



Universidad Nacional
SAN LUIS GONZAGA



Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional

Esta licencia permite a otras distribuir, combinar, retocar, y crear a partir de su obra de forma no comercial y, a pesar que son nuevas obras deben siempre rendir crédito y ser no comerciales, no están obligadas a licenciar sus obras derivadas bajo los mismos términos.

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0>



UNIVERSIDAD NACIONAL SAN LUIS GONZAGA
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
EVALUACIÓN DE ORIGINALIDAD



AT 2024-FFBB-031

CONSTANCIA

El que suscribe, deja constancia que se ha realizado el análisis con el software de verificación de similitud al documento cuyo título de **Informe final de tesis** es:

Caracterización fitoquímica, Cuantificación de fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante del extracto etanólico de las hojas de *Eriobotrya japonica* (níspero japonés)

Presentado por:

MACHAHUAY GAMBOA, YESICA YANINA

Bachiller del nivel **PREGRADO** de la Facultad de **FARMACIA Y BIOQUÍMICA**. El resultado obtenido es **0%** por el cual se otorga el calificativo de:

APROBADO, según Reglamento de Evaluación de la Originalidad.

Con Código de Matricula: 20161436

Se adjunta al presente el reporte de evaluación con el software de verificación de originalidad. Observaciones:

Ica, 25 de noviembre de 2024

.....
Dra. JOSEFA BERTHA PARI OLARTE
DIRECTORA DE LA UNIDAD DE
INVESTIGACION FACULTAD DE FARMACIA
Y BIOQUÍMICA



UNIVERSIDAD NACIONAL "SAN LUIS GONZAGA"

VICERRECTORADO DE INVESTIGACIÓN

Facultad de Farmacia y Bioquímica



Caracterización fitoquímica, Cuantificación de fenoles totales,
flavonoides y actividad antioxidante del extracto etanólico de las hojas
de *Eriobotrya japonica* (níspero japonés)

Salud Pública y Conservación del Medio Ambiente

INFORME FINAL DE TESIS

AUTOR

BACH. MACHAHUAY GAMBOA, YESICA YANINA

Ica - Perú

2024

DEDICATORIA

A mis queridos padres, por siempre estar a mi lado guiándome, orientándome y protegiéndome. Mi bella y encantadora mamá tu paciencia, consejos, apoyo y tu inmenso cariño fueron claves en este camino largo camino siempre estuviste a mi lado dándome esa fortaleza para seguir adelante.

A mis adorados abuelos por motivarme y siempre darme unas palabras de apoyo en los momentos más críticos, sigan a mi lado muchos años más.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a mis docentes, cada uno de ellos es una pieza clave en este logro, gracias a sus enseñanzas, sabidurías, consejos y sobre todo la motivación que nos dan.

Agradecimiento especial a la facultad de farmacia y bioquímica, a todos sus colaboradores por su gran ayuda en esta etapa académica.

Agradezco también a mi asesor por su paciencia, sabiduría y orientación fueron invaluable en toda la etapa de mi proyecto.

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE	iv
RESUMEN	viii
ASBTRAC	ix
I. INTRODUCCIÓN	10
II. ESTRATEGIA METODOLOGICA	14
2.1. Aspectos metodológicos	14
2.1.1. Enfoque de la investigación	14
2.1.2. Tipo de investigación	14
2.1.3. Diseño de la investigación	14
2.1.4. Población y muestra	15
2.2. Técnicas e instrumentos de recolección de la información	15
2.3. Tratamiento de la muestra	15
2.3.1. Obtención de partes aéreas de <i>Eriobotrya japonica</i>	15
2.3.2. Caracterización del material a analizar.	16
2.3.3. Obtención del aceite esencial	16
2.3.4. Caracterización del aceite esencial	18
2.3.5. Análisis para determinar la actividad antioxidante del aceite esencial de <i>Eriobotrya japonica</i>	20
2.3.5.1 Frente al radical libre DPPH	20
2.3.5.2. Frente al radical ABTS•+	24
III. RESULTADOS	28
3.1. Del material estudiado	28
3.2. De la obtención de la muestra a analizar.	28
3.3. De las características organolépticas del material a ensayar	28
3.4. De la obtención del aceite esencial	29
3.5. De las características organolépticas del aceite esencial	31
3.6 De las características fisicoquímicas	31
3.7. De la determinación de la actividad antioxidante	32

3.7.1 Frente al radical libre DPPH	32
3.7.2. Frente al radical libre ABTS•+	36
IV. DISCUSION	38
V. CONCLUSIONES	40
VI. RECOMENDACIONES	41
VII. FUENTES DE INFORMACIÓN	42
VIII. ANEXOS	45

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Tratamiento para determinar el % de inhibición al radical libre DPPH por parte del aceite esencial de níspero.

Tabla 2. Tratamiento para graficar la curva de calibración entre el radical libre DPPH versus las diluciones patrón de ácido gálico.

Tabla 3. Tratamiento para determinar la actividad antioxidante del aceite esencial de *Eriobotrya japonica* expresado como CI₅₀.

Tabla 4. Tratamiento para graficar la curva de calibración de la reacción entre soluciones patrón de trolox y el radical libre ABTS•+

Tabla 5. Características organolépticas de las hojas frescas trozadas de níspero

Tabla 6. Rendimientos de obtención de aceites esenciales de níspero por el método de hidrodestilación en diferentes tiempos de exposición al calor moderado y fuerte.

Tabla 7. Rendimientos de obtención de aceites esenciales de níspero por el método de arrastre de vapor en diferentes tiempos de exposición al calor moderado y fuerte.

Tabla 8. Características organolépticas del aceite esencial de las hojas frescas de *Eriobotrya japonica* obtenido por arrastre de vapor.

Tabla 9. Características fisicoquímicas del aceite esencial de las hojas frescas de níspero *obtenido* por arrastre de vapor.

Tabla 10. Absorbancia del blanco, DPPH solo y aceite esencial de níspero

Tabla 11. Absorbancias de las soluciones patrón de ácido gálico frente al DPPH.

Tabla 12. Resultados de las absorbancias de diluciones de muestra a ensayar versus DPPH para determinar la CI₅₀

Tabla 13. Absorbancias de las soluciones patrones de trolox frente al radical libre ABTS•+

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Procesos para obtener las partes aéreas de níspero.

Gráfico 2. Curva de calibración de la reacción entre soluciones patrón de ácido gálico y el radical libre DPPH.

Gráfico 3. Determinación de la CI_{50} del aceite esencial de níspero diluido con etanol 1:9 frente al DPPH.

Gráfico 4. Curva de calibración de la reacción entre diluciones de soluciones patrón de trolox versus el radical libre $ABTS^{\bullet+}$.

RESUMEN

El estudio examinó las hojas postcosecha de la planta *Eriobotrya japonica* (níspero japonés). Estas hojas se secan y se muelen hasta obtener una forma granular en polvo, de color verde, sabor amargo y olor a suigeneris. Los extractos etanólicos se obtuvieron de hojas secas y trituradas utilizando etanol como solvente y método de digestión, fraccionados para obtener fracciones de este extracto utilizadas para la determinación de metabolitos secundarios; determinando la presencia de compuestos fenólicos, taninos, flavonoides, cumarinas, alcaloides, catequinas y saponinas. El contenido total de polifenoles del extracto etanólico o fracción A y fracción B se determinó utilizando el reactivo de Folina Ciocalteu, demostrando que una solución al 1,4% de la fracción A tenía un contenido total de fenoles equivalente a una solución de ácido gálico en concentración 162. 67 mg de ácido gálico/100 ml y contenido total de flavonoides de 8,36 mg calculado como quercetina. Al igual que la fracción B, su contenido de polifenoles totales se determinó utilizando una solución al 1,0% de la fracción A y tuvo un contenido de fenoles totales equivalente a una solución de ácido gálico con una concentración de 89,19 mg de ácido gálico/100 ml y el contenido de flavonoides totales es de 8,74 mg. expresado como equivalente de quercetina. Extracto: alcohol y fracción B, sí. La capacidad de inhibir la actividad de los radicales libres DPPH con absorbancias de 1,026, 52,24% y 70,77%, respectivamente.

Palabras claves: *Eriobotrya japonica*, cuantificación de flavonoides totales, cuantificación de polifenoles totales, actividad antioxidante.

ABSTRACT

The study examined the postharvest leaves of the *Eriobotrya japonica* (Japanese loquat) plant. These leaves are dried and ground into a granular powder form, green in color, bitter in taste, and suigeneris in smell. Ethanolic extracts were obtained from dried and crushed leaves using ethanol as a solvent and digestion method, fractionated to obtain fractions of this extract used for the determination of secondary metabolites, determining the presence of phenolic compounds, tannins, flavonoids, coumarins, alkaloids, catechins and saponins. The total polyphenol content of the ethanolic extract or fraction A and fraction D was determined using Folina Ciocalteu's reagent, demonstrating that a 1.4% solution of fraction A had a total phenol content equivalent to a solution of gallic acid in concentration 162.67 mg of gallic acid/100 ml and total flavonoid content of 8.36 mg calculated as quercetin. Like fraction D, its total polyphenol content was determined using a 1.0% solution of fraction D and had a total phenol content equivalent to a solution of gallic acid with a concentration of 89.19 mg of acid. gallic/100 ml and the total flavonoid content is 8.74 mg. expressed as quercetin equivalent. Extract: alcohol and fraction D, yes. The ability to inhibit the activity of DPPH free radicals with absorbances of 1.026, 52.24% and 70.77%, respectively.

Keywords: *Eriobotrya japonica*, quantification of total flavonoids, quantification of total polyphenols, antioxidant activity.

I. INTRODUCCIÓN

Nuestra región se caracteriza por un clima excelente en el que crecen muchos cultivos. Algunos de estos cultivos han alcanzado el predominio económico en el país porque se cultivan con fines de industrialización u otros fines de exportación. En ambos casos se genera un exceso de residuos agrícolas, como cultivos postcosecha, que en su mayoría se queman directamente en el campo, generando grandes cantidades de humo que contaminan el medio ambiente; otros se utilizan para producir abono; o fertilizante orgánico. Sin embargo, no todos los cultivos pueden utilizarse según criterios científicos o técnicos comprobados, ya que no hay suficiente investigación sobre los usos de la mayoría de los cultivos agroindustriales ni para la exportación. Uno de ellos es el níspero japonés (*Eriobotrya japonica*), del cual la región Ica fue una de las primeras productoras, lo que ha permitido a empresas como Icatom prestar mayor atención a la productividad de este cultivo, aumentando el rendimiento por hectárea cosechada, pero no hay informes de investigación sobre el uso de los desechos agrícolas que deja esta cultura. Esta observación me impulsó a desarrollar mi tema de tesis “Caracterización fitoquímica, Cuantificación de fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante del extracto etanólico de las hojas de *Eriobotrya japonica* (níspero japonés)”. Presento este trabajo completo en tres capítulos. La primera parte proporciona información general sobre el proceso de desarrollo del proyecto, la segunda parte proporciona antecedentes sobre la investigación sobre esta planta, un marco teórico sobre el tema y un marco conceptual explicando algunos términos utilizados. Finalmente, presento conclusiones, discusiones y recomendaciones de mi trabajo; y bibliografía utilizada para el desarrollo del tema.

A término de mi labor espero haber dejado una información de valor para iniciar estudios que permitan demostrar que las hojas postcosecha de *Eriobotrya japonica* se puede utilizar para la separación de metabolitos secundarios.

Se han realizado investigaciones sobre aceites esenciales de plantas aromáticas, por ejemplo, tenemos los estudios de:

Iler D4 (2017) Se evaluó la actividad nematocida de cuatro aceites esenciales (orégano, tomillo, eucalipto y romero) en tres concentraciones diferentes (0.25%, 0.50%, 0.75% v/v) para nematodos jóvenes de *Meloidogyne* en la segunda etapa (J2), que fueron extraídos a partir de raíces de tomate (*Lycopersicon esculentum*) durante 48 horas en diferentes tiempos. Los mejores resultados para los cuatro aceites esenciales se obtuvieron a una concentración del 0,75%, superando significativamente los aceites esenciales de orégano y tomillo a los aceites de eucalipto y romero, logrando un 100% de mortalidad después de 8 horas de exposición al aceite esencial de orégano y un 100% de mortalidad a las 24 horas para el

tomillo. Además, se evaluó el daño de los nematodos expuestos a los aceites esenciales mediante microscopía óptica y microscopía electrónica de barrido, revelando vacuolas oscuras y daños a los órganos internos. Los excelentes resultados obtenidos de los dos aceites esenciales probados ofrecen una oportunidad prometedora para convertirse en una alternativa al uso de nematicidas químicos en la industria agrícola.

Crisanto Pescoran (5) informa que el uso de pesticidas no sólo no resuelve el problema de las plagas, sino que también causa daños biológicos y ambientales, lo que obliga a buscar soluciones alternativas. Este problema ha llevado al uso de plantas insecticidas, incluida higuera *R. communis* L., una planta que alguna vez se usó en África, India y América Latina para el control de plagas. Desarrollando un proyecto para evaluar los efectos del extracto de *R. communis* a dosis de 1, 5, 10, 50 y 100 mg/l sobre adultos de *B. tabaci* cultivados en jaulas para insectos con plántulas de *Phaseolus vulgaris* var. Canario como sustrato. Para preparar el extracto, se secaron las semillas de *R. communis* durante 15 días, luego se trituraron y se remojaron en alcohol durante 7 días, luego se filtra y se seca para obtener el extracto seco. Para la evaluación, se roció una hoja con el extracto y se colocó una población de 20 moscas en una caja de Petri sellada, se trató y se repitió, se evaluó la mortalidad 24 horas después del tratamiento. Se utilizó un diseño completamente al azar con cinco tratamientos, tres repeticiones y un control. Se registraron valores bajos de mortalidad en concentraciones de 1 mg/l, 5 mg/l, 10 mg/l con una tasa de mortalidad de 5; 13,3; 21,6 respectivamente. Los mayores efectos tóxicos se produjeron en concentraciones de 50 y 100 mg/l con tasas de mortalidad del 45 y 78,3%, respectivamente. El análisis de varianza no mostró diferencias significativas entre tratamientos. Para evaluar la efectividad del extracto vegetal se tuvo en cuenta la LD 50 y LD 90, arrojando resultados de 56,5 y 130,46 mg/l, respectivamente. Se ha descubierto que el extracto de higuera tiene propiedades insecticidas, lo que lo convierte en una alternativa ecológica y económica para los agricultores.

En el estudio de Medina J (2014) se ha informado que las especies del género *Physalis* (Solanaceae) tienen una larga historia en la medicina tradicional en muchas partes del mundo y han sido reconocidas como una fuente importante de metabolitos secundarios. En los últimos años se ha descubierto y descrito la composición de flavonoides en especies de Solanaceae. Esta revisión examina las propiedades de estos flavonoides y proporciona información detallada sobre su origen, identidad, actividades biológicas e importancia taxonómica química.

