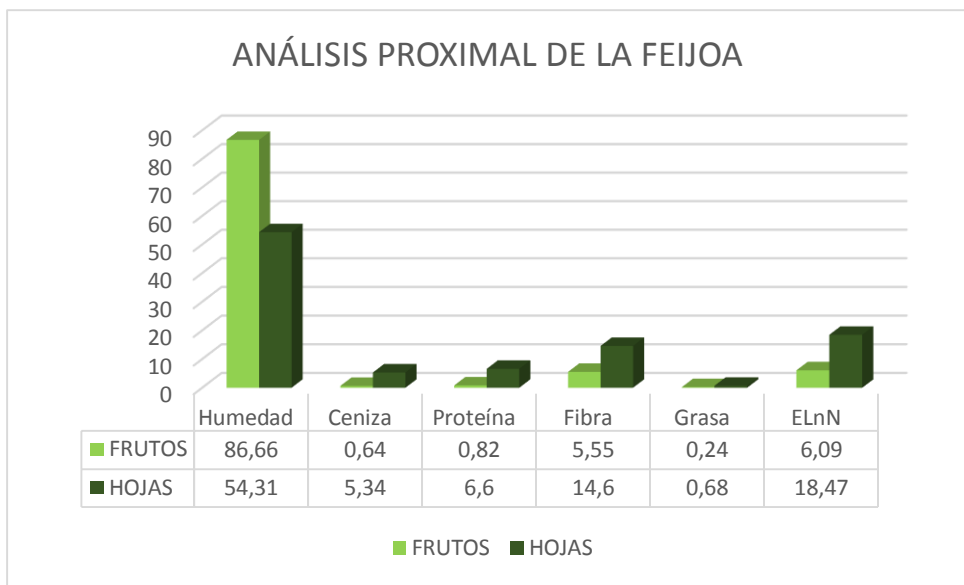
El contenido de acidez reportado en esta investigación es superior al valor referido por la fuente bibliográfica, uno de los factores influyentes para esta diferencia es el estado del fruto, y el predominio de diferentes ácidos según Herrera y Quicazán (2000), los principales ácidos presentes en la pulpa del fruto de Feijoa son el ácido cítrico (9,84 g/100 g), el ácido málico (1,72 g/100 g) y el ácido succínico (0,49 g/100 g)

La fruta tuvo una acidez mayor ($2,7 \pm 0,08$) y un pH menor ($2,9 \pm 0,02$) que los reportados en bibliografía, este valor puede variar ya sea por las condiciones agroecológicas que se desarrolló el fruto, el estado de maduración y por las condiciones de almacenamiento del mismo.

En los Sólidos solubles se obtuvo un valor menor al reportado en bibliografía, Murray et al. (2005) afirman que la mejora en la concentración de sólidos solubles se puede atribuir a una mayor fotosíntesis en hojas adyacentes y, por ende, una mayor disponibilidad de carbohidratos para los frutos en desarrollo, explicando las mayores concentraciones de los sólidos solubles en las partes exteriores y superiores de la copa de Feijoa.

Estos comportamientos diferentes, posiblemente, estén influenciados por: la edad de la planta, por las condiciones climáticas, por el tiempo de recolección, por el cuidado que se le haya dado a la planta, por el almacenamiento, por el tipo de cultivo plagas a las que pudieron estar expuestos.

No existe referencia bibliográfica sobre análisis proximal de las hojas de Feijoa.



**Gráfico No. 1 Análisis proximal de las hojas y frutos Feijoa (*Acca sellowiana*)
Laboratorio de Nutrición Animal y Bromatología. Facultad de Ciencias Pecuarias.
ESPOCH, Septiembre 2014**

En el GRÁFICO No.1 se puede observar los valores obtenidos tras el análisis proximal realizado en las hojas y frutos de Feijoa, las hojas poseen mayor cantidad de nutrientes al que los frutos, esto se debe fundamentalmente a una de las principales funciones que realiza la hoja la transpiración que es la pérdida de agua de la planta en forma de vapor. La transpiración ocurre en todas las partes expuestas de la planta, pero es mayor en las hojas, que están normalmente más expuestas al aire. El calor del sol evapora el agua de la superficie de las células. La transpiración facilita las funciones del vegetal al desplazar hacia arriba el agua por el tallo y concentrar en las hojas las soluciones diluidas de minerales absorbidos por las raíces, razón por la cual existe menos cantidad de agua en las hojas que en fruto, concentrando así mayor cantidad de nutrientes.

3.3. CONTROL DE CALIDAD DE LA DROGA VEGETAL

Cuadro No. 3 Determinación de los parámetros de calidad de la droga seca y molida de las hojas del árbol de Feijoa (*A. sellowiana*). Laboratorio de Productos Naturales. Facultad de Ciencias. ESPOCH, Septiembre 2014

% HUMEDAD RESIDUAL	% CENIZAS TOTALES	% CENIZAS SOLUBLES EN AGUA	% CENIZAS INSOLUBLES EN ÁCIDO
6,88± 0,10	4,67± 0,26	2,46 ± 0,08	1.30± 0,13
≤ 14%	≤ 12%	≤ 7%	≤ 5%
* FARMACOPEA ESPAÑOLA 2002.			

± Desviación estándar para tres repeticiones.

En el cuadro No.3.se puede apreciar que los valores reportados después del análisis respectivo se encuentran dentro de los parámetros de calidad correspondientes.

Las cenizas son un indicativo del contenido de sales minerales presentes en la muestra, el contenido de cenizas totales es importante e indica, en cierta medida, el cuidado que se ha tenido en la preparación de la droga. El contenido de cenizas insolubles en ácido fue 1,30% el mismo que indica su bajo contenido en sílice y que la especie vegetal no está contaminada con productos térreos; este valor se encuentra en los límites establecidos.

3.2. DETERMINACIÓN DE LAS PROPIEDADES ORGANOLÉPTICAS DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO Y ACUOSO DE LAS HOJAS Y FRUTOS DEL ÁRBOL DE FEJJOA (*Acca sellowiana*)

Cuadro No. 4 Descripción organoléptica del extracto alcohólico y acuoso de las hojas del árbol de Feijoa (*Acca sellowiana*). Laboratorio de Productos Naturales. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Septiembre 2014.

PARÁMETROS	EXTRACTO ALCOHÓLICO HOJAS	EXTRACTO ACUOSO HOJAS
COLOR	Verde claro intenso	Verde claro
OLOR	Herbal característico de la planta, a alcohol	Herbario
SABOR	Amargo	Ligeramente amargo
ASPECTO	Ligeramente turbio	Turbio

Cuadro No. 5 Descripción organoléptica del extracto alcohólico y acuoso de los frutos del árbol de Feijoa (*Acca sellowiana*). Laboratorio de Productos Naturales. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Septiembre 2014.

PARÁMETROS	EXTRACTO ALCOHÓLICO (METANÓLICO) FRUTOS	EXTRACTO ACUOSO FRUTOS
COLOR	Transparente	Blanco
OLOR	Alcohol	Característico de la fruta
SABOR	Amargo	Ligeramente dulce
ASPECTO	Transparente	Turbio

Los parámetros van acorde con las características de la planta. El color verdoso se debe a que el extracto procede de la parte aérea (hojas) del vegetal, específicamente a la clorofila. Presentó un aspecto transparente sin presencia de ninguna partícula visible. Se percibió un olor alcohólico debido al metanol utilizado como solvente. El sabor del extracto es amargo y ligeramente astringente, debido al alcohol.

3.3. DETERMINACIÓN DE LOS PARAMETROS FÍSICO QUÍMICOS DE LOS EXTRACTOS ALCOHÓLICO y ACUOSOS DE LAS HOJAS DEL ÁRBOL DE FEJJOA

Cuadro No. 6 Determinación de los parámetros de calidad del extracto alcohólico y acuoso de las hojas y frutos de la Feijoa (*Acca sellowiana*). Laboratorio de Análisis Instrumental. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Septiembre 2014.

Determinaciones	HOJAS		FRUTOS	
	Extracto Alcohólico	Extracto acuoso	Extracto Alcohólico	Extracto acuoso
pH	6,11±0,02	5,99±0,00	4,50±0,05	3,27±0,10
Índice de Refracción	1,365±0,002	1,335±0,013	1,358±0,007	1,319±0,031
Densidad Relativa (g/mL))	0,984 ±0,003	1,037±0,008	0,896±0,007	0,992±0,002
Sólidos Totales	14,347±0,053	12,295±0,032	9,195±0,042	7,018±0,026

± Desviación estándar para tres repeticiones.

CARVAJAL, M 2014

Los valores de pH reportados en el CUADRO No.6 son ácidos, esto se debe a los propios requerimientos de la planta ya que prefieren suelos ligeramente ácido con un pH de 6,0-6,5; el pH elevado, condiciones alcalinas puede causar retraso en el crecimiento y amarillamiento de las hojas.(Feijoa - Tharfield Nursery)

Se presentan las determinaciones de control de calidad del extracto alcohólico y acuoso de los frutos de Feijoa; el valor promedio de pH del extracto alcohólico de los frutos resultó 5,43 y para el extracto acuoso 4,16, pH ácido el mismo que puede variar según la variedad, las condiciones agroecológicas en las que se desarrolle el fruto y las condiciones de almacenamiento.

