



Universidad Nacional
SAN LUIS GONZAGA



[Reconocimiento-NoComercial-CompartirIgual 4.0 Internacional](http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0)

Esta licencia permite a otras combinar, retocar, y crear a partir de su obra de forma no comercial, siempre y cuando den crédito y licencia a nuevas creaciones bajo los mismos términos.

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

UNIVERSIDAD NACIONAL "SAN LUIS GONZAGA"

FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



TESIS:

PARA OPTAR DEL TÍTULO DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

**CARACTERIZACIÓN FITOQUÍMICA, CUANTIFICACIÓN DE FENOLES
TOTALES, FLAVONOIDES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DEL
EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS POS COSECHA DE
*Lycopersicum esculentum L.***

AUTORES:

BACH. CAHUANA TAPIA LUZ MARISOL

BACH. CUELLO MEDINA GIOVANI ERNESTO

ICA – PERÚ

2019

DEDICATORIA

A nuestros padres por inculcarnos la fe en Dios y brindarnos su apoyo incondicional durante todos los años de vida universitaria, porque gracias a su apoyo, comprensión y cariño nos ayudaron a ser unos grandes profesionales.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darnos la fortaleza en aquellos momentos de dificultad y debilidad, porque fue el quien nos brindó la fuerza y fe necesaria para creer en lo que parecía imposible de terminar.

A nuestros padres por habernos apoyado incondicionalmente, pese a las adversidades e inconvenientes que se presentaron.

ÍNDICE

	Pág.
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
RESUMEN	vii
ABSTRACT	viii
INTRODUCCIÓN	ix
CAPÍTULO I. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	10
1.1. Descripción de la realidad problemática	10
1.2. Formulación del problema	11
1.3. Justificación e importancia	12
1.4. Objetivos de la Investigación	13
1.4.1. Objetivos Generales	13
1.4.2. Objetivos Específicos	13
1.5. Hipótesis y Variables	13
1.5.1. Hipótesis General	13
1.5.2. Hipótesis Secundarias	14
1.5.3. Variables	14
1.5.4. Operacionalización de Variables	15
CAPÍTULO II. BASES TEÓRICAS	16
2.1. Antecedentes de la investigación	16
2.2. Marco teórico	20
2.2.1. <i>Lycopersicum esculentum L (tomate)</i>	20
2.2.1.1. Origen	20
2.2.1.2. Historia	20
2.2.1.3. Descripción botánica	21
2.2.1.4. Hábitat	22
2.2.1.5. Clasificación científica	22
2.2.1.6. Propiedades medicinales	23
2.2.1.7. Compuestos químicos	23

2.2.1.8. Actividad farmacológica	24
2.2.1.9. Importancia económica	25
2.2.2. POLIFENOLES	25
2.2.2.1. Definición	25
2.2.2.2. Importancia de los polifenoles	26
2.2.2.3. Clasificación y estructura de los polifenoles	26
2.2.2.4. Biodisponibilidad y metabolismo	31
2.2.2.5. Polifenoles y salud	32
2.3 Marco conceptual	36
CAPITULO III. METODOLOGÍA	38
3.1. Material	38
3.1.1. Tipo, nivel y diseño de investigación	38
3.1.2. La especie estudiada	38
3.2. Métodos	38
3.2.1. Tratamiento de la especie estudiada	38
3.2.2. Obtención de extractos	38
3.2.3. Caracterización de los extractos	43
3.2.4. Determinación cuantitativa de polifenoles totales	48
3.2.5. Determinación del contenido de flavonoides totales	50
3.2.6. Determinación de la actividad antioxidante	52
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	55
4.1. Resultados	55
4.1.1. Del material objeto de estudios	55
A) De la obtención del material a estudiar	55
B) De la obtención del material seco y molido y del contenido de cenizas	55
4.1.2. De la obtención de extractos	55
A) Del extracto etanólico	55
B) Del fraccionamiento del extracto etanólico	55
4.1.3. De la caracterización de los extractos	56
A) Del análisis organoléptico	56
B) De la determinación de cenizas	56

C) De la determinación de metabolitos secundarios	56
4.1.4. De la determinación cuantitativa de polifenoles	
totales	57
4.1.5. De la determinación del contenido de flavonoides	
totales	60
4.1.6. De la determinación de la actividad antioxidante	62
4.2. Discusión	63
CONCLUSIONES	65
RECOMENDACIONES	66
FUENTES DE INFORMACIÓN	67
ANEXOS	71