Fernández A7 (2015) Se ha informado que varias especies de plantas cubanas contienen metabolitos anti-Plasmodium. El estudio evaluó el efecto letal de 31 extractos de 7 especies de 5 géneros de la familia Solanaceae contra *Plasmodium berghei*. Se prepararon 31 extractos alcohólicos acuosos (90 y 30% de etanol) de diferentes órganos: *Brunfelsia undulata* Sw.,

Datura stramonium L. var. *tatula* (L.) Torr., *Physalis solanaceus* (Schltdl.) Axelius, *Solandra longiflora* Tuss., *Solanum myriacanthum* Dunal, *Solanum seafortianum* y *Solanum umbellatum* Mill. La actividad del extracto fue evaluada in vitro frente a *P. berghei* y su citotoxicidad frente a fibroblastos humanos MRC-5, concluyendo que el extracto de *B. undulata* y *S. umbellatum* no funcionan. Extracto de tallo de *S. seafortianum* mostró la actividad antiplasmodial más fuerte.

Serna J8. (2003) evaluó el efecto inhibitor del extracto obtenido de hojas de tomate *Lycopersicon esculentum* L. Se probaron cinco extractos en una colonia de laboratorio de hormigas arrieras, *Atta cephalotes* (L.). La extracción con hexano y el reparto con diclorometano mostraron una actividad significativa incluso a concentraciones bajas cercanas a 50 ppm. El fraccionamiento con acetato de etilo mostró una actividad menor pero significativa.

Guano G9. (2015) Evaluó los efectos terapéuticos del extracto de hoja de tomate (*Solanum lycopersicum*) sobre lesiones inducidas en ratas (*Mus musculus*). Se utilizaron extractos de plantas y se dividieron 24 ratones en 6 grupos experimentales: grupo B (sin tratamiento), dos grupos de control positivo (C y D) tratados con crema (0,5 g de acetato de prednisolona y 0,5 g de sulfato de neomicina). y 40% alcohol y tres grupos experimentales (X, Y y Z) recibieron extracto de hoja en concentraciones de 25%, 50% y 75%. La determinación cuantitativa de los metabolitos secundarios reveló el contenido total de flavonoides expresado como quercetina; 0,799 mg/g de materia seca en el extracto hidroalcohólico y 2,93 mg/g de materia seca en el extracto etanólico. Por el contrario, el contenido total de fenoles expresado como ácido gálico fue de 1,29 mg/g de materia seca en el extracto alcohol-agua y de 3,44 mg/g de materia seca en el extracto alcohólico. El tratamiento se aplicó tópicamente cada 12 horas durante 15 días, el tiempo de cicatrización de la herida y el largo de la herida hasta que cayó la costra, los resultados se analizaron estadísticamente mediante la prueba de Anova y Tukey, con un intervalo de confianza del 95% del efecto del tratamiento. se aplica el tratamiento. Se ha demostrado que el tratamiento con extracto al 75% aplicado a las lesiones resultantes proporciona resultados más efectivos con la cicatrización de heridas dentro de los 7 días y la regeneración celular especialmente en heridas pequeñas cuando se aplica tópicamente y no causa reacciones adversas a nivel de la piel. Se debe desarrollar una formulación para una medicina herbaria que facilite el uso del extracto de hoja de *Solanum lycopersicum*.

Quintanilla A10. (2003) Al evaluar extractos de especies de plantas por su actividad insecticida contra los chinche pata de hoja y comparar los resultados con un producto comercial, el extracto de mamey al 30% mostró una actividad potente que el comparador comercial y otros extractos solos (Neem, higuera, ajeno), afirmando que los alcaloides de las especies ensayadas presentan esta propiedad.

mostraron diferencias en la composición química de cinco especies de tomate de árbol con respecto al hongo *Colletotrichum Gloeosporoides* Penz, indicando que los metabolitos secundarios tienen efectos fungicidas.

La especie *Eriobotrya japonica*, comúnmente llamado níspero japonés, nisperero del Japón o simplemente níspero.

Árbol frutal perenne de la familia de las rosas, originario del sureste de China, donde se le llama pipa.⁴ Fue traído a Japón, donde se naturalizó y cultivó durante más de 1.000 años. También se ha naturalizado en la India, el Mediterráneo, las Islas Canarias, Pakistán, Chile, Argentina, Perú y muchas otras zonas.

Los inmigrantes chinos probablemente trajeron el loquán a Hawái. Se menciona a menudo en la literatura china antigua, como en los poemas de Li Bai, y desde su descubrimiento se conoce en la literatura portuguesa.

El fruto de esta especie sustituyó al fruto del níspero europeo (*Mespilus germanica*), por lo que ahora cuando dices "níspero" sabes que te refieres al fruto japonés.^{2,3}

Se trata de un árbol monoico, de hasta 10 metros (normalmente 6-8 metros) de altura, con copa redondeada, tronco corto con corteza gris y ligeramente agrietada y ramas jóvenes castaños claros con pelos. Las hojas miden de 10 a 30 cm de largo y de 5 a 10 cm de ancho, simples, alternas, sobre pecíolos cortos, bordes dentados, oblongas elípticas, puntiagudas y nervadas en la superficie, coriáceas, de color verde oscuro cuando es joven es peludo, el envés es peludo y tiene venas prominentes.^{6,7,8,9,10}

Las inflorescencias son multifloradas, de 10,0 a 19,0 cm de largo, pedúnculo de 5 a 8 mm de largo, peludos de color marrón.

Las flores son fragantes, de 1,2 a 2 cm de ancho, en forma de cúpula, densas; sépalos triangulares, ovados, complejos, más largos, discretos en el ápice, formando pelos castaños permanentes de 2 a 4 mm de largo; 5 pétalos blancos libres, oblongos u ovalados, de 5-9 x 4 mm, ápice obtuso o dentado; muchos estambres; Ovario inferior, peludo arriba, 5 lóculos, cada lóculo tiene 2 óvulos; estilo 5. 6

Florece en otoño o principios de invierno y da frutos a finales de invierno o principios de primavera.

El fruto tiene forma de pera, ovalado, oblongo o esférico, y mide 3-6 x 1,5-5 cm. Cuando está maduro, la cubierta de la semilla es peluda o lisa, de color amarillo o naranja, a veces roja; la pulpa es blanca, amarilla o anaranjada, de sabor dulce o ligeramente ácido; tallo de 3-8 mm de largo, puntiagudo al principio, liso después, diferente número de semillas (1-5), 11 semillas grandes, sección transversal angular, elíptica ancha, piel lisa y marrón.^{6,12,13}

Estudios recientes han evaluado el extracto etanólico de las hojas de *Eriobotrya japonica* (EJEE) en modelos celulares, como los macrófagos RAW 264.7 estimulados con lipopolisacáridos (LPS). Se observó que este extracto inhibe la producción de óxido nítrico (NO), un mediador clave en la respuesta inflamatoria, sin afectar la viabilidad celular hasta concentraciones de 0,5% (p/v). Además, el EJEE mostró efectos modestos en la reducción de los niveles de TNF- α , otra citocina inflamatoria crítica, a concentraciones similares. Estos hallazgos confirman su potencial como un agente antiinflamatorio seguro en condiciones experimentales controladas.³⁹

Además, un análisis fitoquímico ha destacado que estos efectos pueden atribuirse a la capacidad de los compuestos presentes en la planta para modular vías inflamatorias, lo que subraya su promesa en la terapia basada en Fito medicina. Sin embargo, se requiere más investigación para comprender completamente su mecanismo de acción y validar su eficacia en estudios clínicos.⁴⁰

Para lo cual considero que el problema general queda enmarcado en la siguiente interrogante:

- ¿Cuáles son las características y qué contenido de fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante tienen el extracto etanólico de las hojas de *Eriobotrya japonica* (níspero japonés)?

Problemas específicos:

- ¿Cómo se puede extraer el aceite esencial de *Eriobotrya japonica* (níspero japonés)?
- ¿Cuáles son las características del extracto etanólico de las hojas postcosecha de *Eriobotrya japonica* (níspero japonés)?
- ¿Cuál es el contenido de fenoles totales del extracto etanólico de las hojas postcosecha de *Eriobotrya japonica* (níspero japonés)?
- ¿Cuál es el contenido de flavonoides del extracto etanólico de las hojas postcosecha de *Eriobotrya japonica* (níspero japonés)?
- ¿Qué % de actividad antioxidante tiene el extracto etanólico de las hojas postcosecha de *Eriobotrya japonica* (níspero japonés)?

Descripción de la realidad problemática

El níspero está ampliamente disponible aquí, pero se consume poco y se sabe poco sobre las propiedades beneficiosas de sus frutos y hojas.

Considerando que se debe prestar más atención al consumo de hojas y frutos, este trabajo tiene como objetivo desarrollar estudios fotoquímicos en las hojas de esta especie para determinar si los metabolitos secundarios tienen efectos antioxidantes y encontrar el medio de su efecto antibiótico. Por estos motivos, se hizo necesario estudiar la actividad antioxidante de estos metabolitos secundarios en extractos de hojas de esta planta.

Por lo tanto, este estudio se centra en evaluar la actividad antioxidante de las hojas de *Eriobotrya japonica* “níspero japonés” mediante la actividad antioxidante mediante la eliminación de radicales cromóforos, como el radical catión 2, 2'. - azinobis-(3-etiltiazolinabencensulfona-6) (ABTS+) y 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) mediante espectroscopia UV-VIS.

Justificación e Importancia de la Investigación

– Justificación

A nivel regional, no se han determinado estudios que revelen las propiedades fitoquímicas, fenólicos totales, flavonoides y actividades antioxidantes en hojas poscosecha de *Eriobotrya japonica* (níspero japonés).

Las empresas agrícolas generan grandes cantidades de residuos que no se reciclan por completo.

En el caso del níspero japonés, en una campaña se plantaron más de 250 hectáreas en nuestra zona, generando una gran cantidad de los residuos antes mencionados, que podrían ser de gran beneficio si aportaran muchos beneficios.

Importancia

La caracterización del extracto etanólico y la determinación del contenido de compuestos fenólicos totales, flavonoides y actividad antioxidante en hojas poscosecha de *Eriobotrya japonica* (espino japonés) son importantes porque:

- ✓ Si se conocen el rendimiento, el contenido fenólico, los flavonoides totales y la actividad antioxidante de los extractos acuosos y etanólicos de las hojas de *Eriobotrya japonica* (níspero), se abrirán otras direcciones de investigación y, por tanto, se explotarán las ventajas de estos extractos a través de usos agrícolas. Por tanto, los residuos industriales pueden mejorar la rentabilidad de los cultivos.

Objetivos:

Objetivo general

Caracterizar y determinar el contenido de fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante que tienen el extracto etanólico de las hojas de *Eriobotrya japonica* (níspero japonés).

Objetivos específicos

Extraer aceite esencial de *Eriobotrya japonica* (níspero japonés).

Caracterizar los extractos etanólico de las hojas postcosecha de *Eriobotrya japonica* (níspero japonés).

Cuantificar el contenido de fenoles totales del extracto etanólico de las hojas postcosecha de *Eriobotrya japonica* (níspero japonés).

Cuantificar el contenido de flavonoides del extracto etanólico de las hojas postcosecha de *Eriobotrya japonica* (níspero japonés).

Determinar la actividad antioxidante del extracto etanólico de las hojas postcosecha de *Eriobotrya japonica* (níspero japonés).

Hipótesis

– **Hipótesis general.**

Las hojas postcosecha de *Eriobotrya japonica* (níspero japonés), se caracteriza por tener compuestos fitoquímicos de tipo fenólico, alcaloidal y triterpenoidales. Con gran cantidad de fenoles totales y Flavonoides con actividad antioxidante.

– **Hipótesis específicas**

- El extracto etanólico al 10 % de las hojas de *Eriobotrya japonica* (níspero japonés), tiene un contenido de entre 60,0mg a 80,0 mg de fenoles totales equivalente ácido gálico por cada cien ml respectivamente.
- El extracto etanólico al 10 % de las hojas de *Eriobotrya japonica* (níspero japonés), tiene un contenido de entre 25,0mg a 35,0 mg de flavonoides totales equivalente mg quercetina por cada (100 ml) respectivamente.
- El extracto etanólico de las hojas de *Eriobotrya japonica* (níspero japonés). son capaces de inhibir entre 45,0% a 55,0 % la actividad del radical libre DPPH respectivamente.

Variables.

– **Variable Independiente**

Hojas de *Eriobotrya japonica* (níspero japonés). procedente del distrito de Los Molinos – Ica.

– **Variable Dependiente**

- Características de los extractos etanólico
- Contenido de fenoles totales
- Contenido de flavonoides
- Actividad antioxidante

Operacionalización de variables.

Posición de la Variable	Nominación de la Variable	Indicador	Índice
Variable Independiente	Hojas de <i>Eriobotrya japonica</i> (níspero japonés).	Características: organolépticas	Color, olor, sabor aspecto
Variable Dependiente	Características del extracto etanólico	Rendimiento	%
	Metabolitos secundarios	Reacciones de coloración y o precipitación: FeCl ₃ Gelatina sal Lieberman-Burchard Cumarinas Dragendorf Wagner Meyer Hager Rosenheim Espuma	Positivo y/o negativo Positivo y/o negativo Positivo y/o negativo Positivo y/o negativo Positivo y/o negativo Positivo y/o negativo Positivo y/o negativo Positivo y/o negativo
	Actividad antioxidante	Reacción antioxidante DPPH	% de inhibición al DPPH

	Contenido de fenoles totales	Reacción de Folin-Ciocalteu	Absorbancia
	Contenido de flavonoides	Reacción de tricloruro férrico	Absorbancia

Níspero (*Eriobotrya japonica*)

Origen y difusión de la especie

El primer registro de la existencia del níspero japonés (*Eriobotrya japonica* Lindl, familia de las Rosaceae) se refiere al sur de China, en el valle del río Daduhe, donde se originó, al contrario de lo descrito por Lindley, quien consideraba este lugar como la cuna de Japón. hasta que se le asignó el nombre "japonica" (Zhang et al., 1990). Para encontrar la primera descripción de esta especie por parte del botánico alemán Kaempfer, debemos remontarnos a 1690. Probablemente llegó a Europa en 1784 con una serie de ejemplares que, según algunas fuentes, se cultivaban en los jardines botánicos de París, desde 1784. las islas de Mauricio, donde trajeron esta especie, según otras fuentes, los jesuitas directamente desde Cantón. Tres años después fue encontrado en Inglaterra, y a mediados del siglo XIX ya formaba parte de colecciones públicas y privadas de Sicilia, Levante español (en la ciudad de Sagunto, introducida por el capitán Roig), Malta, Argelia, Grecia y Turquía. Fue introducida en Florida en 1867 y en California en 1870, donde su cultivo no tuvo mucho éxito (Lin et al., 1999).

Según la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), los principales países productores son los países asiáticos: India, Filipinas, Indonesia y China. Algunos sudamericanos también se encuentran entre los 10 principales países productores. ^(12,13)

PRINCIPALES PAÍSES PRODUCTORES DE NÍSPERO

País	Toneladas
India	3.700.000
Filipinas	3.600.000
Indonesia	2.000.000
China	1.675.192
Colombia	1.120.000
Tailandia	704.000
Pakistán	468.500
Brasil	335.000
Bangladesh	267.000
Perú	253.179

Fuente: FAO

Taxonomía ⁽¹⁷⁾

División: Magnoliophyta.