El extracto alcohólico (metanólico) de las hojas y los frutos presentó un valor de índice de refracción de 1,365 y 1,358 en comparación con el Índice de refracción del metanol 1,329 nos indica que existen componentes solubles en el metanol.

Al utilizar metanol como solvente la densidad relativa del extracto resultó para las hojas 0,984 y para los frutos 0,896 g/mL; al compararlo con la densidad relativa del metanol que es de 0,791 g/mL demuestra la presencia de compuestos extraídos con este solvente.

El extracto acuoso del fruto presento un valor promedio de densidad relativa de 0,992 mg/mL al compararlo con la densidad del agua que es de 1 g/mL se muestra que en el caso de las hojas es ligeramente mayor sucediendo lo contrario en el extracto de los frutos.

Los sólidos totales muestran la presencia de sales y residuos orgánicos en los extractos, los valores nos indican la gran cantidad de metabolitos secundarios extraídos por cada solvente.

3.4. TAMIZAJE FITOQUÍMICO

El estudio fitoquímico se desarrolló con objetivo de identificar cualitativamente la presencia de los principales metabolitos secundarios presentes en *A. sellowiana*.

Cuadro No. 7 Tamizaje fitoquímico del extracto alcohólico del árbol de Feijoa (*A. sellowiana*). Laboratorio de Productos Naturales. Facultad de Ciencias. ESPOCH. Octubre 2014.

Ensayo	Metabolito	HOJAS	FRUTO
Catequinas	Catequinas	-	-
Resinas	Resinas	-	-
Fehling	Azucares reductores	+++	+++
Baljet	Lactonas y cumarinas	+	-
Lieberman-Buchard	Triterpenos y/o esteroides	++	+
Espuma	Saponinas	-	-
FeCl ₃	Fenoles y Taninos	+++ (verde intenso)	++
Borntrager	Quinonas	+++	++
Shinoda	Flavonoides	+++ (amarillo)	+
Antocianidinas	Flavonoides	+++ (rojo)	-
Dragendorff	Alcaloides	+	-
Mayer	Alcaloides	-	-
Wagner	Alcaloides	-	-

INTERPRETACIÓN: (-) AUSENCIA DEL METABOLITO; (+) BAJA EVIDENCIA; (++) EVIDENCIA ;(+++) ALTA EVIDENCIA

Cuadro No. 8 Tamizaje fitoquímico del extracto acuoso del árbol de Feijoa (*A. sellowiana*). Laboratorio de Productos Naturales. Facultad de ciencias. ESPOCH. Octubre 2014.

Ensayo	Metabolito	HOJAS	FRUTO
Dragendorff	Alcaloides	-	-
Mayer	Alcaloides	-	-
Wagner	Alcaloides	-	-
Cloruro férrico (FeCl ₃)	Tanino	+	+
Shinoda	Flavonoides	++	+
Fehling	Azucares reductores	++	++
Espuma	Saponinas	-	-
Mucilagos	Mucilagos	+	+++
Principios amargos		-	-

INTERPRETACIÓN: (-) AUSENCIA DEL METABOLITO; (+) BAJA EVIDENCIA; (++) EVIDENCIA ;(+++) ALTA EVIDENCIA

Se puede observar en el CUADRO No. 8 que al realizar el Tamizaje Fitoquímico de los extractos acuoso de las diferentes partes del árbol de Feijoa nos dio resultados positivos en los ensayos de Shinoda, Fehling y mucilagos lo que indica que la Feijoa es rica en metabolitos secundarios y pueden ser de alto beneficio para la salud.

En el CUADRO No.7 Se plasma los resultados de la determinación fitoquímica de los extractos alcohólicos tanto de las hojas como del fruto de se evidenció la alta cantidad de Fenoles, taninos, quinonas y flavonoides, estos metabolitos encontrados concuerdan con los investigados por (Monforte, M. et al. 2014) ya que llevaron a cabo ensayos para terpenos, mucílago, taninos y flavonoides y fueron positivos

Dado que los compuestos fenólicos y flavonoides son de naturaleza polar, se utilizó metanol para extraerlos.

La no presencia de alcaloides en todas las muestras se puede atribuir a que al ser un árbol que se da en zonas bajas urbanas no necesitan protección frente a predadores herbívoros, microorganismos, etc. La cantidad de metabolitos secundarios que existan en una planta pueden ser afectados por diversos factores, que pueden ser tanto extrínsecos como intrínsecos. Los factores extrínsecos son el clima y la temperatura, la humedad, o las condiciones del suelo; y los factores intrínsecos son de tipo genético (mutaciones, otras alteraciones), interacción con las enzimas para sufrir transformaciones, o variaciones diurnas, ontogénicas o estacionales. (Dueñas J 2014)

3.5. DETERMINACIÓN DE VITAMINA C – ÁCIDO ASCORBICO

Cuadro No. 9 Determinación de Vitamina C de las hojas y frutos de la Feijoa (*A. sellowiana*). Laboratorio de Servicios de Análisis e Investigación en Alimentos (LSAIA). Departamento de Nutrición y Calidad. Estación Experimental Santa Catalina. INIAP. Cutuglahua. Octubre 2014

	mg/100g
HOJAS	795,25±0.45
FRUTOS	159,25±0.84

± Desviación estándar para cuatro repeticiones. Valor p 0,05
CARVAJAL, M 2014

En el CUADRO No. 9 se presenta los valores de la determinación de vitamina C realizado en muestra seca de las hojas y frutos de la Feijoa, los mismos que al aplicar el análisis estadístico nos indica que hay una diferencia entre muestras; existe diferencia altamente significativa entre las dos muestras $p < 0,05$ a un intervalo de confianza del 99%.

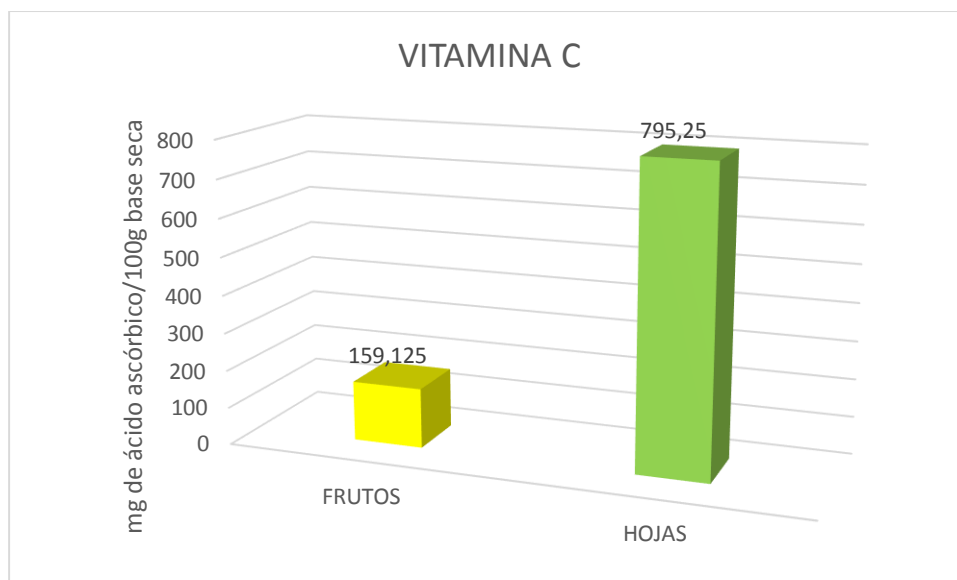


Gráfico No. 2 Determinación de Vitamina C de los extractos acuosos de las hojas y los frutos de la Feijoa (*A. sellowiana*). Laboratorio de Servicios de Análisis e Investigación en Alimentos (LSAIA). Departamento de Nutrición y Calidad. Estación Experimental Santa Catalina. INIAP. Cutuglahua. Octubre 2014.

Los resultados del contenido de Vitamina C o Ácido ascórbico se presentan en el GRÁFICO No.2 donde los diferentes componentes del árbol de Feijoa variaron en su contenido de ácido ascórbico, con un mayor valor en las hojas 795,25mg/100g y en los frutos 159,25mg /100g. Para corroborar los resultados obtenidos se realizó la determinación de Vitamina C por el método volumétrico con el cual se reportó los siguientes resultados: para la hoja presentó un contenido de 791mg/100g y los frutos 350 mg/100g

Se observó un alto contenido de vitamina C respecto a los valores reportados en literatura, esto se podría justificar debido a que en este trabajo investigativo se utilizó la fruta liofilizada, y en otros trabajos se analiza únicamente la pulpa de la fruta fresca.

El ácido ascórbico reduce al ácido molibdofosfórico, el color cambia de amarillo a azul de fosfomolibdeno, cuya concentración se determina por reflectometría.

3.6. CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS FENÓLICOS TOTALES EN LOS EXTRACTOS DE LAS HOJAS Y LOS FRUTOS DE FEIJOA (*Acca sellowiana*)

Para la determinación se realizó la curva de calibración del ácido gálico para obtener la ecuación de la recta. ANEXO No.8

Cuadro No. 10 Curva de calibración para cuantificación de fenoles totales utilizando como patrón ácido gálico.