RESUMEN

El presente contiene un estudio sobre las hojas pos cosecha de la especie vegetal *Lycopersicum esculentum L.* Estas hojas se secan y se muelen obteniéndose un material pulvurento granuloso de color verde, sabor amargo y olor suigeneris. De las hojas secas y molidas utilizando etanol como solvente y por el método de digestión se obtiene el extracto etanólico el cual fue fraccionado con la finalidad de obtener fracciones de este extracto los cuales se utilizaron para la identificación de metabolitos secundarios; determinándose la presencia de compuestos de naturaleza fenólica, taninos, flavonoides, cumarinas, alcaloides, catequinas y saponinas. Al extracto etanólico o fracción A y a la fracción D se les determinó su contenido de polifenoles totales utilizando el reactivo de Folin-Ciocalteu determinándose que una solución de 1,4 % de fracción A tiene un contenido de fenoles totales equivalente al de una solución de ácido gálico de concentración 162,67 mg de ácido gálico/100 mL y un contenido de flavonoides totales de 8,36 mg expresados como equivalentes a quercetina/100mL. Similarmente a la fracción D se le determinó su contenido de polifenoles totales determinándose que una solución de 1.0 % de fracción D tiene un contenido de fenoles totales equivalente al de una solución de ácido gálico de concentración 89,19 mg de ácido gálico/100 mL y un contenido de flavonoides totales de 8,74 mg expresados como equivalente a quercetina/100mL. Estos extractos: etanólico y fracción D, tienen una capacidad para inhibir la actividad del radical libre DPPH de absorbancia 1,026 de 52,24 % y 70,77 %, respectivamente.

Palabras claves: *Lycopersicum esculentum L.*, cuantificación de polifenoles totales, cuantificación de flavonoides totales, actividad antioxidante.

ABSTRACT

This paper contains a study on the post-harvest leaves of the plant species *Lycopersicum esculentum L.* These leaves are dried and ground to obtain a grainy powdery material of green color, bitter taste and suigeneris odor. From the dried and ground leaves using ethanol as a solvent and by the method of digestion the ethanolic extract is obtained which was fractionated in order to obtain fractions of this extract which were used for the identification of secondary metabolites; determining the presence of phenolic compounds, tannins, flavonoids, coumarins, alkaloids, catechins and saponins. The ethanolic extract or fraction A and fraction D were determined by their total polyphenol content using the Folin-Ciocalteu reagent, determining that a solution of 1,4% of fraction A has a total phenolic content equivalent to that of a gallic acid solution of concentration 162,67 mg of gallic acid / 100 mL and a total flavonoid content of 8,36 mg expressed as equivalent to quercetin / 100mL. Similar to fraction D, its total polyphenol content was determined by determining that a solution of 1,0% of fraction D has a total phenolic content equivalent to that of a solution of gallic acid with a concentration of 89,19 mg of gallic acid/100 mL and a content of total flavonoids of 8,74 mg expressed as equivalent to quercetin/100mL. These extracts: ethanolic and fraction D, have a capacity to inhibit the activity of DPPH free radical absorbance 1,026 of 52,24% and 70,77%, respectively.

Keywords: *Lycopersicum esculentum L.*, quantification of total polyphenols, quantification of total flavonoids, antioxidant activity.

INTRODUCCIÓN

Ica posee un notable clima en él, cual crecen diversidades de cultivos. Algunos de estos cultivos han alcanzado preponderancia económica nacional pues se cultivan con fines de industrialización o exportación. En ambos casos se genera sobrecarga de residuos agrarios como son las plantas pos cosecha de los cuales la mayor parte terminan siendo quemados, generándose así grandes cantidades de humo los cuales contaminan al medio ambiente, otras son destinadas a la producción de compost o de fertilizante orgánico. No todos los cultivos pueden utilizarse con criterio técnico o científico comprobado pues faltan estudios para dar uso a los residuos agrarios de la mayoría de cultivos agroindustriales o de exportación. Uno de esos cultivos es el del tomate (***Lycopersicum esculentum L.***) en el cual nuestro departamento lidera como uno de los primeros productores y ha hecho posible que empresas como Icatom den mayor atención al rendimiento de este cultivo aumentando la productividad por hectárea cosechada, pero lamentablemente no hay reportes de estudios para el aprovechamiento de los residuos agrarios que deja este cultivo. Esta observación motivó a que desarrollemos como tema de tesis “Caracterización fitoquímica, cuantificación de fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante del extracto etanólico de las hojas pos cosecha de *Lycopersicum esculentum L.*”. Trabajo que culminado lo presentamos en cuatro capítulos. El primer capítulo contiene información general para desarrollar el proyecto de tesis, el segundo capítulo contiene información sobre los antecedentes de estudios de la especie vegetal, el marco teórico referente al tema y el marco conceptual que aclara algunos de los términos utilizados, el cuarto capítulo contiene los resultados y la discusión. Finalmente damos a conocer las conclusiones, recomendaciones y las fuentes de información consultada para desarrollar el tema. Al término de nuestra labor esperamos haber dejado información de valor para iniciar estudios que permitan demostrar que las hojas pos cosecha de ***Lycopersicum esculentum L.*** se pueden utilizar para la separación de metabolitos secundarios.