Clase: Magnoliopsida.

Subclase: Rosidae.

Orden: Rosales.

Familia: Rosaceae.

Género: Eriobotrya

Especie: *Eriobotrya japonica*

Es un arbusto grande, de hoja perenne, con copa redondeada, tronco corto y corteza gris agrietada. Su altura es de 5 a 10 m, pero a menudo inferior a 3-4 m. Las hojas crecen alternativamente, de 10 a 25 cm de largo, la superficie superior es de color verde oscuro, elíptica, aterciopelada y lisa, con nervaduras prominentes.

El período de floración es a finales de otoño o invierno (octubre a febrero), los frutos maduran de abril a junio. Las flores miden unos 2 cm de diámetro, son blancas y tienen 5 pétalos. Los frutos se recogen en grupos, pueden ser ovalados, redondos o en forma de pera, de 3 a 5 cm de largo, piel lisa o peluda, de color amarillo o naranja, a veces ligeramente rojo. La carne queda jugosa; agrio, dulce o ligeramente ácido según la variedad. Cada fruto contiene cinco óvulos, de los cuales de tres a cinco maduran y se convierten en grandes semillas de color marrón. La piel de la fruta madura se puede quitar con la mano.

Condiciones de cultivo ⁽¹⁸⁾

Las hojas de la planta se recolectan en la ciudad de Ica. Es necesario recolectar hojas de plantas orgánicas que no utilicen pesticidas.

Es un árbol siempre verde de tamaño pequeño a mediano (5 a 8 m de altura), perteneciente a la familia Rosaceae y Género: Eriobotrya, que incluye importantes árboles frutales como manzanos, perales, membrillos y tejocote.

Hojas. Crecen con mayor frecuencia en las ramas a medida que avanza el año; son grandes, lanceoladas, de 12 a 30 cm de largo y de 5 a 8 cm de ancho, alternas, casi sésiles, coriáceas, ásperas, con dientes distales, haz brillante, verde oscuro, envés verde oscuro; nervaduras laterales que

sobresalen. Aunque es un árbol de hoja perenne, la caída natural de las hojas se produce durante la germinación, principalmente en los brotes de dos y tres años.

PROPIEDADES:

PROPIEDADES ANTIOXIDANTES: Ayuda a eliminar los radicales libres del organismo y neutralizar sus efectos nocivos. ⁽¹⁸⁾.

PROPIEDADES MUCOLÍTICAS: Actúa como mucolítico natural y hace que las secreciones bronquiales y nasales sean más líquidas y mejor excretadas. ⁽¹⁸⁾.

PROPIEDADES DESINTOXICANTES: Mejora la capacidad del hígado para eliminar sustancias tóxicas del cuerpo. Las semillas de níspero tostadas, trituradas y agregadas al jugo de frutas tienen propiedades para disolver los cálculos biliares. ⁽¹⁹⁾.

PROPIEDADES ANTIINFLAMATORIAS: Alivia la inflamación de la piel causada por erupciones aplicando el té sobre la piel inflamada. ⁽¹⁹⁾.

PROPIEDADES INMUNOLÓGICAS. Mejora la inmunidad y suele ser útil para prevenir la recurrencia de la cistitis. ⁽¹⁵⁾.

PROPIEDAD ANTIBACTERIANA. Tiene actividad antibiótica contra bacterias como *Escherichia coli* ⁽¹⁶⁾.

OTRAS. También mejora el control de la diabetes al estimular la producción de insulina.

ANÁLISIS FITOQUÍMICOS

Se han realizado varios estudios sobre la composición química de *E. japonica*, especialmente de sus hojas, de las que se han aislado y caracterizado más de 50 compuestos. ⁽¹⁷⁾.

Tabla N° 1

PRINCIPALES COMPUESTOS AISLADOS DE LAS

HOJAS DE NÍSPERO

Órgano	Compuestos químicos	Referencia
Hojas	<p>Aceites esenciales: nerolidol (61~ 74%), farnesol, α-pineno, β-pineno, camfeno, β-mirceno, p-cimeno, óxido de linalool, α-ilangeno, α-farneseno, canfor, nerol, geraniol, α-cadinol, cis-β, γ-hexenol;</p> <p>Sesquiterpenos: loquatifolín A, derivados glicosilados de nerolidol e isohumbertiol (más de ocho, aislados y caracterizados);</p> <p>Ácidos triterpénicos: ursólico, corosólico, oleanólico, euscáfico, pomólico, tormético, metil ursolato, 3-epicorosólico, 1β-hidroxieuscáfico, maslínico, metil arjunolato, betunílico, hiptadiénico, entre otros;</p> <p>Flavonoides: hiperósido, rutín, kaempferol, quercetina y sus derivados (más de 15, aislados y caracterizados).</p>	<p>Yanagisawa <i>et al.</i>, 1988</p> <p>De Tommasi <i>et al.</i>, 1990, 1992</p> <p>Chen & Li, 2008</p>
Cáscara del fruto	Flavonoide: loquatósido	Agrawal & Misra, 1980
Fruto	Enzima: polifenol oxidasa	Sélles <i>et al.</i> , 2006
Semilla	Bencenoide: amigdalin; Aminoácido: 4 -metilenprolina	Kato, 1986; Gray & Fowden, 1972

Fuente: Huang et al., 200

Antioxidantes

El término "antioxidante" se utilizó originalmente para referirse a una clase de sustancias químicas que previenen el consumo de oxígeno. A finales del siglo XIX y principios del XX, se dedicaron extensas investigaciones al uso de antioxidantes en importantes procesos industriales, como la prevención de la corrosión de metales, la vulcanización del caucho y la polimerización de combustibles en el lugar en la formación de escoria en motores de combustión interna (Matill, H.A. 1947).

Se entiende por antioxidante: "cualquier sustancia que presente en concentraciones bajas en comparación con la del sustrato oxidable (molécula biológica) retardará, inhibirá o impedirá la oxidación de este sustrato; y desde el punto de vista biológico, es cualquier compuesto que pueda proteger a los organismos vivos contra factores que causan daño oxidativo" (Halliwell, B. and Gutteridge. J.M.C. 2007). Los antioxidantes se utilizan ampliamente como suplementos dietéticos

con la esperanza de mantener la salud y prevenir enfermedades como el cáncer y las enfermedades coronarias. Además de las aplicaciones médicas, los antioxidantes también tienen muchas aplicaciones industriales, como la conservación de alimentos, cosméticos y la prevención de la descomposición del caucho y el petróleo (Castro Dantas, T.N. et al. 2003; Huang, D. et al. 2005). Aunque las reacciones de oxidación son importantes para la vida, también pueden ser perjudiciales; por tanto, las plantas y los animales mantienen sistemas complejos de diversos antioxidantes, como el glutatión, la vitamina C y la vitamina E, además de enzimas como la catalasa, la superóxido dismutasa y diversas peroxidasas. Los niveles bajos de antioxidantes o la inhibición de las enzimas antioxidantes causan estrés oxidativo y pueden dañar o matar las células (Vickers, T. 2007).

Sistemas antioxidantes

El sistema antioxidante se utiliza en el organismo fisiológico para proteger contra los radicales libres, donde existen muchos compuestos de diferentes estructuras, como enzimas antioxidantes (superóxido dismutasa, catalasa, peroxidasa, etc.), antioxidantes endógenos de bajo peso molecular (glutatión, ácido úrico, etc.), antioxidantes exógenos. ⁽²¹⁾.

Clasificación de los antioxidantes

No existe un criterio único para clasificar los antioxidantes, ya que algunos antioxidantes actúan a través de diferentes mecanismos. La literatura reporta varias formas de clasificación a saber:

- Clasificación según fuente de origen En esta clasificación encontramos antioxidantes naturales y sintéticos. Los antioxidantes naturales se obtienen de plantas y animales. Los antioxidantes naturales incluyen carotenoides y polifenoles como ácidos fenólicos, flavonoides, ácido hidroxibenzoico y ácido hidroxicinámico (Tsao, R. and Dengb. Z. 2004) y, antioxidantes sintéticos, principalmente compuestos fenólicos con diversos grupos alquilo, tales como hidroxianisol butilado (BHA), hidroxitolueno butilado (BHT), terc-butilhidroquinona (TBHQ) y galato de propilo (PG); en el que la estructura de compuestos de este tipo permite la donación de protones a radicales libres (Ramalho, V.C. and Jorge, N. 2006)
- Clasificación según modo de acción. En esta clasificación, los antioxidantes se dividen en preventivos, bloqueadores de cadenas (eliminadores de radicales libres) y regenerativos. (Tabla N° 2).

TABLA N° 2

Clase	Modo de Acción
Antioxidantes preventivos	Quenchers o desactivadores de 1O_2 , Quelantes. Reductores.
Bloqueadores de cadena	Quenchers o atenuadores de radicales, Scavengers o secuestradores de radicales

Tabla 2. Clasificación de antioxidantes según origen. (Fuente: Autor)

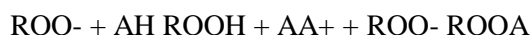
- Clasificación según acción en organismos vivos. Los organismos vivos han desarrollado varias estrategias para proteger las células contra procesos relacionados con ERO's mediante la acción de antioxidantes, cuya actividad disminuye con el tiempo. Dentro de esta categoría, los antioxidantes se agrupan en tres sistemas. (Sánchez, R.M.; 1998)

Medición de la actividad antioxidante ⁽²¹⁾

La actividad antioxidante de una muestra no se puede determinar únicamente mediante pruebas. En la práctica, se utilizan muchos modelos de pruebas in vitro diferentes para evaluar la actividad antioxidante de una muestra determinada; sin embargo, cabe señalar que los modelos tienen diferentes variaciones, lo que puede dificultar la comparación de los resultados de un método con otro.

Según las reacciones químicas, la mayoría de las pruebas de capacidad antioxidante se pueden dividir en dos categorías:

- 1) Ensayos basados en la reacción por transferencia de átomos de hidrógeno (HAT).



- 2) . Ensayos basados en la reacción por transferencia de electrones (ET).

Los ensayos de transferencia de electrones (ET) implican reacciones redox con un agente oxidante como indicador del punto final de la reacción. La mayoría de los ensayos basados en HAT monitorean la cinética de una reacción competitiva, que a menudo incluye un generador de radicales libres sintético, un ensayo de molécula oxidable y un antioxidante. Los ensayos basados en HAT y ET están diseñados para medir la capacidad de eliminación de radicales libres de una muestra, no su capacidad de bloqueo de antioxidantes.

TABLA N°3

ENSAYO	CATEGORIA
Ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico (ABTS ^{**})	Ensayos basados en la transferencia de electrones (ET)
1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH [*])	
Poder de reducción antioxidante del hierro (FRAP)	
N,N- dimetil-p-fenilendiamina (DMPD)	
Capacidad de reducción antioxidante del cobre (CUPRAC)	
Capacidad de absorción del radical oxígeno (ORAC.)	Ensayos basados en la transferencia de átomos de hidrógeno (HAT)
Parámetro antioxidante de captura de radicales (TRAP).	
Inhibición de la oxidación del ácido linoleico.	
Inhibición de la oxidación de los lípidos de baja densidad	

Tabla 4. Clasificación de los modelos de ensayo in vitro según su modo de reacción ET o HAT. (Fuente: Huang et al., 2005).

En los últimos años se han aplicado diversos métodos espectrofotométricos para medir la capacidad antioxidante de alimentos, muestras biológicas y extractos de plantas. Las pruebas de antioxidantes in vitro suelen utilizar eliminadores de radicales libres y son relativamente sencillas de realizar. Entre las pruebas de eliminación de radicales libres, el método DPPH^{*} es el más rápido, el más sencillo (no requiere muchos pasos) y se caracteriza por el menor coste en comparación con otros modelos. Por otro lado, la prueba de cambio de color ABTS^{*} se puede aplicar a antioxidantes hidrófilos y lipofílicos. Por tanto, estos dos métodos son los más utilizados.

- **Ensayo de decoloración del radical 1-1-difenil-2- picrilhidrazilo (DPPH^{*})** ⁽¹⁹⁾

Este método fue propuesto por Blois (1958), quien demostró por primera vez la capacidad del radical libre DPPH^{*} para aceptar un átomo de hidrógeno (H) de una molécula de cisteína. Se sabe que la molécula de 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH^{*}) es un radical libre estable debido a la localización del electrón desapareado en toda la molécula, evitando que la molécula se convierta en un dímero como es el caso de la mayoría de los radicales libres. La deslocalización de electrones también realza el color púrpura intenso típico de los radicales libres, que se absorben en metanol a una longitud de onda de 517 nanómetros. Cuando la solución DPPH^{*} reacciona con un antioxidante que puede donar átomos de hidrógeno, el color púrpura desaparecerá. El cambio de color se controló espectrofotométricamente y se utilizó para determinar los parámetros de las propiedades antioxidantes.

Los resultados del estudio DPPH^{*} se han presentado de diversas formas. En la mayoría de los estudios, los resultados se expresan como la concentración inhibidora máxima (IC50), definida como la cantidad de antioxidante necesaria para reducir la concentración inicial de DPPH^{*} en un 50%. Este

valor se calculó trazando el porcentaje de inhibición versus la concentración del extracto. En el caso de extractos de plantas o compuestos puros, el valor IC50 varía dependiendo de la concentración final de DPPH* utilizada (Deng et al. 2011). El ensayo DPPH* tiene algunas desventajas que limitan su aplicación, entre estas se encuentran:

- A menudo se producen diferencias en los mecanismos de reacción entre los radicales antioxidantes y los radicales peroxi.
 - DPPH* es un radical de nitrógeno de larga vida, no relacionado con los radicales peróxido transitorios y altamente reactivos involucrados en la peroxidación lipídica. Muchos antioxidantes que reaccionan rápidamente con los radicales peróxido reaccionan lenta o neutramente con el DPPH*. Esto se refleja en el tiempo necesario para determinar la IC50, que oscila entre 1,15 minutos (ácido ascórbico) y 103 minutos (rutina).
 - La respuesta cinética entre DPPH* y los antioxidantes no es lineal con la concentración de DPPH*, por lo que medir la capacidad antioxidante usando IC50 es arbitrario.
- **Ensayo de decoloración con el radical catiónico Acido 2,2'- Azino-bis-3-Etilbenzotiazolin-6-Sulfónico (ABTS*+)**

Método recomendado por Miller, Nueva Jersey. y otros. En 1993, confió en la capacidad antioxidante del ABTS* para unir aniones radicales de larga duración. En la prueba ABTS* es oxidado por radicales peróxido, persulfato de potasio (RE 1999) y peróxido de hidrógeno (Villano, D. et al. 2004), peroxidasa de rábano picante (Labrinea, E.P. y Georgiu, CA; 2004) u otro oxidante para producir el radical catión ABTS*, que es de color verde oscuro y, cuando se mide, los compuestos antioxidantes reaccionan directamente para reducir el color del catión radical ABTS*, los resultados obtenidos se expresaron en términos de inhibición y se normalizaron a la concentración relativa de Trolox, por lo que el método se denomina capacidad antioxidante equivalente de Trolox (TEAC). Este radical es soluble en medios polares y no polares y no se ve afectado por la fuerza iónica, por lo que evalúa los antioxidantes hidrófilos y lipófilos de extractos de plantas y fluidos biológicos (Huang, D. et al. 2005; Roginsky, V. and Lissi, E.A. 2005; Prior, R.L.; et al. 2005). La generación del radical ABTS* es la base de uno de los métodos espectrofotométricos utilizados para medir la actividad antioxidante total de soluciones o sustancias puras y mezclas acuosas. La prueba ABTS* original se basó en la activación de la metilmioglobina mediante peróxido de hidrógeno en presencia de ABTS para formar cationes radicales en presencia o ausencia de antioxidantes. Esto ha sido criticado porque la rápida reacción de los antioxidantes promueve la reducción de radicales de ferrilmioglobina. Un método de prueba más adecuado es el método de decoloración, que produce el radical 23 directamente en forma estable antes de reaccionar con los antioxidantes (Re et al., 1998).