CONCENTRACIÓN (ppm)	ABSORBANCIA 765nm
5	0,126
10	0,218
40	0,561
80	1,031
100	1,224
140	1,680
200	2,319

CARVAJAL, M 2014

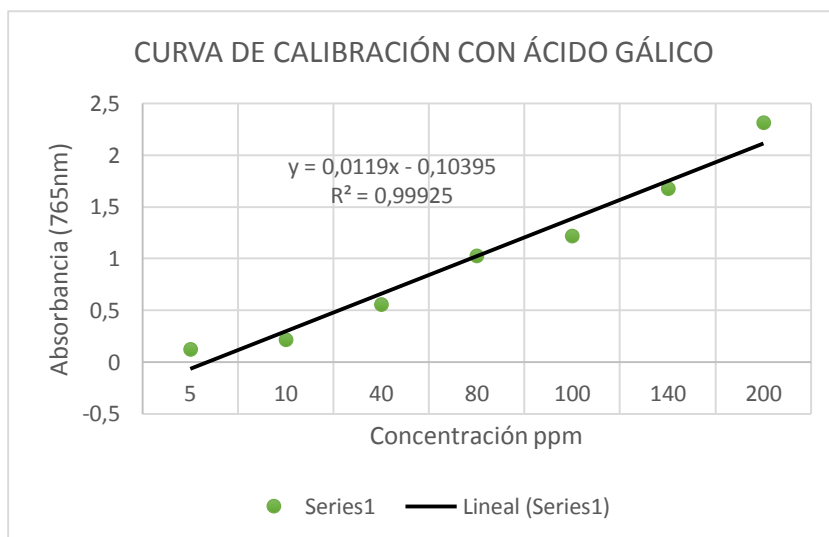


Gráfico No. 3 Curva de absorción vs concentración de ácido gálico para cuantificación de fenoles totales. Laboratorio de Servicios de Análisis e Investigación en Alimentos (LSAIA). Departamento de Nutrición y Calidad. Estación Experimental Santa Catalina. INIAP. Cutulagua. Octubre 2014

Cuadro No. 11 Resultados de la concentración de compuestos fenólicos totales expresados en mg de ácido gálico/g de muestra determinados en los extractos metanólicos y acuosos de las hojas y frutos de la Feijoa. Laboratorio de Servicios de Análisis e Investigación en Alimentos (LSAIA). Departamento de Nutrición y Calidad. Estación Experimental Santa Catalina. INIAP. Cutuglahua. Octubre 2014.

MUESTRA	ABSORBANCIA	CONCENTRACIÓN ppm	mg/g muestra
Extracto Alcohólico Hojas	0,2780	15,55	77,76 ±0,13
Extracto Acuoso Hojas	1,5615	130,25	65,12±0,63
Extracto Alcohólico Frutos	0,1333	2,62	13,10±0,48
Extracto Acuoso Frutos	0,3775	24,45	12,23±0,12

± Desviación estándar para cuatro repeticiones. Valor p 0,05
CARVAJAL, M 2014

En el Cuadro No.11. se puede observar las absorbancias, los valores de concentración de fenoles totales que se obtuvieron al remplazar las absorbancias obtenidas en la ecuación de la recta del ácido gálico, ver Anexo No. 13.

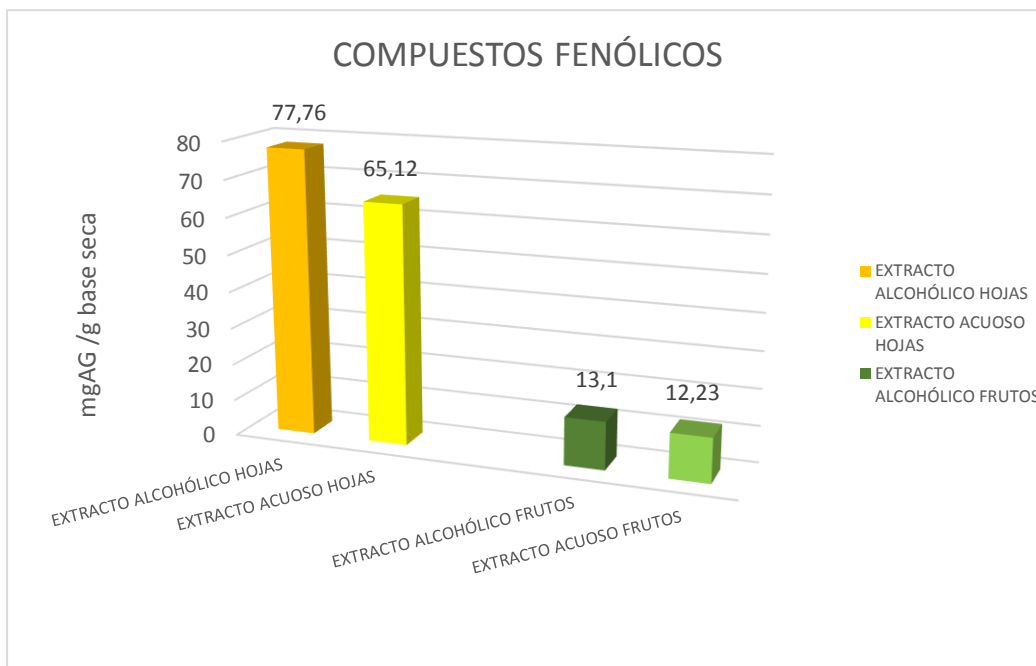


Gráfico No. 4 Concentración de compuestos fenólicos totales extraídos en los extractos expresados en mg de ácido gálico por g de muestra. Laboratorio de Servicios de Análisis e Investigación en Alimentos (LSAIA). Departamento de Nutrición y Calidad. Estación Experimental Santa Catalina. INIAP. Cutulagua Octubre 2014

En GRÁFICO No.4 se presenta la concentración de compuestos fenólicos que reportaron para el extracto alcohólico de las hojas 77,76; para el fruto 13,10mg/g y para los extractos acuoso 65,12 mg/g en las hojas y 12,23 mg/g de muestra seca en los frutos de Feijoa, con el Test de Tukey a nivel de significancia del 95,00 % se estableció que todas las muestras son estadísticamente diferentes con Valor $p < 0,05$.

En estudios realizados sobre el contenido de fenoles de los frutos de Feijoa (*Acca sellowiana*) por Kathleen J. et al. (2010) reportaron un valor de 150-200 mg de ácido gálico/100g de producto fresco siendo este resultado menor al de la muestra estudiada en la presente investigación tomando en cuenta la variación de las unidades, Ebrahimzadeh M. et al.(2008) encuentran cantidades representativas de compuestos fenólicos en el extracto metanólico de las hojas $92,09 \pm 0,2,23$ g AG/g muestra seca y en el extracto acuoso $44,04 \pm 1,27$ mg AG/g de muestra seca.

La alta variabilidad de los resultados obtenidos al compararlos con los reportados por diferentes autores se debe a diversos factores entre los más importantes el estado de maduración del fruto, si se trabaja con muestra fresca o muestra seca y el reporte en diferentes unidades.

Por medio de los resultados, se determinó que los extractos de las hojas presentan mayor contenido de compuestos fenólicos que el fruto; se observa también una mejor extracción de compuestos fenólicos en el solvente alcohólico (metanólico) que en el acuoso. La cantidad de fenoles presentes en la Feijoa es alto al comprarlos con otras frutas.

3.7. CAPACIDAD ANTIOXIDANTE MEDIANTE EL MÉTODO ABTS

Cuadro No. 12 Curva de calibración para cuantificación de capacidad antioxidante utilizando como patrón Trolox. Laboratorio de Servicios de Análisis e Investigación en Alimentos (LSAIA). Departamento de Nutrición y Calidad. Estación Experimental Santa Catalina. INIAP. Cutuglahua. Noviembre 2014

CONCENTRACIÓN (ppm)	ABSORBANCIA 754nm	ABSORBANCIA NETA
0	0,910	0,000
200	0,731	0,179
300	0,602	0,308
400	0,500	0,410
500	0,339	0,571
600	0,229	0,681
700	0,082	0,828

CARVAJAL, M 2014

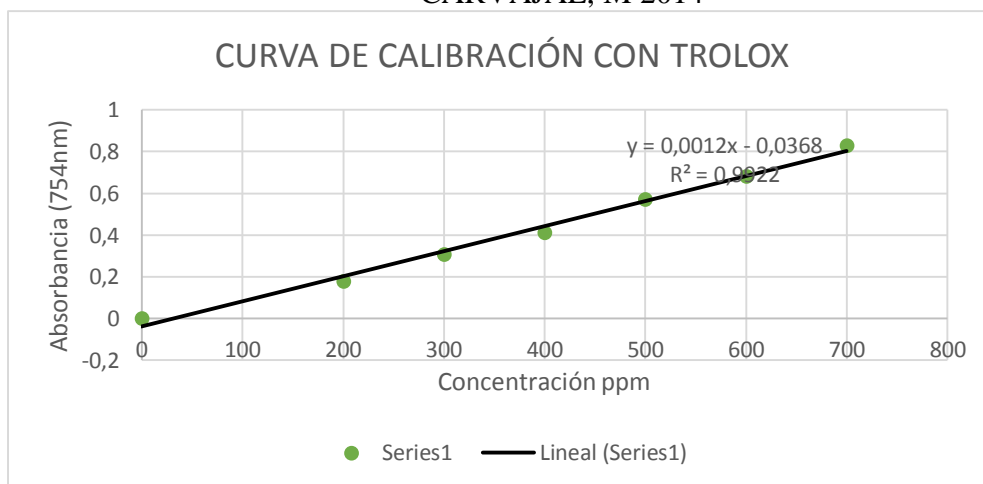


Gráfico No. 5 Curva de absorbancia vs concentración de Trolox para cuantificación de capacidad antioxidante Laboratorio de Servicios de Análisis e Investigación en Alimentos (LSAIA). Departamento de Nutrición y Calidad. Estación Experimental Santa Catalina. INIAP. Cutuglahua. Noviembre 2014.