Los autores.

CAPÍTULO I

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

1.1. DESCRIPCIÓN DE LA REALIDAD PROBLEMÁTICA

El tomate es una de las hortalizas de mayor consumo a nivel nacional. En la temporada 2017-2018 a nivel nacional se destinaron 5,000 hectáreas para la producción de tomates¹. En nuestro departamento se destinan 2,500 hectáreas para este cultivo y la producción alcanza hasta las 42 toneladas de tomates por hectárea. Este cultivo se ha industrializado tanto el cual resulta ser unos de los de mayor importancia en la generación de divisas y de empleo en nuestro departamento, producto de esta actividad se genera abundante material de desecho ya que se siembran hasta 16,000 plantas por hectárea de las cuales las hojas pos cosecha no se aprovechan. Además, la tendencia es en ir aumentando la producción y productividad de este cultivo puesto que la demanda crece día a día. *Lycopersicon esculentum L.* es un cultivo que deja en el campo abundante material orgánico de desecho, se cosechan los tomates y queda la planta que termina secándose en la misma chacra, la cual es finalmente amontonada para ser quemada. A diferencia de otros cultivos industriales, los cuales sus desechos orgánicos pueden ser aprovechados en la alimentación de animales, las hojas de las plantas del tomate no se utilizan con estos fines pues suelen contener compuestos químicos de tipo alcaloidal que resultan ser dañinos para los animales. Es el caso que se presenta en otras especies vegetales de la familia de las Solanáceas de donde también pertenece la planta del tomate ^{2,3}. Sin embargo, este tipo de compuesto que hace inútil a las hojas de tomate en la alimentación de animales puede ser utilizado para obtener extractos y con ellos realizar caracterizaciones químicas y screening farmacológicos para determinar su actividad antimicrobiana, antioxidante o proponer el uso de estos extractos para que se les investigue por sus propiedades nematocidas. En

otras partes del mundo se han iniciado estudios para definir el uso de los extractos de las hojas del tomate como un insecticida natural para controlar nemátodos. Observamos la gran cantidad de hojas de tomate que quedan como desecho en los campos de cultivo de esta especie vegetal, por ejemplo, en el valle de villacurí y queremos aportar en algo para dar inicio al estudio de las hojas pos cosecha de *Lycopersicum esculentum* L., por ese motivo presentamos como tema de tesis: Caracterización fitoquímica, cuantificación de fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante del extracto etanólico de las hojas pos cosecha de *Lycopersicum esculentum* L. Trabajo que desarrollamos en el Laboratorio de Química Analítica de nuestra facultad a cuyo término esperamos dejar información suficiente para que se continúe estudiando la forma de aprovechar este abundante residuo de hojas pos cosecha del cultivo del tomate que crece en el valle de villacurí en Ica.

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

Problema Principal

El problema queda enmarcado en la siguiente interrogante:

¿Cuáles son las características fitoquímicas y que contenido de fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante tiene el extracto etanólico de las hojas pos cosecha de **Lycopersicum esculentum** L.?

Problemas Específicos

Determinar ¿Cuáles son las características del extracto etanólico de las hojas pos cosecha de **Lycopersicum esculentum** L.?

Determinar ¿Cuál es el contenido de fenoles totales del extracto etanólico de las hojas pos cosecha de **Lycopersicum esculentum** L.?

Determinar ¿Cuál es el contenido de flavonoides del extracto etanólico de las hojas pos cosecha de **Lycopersicum esculentum L.**?