El radical ABTS* es más adecuado para estudiar compuestos coloreados como las antocianinas porque reduce la posibilidad de interferencia de compuestos coloreados que se absorben en el rango

visible o de compuestos producidos en reacciones secundarias. Además, se ha confirmado que el radical derivado químicamente (persulfato de potasio) es estable, repetible y una alternativa económicamente más viable.

La capacidad antioxidante se calcula como el porcentaje de captación DPPH*, según la fórmula de (Yen and Duh.et al., 1994) (ecuación 1):

$$\begin{array}{l} \% \text{ de captación DPPH}^* \\ \% \text{ de captación ABTS}^{**} \end{array} = \frac{A_{\text{inicial}} - A_{\text{final}}}{A_{\text{inicial}}} \times 100 \quad (\text{Ecuación 1})$$

Donde A inicial significa la absorbancia de control a los 0 min y A final significa la absorbancia del antioxidante a los 10 min. La tasa de absorción de DPPH* es proporcional a la concentración de antioxidante y a la concentración que reduce la concentración inicial de DPPH*. Muchos antioxidantes que reaccionan rápidamente con los radicales peróxido pueden reaccionar lentamente o incluso de forma neutra con el DPPH* debido al impedimento estérico.

POLIFENOLES

A) DEFINICIÓN

Se trata de compuestos químicos con un anillo de benceno y al menos uno de sus átomos de hidrógeno sustituido por un grupo hidroxilo. Forman uno de los grupos más grandes de metabolitos secundarios en las plantas. Estos compuestos son esenciales para su fisiología ya que contribuyen a su morfología, crecimiento y reproducción. Además, los polifenoles participan en los mecanismos de defensa de las plantas frente a factores externos, como la radiación ultravioleta y la agresión de patógenos y depredadores.²²

B) IMPORTANCIA DE LOS POLIFENOLES

En los últimos años se ha observado que tienen efectos beneficiosos en el desarrollo de diversas enfermedades asociadas al estrés oxidativo (cáncer, enfermedades cardiovasculares y enfermedades neurodegenerativas). Los polifenoles parecen tener muchas otras actividades biológicas de gran importancia para la salud; por lo tanto, se describe que tienen efectos antiinflamatorios, antivirales, antibacterianos, antitrombóticos y anticancerígenos.^{23,24}

C) CLASIFICACIÓN Y ESTRUCTURA DE LOS POLIFENOLES.

Incluyen una amplia variedad de moléculas, desde compuestos altamente polimerizados hasta moléculas simples con un anillo fenólico en su estructura, como alcoholes y ácidos fenólicos.

Las principales clases de polifenoles en los alimentos son: flavonoides, ácidos y alcoholes fenólicos, estilbenos y lignanos.

Flavonoides.

Este es el grupo más común en las plantas y actualmente se han identificado más de 4.000 compuestos diferentes. Su estructura química común es difenilpropano (C6-C3-C6) y consta de dos anillos

aromáticos (A y B) conectados por tres átomos de carbono formando un heterociclo que contiene oxígeno (anillo C).

Dependiendo del grado de oxidación de la cadena de átomos de carbono, los flavonoides se pueden dividir en muchas subclases diferentes, las más típicas son: flavonoles, flavonas, flavanonas, isoflavonas, antocianidinas y flavanoles (catequina y proantocianidina). Normalmente, los flavonoides se encuentran junto con varios carbohidratos o ácidos orgánicos, aunque a veces se encuentran como aglicona en las plantas.

Los flavonoles son el grupo de flavonoides más abundante en los productos vegetales y su componente principal es la quercetina. Se encuentran comúnmente en los alimentos en su forma glicosilada y el principal azúcar al que se unen es la glucosa o ramnosa. Las flavonas son los flavonoides menos comunes en el reino vegetal e incluyen principalmente glucósidos de luteolina y apigenina, como el perejil y el apio como única fuente importante de alimento. Además, la piel de la fruta también contiene una gran cantidad de flavonas gomoxiladas (tangeretina, nobiletina y sinensetina). Las flavanonas se caracterizan por la presencia de una cadena saturada de tres átomos de carbono y un átomo de oxígeno en C4. Entre los alimentos que contienen altas concentraciones de flavanonas se encuentran los cítricos, aunque también se pueden encontrar en el tomate y algunas plantas aromáticas como la menta. Entre los distintos representantes de las flavanonas, es necesario distinguir la naringenina, que se encuentra principalmente en el pomelo, la hesperetina en las naranjas y el eriodictiol en los limones; aunque las flavanonas se encuentran a menudo en los alimentos en forma glicosilada, como la hesperidina (conjugado de rutinosa y hesperetina). Se informa que el jugo de naranja contiene de 470 a 761 mg/l de hesperidina. Las isoflavonas son químicamente similares a los estrógenos y pueden unirse a los receptores de estas hormonas, por lo que se clasifican como fitoestrógenos. En los alimentos, las isoflavonas pueden existir como agliconas o, más comúnmente, como conjugados de glucosa. Las principales isoflavonas son la genisteína, la daidzeína y la gliciteína, que se encuentran casi exclusivamente en las legumbres, siendo la principal fuente de isoflavonas en la dieta humana la soja y sus productos. Las antocianidinas (pelargonidina, malvidina, cianidina) son pigmentos solubles que dan la mayoría de los colores rojo, azul y morado de frutas, verduras, flores y otros tejidos o alimentos vegetales. Las antocianidinas se encuentran a menudo en las plantas como glucósidos (antocianinas) porque las agliconas son muy inestables. Las antocianidinas se encuentran en el vino tinto, algunos cereales y algunas verduras, aunque son especialmente abundantes en las frutas. El contenido de antocianidinas en los productos alimenticios suele ser proporcional a la intensidad del color; en grosellas y arándanos puede alcanzar valores de hasta 2-4 g/kg de peso húmedo. Los flavanoles se encuentran naturalmente como monómeros (catequinas) y polímeros (proantocianidinas o taninos condensados). A diferencia del resto de los flavonoides, los flavanoles son los únicos que no aparecen en forma glicosilada en los alimentos y se distinguen dos clases:

La catequina y la epicatequina (EC) son los flavanoles que se encuentran con mayor frecuencia en las frutas, mientras que la galocatequina, la epigalocatequina (EGC) y el galato de epigalocatequina (EGCG) se encuentran en algunos frijoles, uvas y principalmente en el té. Las proantocianidinas son flavanoles responsables de las propiedades astringentes de determinadas frutas (uvas, manzanas, bayas, etc.) y bebidas (vino, sidra, té, cerveza, etc.), así como del sabor amargo del chocolate. Debido a que es difícil evaluar el contenido de proantocianidinas en los alimentos debido a la gran diversidad de sus estructuras y pesos moleculares, la literatura sólo contiene datos sobre catequinas y dímeros, que son tan numerosos como las catequinas mismas.^{25,26,27}

Ácidos fenólicos.

El ácido hidroxibenzoico (como el ácido gálico y el ácido protocatecuico) se encuentra en muy pocos alimentos vegetales y está poco estudiado. Estos compuestos forman parte de una estructura compleja como son los taninos hidrolizables.

El contenido de ácido hidroxibenzoico en algunas plantas comestibles es relativamente bajo, a excepción de los frutos rojos como las bayas, que pueden alcanzar los 270 mg/kg de peso fresco. El té verde también es una fuente importante de ácido gálico y sus hojas pueden contener hasta 4,5 g/kg de peso fresco. Por el contrario, las frambuesas y el aceite de oliva pueden contener hasta 100 mg y 0,22 mg de ácido protocatecuico por kilogramo de peso fresco, respectivamente.^{25,26}.

Los ácidos hidroxicinámicos

Son más comunes que el ácido hidroxibenzoico. Los principales representantes de este grupo son el ácido cumárico, el ácido cafeico y el ácido ferúlico. Normalmente, estos ácidos están glicosilados o forman ésteres con el ácido quínico, el ácido shikímico o el ácido tartárico en los alimentos. La combinación de los ácidos cafeico y quínico produce ácido clorogénico (CGA), que se encuentra en muchas frutas, especialmente en el café. (una taza de café de 128 ml puede contener entre 70 y 350 mg de CGA). Por su parte, el ácido ferúlico se encuentra más comúnmente en los cereales y en los granos de trigo, su contenido puede oscilar entre 0,8 y 2 g/kg de materia seca (90% del contenido total de polifenoles).^{25,26}

Alcoholes fenólicos.

El tirosol (4-hidroxifeniletanol) y el hidroxitirosol (3,4-dihidroxifeniletanol) son miembros principales del grupo de los alcoholes fenólicos. El tirosol también se encuentra en bebidas como el vino tinto, el vino blanco y la cerveza.

Estilbenos.

Los estilbenos se encuentran en pequeñas cantidades en la dieta humana y el compuesto fenólico más representativo de este grupo es el resveratrol. En los alimentos, el resveratrol existe principalmente

en forma glicosilada y se encuentra en grandes cantidades en la piel de las uvas rojas (50-100 g/g. kg de peso neto), respaldado en gran medida por la elevada concentración de resveratrol en el mosto y el vino tinto, alcanzando 0,3-7 mg de agliconas/l y 15 mg de glucósidos/l.

Lignanos.

El lignano se forma por la desoxidación de dos unidades de fenilpropano. La mayoría de estos compuestos se encuentran en la naturaleza en forma libre, mientras que los derivados glicosilados son una minoría.^{25,26}

D) BIODISPONIBILIDAD Y METABOLISMO.

La biodisponibilidad se puede describir de muchas maneras diferentes. La definición comúnmente aceptada es la proporción de nutrientes que normalmente se digieren, absorben y metabolizan. El concepto de biodisponibilidad es importante porque los polifenoles más abundantes no siempre son los más activos en el organismo, ya sea porque tienen menor actividad intrínseca o baja absorción intestinal o se metabolizan rápidamente o se eliminan del organismo. En general, el metabolismo de los polifenoles se produce mediante una secuencia de reacciones comunes a todos ellos, similar a la desintoxicación metabólica a la que se someten muchos xenobióticos para reducir los potenciales efectos citotóxicos, aumentar las propiedades hidrofílicas y facilitar su excreción a través de la orina o la bilis. Estudios en animales de laboratorio han demostrado que algunos polifenoles como la quercetina, la daidzeína o la genisteína, pero no sus glucósidos, pueden absorberse directamente desde el estómago, al igual que algunas antocianidinas o ácidos fenólicos como el clorógeno. Sin embargo, los polifenoles restantes, que suelen ser resistentes a la hidrólisis por el ácido gástrico, llegan al intestino delgado sin cambios, donde sólo se absorben directamente las agliconas, algunos ácidos hidroxicinámicos conjugados y algunos glucósidos. El grado de glicosilación de los polifenoles afecta su absorción en el intestino. Primero deben ser hidrolizados por enzimas intestinales como la lactasa-floridina hidrolasa (hidrólisis extracelular) o la β -glucosidasa (hidrólisis intracelular).

Por tanto, los polifenoles glicosilados se absorben más fácilmente que los polifenoles con otras formas de glicosilación, como los conjugados con la molécula de ramnosa, que llegan al colon antes de su absorción e hidrólisis por las enzimas de la microbiota del colon. Durante la absorción, los polifenoles sufren reacciones de conjugación en los enterocitos y luego en los hepatocitos (metilación, sulfatación, glucuronidación y conjugación con glicina en el caso de algunos ácidos fenólicos). En general, los polifenoles ingresan a la sangre y a los tejidos de manera diferente a los que se encuentran originalmente en los alimentos. Diversos estudios in vivo (en humanos y animales) han demostrado que sólo el 5% de la dosis diaria total de polifenoles se absorbe en el duodeno, de los cuales sólo el 5%, principalmente flavanoles, llega al torrente sanguíneo sin alterar su estructura. El resto de todos los polifenoles absorbidos por el cuerpo (95%) van al intestino grueso, donde son

fermentados por la microflora del intestino grueso y producen metabolitos microbianos, que se absorben y aparecen en el plasma como un derivado conjugado. Una vez absorbidos y metabolizados, los polifenoles pueden regresar al duodeno a través de la circulación enterohepática, prolongando su presencia en el organismo. Finalmente, antes de ser excretados por la orina, los polifenoles circulan en el plasma unidos activamente a la albúmina y pueden ser absorbidos por los tejidos, especialmente aquellos donde se metabolizan (hígado, estómago, intestinos, colon y tejido renal), pero también pueden acumularse en tejidos diana específicos como el pulmón, el páncreas, el cerebro, el corazón y el bazo.^{26,28,29,30.}

E) POLIFENOLES Y SALUD.