Cuadro No. 13

Resultados de la concentración de compuestos fenólicos totales expresados en mg de ácido gálico/g de muestra determinados en los extractos Metanólicos y acuosos de las hojas y frutos de la Feijoa. Laboratorio de Servicios de Análisis e Investigación en Alimentos (LSAIA). Departamento de Nutrición y Calidad. Estación Experimental Santa Catalina. INIAP. Cutuglahua. Octubre 2014.

MUESTRA	mMTROLOX/g en base seca
Extracto Alcohólico Hojas	19,67±0,37
Extracto Acuoso Hojas	5,43±0,11
Extracto Alcohólico Frutos	0,23±0.01
Extracto Acuoso Frutos	0,10±0.00

± Desviación estándar para cuatro repeticiones. Valor p 0,05
CARVAJAL, M 2014

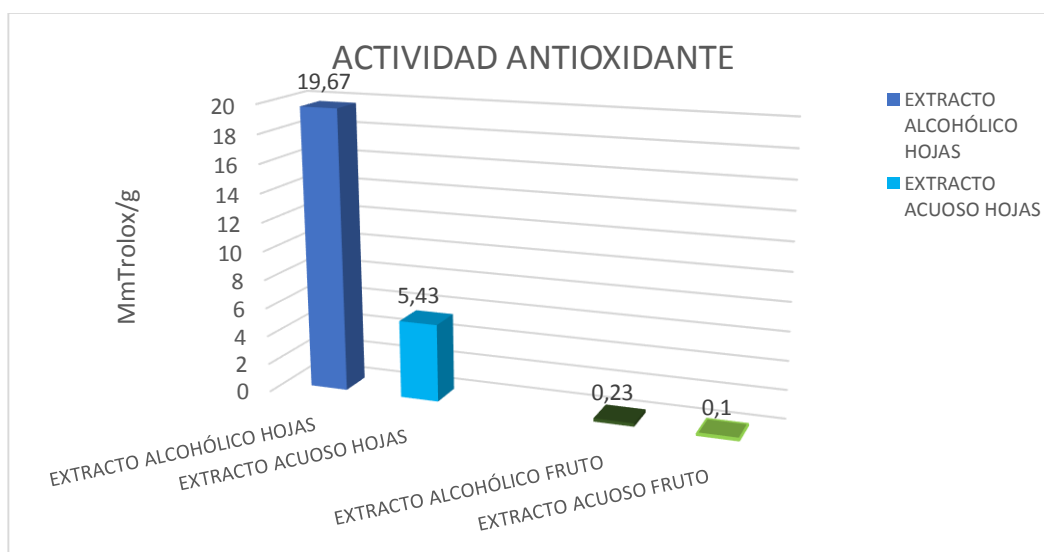


Gráfico No. 6 Concentración de compuestos fenólicos totales extraídos en los extractos expresados en mg de ácido gálico por g de muestra. Laboratorio de Servicios de Análisis e Investigación en Alimentos (LSAIA). Departamento de Nutrición y Calidad. Estación Experimental Santa Catalina. INIAP. Cutuglahua. Noviembre 2014.

En el GRÁFICO No. 6. Se puede observar el promedio de la capacidad antioxidante obtenida con los distintos extractos de la Feijoa. La mayor capacidad antioxidante se presentó en el extracto alcohólico de las hojas con un valor de 19,67 mM Trolox/g de muestra seca, mientras que el menor valor obtenido se presentó en el extracto acuoso de los frutos 0,1 mM Trolox/g de muestra seca. En bibliografía todavía no existe suficiente información sobre la capacidad antioxidante por medio del método ABTS, sin embargo al comparar el estudio realizado en los frutos de Feijoa (*Acca sellowiana*) por Kathleen J. et al. (2010) mediante el método ORAC reporta un valor de 2800-4200 μmol Trolox/100 g de producto fresco; valores relativamente bajos al compararlos con los obtenidos en esta investigación, esto se debe a diversos factores entre los más importantes, estado de muestra seca o fresca, la situación geográfica la diferencia de suelo, la época de cosecha del fruto, el método de preparación de la muestra, el extracto obtenido y la variabilidad del método para la determinación de la capacidad antioxidante.

.8. RELACIÓN ENTRE LA CONCENTRACION DE COMPUESTOS FENOLICOS TOTALES, CONTENIDO DE ÁCIDO ASCÓRBICO Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LOS EXTRACTOS DE FEIJOA (*Acca sellowiana*).

La Feijoa (*Acca sellowiana*) posee elevados valores de capacidad antioxidante, desatancando mejor extracción en los extractos alcohólicos de hojas y frutos, los compuestos fenólicos y contenido de vitamina C atribuyen visualmente a esta capacidad antioxidante, observándose una correlación directa entre los valores obtenidos en cada extracto y en cada parte de la planta respectivamente.

Todos los extractos estudiados tanto acuosos como metanólicos demostraron actividad antioxidante y presencia de compuestos fenólicos, sin embargo se evidenció una mayor actividad antioxidante alta cantidad de fenoles y vitamina C en los extractos de las hojas, pueden ser algunos factores que influyan, un factor importante es la evaporación y transpiración que ocurre en la parte laminar de la hoja ya que está es la fábrica principal de conversión de energía y para eso necesitan tanto de luz solar como de los nutrientes inorgánicos absorbidos por las raíces y que por capilaridad suben en dilución a las hojas.

Los frutos tienen como función principal asegurar las semillas y promover su dispersión y justamente debido a esto desarrollan toda la variedad de olores, sabores y demás para atraer

a dispersores específicos así que la cantidad de nutrientes que tenga un fruto depende también de cómo ha evolucionado la planta con los requerimientos de los dispersores de su ecosistema. De esta forma la planta organiza la distribución de su energía y de a donde envía, es decir a donde son más necesarios, los nutrientes que absorbe.

La feijoa además tiene la característica que sus frutos no maduran en la planta sino una vez que se desprenden con lo cual también se interrumpe el paso de nutrientes por parte de la planta.

Una las causas a la gran variabilidad entre hojas y frutos se debe principalmente a la influencia de la intensidad lumínica en la actividad fotosintética mayor las hojas que en fruto, contribuyendo directamente en su composición química.

CONCLUSIONES

1. Los extractos alcohólicos (metanólico 70%) y acuosos de las hojas y frutos de la Feijoa, elaborados con la materia prima recolectada en el Cantón Patate de la Provincia de Tungurahua, y liofilizada en el INIAP, cumplen con todos los parámetros de calidad correspondientes.

2. Se determinó el contenido de fenoles presentes en la Feijoa (*Acca. Sellowiana*) y los valores fueron: en los extractos alcohólicos 77,76 mg/g muestra de hojas y en los frutos 13,10 mg/g. En los extractos acuosos 65,12mg/g en las hojas y 12,23mg/g en los frutos. Se evidenció una cantidad muy apreciable de ácido ascórbico en las hojas 795,25mg/100g y en los frutos 159,25mg/100g; en muestras en base seca; por lo que es de especial interés el seguimiento que se le pudiera hacer a la Feijoa por su gran contenido de compuestos fenólicos y vitamina C.

3. Se evaluó la actividad antioxidante de los extractos de Feijoa (*A. sellowiana*) mediante el método ABTS, con los resultados obtenidos se realizó el Test de ANOVA demostrando que al menos un extracto presenta diferente actividad antioxidante. Los extractos alcohólicos (metanólico 70%) fueron los que dieron mejor respuesta tanto para hojas como para fruto, la actividad antioxidante se relaciona muy bien con el contenido de fenoles totales y con el contenido de vitamina C de la Feijoa.

RECOMENDACIONES

1. La Feijoa (*Acca sellowiana*) es una fruta rica en antioxidantes, un papel importante en la prevención de enfermedades relacionadas con la generación de radicales libres, por lo que se recomienda incluir información sobre el contenido de la capacidad antioxidante de los alimentos en las Tablas de Composición de Alimentos.
2. Realizar nuevos productos derivados de las frutas exóticas existentes en el país, como es el caso de la Feijoa ya que posee excelentes características organolépticas, propiedades nutricionales y antioxidantes.
3. Las hojas presentan alto contenido de nutrientes por lo que se recomienda realizar investigaciones para la creación de nuevos productos tanto en el área de alimentos como el en área de química cosmética.
4. Se recomienda para estudios posteriores hacer comparaciones con otros métodos de determinación de la capacidad antioxidante para establecer el método más práctico, sensible, rápido, estable y reproducible.
5. Dar a conocer a los fruticultores las propiedades de la Feijoa para incrementar su producción y a su vez el consumo.