Determinar ¿Qué % de actividad antioxidante tiene el extracto etanólico de las hojas pos cosecha de **Lycopersicum esculentum L.**?

1.3. JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA

Justificación

La ejecución del presente trabajo de investigación se justifica porque:

En nuestro medio no existen estudios que den a conocer cuáles son las características fitoquímicas, ni el contenido de fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante en las hojas pos cosecha del cultivo de **Lycopersicum esculentum L.** (tomate) que crece en nuestro departamento.

Los residuos que genera la agroindustria son abundantes y en muy pocos casos se utiliza. Para el caso del tomate se cultivan en nuestro departamento más de 2,500 hectáreas de tomate por campaña generándose una inmensa cantidad de residuos que aún no se aprovechan.

Importancia

La investigación para caracterizar el extracto etanólico y determinar el contenido de fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante en las hojas pos cosecha de **Lycopersicum esculentum L.** es importante porque:

De conocerse el rendimiento, contenido de fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante del extracto etanólico de las

hojas pos cosecha de *Lycopersicum esculentum L* se abrirán nuevas rutas de investigación para el aprovechamiento de estos extractos y de darse un uso a los residuos agroindustriales la rentabilidad del cultivo mejoraría.

1.4. OBJETIVOS

1.4.1. Objetivo General

Caracterizar y determinar el contenido de fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante que tiene el extracto etanólico de las hojas pos cosecha de *Lycopersicum esculentum L*.

1.4.2. Objetivos Específicos

Caracterizar el extracto etanólico de las hojas pos cosecha de *Lycopersicum esculentum L*.

Cuantificar el contenido de fenoles totales del extracto etanólico de las hojas pos cosecha de *Lycopersicum esculentum L*.

Cuantificar el contenido de flavonoides del extracto etanólico de las hojas pos cosecha de *Lycopersicum esculentum L*.

Determinar la actividad antioxidante del extracto etanólico de las hojas pos cosecha de *Lycopersicum esculentum L*.

1.5. HIPÓTESIS Y VARIABLES

1.5.1. Hipótesis Principal

Las hojas pos cosecha de *Lycopersicum esculentum L* se caracteriza por tener compuestos fitoquímicos de tipo fenólico, alcaloidal y triterpenoidales; con alto contenido de fenoles totales y flavonoides con actividad antioxidante.

1.5.2. Hipótesis Secundarias

El extracto etanólico 10 % de las hojas pos cosecha de *Lycopersicum esculentum L.* tiene un contenido de entre 60-80 mg de fenoles totales equivalente a ácido gálico/100mL, respectivamente.

El extracto etanólico 10 % de las hojas pos cosecha de *Lycopersicum esculentum L.* tiene un contenido de entre 20-40 mg de flavonoides totales equivalente a quercetina/100mL, respectivamente.

El extracto etanólico de las hojas pos cosecha de *Lycopersicum esculentum L.* son capaces de inhibir entre 40-50 % la actividad del radical libre DPPH, respectivamente.

1.5.3. Variables

Variable Independiente

Hojas pos cosecha de *Lycopersicum esculentum L.*

Variable Dependiente

- Extracto etanólico.
- Contenido de fenoles totales.
- Contenido de flavonoides.
- Actividad antioxidante.

1.5.4. OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

Posición de la Variable	Nominación de la Variable	Indicador	Índice
Variable Independiente	Hojas de tomate	Características organolépticas	Color, olor, sabor y aspecto
Variable Dependiente	Extracto etanólico	Rendimiento	%
		Cenizas	%
		Características organolépticas	Color, olor, sabor y aspecto
		Características fitoquímicas	
		Reacciones de coloración y/o precipitación:	
		FeCl ₃	Positivo y/o negativo
		Gelatina sal	Positivo y/o negativo
		Liebermann-Burchard	Positivo y/o negativo
		Cumarinas	Positivo y/o negativo
		Dragendorff	Positivo y/o negativo
		Wagner	Positivo y/o negativo
		Mayer	Positivo y/o negativo
		Hager	Positivo y/o negativo
		Rosenheim	Positivo y/o negativo
		Espuma	Positivo y/o negativo
	Contenido de fenoles totales	Reacción de Folin-Ciocalteu	mg fenoles totales(EAG)/100 mL.
	Contenido de flavonoides	Reacción de tricloruro de aluminio	mg flavonoides totales(EQ)/100 mL.
	Actividad antioxidante	Reacción antioxidante DPPH	% de inhibición al DPPH