Polifenoles e inflamación

Se ha informado que la quercetina y el resveratrol son agentes antiinflamatorios de los vasos sanguíneos, las lipoproteínas de baja densidad oxidadas (oxLDL) son las que desempeñan un papel clave en el inicio de la aterosclerosis al activar la señalización inflamatoria. Se encontraron reducciones significativas en los niveles intracelulares de óxido nítrico y sobreproducción de superóxido en células endoteliales de la vena umbilical humana tratadas con oxLDL, pero no con LDL. El desequilibrio redox se evitó mediante la suplementación con quercetina o resveratrol como moduladores de la respuesta inflamatoria, que redujeron al menos parcialmente la sobreexpresión de quimiocinas y moléculas de adhesión después del tratamiento con oxLDL. Los datos obtenidos de estos estudios demostraron que los polifenoles pueden influir en los procesos vasculares no sólo como antioxidantes sino también como moduladores de los circuitos de señalización redox inflamatoria.^{29,30}

Los polifenoles en enfermedades cardiovasculares

Algunos polifenoles (como los flavonoles y los flavanoles), cuando se toman como suplementos o se combinan con alimentos, pueden mejorar la salud y/o reducir el riesgo de estos trastornos. Los mecanismos poco investigados por los cuales los polifenoles pueden ser cardioprotectores incluyen la mejora de la función endotelial y la inhibición de la angiogénesis, la migración celular y la proliferación en los vasos sanguíneos. Se ha informado que el consumo de isoflavonas de soja reduce el riesgo de infarto de miocardio. En este estudio, las isoflavonas estuvieron presentes en las dietas de 40.500 mujeres posmenopáusicas (de 40 a 59 años), evaluando la incidencia de infarto cerebral y de miocardio. Los resultados mostraron que aumentar la ingesta de isoflavonas de soja reducía el riesgo de desarrollar cualquiera de estas enfermedades.^{29,30}

Polifenoles y diabetes

Se ha demostrado que los niveles bajos de antioxidantes en plasma están asociados con un mayor riesgo de desarrollar enfermedades, y muchas complicaciones de la diabetes que conducen a la

muerte del paciente están relacionadas con el estrés oxidativo, por lo que los antioxidantes se consideran candidatos para el tratamiento de esta enfermedad. El estrés oxidativo es causado por un desequilibrio entre la producción de (ROS) y su desintoxicación en los sistemas biológicos. Por lo tanto, hay buenas razones para el uso terapéutico de antioxidantes para prevenir las complicaciones de la diabetes. Los antioxidantes estudiados para reducir el estrés oxidativo en esta enfermedad incluyen la cianidina, que se encuentra en grandes cantidades en los frutos rojos. Las investigaciones muestran que consumir 100 g de polvo de arándano liofilizado, que contiene 1,2 g de antocianinas, aumenta significativamente los parámetros antioxidantes.^{29,30}

Polifenoles y cáncer

El origen y las causas de los diferentes tipos de cáncer aún no están claros, pero se sabe que los radicales libres como las ROS y el nitrógeno causan peroxidación lipídica, provocando diversos daños celulares que conducen al cáncer. Existe una fuerte relación inversa (negativa) entre el consumo de frutas y verduras y el riesgo de desarrollar ciertos tipos de cáncer. Por esta razón, durante décadas los investigadores han estado interesados en aislar compuestos que se encuentran en frutas y verduras para evaluarlos como potenciales agentes anticancerígenos. Los principales grupos de inhibidores cancerígenos incluyen los antioxidantes, de los cuales los más utilizados y estudiados son los polifenoles. La literatura informa que, compuestos como la quercetina, rutina, luteolina, miricetina, ácido rosmarínico y catequinas protegen el ácido desoxirribonucleico (ADN) contra el daño causado por especies reactivas de oxígeno. Otro compuesto importante es el resveratrol, que tiene eficaces propiedades anticancerígenas. El resveratrol se encuentra (en bajas concentraciones) en la piel de las uvas y en concentraciones más altas en el vino tinto. En varios estudios se ha informado que tiene algunas propiedades anticancerígenas al causar la muerte de las células cancerosas. Además, existe evidencia sólida de que las catequinas (epigallocatequina, catequina, epicatequina, etc.) que se encuentran en el té verde tienen importantes efectos anticancerígenos.^{30,31}

Polifenoles en desórdenes neurodegenerativos

Los beneficios que aportan los polifenoles, en función de sus propiedades antioxidantes, también han sido evaluados en el sistema nervioso central (SNC). Como se mencionó, los radicales libres causan peroxidación lipídica en las membranas celulares y causan disfunción neurológica y muerte, por lo que consumir antioxidantes puede inhibir la peroxidación. Este lípido se asocia con un riesgo reducido de ciertas enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer y el Parkinson.

Las investigaciones muestran que el extracto de fruta de guabía (nativo de América del Sur) contiene al menos cuatro sustancias polifenólicas que inhiben la acetilcolinesterasa, la enzima cuya sobreexpresión causa los efectos clínicos de la enfermedad de Alzheimer. Por lo tanto, los compuestos antioxidantes contenidos en la fruta de guabía podrían ser una fuente alternativa y potencial de moléculas bioactivas con propiedades antidegenerativas.³¹

Se ha informado que los compuestos catequina, epicatequina, quercetina y procianidina reducen la producción de ROS al aumentar la expresión y actividad de enzimas antioxidantes como la catalasa, la superóxido dismutasa, la glutatión reductasa y la glutatión peroxidasa, controlando así el equilibrio redox en el cuerpo.³¹

MARCO CONCEPTUAL

Estudio fitoquímico. Los métodos de análisis químico están dirigidos a la investigación para identificar metabolitos secundarios de especies vegetales. ⁽¹⁾.

Estudio químico bromatológico. Los métodos analíticos químicos tienen como objetivo estudiar la identificación y cuantificación de metabolitos importantes o componentes principales de materiales biológicos. (4).

Extracción: Esta es una operación de transferencia de masa que implica disolver uno o más componentes de una mezcla en un solvente selectivo. ⁽¹⁾.

Caracterización: Se trata de determinar las propiedades del material específico que se está probando. ⁽⁴⁾.

Características organolépticas. Estas son características del material que se analiza y que pueden ser determinadas por los sentidos. ⁽⁴⁾.

Características fisicoquímicas. Son características del material que se está analizando y que pueden determinarse mediante diferentes métodos de caracterización, dependiendo del nivel de interés del material. ⁽⁴⁾.

Aceite vegetal: Es una mezcla de compuestos de ácidos orgánicos con largas cadenas laterales, normalmente de 12 a 24 átomos de carbono. Algunos de ellos son saturados, otros insaturados, se obtienen principalmente de semillas u otras partes de las plantas, se acumulan en sus tejidos como fuente de energía. ⁽⁷⁾.

Solvente orgánico: Un compuesto químico orgánico líquido, muchos de los cuales tienen un punto de ebullición más bajo que el agua, que se usa solo o en combinación con otras sustancias para disolver sustancias insolubles en agua. ⁽⁹⁾.

Actividad antioxidante. Propiedad de algunos ingredientes o compuestos químicos de capturar electrones libres de los radicales libres. ⁽¹⁾.

Radical libre. Los compuestos químicos tienen electrones desapareados, lo que los hace extremadamente reactivos. ⁽¹⁾.

Caracterización. La atribución de uno o más atributos a esa característica. ⁽⁴⁾.

Cuantificación. Procedimiento que permite analizar el contenido de analito en una fracción y por lo tanto puede expresarse como porcentaje, ppm u otra unidad de medida. ⁽¹⁵⁾.

Fenoles. Compuestos químicos de naturaleza benceno en los que al menos un átomo de hidrógeno está sustituido por un radical oxidrilo. ⁽²⁶⁾

Flavonoides. Compuesto químico de propiedades fenólicas, formado por tres ciclos o anillos: dos bencenos y una lactona. ⁽²⁶⁾.

Concentración inhibitoria media. Es la cantidad, expresada en microlitros o microgramos, de un compuesto químico o extracto capaz de inhibir el 50% de la eliminación de los radicales libres DPPH con una absorbancia entre 0,970 y 1,030. ⁽¹⁾.

Porcentaje de inhibición. Es la cantidad, expresada en microlitros o microgramos, de un compuesto químico o extracto capaz de inhibir un porcentaje específico de la eliminación del radical libre DPPH sin la influencia de ningún otro antioxidante y se considera 100% de actividad de radical libre DPPH. ⁽¹⁾.

Estudio fitoquímico. Los métodos de análisis químico están dirigidos a la investigación para identificar metabolitos secundarios de especies vegetales. ⁽³⁾.

II. ESTRATEGIAS METODOLÓGICAS^{13,14,15,16,17}

2. 1. ASPECTOS METODOLÓGICOS

2.1.1. ENFOQUE DE INVESTIGACIÓN

El método científico para abordar y desarrollar los problemas que surgen y están presentes en el proceso de desarrollo social es la herramienta que nos permite seguir creando mejores condiciones de vida para la humanidad. La *Eriobotrya japonica* (níspero japonés) es una planta que se utiliza desde hace miles de años por sus propiedades medicinales, principalmente para curar dolores de cabeza y quitar malas vibras o para prevenir efectos negativos extremos o desafortunados, además de atraer todo lo bueno, mejorar la salud o el bienestar general de una persona. Su penetrante aroma ha sido probado recientemente para repeler insectos. Los aceites esenciales presentes en las plantas son los responsables del olor de la planta. A lo largo de la historia, han aparecido y seguirán apareciendo fenómenos y problemas en el proceso de desarrollo humano que las personas han aprendido y resuelto a través de la investigación. Hoy en día los pesticidas se utilizan a gran escala; obligando a los investigadores a buscar alternativas a este abuso, que daña las relaciones biológicas en nuestro entorno. El níspero es una planta aromática probada por sus propiedades insecticidas. No es una planta común, pero crece muy bien en nuestras condiciones y vale la pena empezar a estudiar el aislamiento y propiedades de sus aceites esenciales.

2.1. 2. TIPO DE INVESTIGACIÓN

Este estudio es de fundamental importancia ya que tiene como objetivo proporcionar información sobre qué métodos y procesos son los más adecuados para la extracción del aceite esencial de *Eriobotrya japonica* (Níspero). Según los hechos que permitieron obtener esta información, este fue un estudio transversal porque el estudio se realizó en un momento específico.

2.1.3. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

El trabajo desarrollado fue un diseño experimental cuantitativo orientado a encontrar la relación entre una variable independiente (hojas de níspero) en función de una variable dependiente (rendimiento y propiedades del aceite esencial).

2.1.4. POBLACIÓN Y MUESTRA

Población:

Todas las hojas de *Eriobotrya japonica* (níspero japonés).

Muestra:

15,0 kilos de hojas de *Eriobotrya japonica* (níspero japonés).

Criterio de inclusión:

- Hojas frescas pos cosecha
- hojas pos cosecha sin signos de deterioro

Criterio de exclusión

- Hojas de color diferente al verde
- Hojas con signos de deterioro físico o por insecto

2.2. TÉCNICA E INSTRUMENTO DE RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN

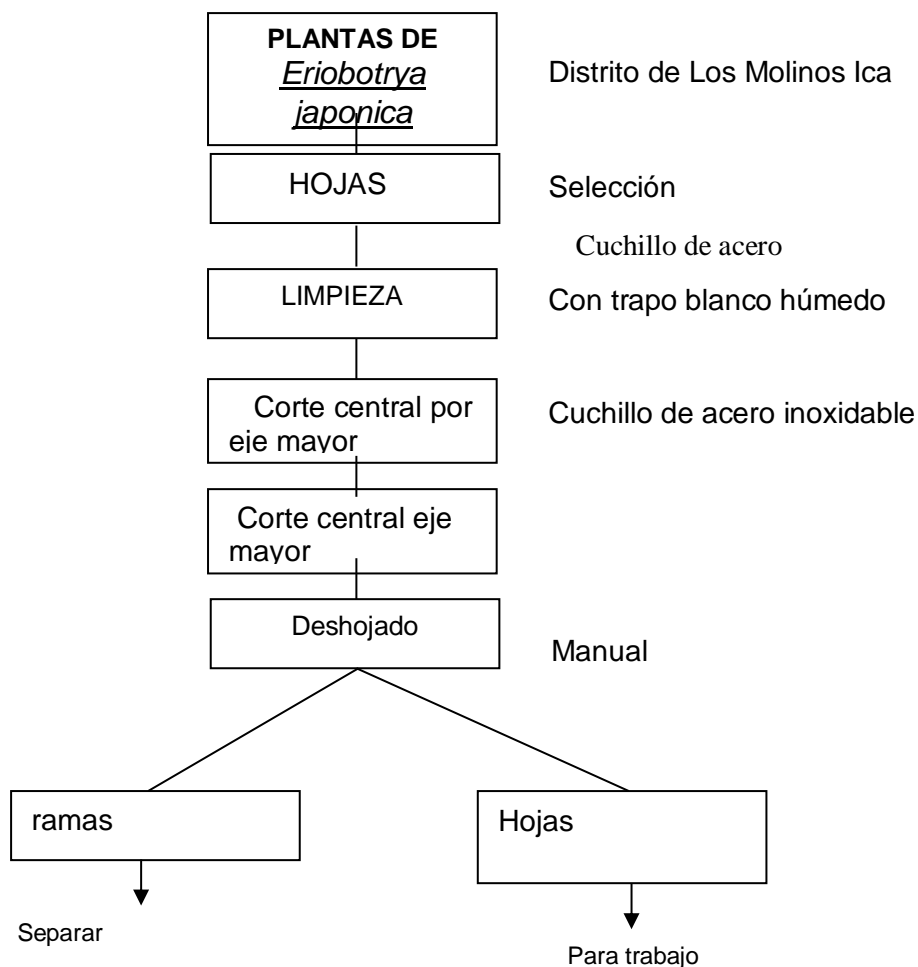
Los métodos de recolección de datos utilizaron entrevistas a los involucrados en la comercialización de la planta y revisiones bibliográficas para informarnos sobre los diferentes procesos de obtención y caracterización de los aceites esenciales.

2.3. TRATAMIENTO DE LA MUESTRA**A) Obtención de las hojas secas de *Eriobotrya japonica* “níspero”.**

Los procesos para obtener las hojas de *Eriobotrya japonica* se ilustran en el flujograma siguiente:

FLUXOGRAMA N° 01

PROCESOS PARA OBTENER HOJAS DE *Eriobotrya japonica* “níspero”



Las hojas se secarán a la sombra por 15 días y luego a la estufa a 55 – 60 °C hasta sequedad total e inmediatamente procederse a la molienda con molino manual.

B) CARACTERIZACIÓN DEL MATERIAL SECO Y MOLIDO ^(35,36,37)

1º. Análisis organoléptico

Color y aspecto. Se colocan 5,0 g de material seco y triturado sobre el cristal del reloj y se evalúa su color y apariencia después del contacto con los dedos en base a este criterio.

Sabor y olor. El material esparcido en la luna de reloj se utiliza para determinar su olor y sabor.

2°. Determinación de cenizas

Método: Se utilizó el método Gravimétrico.

Fundamento: Implica destilar la porción orgánica de la muestra a altas temperaturas, lo que da como resultado una porción mineral o ceniza que generalmente es de color blanco o gris.

Procedimiento:

-Se colocaron 5,0 g de muestra analítica y se transfirieron a una cápsula de masa conocida. La cápsula de muestra se colocó bajo calentamiento directo de una placa caliente hasta que se completó la carbonización. La cápsula que contenía el material carbonizado se colocó en una mufla graduada a una temperatura de 550-560°C y se mantuvo allí durante 2 horas. Se retira de la mufla, se pasa a un desecador para que se enfríe y se pesa. Este proceso se repite hasta obtener una masa constante.

Cálculo:

$$\% \text{ de Ceniza} = \frac{\text{g ceniza} \times 100}{5}$$

Donde:

% de Ceniza = g de ceniza en 100 g de muestra

g ceniza = g de ceniza que quedan

5 = g de muestra analizada

100 para referir a porcentaje

OBTENCIÓN DE EXTRACTOS ^(36,37)

A) OBTENCIÓN DE EXTRACTO ETANÓLICO

Se colocaron 50,0 g de material seco y molido en un matraz Erlenmeyer de 1000 ml y 400 ml de etanol a 96° y se añadió un sedimento magnético. Se colocó sobre una placa calefactora usando un agitador magnético y el control del dispositivo o de la placa calefactora se fijó a 50°C y se mantuvo durante 12 horas. Luego se filtra. Se guardó el líquido filtrado, se agregaron 300 ml de etanol al marco y se repitió la segunda extracción por otras 12 h; de donde se obtiene un segundo líquido filtrado, el cual se agrega al primer líquido y ambos se concentran hasta eliminar el solvente. El marco se desecha.

B) FRACCIONAMIENTO DEL EXTRACTO ETANÓLICO

Los procesos para la obtención de las fracciones del extracto etanólico se ilustran en el flujograma siguiente:

CARACTERIZACIÓN DE LOS EXTRACTOS

1°. Análisis organoléptico se determinó:

Color: Poner 3 g del extracto analizado en un tubo de ensayo, dejar reposar 5 minutos y evaluar.