BIBLIOGRAFÍA

ALOMAR, María. ANTIOXIDANTES: Captadores de radicales libres ó sinónimo de salud. 27 Octubre, 2014. p 11

<http://www.soarme.com/archivos/1324143195.pdf>

2014-09-03

ANTIOXIDANTES Y RADICALES LIBRES, 2014

<http://www.federacioncafe.com/Documentos/CafeYSalud/CafeYAntioxidantes/Radicales%20libres.pdf>

2014-09-06

ARRIAGA, Irma. Caracterización, extracción y estabilidad de los colorantes naturales presentes en el cáliz de *Hibiscus sabdariffa* L. (rosa de Jamaica) como alternativa del consumo como colorante artificial., (Tesis) (Quím. Farm) Universidad San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Guatemala. 2007., pp. 4 -24.

http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2554.pdf

2014-09-10

AVELLO, M, et al, Radicales Libres, Estrés Oxidativo y Defensa Antioxidante Celular., (*Red de revistas científicas de América Latina y el Caribe, España Y Portugal*), Concepción – Chile, 2006. pp. 162-168.

BASAGA, H. Biochemical aspects of free radicals. (*Biochemistry and Cell Biology*). 1990. (Ottawa – Canadá)

http://www.nrcresearchpress.com/doi/abs/10.1139/o9046?journalCode=bc#_VGvsT8n1

DIU

2014-09-10

CAJAS, Patricia. Determinación de la concentración de antioxidantes en cinco genotipos de fréjol rojo crudo y procesado. (Tesis) (Ing. Alim.) Universidad Tecnológica Equinoccial, Facultad de Ciencias de la Ingeniería Quito-Ecuador 2012, pp 17-20

CARAVACA, Elejalde. Aplicación de métodos espectroscópicos al estudio de las características cromáticas de los componentes polifenólicos presentes en vinos, Universidad del País Vasco Vol 5, 1999, pp 39-66.

CARHUAPOMA Mario. Estudio de la composición química y actividad antioxidante del aceite esencial de luma chequen (Molina) A. Gray “arrayán”. (Tesis). (Mgs. Recursos. Vegetales y Terapia) Universidad Nacional Mayor de San Carlos. Faculta de Farmacia y Bioquímica. Unidad de Post grado. Lima-Perú. 2006. pp.17.

http://cybertesis.unmsm.edu.pe/bitstream/cybertesis/3285/1/carhuapoma_ym.pdf

2014-09-04

DELGADO, Luis et al. Importancia de los antioxidantes dietarios en la disminución del estrés oxidativo, (*Investigación y Ciencia*), Universidad Autónoma de Aguascalientes (Aguascalientes - México) Núm. 50, septiembre-diciembre 2010. pp. 10-15.

http://www.uaeh.edu.mx/investigacion/icsa/LI_NutriMole/Gabriel_Bet/importancia.pdf

2014-09-10

DOMINGUÉZ, Alba. Estudio de la capacidad antioxidante de hojas de *Ginkgo biloba*. (Tesis) (Ing. Quím.) Universidad Politécnica de Catalunya. Departamento de Ingeniera Química. Catalunya-España. 2010., pp. 4 -24.

http://upcommons.upc.edu/pfc/bitstream/2099.1/10636/1/PFC_Memoria_Estudio%20de%20la%20capacidad%20antioxidante%20de%20hojas%20de%20Ginkgo%20biloba.pdf

2014-09-11

EBRAHIMZADEH, M. et al. Iron chelating activity, phenol and flavonoid content of some medicinal plants from Iran. *Afr. J. Biotechnol. (African Journal of Biotechnology)* Vol.7, 2008 pp 3188-3192.

<http://www.academicjournals.org/AJB>

2014-09-08

FEIJOAS CRECIMIENTO 2012

<https://fejoafejoa.wordpress.com/growing-fejoas/>

2014-09-23

FEIJOA CULTIVO.

Facciola, Stephen y otros 1989

<http://www.crfg.org/pubs/ff/fejoa.html>2014/10/01

2014-09-13

FEIJOA - Tharfield Nursery

<http://www.tharfield.co.nz/crop.php?fruitid=19>

2014-08-30

FEIJOA USOS 2006.

<http://www.misabueso.com/salud/Fejoa.>

2014-09-06

FREDES, Carolina, et al. Actividad antioxidante y antimicrobiana de mieles monoflorales de plantas nativas chilenas. (*Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*), 2013, Vol. 12, No 3.

<http://www.journals.usach.cl/ojs/index.php/blacpma/article/view/1150>

2014-08-30

GIMENO, C Compuestos fenólicos, un análisis de sus beneficios para la salud, (Offarm) Vol. 23 Núm. 6,2004. pp. 5.

GRIFFITHS, H y otros Ascorbic acid in the 21st century - more than a simple antioxidant. (*Environmental Toxicology and Pharmacology*), No 4, Vol. 10, 2001. pp. 173-182.

GUERRERO, Carlos. Determinación del contenido de compuestos fenólicos totales y actividad antioxidante en fibra dietética extraída de cultivos ancestrales andinos para su utilización como suplemento alimenticio. (Tesis) (Ing. Bioq.) Universidad Técnica de Ambato Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Ambato-Ecuador., (2012), pp.26

HAMID, A et. al. Antioxidants: Its medicinal and pharmacological applications, (*African Journal of Pure and Applied Chemistry*), Vol. 4(8), (Nigeria – Africa) 2010 pp.142-151.

HALLIWELL, Barry. et. al. Free radical in Biology and Medicine, Oxford, Science Publications. (British Journal of Pharmacology), Third edition No. 3, Vol. 142, mayo 2004. pp. 231.

HERNÁNDEZ J et. al. Marginados otra perspectiva 1492. (*Jardín Botánico de Córdoba*). No.26. Italia 1992.pp. 231

HERNÁNDEZ, Luis Determinación del potencial nutracéutico y la actividad antioxidante de la miel propolizada elaborada por la Empresa Apicare, (Tesis) (Bioq. Farm.) Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Facultad de Ciencias. Riobamba-Ecuador. 2013, pp 14,15.

HOFFMANN, A. et al. Influência da temperatura e do polietileno no armazenamento de frutos de goiabeira serrana (*Feijoa sellowiana* Berg.). Sci. Agric. Vol. 5.1994 pp. 563-68
<http://www.scielo.br/pdf/sa/v51n3/30.pdf>
2014-08-24

HUANG, D., et al. The chemistry behind antioxidant capacity assays. (*Journal of Agricultural and Food Chemistry*) (2005) No. 53. Vol. 6. pp. 1841-1856
<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf030723c>
2014-08-25

KATIYAR S y ELMETS C. Green tea polyphenolic antioxidants and skin photoprotection, Department of Dermatology, School of Medicine, University of Alabama at Birmingham, VH 501B, Birmingham, AL 35294, USA. 2001
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11351267>
2014-08-25

KRINSKY, N. Antioxidant functions of carotenoids, (*Free radical bio-logy & medicine*), No 6, Vol. 7.1989. pp. 617-635

MARTINEZ, José. Determinación de antioxidantes mediante microextracción líquida dispersiva y cromatografía de líquidos optimización del método de extracción. (Tesis). (Ing. Quí.). Universidad de Alicante .Facultad de Ciencias de la Salud. Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología. España. Julio2014

[http://rua.ua.es/dspace/bitstream/10045/39643/4/Determinacion_de_antioxidantes_mediante_microextr MARTINEZ PEREZ JOSE MARIA.pdf](http://rua.ua.es/dspace/bitstream/10045/39643/4/Determinacion_de_antioxidantes_mediante_microextr_MARTINEZ_PEREZ_JOSE_MARIA.pdf)

2014-08-24

MATEO J. Prontuario de Agricultura. Cultivos Agrícolas. No. 3. (Madrid-España) 2005. pp. 775-777

MAYOR, R. Estrés Oxidativo y Sistema de Defensa Antioxidante., (*Revista del Instituto Médico Tropical*) No. 2., Vol. 5. (Asunción – Paraguay), 2010 pp. 1-6.

MIRANDA, Martha. Farmacognosia y productos naturales. (Normas Ramales. De drogas crudas y extractos y tinturas. NRSP 309, 311 y 312. MINSAP 1992). (Cuba). Agosto 2006 pp. 32-44, 56-62.

MORA Andrea, 2014, El 30 a 40% de casos de cáncer podrían evitarse si se cambian cinco malos hábitos, Ministerio de Salud Pública del Ecuador (Documento) Quito – Ecuador. 2014. MSP.

<http://instituciones.msp.gob.ec/somossalud/index.php/enterate/200-el-30-a-40-de-casos-de-cancer-podrian-evitarse-si-se-cambian-cinco-malos-habitos>

2014-09-13

MONFORTE, María. et al. Phytochemical composition and gastroprotective effect of Feijoa sellowiana Berg fruits from Sicily. Department, University of Messina, Messina, (*Journal of Coastal life Medicine*) Italy.2014

<http://www.jclmm.com/qk/20141/3.pdf>

NAKASHIMA, Hideki. Biological activity of feijoa peel extracts. Occasional Papers Kagoshima University Research Center for the Pacific Islands, Korimoto-Japón. 2001. pp. 169 171

<http://cpi.kagoshima-u.ac.jp/publications/occasionalpapers/occasional/vol-34/34-22.pdf>

NARANJO Alex. Evaluación de la actividad diurética y cuantificación de polifenoles de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*.) cultivada en Pomona Pastaza-Ecuador. (Tesis) (Bioq. Farm.) Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias. Riobamba-Ecuador. 2013, pp 12,15.