CAPÍTULO II

BASES TEÓRICAS

2.1. ANTECEDENTES DE LA INVESTIGACIÓN

Algunos estudios referentes a esta especie vegetal son los reportados por:

Iler D⁴ (2017) determinó la actividad nematocida de cuatro tipos de aceites esenciales (orégano, tomillo, eucalipto y romero) extraídos de raíces de tomates con diferentes concentraciones (0,25%, 0,50%, 0,75% v / v) frente a larvas de segunda generación, teniendo un tiempo de duración de 48 horas en diferentes períodos de tiempo. Los mejores resultados para los cuatro aceites esenciales se consiguieron a una concentración de 0,75%, pero los aceites esenciales de orégano y tomillo son significativamente mejores que los aceites esenciales de eucalipto y romero, el 100% de mortalidad alcanzó el orégano tras una exposición de 8 horas y el 100% de mortalidad del tomillo se alcanzó tras la exposición después de 24 horas. Además, se evaluó el daño de las larvas expuestas a aceites esenciales mediante microscopía óptica y microscopía electrónica de barrido, el cual mostró vacuolas y daño a órganos internos con dos aceites esenciales, adicional a ello arrojó excelentes resultados los cuales ofrecen posibilidades alentadoras de llegar a ser una alternativa al uso de nematocidas químicos en el sector agrario.

Crisanto K, Ayquipa G⁵ (2013) reportó que la utilización de plaguicidas químicos además de exterminar las plagas provoca como efecto secundario disturbios biológicos y ecológicos, lo que ha obligado a la búsqueda de alternativas de plaguicidas no convencionales. Ésta problemática ha promovido el uso de plantas con propiedades insecticidas, como por ejemplo tenemos a la higuierilla *R. communis* L., que es una euforbiácea que se utilizó en el pasado que tienen orígenes de uso en África, India y Latinoamérica teniendo como efecto el control de plagas. Con el objetivo de evaluar el efecto del extracto etanólico de semillas de *R. communis* se desarrolló un proyecto en el cual se utilizaron

dosis de 1, 5, 10, 50 y 100 mg/L sobre adultos *B. tabaco*, y teniendo como sustrato plántulas de *Phaseolus vulgaris* var canario las cuales fueron criadas en jaulas entomológica. La preparación del extracto de *R. communis* se inició con la desecación de las semillas durante 15 días, posteriormente se pulverizó y se maceró en alcohol durante siete días, luego se filtró y se dejó secar hasta la obtención de extracto seco. Con el uso de una placa petri cerrada la cual tiene una hoja asperjada con una dosis del extracto se inició la evaluación. Adicionalmente se consideró una población de 20 moscas por tratamiento y repetición culminada las 24 horas de aplicación se realizó la evaluación de la mortalidad mediante un diseño total aleatorio el cual consistió con 5 tratamientos, 3 repeticiones y 1 control. Se reportaron valores de mortalidad baja en las concentraciones de 1 mg/L, 5mg/L, 10mg/L con un % de mortalidad de 5; 13,3; 21,6 respectivamente. Las concentraciones de 50 y 100 mg/L obtuvieron los mayores efectos tóxicos con un % de mortalidad de 45 y 78,3 %, respectivamente. El análisis de varianza no mostró diferencias significativas entre tratamientos. La evaluación de la eficacia del extracto vegetal obtuvo como resultado 56,5 y 130,46 mg/L, en consideración de DL 50 y la DL 90, respectivamente. En conclusión, se podría decir que el extracto de higuera mostró relevantes efectos insecticidas convirtiéndose en una alternativa ecológica y económica para el sector agrícola.

Medina J, Aviña G⁶ (2014) reporta 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 de metabolitos secundarios, en la que los flavonoides se encuentran predominantemente. Durante los últimos años los flavonoides constituyentes han sido descubiertos y caracterizados en especies de Solanaceae. Esta revisión analiza las características de estos flavonoides, y da los detalles de su fuente, la identificación, la actividad biológica y la importancia quimio taxonómica.