Olor: Se colocaron 3 g del extracto ensayado sobre el cristal del reloj, se agitó con una varilla y se evaluó el olor.

Sabor: Con una cuchara de plástico, tome unos mg del extracto probado y póngalo en la boca para evaluar el sabor. El extracto no debe tomarse por vía oral.

Apariencia: Con base en valoraciones previas y palpación de la consistencia del extracto, se evaluó la apariencia.

2°. Análisis de metabolitos secundarios

Para esta parte del trabajo se utilizaron extractos etanólicos. Las sustancias se prepararon a una concentración de 100 mg/ml. Los métodos de precipitación y reacción de color se utilizan para determinar el tipo de compuestos químicos presentes en el extracto.

Las reacciones que se usaron fueron:

A. REACCIÓN DE CLORURO FÉRRICO: Para determinar compuestos fenólicos.

Procedimiento: Añadir 0,5 ml de solución de FeCl_3 al 5% a 2 ml de muestra. La aparición de azul, verde o negro se considera positiva. Se ensayó el extracto alcohólico o fracción A.

B. REACCIÓN DE GELATINA 1% EN NaCl 10 %: Para determinar taninos.

Procedimiento: Se colocó 3 ml de solución de gelatina al 1% en NaCl al 10% en un tubo de ensayo y se agregó 0,5 ml de muestra problema. La formación de un precipitado de color blanco o crema o turbidez indica la presencia de taninos. Se ensayó el extracto alcohólico o fracción A.

C) REACCIÓN DE SHINODA: Para determinar flavonoides.

Procedimiento: Se añaden entre 8 y 10 granos de limadura de magnesio a 1 ml de muestra analítica y luego se añaden 6 gotas de ácido clorhídrico concentrado. Esperar a que termine la reacción, añadir 1 ml de alcohol amílico, mezclar bien, reservar y observar el color de la fase amílico.

El resultado es positivo si aparece un color naranja o rojo. Se ensayaron las fracciones A y D.

D) REACCIÓN DE ROSEMHEIN: Para determinar leucoantocianidinas y/o catequinas.

Procedimiento: Poner 2 ml de la muestra de análisis en un tubo de ensayo, agregar 1 ml de HCl concentrado, ponerlo al baño maría hirviendo durante 15 minutos, sacarlo, dejarlo enfriar, luego agregar 2 ml de agua destilada y 3 ml de alcohol amílico. Se dejó durante 15 minutos, tras lo cual se observó el color de la fase amilo. Se considera positiva la aparición de color rojo oscuro a rosado en el caso de la leucoantocianidina y de color marrón en el caso de las catequinas. Se ensayaron el extracto en etanol y la fracción D.

E) REACCIÓN DE LIEBERMAN BUCHARD: Para determinar Esteroides y/o Triterpenoides

Se colocaron 5 ml de la muestra analítica en una cápsula cerámica y se concentraron hasta sequedad en un baño maría. Luego disolverlo en 3 ml de cloroformo y tomar la muestra.

Procedimiento: Disolver 2 ml de muestra en cloroformo, agregar 5 gotas de ácido acético, mezclar bien y agregar unas gotas de reactivo anhídrido acético/H₂SO₄ en una proporción de 50:1. La aparición de azul, verde o naranja se considera positiva.

Se ensayo la fracción B y C

F) REACCION DE BORNTRAGER: Para determinar Nafto y/o Antraquinonas.

Procedimiento: Añadir 2 ml de solución de NaOH al 10% a 2 ml de muestra, mezclar suavemente y observar el cambio de color de la fase acuosa. Se considera positivo cuando la fase acuosa se vuelve roja. Esto se hizo en la parte B.

G) REACCIONES DE DRAGENDORF, WAGNER, HAGER Y MAYER: para

Se procedió a ejecutar 4 reacciones sobre la fracción C. Las reacciones fueron:

Reacción de Dragendorff

Procedimiento

El extracto de prueba se aciduló con gotas de HCl al 1% y se agregaron 3 gotas de reactivo. La aparición de un precipitado naranja o rojo indica una reacción positiva.

Reacción de Wagner

Procedimiento

La muestra analizada se acidifica con una solución de HCl al 1% y se añaden 2-3 gotas de reactivo. Si aparece un precipitado marrón, indica una reacción positiva.

Reacción de Hager

Procedimiento

Se acidificaron 0,3 ml del extracto con HCl al 1% y se añadieron 3 gotas de reactivo. La aparición de un precipitado de color amarillo cremoso indica una reacción positiva.

Reacción de Mayer

Procedimiento

Se acidificaron 0,3 ml de muestra con HCl al 1% y se añadieron 3 gotas de reactivo. La aparición de un precipitado amarillo indica una reacción positiva con el reactivo.

H) PRUEBA DE FLUORESCENCIA. Para determinar cumarinas

Se realizó en el extracto etanólico y fracción B

Procedimiento: Se corta un papel filtro en tiras de 1.5 cm de ancho por 6 cm de largo. Para cada a extracto a ensayar se utiliza una tira de papel y se procede como sigue:

Utilice un lápiz para marcar ligeramente tres puntos espaciados uniformemente; en el primer y segundo punto, remoje 1 gota del extracto probado, en el tercer punto, 1 gota de KOH 0,5 M; se espera que estén secos; luego agregue 1 gota de KOH 0,5 M al primer lugar y espere a que se seque. luego se observa bajo luz ultravioleta con una longitud de onda de 366 nm. la aparición de fosforescencia en el primer punto indica la presencia de cumarina.

I) PRUEBA DE LA ESPUMA: Para determinar saponinas.

Se realizó en el extracto etanólico

Procedimiento: Poner 3 ml de extracto de prueba en un tubo de ensayo de 13 x 100, agregar agua destilada hasta 10 y agitar vigorosamente durante 1 minuto.

La presencia de saponinas estará indicada por la formación de espuma que durará 30 minutos y tendrá una altura mínima de 1 cm.

DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE FLAVONOIDES TOTALES ⁽³⁾

Se trabajó con las fracciones A y D, preparadas a concentraciones de 1,4% y 1,0% mg/ml, respectivamente.

A) MÉTODO DE TRICLORURO DE ALUMINIO

Fundamento: Los cationes de aluminio forman complejos estables con flavonoides en soluciones de metanol; provoca un cambio en la densidad óptica hacia longitudes de onda más largas y una mayor absorbancia. Sólo los flavonoides tienen esta propiedad, no otras sustancias fenólicas

B) REACTIVOS.

Solución de AlCl₃ al 10% en etanol 96°

Pesar 10,0000 g de tricloruro de aluminio y disolver cuantitativamente en etanol a 96° para obtener un volumen de 100 ml en el matraz.

-Solución madre de Quercetina 0.05%

Pesar 50 mg de quercetina y disolver cuantitativamente en etanol a 96° en un matraz de 100 ml.

C) PREPARACIÓN DE ESTÁNDARES DE QUERCETINA.

- A partir de la solución madre de quercetina, preparar 25 ml de soluciones estándar con concentraciones de 4,0, 8,0, 12,0, 16,0 y 20,0 mg de quercetina/100 ml de etanol 96.

-Preparación de acetato de potasio 1M

Pesar 0,1 mol de acetato de potasio y diluir con agua destilada hasta obtener 100 ml.

D) PROCEDIMIENTO PARA DETERMINAR EL CONTENIDO DE FLAVONOIDES EN LAS MUESTRAS ANALIZADAS

- Tomar 0,5 ml de cada muestra a analizar y mezclar con: 1,5 ml de etanol a 96°, 0,1 ml de solución de AlCl₃ al 10% en etanol, 0,1 ml de solución de acetato de potasio 1 M y diluir

agregando 2,8 ml de agua destilada. Dejar actuar 30 minutos. Luego lea a longitud de onda (λ) = 415 nm.

E) PROCEDIMIENTOS PARA OBTENER LAS CURVA DE CALIBRACIÓN DE LA REACCIÓN QUERCETINA TRICLORURO DE ALUMINIO.

-- El instrumento se calibró utilizando un blanco que no contenía ni muestra ni estándar, sino sólo disolvente y reactivo de etanol a 96°.

- Cada estándar contiene: 4, 8, 12, 16 y 20 mg de quercetina/100 ml. Como en el caso de las muestras analizadas, tomar 0,5 ml. La absorbancia de estos ensayos se utilizó para expresar los resultados de las muestras en términos de contenido de flavonoides equivalentes a quercetina.

E) CÁLCULOS

Utilizando el método de mínimos cuadrados y los resultados de la dependencia de la densidad óptica de la concentración estándar de la solución de quercetina, se obtuvieron los valores de las líneas a, b y m para determinar la concentración de flavonoides en las muestras conociendo sus absorbancias.

DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE ⁽³⁾

Para esta parte del trabajo se utilizó las fracciones A y D

A) MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO USANDO DPPH COMO RADICAL LIBRE

El 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH) es un químico radical y su concentración se reduce por la acción de captadores de radicales libres. Este proceso se mide utilizando un espectrofotómetro.

A) FUNDAMENTO

El método se basa en la reacción del radical libre DPPH (solución violeta) con compuestos unidos a electrones no apareados, lo que provoca una disminución de su concentración (pérdida de intensidad del color), monitoreada a una longitud de onda de 517 nanómetros.

B) PREPARACIÓN DE REACTIVOS ⁽³⁸⁾

Solución de DPPH

- Pesar 22,00 mg de reactivo y disolver en 100 ml de metanol. La solución preparada se almacena en un lugar protegido de la luz.

Solución Amortiguadora de Acetato pH 6

Para preparar 500 ml de ácido acético 0,1 M, diluir con agua destilada hasta un volumen de 1 litro y agregar 136,08 g de acetato de sodio trihidrato, medir el pH de la solución con un potenciómetro.

C) DETERMINACION DEL % INHIBICIÓN AL RADICAL DPPH

El porcentaje de inhibición de radicales libres DPPH es la concentración del extracto en microlitros que puede reducir la concentración de la solución estándar de radical libre 1,1 difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH) en la unidad porcentual adecuada. Tiene una absorción conocida del 100%.

D) SET DE TRABAJO PARA DETERMINAR LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE.

Los procedimientos para determinar el porcentaje de inhibición de radicales libres de DPPH se presentan en la siguiente tabla:

CUADRO N° 1
SET DE TRABAJO PARA DETERMINAR LA ACTIVIDAD
ANTIOXIDANTE.

Muestra	Ensayo	Muestra (ml)	Metanol (ml)	Solución buffer (ml)	Reactivo DPPH (ml)
Fracción A	1	0.1	8.4	1.0	0.5
	2	0.1	8.4	1.0	0.5
	3	0.1	8.4	1.0	0.5
Fracción B.	1	0.1	8.4	1.0	0.5
	2	0.1	8.4	1.0	0.5
	3	0.1	8.4	1.0	0.5
	3	0.1	8.4	1.0	0.5

Fuente: La autora de la tesis

Los reactivos se agregaron en orden de izquierda a derecha, se mezclaron completamente y se mantuvieron alejados de la luz durante 30 minutos; luego se lee en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 517 nm.

III. RESULTADOS

3.1. DEL MATERIAL ESTUDIADO

El material estudiado es la especie vegetal popularmente conocida como Níspero cuyo nombre científico es *Eriobotrya japonica*. He trabajado con muestras que crecen en el distrito de Los Molinos Ica.

3.2. DE LA OBTENCIÓN DE LA MUESTRA A ANALIZAR.

El peso promedio del peso de 10 plantas cuyos tamaños oscilaron entre 40- 60 cm de altitud fue de 9.65 kg. y desde aquí se retiran las hojas obteniéndose un peso de material fresco de 4.70 kg. Las hojas frescas se trozaron con cuchillo de acero inoxidable en pedazos de aproximadamente 2-3 mm de lado.

3.3. DE LAS CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DEL MATERIAL A ENSAYAR

Las características del material trozado se presentan en la tabla siguiente:

Tabla 5. Características organolépticas de las hojas frescas trozadas de *Eriobotrya japonica*

Característica organoléptica	Hojas frescas trozadas
Color	Verde intenso
Olor	Penetrante sui géneris
Sabor	Desagradable astringente
Aspecto	Grumoso

Fuente: La autora del trabajo

3.4. DE LA OBTENCIÓN DEL ACEITE ESENCIAL

A) POR HIDRODESTILACIÓN

Los resultados se exponen en la tabla siguiente:

Tabla 6. Rendimientos de obtención de aceites esenciales de *Eriobotrya japonica* por el método de hidrodestilación en diferentes tiempos de exposición al calor moderado y fuerte.

Tratamiento	Rendimiento (mL/100 g)
T1 Calor moderado 40 minutos	0.01
T2 Calor fuerte 40 minutos	0.04
T3 Calor moderado 80 minutos	0.08
T4 Calor fuerte 80 minutos	0.10
T5 Calor moderado 120 minutos	0.12
T6 Calor fuerte 120 minutos	0.18

Fuente: La autora del trabajo

A) POR ARRASTRE DE VAPOR

Los resultados se presentan en la tabla siguiente:

Tabla 7. Rendimientos de obtención de aceites esenciales de *Eriobotrya japonica* por el método de arrastre de vapor en diferentes tiempos de exposición al calor moderado y fuerte.

Tratamiento	Rendimiento (mL/100g)
T7 Calor moderado 40 minutos	0.02
T8 Calor fuerte 40 minutos	0.08
T9 Calor moderado 80 minutos	0.08
T10 Calor fuerte 80 minutos	0.21
T11 Calor moderado 120 minutos	0.16
T12 Calor fuerte 120 minutos	0.21

Fuente: La autora del trabajo

El mejor rendimiento de aceite esencial de *Eriobotrya japonica* a partir de hojas frescas, cortadas en trozos de 2-3 mm de cada lado, se obtiene mediante extracción con vapor a alta temperatura durante 80 minutos.

3.5. DE LAS CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS DEL ACEITE ESENCIAL

Esta parte del trabajo se realizó con el aceite esencial de *Eriobotrya japonica* obtenido por el método T10, es decir, el aceite se obtiene eliminando vapor bajo la influencia de alta temperatura durante 80 minutos.

Estas apreciaciones las presento en la tabla siguiente:

Tabla 8. Características organolépticas del aceite esencial de las hojas frescas de *Eriobotrya japonica* obtenido por arrastre de vapor.

Característica Organoléptica	Aceite esencial
Color	Amarillo
Olor	Fuerte sui géneris
Aspecto	Homogéneo, liquido untuoso
Sabor	Suigéneris

Fuente: La autora del trabajo

3.6 DE LAS CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS

Los resultados los presento en la tabla siguiente:

Tabla 9. Características fisicoquímicas del aceite esencial de las hojas frescas de *Eriobotrya japonica* obtenido por arrastre de vapor.