LÓPEZ, Argelia y otros. Antioxidantes, un paradigma en el tratamiento de enfermedades., (*Revista ANACEM*), (Zacatecas –México,) No. 1., Vol. 6., 2012. pp. 49-51.

LLANGA, Byron Determinación de la actividad antioxidante de los extractos de quishuar (*buddleja incana*), aliso (*alnus acuminata*) y romerillo (*hypericum laricifolium*) localizados en 3 zonas geográficas diferentes”, (Tesis) (Bioq. Farm.) Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias. Riobamba-Ecuador. 2014, pp 8.

LICATA, Marcela. ANTIOXIDANTES VERSUS RADICALES LIBRES. ALIMENTOS ANTIOXIDANTES NATURALES. 2014
<http://www.zonadiet.com/alimentacion/antioxidantes-naturales.htm>
2014-09-16

OSMAN, Ahmed. et. al. ABTS radical driven oxidation of polyphenols: isolation and structural elucidation of covalent adducts. (*Biochemical and Biophysical*) Research Communications, Biblioteca Nacional de Medicina de los Institutos Nacionales de Salud (EE.UU) :21 de Julio, 2006 pp. 321-329.
<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0006291X06011946>
2014-09-23

PALOMINO, Lady. et al. Determinación del contenido de fenoles y evaluación de la actividad antioxidante de propóleos recolectados en el departamento de Antioquia Colombia. (VITAE, Revista de la Facultad de Química Farmacéutica) (Medellín-Colombia), No. 3, Vol. 16, septiembre 2009. pp. 388-395.
<http://www.scielo.org.co/pdf/vitae/v16n3/v16n3a13.pdf>
2014-09-13

PARRA, Alfonso; FISCHER, Gerhard. Maduración y comportamiento poscosecha de la feijoa (*Acca sellowiana* (O. Berg) Burret). (*Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas*). Vol.7. Colombia. 2013.

http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S2011-21732013000100010&script=sci_arttext&tlng=pt
2014-08-24

PAZ, Juan. .Análisis químico de las plantas aromáticas y medicinales. (*Uso industrial de plantas aromáticas y medicinales*). (Argentina). No 1. Vol.4; 2009. pp 110.

PELLEGRINI, R y otros Antioxidant activity applyin and imporved ABTS radical cation decolorization assay. (*Free Radical Biol, Med*). No 26, Mayo 26, 1999. pp1231 -1237.

PEREA, Margarita et al. Feijoa (*Acca sellowiana*). Universidad de Colombia. 29 de Septiembre, 2010.pp330-345

QUINTANAR, Martha et al. La Capacidad antioxidante total. bases y aplicaciones (*Revista de Educación Bioquímica*) (Distrito Federal Mexico) No 3, Vol. 28, 3, Septiembre, 2009, pp. 89-101

RADICALES LIBRES VS ANTIOXIDANTES.Dra. Iparraguirre López Haydeé, 2013.
http://www.sacico.com.pe/files/publicaciones/radicaleslibres_vs_antioxidantes.pdf 2014-10-02

RADICALES LIBRES Y ANTIOXIDANTES 2007

<http://www.federacioncafe.com/Documentos/CafeYSalud/CafeYAntioxidantes/Radicales%20libres.pdf>
2014-09-30

REYES, Abigail. et. al. Antioxidantes: La magia de lo natural. (*Revista Académica de Investigación Tlatemoani*) (San Luis Potosí - México), No. 8, 2011. pp. 6-8.

RODRÍGUEZ, Mariela, et al. ANATOMICAL ASPECTS OF DEVELOPMENT OF PINEAPPLE GUAVA FRUIT [ACCA SELLOWIANA (O. BERG) BURRET]. (*Revista Facultad Nacional de Agronomía*), Medellín, 2010, No 1. Vol. 63.pp. 5267-5273.

http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0304-28472010000100005
2014-09-24

STEVENS, Neil. La coenzima Q10, Buenos Aires – Argentina Sirio S.A., Buenos Aires – Argentina, 1998, pp. 21.

TARRADELLAS Josep., Antioxidantes, radicales libres, estrés oxidativo,(*Medicina Ortomolecular*) (Barcelona - España). 2011

http://ortobarcelona.com/radicales_libres.html

2014-10-12

TOLEDO, Daniel. Determinación del valor nutritivo de tres clones seleccionados de arazá (*Eugenia stipitata*) y seis de borojó (*Borojoa patinol*), y evaluación del proceso para la obtención de pulpas pasteurizadas y congeladas. (Tesis) (Ing. Agroind.).Escuela Politécnica Nacional. Facultad de Ingeniería Química y Agroindustrial. Quito-Ecuador 2009 pp.31

URSINI F. History of Antioxidants, Department of Biological Chemistry, Università 'di Padova.2014

<http://www.antiagingclub.it/News/HISTORY->

[OFANTIOXIDANTS.html?RwPag=true&pagina_ID=565](http://www.antiagingclub.it/News/HISTORY-OFANTIOXIDANTS.html?RwPag=true&pagina_ID=565)

2014-09-05

USOS DE LA FEIJOA Rodríguez A. Marzo 2nd, 2014

<http://www.laserranianatural.com/fejjoa-acca-sellowiana/>

2014-10-12

VALLS Victoria EL PAPEL ANTIOXIDANTE DE LOS ALIMENTOS DE ORIGEN VEGETAL, VITAMINAS Y POLIFENOLES, Universidad de Valencia, Facultad de Medicina, (*Revista de Nutrición*) .Agosto 2009.

http://revista.nutricion.org/hemeroteca/revista_agosto_03/Funcionales/vegetales, vitaminas, polifenoles.pdf

2014-09-15

VALDÉS, F. Vitamina C. (*Actas dermo-sifiliográficas*) Unidad de Dermatología. Hospital da Costa. Burela. (Lugo. España), No 9, Vol. 97,2006. pp 557-568.

VENEREO Justo, Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes (*Revista Cubana Medicina Militar*) No. 2., Vol.31., (Habana –Cuba), 2002., pp. 126-133.

http://bvs.sld.cu/revistas/mil/vol31_2_02/MIL09202.pdf

2014-10-02

VILLAVALVERDE, C. EL PAPEL DE LA VITAMINA E. 13 de Diciembre 2005

http://www.3tres3.com/nutricion/el-papel-de-la-vitamina-e-en-la-inmunidad-en-porcino_1377/

2014-09-06

VILELA Alejandra et al. Metabolismo secundario de plantas leñosas de zonas áridas: mecanismos de producción, funciones y posibilidades de aprovechamiento. (*Ecol. Austral*). No. 3. Vol. 21. Cordoba. Argentina. 2011

http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1667-782X2011000300007

2014-08-29

VITERI, P. y otros. Estudio de Estabilidad de la Pulpa de Mora sometida a un Proceso de Liofilización. (Tesis) (Ing. Prod.) Escuela Superior Politécnica del Litoral. Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción. Guayaquil-Ecuador. 2010. pp18-23

VUOTTO, Maria. et al. Antimicrobial and antioxidant activities of *Feijoa sellowiana* fruit. *Int. J. Antimicrobial Agents* 13,2000pp 197-201.

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0924857999001223>

2014-09-04

ZAPATA Karol y otros. Polifenoles y Actividad Antioxidante del Fruto de Guayaba Agria (*Psidium araca*), Universidad Nacional de Colombia, Laboratorio de Ciencia de Alimentos, , Facultad de Ciencias, Escuela de Procesos y Energía, Facultad de Minas, Sede Medellín (Medellín-Colombia) No 5, Vol. 24., 2013 pp. 103-112.