Característica	Aceite esencial
Rendimiento	0.21 %
Densidad	0.918
Indicé de refracción	1.4228
Solubilidad	Soluble en todas las proporciones al: hexano, metanol y etanol

Fuente: La autora del trabajo

3.7. DE LA DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

3.7.1 FRENTE AL RADICAL LIBRE DPPH

a) Porcentaje de inhibición

Los resultados se presentan en la tabla siguiente:

Tabla 10. Absorbancia del blanco, DPPH solo y aceite esencial de *Eriobotrya japonica*

MUESTRA (promedio de 3 determinaciones)	ABSORBANCIA	% DE INHIBICIÓN
DPPH	1.078	0.00
Aceite esencial	0.496	53.98

Fuente: La autora del trabajo

b) Curva de calibración DPPH versus ácido gálico para expresar como equivalente a mg ácido gálico/100 mL

Los resultados de las absorbancias de las soluciones patrón de ácido gálico los presento en la tabla siguiente:

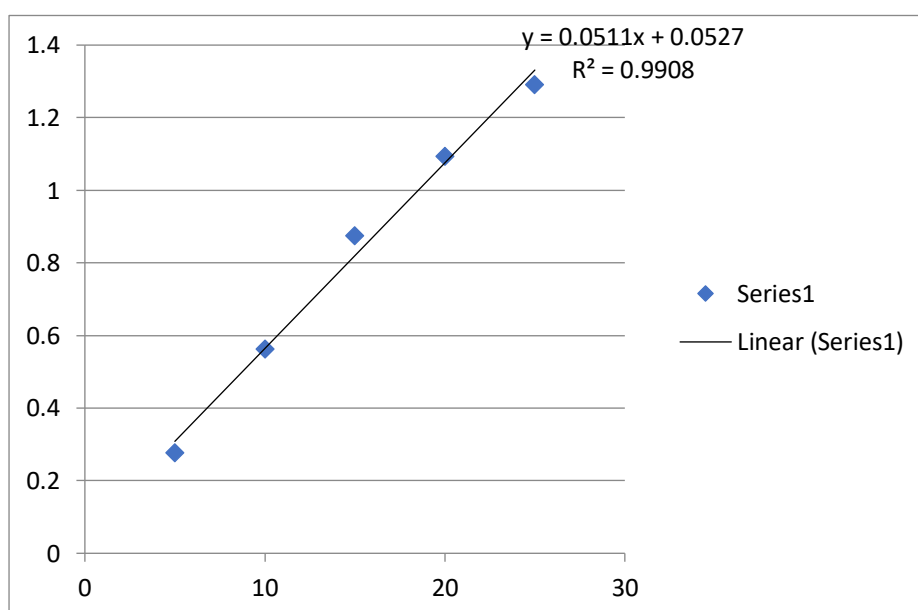
Tabla 11. Absorbancias de las soluciones diluidas de ácido gálico frente al DPPH

SOLUCION DE ÁCIDO GÁLICO	ABSORBANCIA
5 mg/100 mL	0.277
10 mg/100 mL	0.563
15 mg/100 mL	0.875
20 mg/100 mL	1.094
25 mg/100 mL	1.290

Fuente: La autora del trabajo

Estos datos se utilizaron para determinar los valores de azúcar y se utilizó el método estadístico de mínimos cuadrados para calcular la concentración de aceite de ruda expresada como mg equivalente de ácido gálico/100 ml.

Gráfico 2. Curva de calibración de la reacción entre soluciones patrón de ácido gálico y el radical libre DPPH



Fuente: La autora del trabajo

La muestra analizada tuvo una absorbancia de 0,496 unidades, correspondiente a una

concentración con efecto antioxidante equivalente a una solución de 8,66 mg de ácido gálico/100 ml.

c) Actividad antioxidante expresada como CI_{50}

Los resultados de las absorbancias para determinar la CI_{50} se presentan en la tabla siguiente:

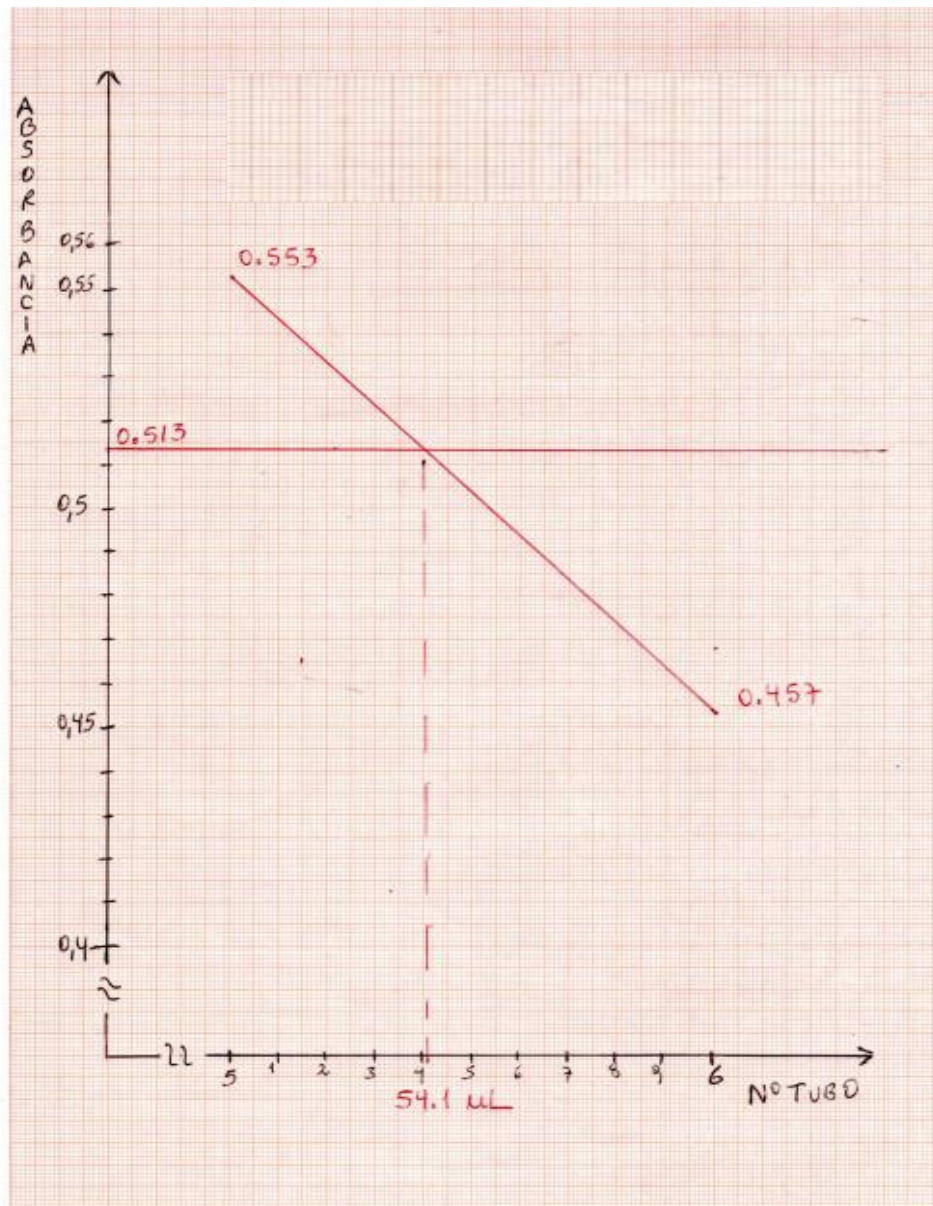
Tabla 12. Resultados de las absorbancias de diluciones de muestra a ensayar versus DPPH para determinar la CI_{50}

Muestra	Absorbancia
Blanco	0.022
DPPH solo	1.026
Tubo N°1	0.923
Tubo N°2	0.812
Tubo N°3	0.731
Tubo N°4	0.653
Tubo N°5	0.553
Tubo N°6	0.457
Tubo N°7	0.360
Tubo N°8	0.272
Tubo N°9	0.231
Tubo N°10	0.188

Fuente: La autora del trabajo

Estos datos se analizan para calcular el CI_{50} gráficamente en la Figura 3. Se puede ver que el CI_{50} se encuentra entre el tubo 5 y el tubo 6, respectivamente.

Gráfico 3. Determinación de la CI_{50} del aceite esencial de *Eriobotrya japonica* diluido con etanol 1:9 frente al DPPH



Fuente: La autora del trabajo

Mediante el método gráfico se determina que la CI_{50} del aceite esencial de *Eriobotrya japonica* diluido con etanol en la proporción 1:9 es de 54.1 microlitros.

3.7.2. FRENTE AL RADICAL LIBRE ABTS•+

1° Absorbancia del radical libre ABTS•+

La absorbancia del radical libre fue de 0.706

2° Absorbancias de las reacciones de soluciones patrón de trolox versus el radical libre de absorbancia conocida.

Los resultados se presentan en el cuadro siguiente:

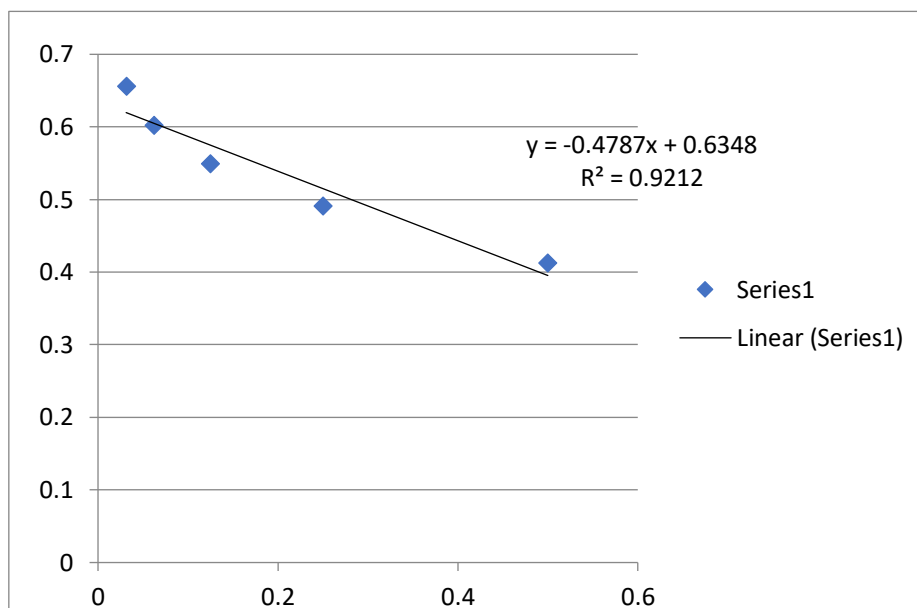
Tabla 13. Absorbancias de las soluciones patrones de trolox frente al radical libre ABTS•+

Solución de trolox mM	Absorbancia
0.0313	0.646
0.0625	0.581
0.125	0.514
0.250	0.456
0.500	0.394

Fuente: datos obtenidos por la autora del trabajo

Estos datos se sometieron a un análisis estadístico de mínimos cuadrados y se encontró que los valores de la línea eran: intercepto 0,6348, pendiente -0,4787 y R2 0,9212. Estos valores se utilizan para determinar la actividad antioxidante de la muestra de prueba en relación con la actividad de la solución estándar de antioxidante Trolox. La curva se presenta en el grafico siguiente:

GRÁFICO N°4. CURVA DE CALIBRACIÓN DE LA REACCIÓN ENTRE DILUCIONES DE SOLUCIONES PATRÓN DE TROLOX VERSUS EL RADICAL LIBRE ABTS.



Fuente: La autora del trabajo

3º Absorbancia y % de actividad antioxidante de la muestra.

El valor de absorbancia promedio de tres determinaciones es 0,434 y corresponde al 38,52% de la capacidad de inhibición de radicales libres del ABTS con una absorbancia de 0,706. La muestra de prueba tenía una actividad antioxidante equivalente a la solución de Trolox 0,4193 mM.

3.8. TABLA DE TAMIZAJE FITOQUIMICO

Prueba Fitoquímica	Grupo de Compuestos Detectados	Reactivo Usado	Resultados Positivos
Alcaloides	Alcaloides	Reactivo de Mayer	Precipitado blanco o amarillo claro
Flavonoides	Flavonoides	Prueba de Shinoda (Magnesio + HCl)	Cambio de coloración roja o amarilla

Taninos	Taninos	Cloruro férrico (FeCl ₃)	Coloración azul oscuro o verde intenso
Saponinas	Saponinas	Prueba de espuma (Agitación con agua)	Formación de espuma persistente
Esteroides y Terpenoides	Esteroides y Terpenoides	Reactivo de Liebermann-Burchard	Coloración verde o azulada
Fenoles	Fenoles	Reactivo de cloruro férrico (FeCl ₃)	Coloración azul o verde intenso
Quinonas	Quinonas	Prueba de Borntrager (NH ₄ OH)	Coloración roja
Antocianinas	Antocianinas	Prueba con ácido sulfúrico concentrado	Coloración roja
Carbohidratos Reductores	Azúcares reductores	Prueba de Benedict	Formación de precipitado rojo o verde
Proteínas	Proteínas	Prueba de Biuret	Cambio de coloración púrpura

IV. DISCUSIÓN

Se deberá evaluar el impacto ambiental de los procesos finales del proceso de fabricación.

El desarrollo descontrolado del complejo agroindustrial conducirá inevitablemente a un aumento de la cantidad de residuos agrícolas, que en nuestro medio ambiente no se utilizan con fines económicos, sino que se queman principalmente.

En la provincia de Ica, uno de los cultivos de gran importancia económica es *Eriobotrya japonica* (níspero japonés), especie vegetal de la familia de las Rosaceae, catalogada en el informe bibliográfico Medina J⁶ como una especie promisoría para la agricultura.

Al cuantificar el contenido total de polifenoles con el reactivo de Folin Ciocalteu en el extracto etanólico al 1,4% y la parte D del extracto etanólico al 1,0%, encontramos que el contenido total de polifenoles fue de 162,67 y 89, respectivamente, 19 mg (equivalente a ácido gálico) /100. ml.

El contenido de flavonoides determinado en nuestro estudio, que fue de 8,36 y 8,74 mg de flavonoides totales (calculados como quercetina) /100 ml para el extracto de vino y su fracción D, respectivamente, demostró que el D concentrado en el contenido de flavonoides o que la producción por este método puede Utilice flavonoides del extracto alcohólico extraído de las hojas de *Eriobotrya japonica*. En nuestro estudio, también determinamos la actividad antioxidante del extracto alcohólico y su fracción D y encontramos que fueron capaces de inhibir la actividad de los radicales libres DPPH en un 52,24% y 70,77% para inhibir la actividad del radical libre DPPH de una solución de DPPH de absorbancia 1,026.

La pérdida de intensidad del color, indicada por una disminución en la actividad de los radicales libres DPPH de 1,026 a 0,516 y 0,706, se debe a la acción de compuestos químicos capaces de capturar radicales libres.