<http://www.scielo.cl/pdf/infotec/v24n5/art12.pdf>

2014-08-24

ANEXOS

Anexo No. 1 MATERIA PRIMA UTILIZADA



FRUTOS



HOJAS

FOTOGRAFÍA No.5 ÁRBOL DE FEIJOA (*Acca sellowiana*)

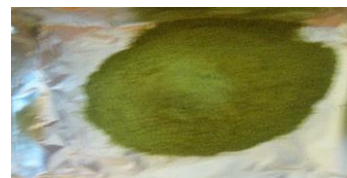
Anexo No. 2 LIOFILIZACIÓN DE LAS MUESTRAS



PULPA DE FEIJOA



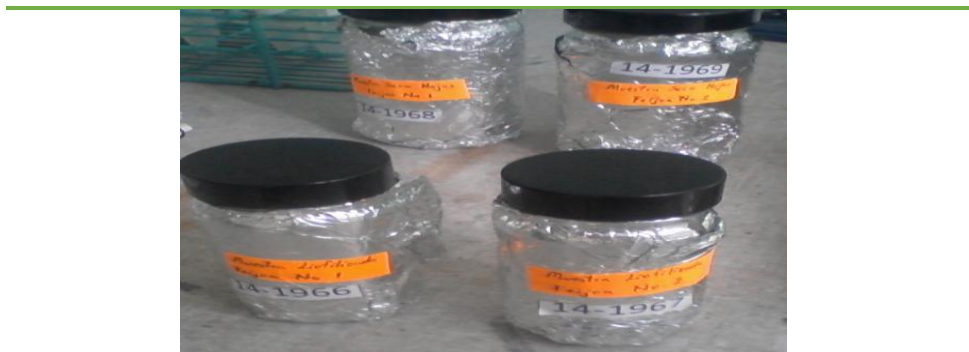
FRUTOS



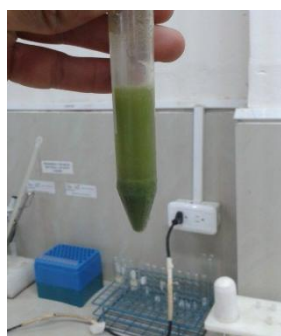
HOJAS

FOTOGRAFÍA No.6. LIOFILIZACIÓN DE LAS MUESTRAS

Anexo No. 3 ELABORACIÓN DE EXTRACTOS



FRUTOS



HOJAS



EXTRACTOS

FOTOGRAFÍA No. 7 ELABORACIÓN DE EXTRACTOS ACUOSOS Y ALCOHOLICOS

Anexo No. 4 **PARÁMETROS DE CALIDAD DE LA DROGA SECA Y
PARAMETROS FÍSICO QUÍMICOS DE LOS EXTRACTOS.**



CENIZAS



HUMEDAD



DENSIDAD RELATIVA

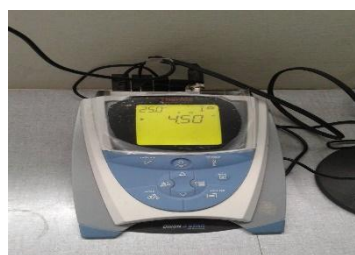


INDICE DE REFRACCIÓN

pH EXTRACTOS ALCOHÓLICOS



HOJAS



FRUTOS

**FOTOGRAFÍA No. 8. PARAMETROS FISICO QUIMICSO DE LOS
EXTRACTOS**

Anexo No. 5 TAMIZAJE FITOQUÍMICO DE LAS HOJAS Y FRUTOS DE LA FEIJOA (*Acacia sellowiana*).



ENSAYO DE FEHLING



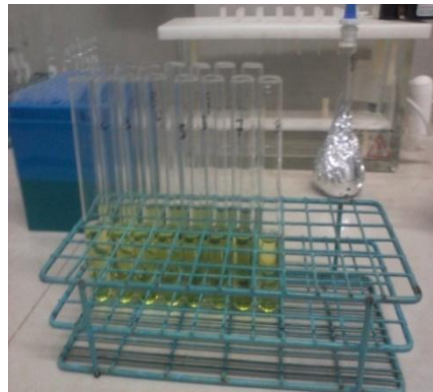
ENSAYO DE SHINODA (Flavonoides)

FOTOGRAFÍA No.9. ENSAYOS REALIZADOS PARA LA IDENTIFICACIÓN DE METABOLITOS SECUNDARIOS EN LOS EXTRACTOS.

Anexo No. 6 **DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES POR EL MÉTODO FOLIN- CIOCALTEAU**



MUESTRAS



PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS



PREPARACIÓN DEL ESTÁNDAR



LECTURA EN EL ESPECTROFOTOMETRO

FOTOGRAFÍA No.10. DETERMINACIÓN DE FENOLES

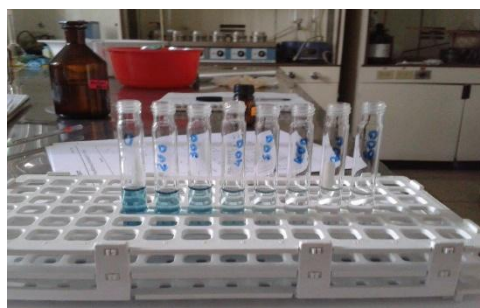
DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE MÉTODO ABTS



SOLUCIÓN DE ABTS RADICALIZADO



PRERACION DE MUESTRAS



CURVA DEL ESTANDAR



MUESTRAS EN LA CUBETA PARA
LA LECTURA



LECTURA EN EL
ESPECTROFOTOMETRO

FOTOGRAFÍA No. 11. DETERMINACION DE ACTIVIDA ANTIOXIDANTE

Anexo No. 8 Ecuación de la recta obtenida para la curva de calibración del estándar de ácido gálico para la determinación del contenido de compuestos fenólicos totales.

Concentración de ácido Gálico (ppm)	Ecuación de la Recta	R 2	R
5 –200	$y= 0,01119x + 0,10395$	0,99925	0,999

Anexo No. 9 Análisis Bromatológico de la FEIJOA

CUADRO No.14. Cuadro de Test t Student para una población con un nivel de confianza de $\alpha=0,05$, Análisis Bromatológico de la Feijoa (*A. sellowiana*).

PARAMETRO	Humedad	Ceniza	Proteína	Fibra	Grasa	ElnN	Azúcar	pH	Acidez	°BRIX
media	86,66 g	0,64g	0,82g	5,55g	0,38g	6,09	6,86	2,9	2,7	8
Desv	0,24	0,07	0,12	0,15	0,09	0,16	0,15	0,12	0,08	0,2
n	2	2	2	2	2	2	2	2	2	2
Referencia USDA	84,94g	0,56g	0,98g	6,4g	0,6g	6,52	8,2	3,25	1,8	11
t	10,135197	1,61624	-1,88562	-	-	-	-12,634	-4,12	15,91	-
t*	6,3137	6,3137	6,3137	8,013877	3,45697	3,8007	6,3137	6,3137	6,3137	21,213
	6,3137	6,3137	6,3137	6,3137	6,3137	6,3137	6,3137	6,3137	6,3137	6,3137

Anexo No. 10 Vitamina C

CUADRO No.15. Cuadro de Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales. Contenido de Vitamina C de las hojas y frutos de la Feijoa (*A. sellowiana*).

	Variable 1 FRUTOS	Variable 2 HOJAS
Media	159,2475	795,2525
Varianza	0,71129167	0,211425
Observaciones	4	4
Varianza agrupada	0,46135833	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	6	
Estadístico t	-1324,20841	
P(T<=t) una cola	6,2594E-18	
Valor crítico de t (una cola)	1,94318028	
P(T<=t) dos colas	1,2519E-17	
Valor crítico de t (dos colas)	2,44691185	

CARVAJAL, M 2014

Anexo No. 11 **ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE CONTENIDO DE POLIFENOLES EN LOS EXTRACTOS ACUOSOS Y ALCOHÓLICOS LAS HOJAS Y FRUTOS DE LA FEIJOA**

CUADRO No.16 Repeticiones de cada extracto alcohólico y acuso de hojas y frutos

POLIFENOLES mg/gmuestra		Repeticiones			
Trat.	Extracto	I	II	III	IV
Hoja	Alcoholico	80,45	70,15	84,45	76,00
Hoja	Acuoso	65,64	64,62	65,70	64,53
Fruto	Alcoholico	12,10	8,50	12,55	19,25
Fruto	Acuoso	12,29	12,16	12,09	12,38

CUADRO No. 17. Resultado del análisis de la varianza ANOVA y FISHER entre extractos alcohólicos de hojas y frutos y acuoso de hojas y frutos, con un nivel de significancia de 0.05 %

ANOVA				Fisher		
F. Var.	gl	S. Cuad.	C. Medio	Cal	0,05	0,01
Total	15	14314,68				
Trat.	1	13818,88	13818,88	950,04	4,75	9,33 **
Extracto	1	182,69	182,69	12,56	4,75	9,33 **
Int. AB	1	138,56	138,56	9,53	4,75	9,33 **
Error	12	174,55	14,55	1,35	0,00	
CV %			9,07	1,35	0,0041	
Media			42,05	1,91	0,0094	

CUADRO No. 18 . Resultados de la comparación de los extractos de las hojas vs los extractos del fruto aplicando la prueba Hsd de Tukey con nivel de significancia 0,05 %.

Separación de medias según Tukey (P < 0.05)

Trat.	Media	Rango
Hoja	71,44	a
Fruto	12,66	b

CUADRO No. 19 . Resultados de la comparación de los extractos alcohólicos vs los extractos acuosos aplicando la prueba Hsd de Tukey con nivel de significancia 0,05 %.

Extracto	Media	Rango
Alcohólico	45,43	a
Acuoso	38,67	b

CUADRO No. 20 . Resultados de la comparación múltiple entre extractos y frutos y hojas. El extracto acuoso de las hojas y el extracto alcohólicos de las hojas vs el extracto acuoso y el extracto alcohólico de los frutos aplicando la prueba Hsd de Tukey con nivel de significancia 0,05 %.

Int. AB	Media	Rango
A1B1	77,76	a
A1B2	65,12	b
A2B1	13,10	c
A2B2	12,23	c

A1. HOJA

A2. FRUTO

B1. EXTRACTO ALCOHÓLICO

B2. EXTRACTO ACUOSO

Anexo No. 12 ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN LOS EXTRACTOS ACUOSOS Y ALCOHÓLICOS LAS HOJAS Y FRUTOS DE LA FEIJOA

CUADRO No. 21 Repeticiones de cada extracto alcohólico y acuoso de hojas y frutos respectivamente.

ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE mMTrolox/g		Repeticiones			
Trat.	Extracto	I	II	III	IV
Hoja	Alcohólico	19,15	19,80	20,01	19,71
Hoja	Acuoso	5,46	5,40	5,56	5,31
Fruto	Alcohólico	0,22	0,22	0,23	0,24
Fruto	Acuoso	0,10	0,11	0,10	0,10

CUADRO No. 22. Resultado del análisis de la varianza ANOVA, y FISHER de la Actividad Antioxidante, con un factor, con un nivel de significancia de 0.05 %

ADEVA

F. Var.	gl	S. Cuad.	C. Medio	Fisher		
				Cal	0,05	0,01
Total	15	1019,29				
Trat.	1	613,60	613,60	16737,26	4,75	9,33 **
Extracto	1	206,20	206,20	5624,67	4,75	9,33 **
Int. AB	1	199,05	199,05	5429,46	4,75	9,33 **
Error	12	0,44	0,04	0,07	0,00	
CV %			3,01	0,07	0,0001	
Media			6,36	0,10	0,0001	

CUADRO No. 23 . Resultados de la comparación de los extractos de las hojas vs los extractos del fruto aplicando la prueba Hsd de Tukey con nivel de significancia 0,05 %.

Separación de medias según Tukey (P < 0.05)

Trat.	Media	Rango
Hoja	12,55	a
Fruto	0,16	b

CUADRO No. 24 . Resultados de la comparación de los extractos alcohólicos vs los extractos acuosos aplicando la prueba Hsd de Tukey con nivel de significancia 0,05 %.

Extracto	Media	Rango
Alcohólico	9,95	a
Acuoso	2,77	b

CUADRO No. 25 . Resultados de la comparación múltiple entre extractos y partes de la planta. El extracto acuoso de las hojas y el extracto alcohólicos de las hojas vs el extracto acuoso y el extracto alcohólico de los frutos aplicando la prueba Hsd de Tukey con nivel de significancia 0,05 %.

Int. AB	Media	Rango
A1B1	19,67	a
A1B2	5,43	b
A2B1	0,23	c
A2B2	0,10	c

A1. HOJA

A2. FRUTO

B1. EXTRACTO ALCOHÓLICO

B2. EXTRACTO ACUOSO

CUADRO No. 26 Resultados de estadísticas de regresión de Polifenoles y actividad antioxidante extractos alcohólico de las hojas

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coefficiente de correlación múltiple	0,025822617
Coefficiente de determinación R ²	0,000666808
R ² ajustado	-0,498999789
Error típico	0,450478217
Observaciones	4

CUADRO No. 27. Resultado del análisis de la varianza de polifenoles y actividad antioxidante con un factor, extractos alcohólicos de las hojas con un nivel de significancia de 0.05 %

ANÁLISIS DE VARIANZA					
	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico de F
Regresión	1	0,00027	0,00027081	0,001	0,97
Residuos	2	0,40586	0,20293062		
Total	3	0,40613			

	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad	Inferior 95%	Superior 95%	Inferior 95.0%	Superior 95.0%
Intercepción	19,7868	3,30304	5,99048347	0,027	5,57	33,9986	5,575	34
Variable X 1	-0,00155	0,04238	0,03653088	0,974	-0,2	0,18079	-0,184	0,181

CUADRO No. 28 Resultados de estadísticas de regresión Polifenoles y actividad antioxidante de los extractos acuosos de las hojas

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coeficiente de correlación múltiple	0,88181823
Coeficiente de determinación R ²	0,7776034
R ² ajustado	0,6664051
Error típico	0,06109026
Observaciones	4

CUADRO No. 29. Resultado del análisis de la varianza de polifenoles y actividad antioxidante con un factor, extractos acuosos de las hojas con un nivel de significancia de 0.05 %

ANÁLISIS DE VARIANZA							
	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>		
Regresión	1	0,0260978	0,0260978	6,9929432	0,11818177		
Residuos	2	0,00746404	0,00373202				
Total	3	0,03356184					

	<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>	<i>Inferior 95.0%</i>	<i>Superior 95.0%</i>
Intercepción	4,13089451	3,61650009	1,14223542	0,37166755	19,6914385	11,4296495	19,6914385	11,4296495
Variable X1	0,14685777	0,05553502	2,64441736	0,11818177	0,09209013	0,38580568	0,09209013	0,38580568

CUADRO No. 30 Resultados de estadísticas de regresión Polifenoles y actividad antioxidante de los extractos alcohólicos de los frutos

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coeficiente de correlación múltiple	0,92283557
Coeficiente de determinación R ²	0,85162549
R ² ajustado	0,77743823
Error típico	0,00353467
Observaciones	4

CUADRO No. 31. Resultado del análisis de la varianza de polifenoles y actividad antioxidante con un factor, extractos alcohólicos de los frutoss con un nivel de significancia de 0.05 %

ANÁLISIS DE VARIANZA							
	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico de F		
Regresión	1	0,00014342	0,00014342	11,4794039	0,07716443		
Residuos	2	2,4988E-05	1,2494E-05				
Total	3	0,00016841					

	Coeficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad	Inferior 95%	Superior 95%	Inferior 95.0%	Superior 95.0%
Intercepción	0,20654425	0,00622006	33,2061711	0,00090567	0,17978151	0,23330699	0,17978151	0,23330699
Variable X 1	0,00154242	0,00045524	3,3881269	0,07716443	0,00041633	0,00350118	0,00041633	0,00350118

CUADRO No.32 Resultados de estadísticas de regresión Polifenoles y actividad antioxidante de los extractos acuosos de los frutos

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coeficiente de correlación múltiple	0,33196194
Coeficiente de determinación R ²	0,11019873
R ² ajustado	0,33470191
Error típico	0,00535933
Observaciones	4

CUADRO No. 33. Resultado del análisis de la varianza de polifenoles y actividad antioxidante con un factor, extractos acuosos de los frutos con un nivel de significancia de 0.05 %

ANÁLISIS DE VARIANZA							
	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico de F		
Regresión	1	7,1143E-06	7,1143E-06	0,2476929	0,66803806		
Residuos	2	5,7445E-05	2,8722E-05				
Total	3	6,4559E-05					

	Coeficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad	Inferior 95%	Superior 95%	Inferior 95.0%	Superior 95.0%
Intercepción	0,24716284	0,29359068	0,84186201	0,48848553	1,01605592	1,5103816	1,01605592	1,5103816
Variable X 1	0,01194932	0,02400969	-0,49768755	0,66803806	0,11525467	0,09135603	0,11525467	0,09135603

CUADRO No. 34 Resultados de estadísticas de regresión Polifenoles y actividad antioxidante de los extractos alcohólicos y acuosos de los frutos y hojas

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coefficiente de correlación múltiple	0,9342222
Coefficiente de determinación R ²	0,87277112
R ² ajustado	0,85319745
Error típico	3,15841832
Observaciones	16

CUADRO No. 35. Resultado del análisis de la varianza de polifenoles y actividad antioxidante con un nivel de significancia de 0.05 %

ANÁLISIS DE VARIANZA					
	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	2	889,605213	444,802607	44,5890299	1,5129E-06
Residuos	13	129,682882	9,97560629		
Total	15	1019,2881			

	<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>	<i>Inferior 95.0%</i>	<i>Superior 95.0%</i>
Intercepción	5,25282462	2,63732668	1,99172315	0,06783779	0,44477328	10,9504225	0,44477328	10,9504225
Variable X 1	-0,52552386	0,20187457	-2,60321975	0,02187195	0,96164735	0,08940037	0,96164735	0,08940037
Variable X 2	0,00871301	0,00231243	3,76790328	0,00234619	0,00371731	0,01370872	0,00371731	0,01370872

Anexo No. 13. Cálculo de Polifenoles

POLIFENOLES TOTALES						
HOJAS						
EXTRACTO ALCOHÓLICO	ABSORBANCIA	CONCENTRACIÓN	Volumen del Balón	Factor de dilución	peso de muestra	mg/g muestra
	0,284	16,09	0,025	100	0,5	80,45
	0,261	14,03	0,025	100	0,5	70,15
	0,293	16,89	0,025	100	0,5	84,45
	0,274	15,2	0,025	100	0,5	76
						77,7625
EXTRACTO ACUOSO	0,1573	131,28	0,025	10	0,5	65,64
	0,155	129,23	0,025	10	0,5	64,615
	0,1576	131,39	0,025	10	0,5	65,695
	0,1548	129,05	0,025	10	0,5	64,525

FRUTOS						
	ABSORBANCIA	CONCENTRACIÓN	Volumen del Balón	Factor de dilución	peso de la muestra	mg/g muestra
EXTRACTO ALCOHÓLICO	0,131	2,42	0,025	100	0,5	12,1
	0,123	1,7	0,025	100	0,5	8,5
	0,132	2,51	0,025	100	0,5	12,55
	0,147	3,85	0,025	100	0,5	19,25
						13,1
EXTRACTO ACUOSO	0,379	24,58	0,025	10	0,5	12,29
	0,376	24,31	0,025	10	0,5	12,155
	0,373	24,18	0,025	10	0,5	12,09
	0,383	24,75	0,025	10	0,5	12,375
						12,2275