V. CONCLUSIONES

- Características de las hojas secas y trituradas de *Eriobotrya japonica*: forma granular pulverulenta, color verde, olor suigeneris, sabor astringente, áspero, amargo. El contenido de cenizas es del 5,08%.
- La extracción del aceite esencial de las hojas frescas de *Eriobotrya japonica* mediante el método T10, que emplea alta temperatura y eliminación de vapor durante 80 minutos, demostró ser eficiente y práctico para obtener los compuestos volátiles característicos de esta especie. Este método permitió preservar en gran medida los metabolitos secundarios termoestables, aunque algunos compuestos sensibles al calor podrían haberse alterado. En conclusión, el método T10 es una alternativa viable para la extracción del aceite esencial, proporcionando una base sólida para futuras investigaciones químicas y biológicas.
- De 100 g de hojas de *Eriobotrya japonica* después de la cosecha, se obtuvieron 13,87 g de extracto alcohólico por el método de digestión 50-55°C dos veces por 12 horas. Tras el fraccionamiento de 10 g de extracto etanólico se obtuvieron 5,26 g de fracción B, 0,84 g de fracción C y 0,1,73 g de fracción D.
- En hojas postcosecha de *Eriobotrya japonica* se ha determinado la presencia de compuestos químicos fenólicos, taninos, flavonoides, cumarinas, triterpenos esteroides, catequinas, alcaloides y saponinas.
- El contenido total de polifenoles en la fracción obtenida a una concentración del 1,4% corresponde al contenido de solución de ácido gálico con una concentración de 162,67 mg de ácido gálico/100 ml de solución. Sin embargo, la parte D preparada a una concentración del 1% tenía un contenido total de polifenoles correspondiente al contenido de la solución de ácido gálico de 89,19 mg/100 ml. Para los mismos extractos, el contenido total de flavonoides fue de 8,36 y 8,74 mg de flavonoides totales, respectivamente, para la quercetina.
- La capacidad de inhibición de radicales libres DPPH del extracto etanólico y su fracción D fue de 52,24 y 70,77%, respectivamente.

VI. RECOMENDACIONES

- Investigación sobre el uso de metabolitos secundarios de las hojas de *Eriobotrya japonica* para proporcionar valor económico adicional a este subproducto.
- Implementar una base de datos de información obtenida de investigaciones realizadas en la región para organizar y proteger las investigaciones en curso.
- Aislar los componentes químicos de la fracción responsable de la prometedor actividad antioxidante de este extracto.
- Se debería considerar la evaluación de otras técnicas de extracción, como la hidrodestilación o métodos asistidos por microondas, que podrían minimizar la pérdida de compuestos termolábiles durante el proceso de obtención del aceite esencial, con el fin de maximizar la calidad y el rendimiento del producto final.
- Se aconseja también complementar el análisis fitoquímico con estudios de toxicidad y biodisponibilidad para garantizar la seguridad y eficacia de los compuestos extraídos, especialmente si se destinan a aplicaciones farmacológicas o nutracéuticas.
- Asimismo, se recomienda aprovechar la alta capacidad antioxidante y el contenido de compuestos bioactivos del extracto etanólico y sus fracciones para diseñar formulaciones naturales, como cremas, suplementos o medicamentos, que puedan ser utilizados en el tratamiento de enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo.
- Por último, se recomienda implementar investigaciones para determinar las condiciones óptimas de cultivo y manejo postcosecha de *Eriobotrya japonica* que permitan maximizar la acumulación de metabolitos secundarios, tales como polifenoles, flavonoides y saponinas, con el fin de mejorar su calidad como materia prima.

VII. FUENTES DE INFORMACIÓN

1. LOCK DE UGAZ, O. (1994)"Investigación Fotoquímica-Métodos en el Estudio de Productos Naturales"- 2da Ed. Edit. Pontificia Universidad Católica del PerúFondo.
2. Cruz AP, Hernández U. Y. Actividad antioxidante y compuestos fenolicos en hojas de Eriobotrya Japonica para la elaboracion de un te. [en línea]; 2012 [citado 2019 enero 02. Disponible en : <http://www.informatica.sip.ipn.mx/colmex/congresos/ixtapa/autoplay/docs/extensos/CIENCIA%20DE%20LOS%20ALIMENTOS/CAL441ENC20120131.pdf>
3. Rosas P.GY. Actividad antibacteriana del extracto metanólico y compuestos derivados de las hojas del níspero (eriobotrya japonica). [en línea]; 2015 [citado 2018 diciembre 20. disponible en: <http://132.248.9.195/ptd2015/enero/0724031/Index.html>
4. Erika A, Lopez L. Caracterización bioquímica del níspero (Eriobotrya japonica): Cinética de la polifenoloxidasa e identificación de compuestos fenolicos. [en línea].; 2010 [citado 2019 enero 11. Disponible en: https://handbook.usfx.bo/nueva/vicerrectorado/citas/SALUD_10/Bioquimica/36.pdf.
5. Brooks, G., Carroll, K., Butel, J., Morse, S., Mietner, T. Microbiología Médica. Manual moderno: México 2008.
6. Eduardo alberto martinez vega faculta de ciencias biologicas divis 1 estudios d e postgrado, a [en línea] 2010, agosto [citado: 1997 mayo de 1997] disponible en: <http://eprints.uanl.mx/511/1/1020121313.PDF>
7. Zorofchain s, Fadaeinasabad M, Nikzad S y col. Annona muricata (Annonaceae): A Review of Its Traditional Uses, Isolated Acetogenins and Biological Activities. Int. J. Mol. Sci. 2015, 16(7), 15625-15658.
8. Komansilan A, Abdul L, Yanuwidi B. Isolation and identification of larvicide bioactive from soursop (Annona muricata Linn) seeds against the larvae of Aedes aegypti mosquito, International Journal of Engineering & Technology. Vol: 12 No: 03 June 2012
9. Gabamukulya Y, Abou F, Wamunyokoli F y col. Phytochemical screening, anti-oxidant activity and *in vitro* anticancer potential of ethanolic and water leaves extracts of *Annona muricata* (Graviola). [Asian Pacific Journal of Tropical Medicine](#). [Volume 7, Supplement 1](#), September 2014, Pages S355-S363.
10. Raveloson L, Razafindraleva H, Nantenaina F y col. Efficacy of seed extracts of *Annona squamosa* and *Annona muricata*(Annonaceae) for the control of *Aedes albopictus* and *Culex*

- quinquefasciatus*(Culicidae). [Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine](#). [Volume 4, Issue 10](#), October 2014, Pages 798-806.
11. Coria A, Gonzales E, Yahia E. *Annona muricata*: A comprehensive review on its traditional medicinal uses, phytochemicals, pharmacological activities, mechanisms of action and toxicity. [Arabian Journal of Chemistry](#). Available online 22 January 2016.
 12. Panda A. *Annona squamosa* seed extract in the regulation of hyperthyroidism and lipid-peroxidation in mice: Possible involvement of quercetin. [Phytomedicine](#). [Volume 14, Issue 12](#), 4 December 2007, Pages 799-805.
 13. Anilde M, Rodriguez J, Trindade R y col. Effect of *Annona muricata* L. (1753) (Annonaceae) seeds extracts on *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) (Acari: Tetranychidae). *African Journal of agricultural research*. Vol.10(48), pp. 4370-4375, November 2015
 14. Correa J, Ortiz D, Larrahonda J. Y col. Actividad antioxidante en guanábana (*Annona muricata* L.): Una revisión bibliográfica. *Boletín Latinoamericano y del Caribe de Plantas Medicinales y Aromáticas*. 2012; 11 (2): 111 – 126
 15. Vit P, Santiago B, Perez E. Composición química y actividad antioxidante de pulpa, hoja y semilla de guanábana *Annona muricata* L. *Interciencia*, vol. 39, núm. 5, mayo, 2014, pp. 350-353.
 16. Dorado D, Hurtado A, Martínez H y col. Extracción con CO₂ Supercrítico de Aceite de Semillas de Guanábana (*Annona muricata*): Cinética, Perfil de Ácidos Grasos y Esteroles. *Información Tecnológica – Vol. 27 N° 5* 2016 37.
 17. *Annona muricata*. Graviola. Se puede conseguir en: <http://laboratorioebers.com/producto/graviola-annona-muricata/>
 18. Leiva S, Galloso G y Chang L. *Annona muricata* L. “guanábana” (Annonaceae), una fruta utilizada como alimento en el Perú prehispánico. *Arnaldoa* 25 (1): 127 - 140, 2018
 19. *Annona muricata*. Se puede conseguir en: https://es.wikipedia.org/wiki/Annona_muricata.
 20. Graviola, principios activos y componentes químicos Se puede conseguir en: <http://www.supernatural.cl/GRAVIOLA-PRINCIPIOS-ACTIVOS.asp>.
 21. *Annona muricata*. Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana. se puede conseguir en: <http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/monografia.php?l=3&t=guan%C3%A1bana&id=7568>.
 22. REPO R., ENCINA C. “Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas peruanas”. *Rev. Soc. Quím. Perú*. 2008, 74, N° 2 (108-124)
 23. BRAND –WILLIAMS W, CUVELLIER M, BERSET E. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT – Food Science & Technology*, 28, 25–30.1995.
 24. A. montes “Bromatología y Nutrición” Tomo I. Editorial Universitaria – Buenos Aires.

25. Pearson. "Composición y Análisis de los Alimentos" Edit. Continental. 1992.
26. HARRIS D. "Análisis Químico Cuantitativo" 2da Edición. Editorial Reverte S.A. 2001.
27. SKOOK-WETS-HOLLER. "Fundamentos de Química Analítica Cuantitativa". Editorial Reverte S.A. 2003.
28. LOCK O. "Investigaciones Fitoquímicas" Fondo Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú. 1992.
29. Chang Raymond y COLLEGE Williams. "Química". 2002. 7 a Edición. Ed. Mac GRAW-Hill. México D.F.
30. Zapata C, Cardona M. Estudio de la biodisponibilidad de los antioxidantes hidrosolubles tipo flavonoides para su utilización en la industria de las bebidas. (2014) Tesis para optar al título de Especialista en Alimentación y Nutrición. Universidad Lasallista.
31. Lutz M. Biodisponibilidad de compuestos bioactivos en alimentos. Perspectivas en Nutrición Humana. vol. 15, N° 2, julio-diciembre de 2013, p. 217-226
32. Santos C. Implicaciones en la salud de los polifenoles de la dieta. V Congreso Internacional Alimentación, nutrición y dietética Conferencias Sección A: Nutrición y Dietética. Universidad de Salamanca.
33. Delgado L. Mecanismos de acciones implicadas en la bio actividad de flavonoides. *Caenorhabditis elegans* y líneas celulares como sistemas modelo. (2015). Tesis para optar el Grado de Doctor en Farmacia. Universidad de Salamanca.
34. REPO R., ENCINA C. "Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas peruanas". Rev. Soc. Quím. Perú. 2008, 74, N° 2 (108-124)
35. Brand –Williams W, uvellier M Berset E. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. LWT – Food Science & Technology, 28, 25–30.1995.
36. HARRIS D. "Análisis Químico Cuantitativo" 2da Edición. Editorial Reverte S.A. 2001.
37. SKOOK-WETS-HOLLER. "Fundamentos de Química Analítica Cuantitativa". Editorial Reverte S.A. 2003.
38. Guano G. Evaluación de la actividad cicatrizante del extracto de las hojas de tomate (*Solanum lycopersicum l*) en lesión, inducida en ratones (*Mus musculus*). (2015). Tesis para optar el título de Bioquímica Farmacéutica. Riobamba-Ecuador
39. Seong N, Oh W, Kim I, Kim S, Seo J, Park C, et al. Efficacy and local irritation evaluation of Eriobotrya japonica leaf ethanol extract. Lab Anim Res [Internet]. 2019;35(1). Available from: <http://dx.doi.org/10.1186/s42826-019-0003-3>
40. Ramirez X, Monroy R, Linares B. Anti-inflammatory and antitumor properties of Eriobotrya Japonica Lindl: Mini-review. Immunol Endocr Metab Agents Med Chem [Internet]. 2014 [cited 2024 Nov 20];14(1):15–20. Available from: <https://www.eurekaselect.com/article/61746>

VIII. ANEXOS:

1 MATRIZ DE CONSISTENCIA

Problema.	Hipótesis.	Variables.	Objetivos.	Metodología.
<p>Principal.</p> <p>¿Cuáles son ¿Qué actividad antioxidante y antibacteriana presentará las hojas de níspero <i>Eriobotrya japonica</i>?</p> <p>Problemas secundarios.</p> <p>¿Cómo se extrae el aceite esencial de <i>Eriobotrya japonica</i> (níspero japonés)?</p> <p>¿Cuáles son las características del extracto etanólico de las hojas de <i>Eriobotrya japonica</i>?</p> <p>¿Cuál es el contenido de metabolitos secundarios del extracto etanólico de las hojas pos cosecha de <i>Eriobotrya japonica</i>?</p> <p>¿Qué % de actividad antioxidante tiene el extracto etanólico de las hojas pos cosecha de <i>Eriobotrya japonica</i>?</p>	<p>Principal.</p> <p>Hipótesis principal.</p> <p>Las hojas de <i>Eriobotrya japonica</i> “níspero”, tienen características fitoquímicas propias de un alimento vegetal con metabolitos secundarios del tipo fenoles con alta actividad antioxidante y antibiótica antioxidante.</p> <p>Hipótesis secundarias.</p> <p>El material seco y molido de las hojas de <i>Eriobotrya japonica</i> “níspero” tienen: Humedad 10 – 14 %, cenizas 2.2 – 3.8 %, fibras 18- 16 %, grasa 28- 34 % proteínas 8.0- 12 % y carbohidratos 40.0 – 56.0 %.</p> <p>- Los extractos de polaridad creciente de las hojas de <i>Eriobotrya japonica</i> “níspero”, tienen metabolitos secundarios del tipo de los polifenoles, triterpenos, alcaloides y flavonoides.</p> <p>- Alguno de los extractos de las hojas de <i>Eriobotrya japonica</i> “níspero”, tienen metabolitos secundarios que tienen actividad antioxidante.</p>	<p>Variable independiente.</p> <p>El extracto de las hojas de <i>Eriobotrya japonica</i> “níspero”</p> <p>Variables dependientes.</p> <p>- Metabolitos secundarios</p> <p>- Actividad antioxidante</p>	<p>Objetivo general.</p> <p>Evaluar la actividad antioxidante de las hojas de níspero “<i>Eriobotrya japonica</i>”.</p> <p>Objetivos específicos.</p> <p>Extraer aceite esencial de <i>Eriobotrya japonica</i> (níspero japonés).</p> <p>Identificar los metabolitos secundarios presentes en las hojas de níspero “<i>Eriobotrya japonica</i>”.</p> <p>Determinar la actividad antioxidante de las hojas de níspero mediante los métodos DPPH* Y ABTS*.</p> <p>Medir la capacidad antioxidante de las hojas del níspero y sus aplicaciones en la industria alimenticia y farmacéutica.</p>	<p>Tipo, Nivel y Diseño.</p> <p>Básica.</p> <p>Descriptiva.</p> <p>Experimental-transversal.</p> <p>Población y muestra.</p> <p>Las hojas de <i>Eriobotrya japonica</i> de las plantaciones del distrito de Los Molinos</p> <p>MUESTRA</p> <p>5 kg de hojas de <i>Eriobotrya japonica</i> crece en el distrito de los molinos – Ica</p>

Preparación de paquetes de muestra para obtener aceites esenciales

Determinación de la absorbancia del DPPH

Acondicionamiento de paquetes para destilar los aceites esenciales

Determinación de la densidad



Determinación del índice de refracción