Fernández A, Cuesta O, Fuentes V y col ⁷ (2015) reportaron que algunas especies de la flora cubana contienen metabolitos anti-Plasmodium. En este estudio se evaluó la actividad esquizotónica de 31 extractos de 7 especies, de 5 géneros de solanáceas frente a frente a *Plasmodium berghei*, se preparó extractos hidroalcohólicos de 31 órganos diferentes (90% y 30% de etanol): *Brunfelsia undulata* Sw, *Datura stramonium* L.var. *tatula* (L.) Torr, *Physalis* (Schltdl.), *Axellus*, *Solandra longiflora* Tuss, *Solanum myriacanthum* Dunal, *Solanum seafortianum* And y *Solanum unbellatum* Mill. Se evaluó in vitro la actividad del extracto contra *Plasmodium berghei* y se determinó su citotoxicidad frente a los fibroblastos humanos MRC-5 en donde se informó que los extractos de *Bacillus aflorum* y *Umbelliferae* estaban inactivos. El extracto de tallo de pepino de mar mostró la actividad anti-plasmodium más eficaz.

Serna J, Correa J⁸ (2003) evaluaron la actividad inhibidora de extractos de hojas de tomate. Se probaron cinco extractos en las colonias de laboratorio de hormigas *Atta cephalotes* (L.). El extracto de ácido hexanoico y el fraccionamiento de diclorometano mostraron una actividad relevante incluso a bajas concentraciones cercanas a 50 ppm. El fraccionamiento con acetato de etilo demostró una actividad significativa pero a menor escala.

Guano G, Esperanza G⁹ (2015) evaluaron la actividad cicatrizante del extracto de las hojas de tomate (*Solanum lycopersicum*) en lesiones inducidas en ratones (*Mus musculus*). Usaron extractos de plantas y 24 ratones, divididos en 6 grupos experimentales: Grupo B (sin tratar), y dos grupos de control positivo (C y D) usaron crema (tratamiento con acetato de prednisolona 0.5 g y sulfato de neomicina 0.5 g) y alcohol 40%, respectivamente y los tres grupos experimentales (X, Y y Z) en el cual recibieron extractos de hojas vegetales con concentraciones de 25%, 50% y 75%. En la determinación de metabolitos secundarios, se demostró que el contenido total de flavonoides es equivalente al de quercetina; la materia seca en el extracto hidroalcohólico fue de 0,799 mg/g y la materia seca en el extracto de etanol fue de 2,93 mg/g.

Asimismo, el contenido de fenoles totales equivalente de ácido gálico obtuvo 1,29 mg/g materia seca en el extracto hidroalcohólico y 3,44 mg/g materia seca en el extracto etanólico. El tratamiento se inició con la aplicación vía tópica con una frecuencia de cada 12 horas por 15 días, en la cual se midió el tiempo de cicatrización y la longitud de la herida hasta la caída de la costra, los resultados realizados y luego mediante las pruebas de Anova y Tukey se analizaron estadísticamente obteniendo un 95% de confianza, revelando la efectividad del tratamiento. La conclusión del tratamiento demostró que el extracto al 75 % indujo un resultado más eficaz en la lesión, adicional a eso la herida se cicatrizó en siete días y de forma regenerativa extraordinariamente, en menor grado de heridas, se demostró que a nivel cutáneo no se presentaron reacciones adversas. Como recomendación se deberá considerar un fitofármaco para el uso fácil de extracto en hojas de *Solanum lycopersicum*.

Quintanilla A, Ramírez B, Rivas H¹⁰ (2003) evaluaron extractos de especies vegetales en busca de actividad insecticida sobre la Chinche Pata de Hoja y comparó sus resultados con el producto comercial el extracto de mamey 30 % demostró tener más actividad que el propio producto comercial de comparación y los otros extractos (Neem, Higuera, ajeno) informando que son los alcaloides de las especies ensayadas los que tienen esta propiedad.

Rueda A, Echeverri F, Torres F y col¹¹ (2005) demostró la diferencia de perfil químico de cinco especies de tomate de árbol contra el hongo *Colletotrichum Gloeosporoides* Penz causante de la antracnosis lo cual indica que son los metabolitos secundarios los que tienen la actividad fungicida.

2.2. MARCO TEÓRICO

2.2.1. *Lycopersicum esculentum L. (tomate)*

2.2.1.1. ORIGEN

El género *Lycopersicum* es originario de la región andina, desde el sur de Colombia al norte de Chile. Pero parece que fue en México donde se domesticó, quizás porque crecería como mala hierba entre los huertos. Hay restos arqueológicos registrados en los ceramios prehispánicos hallados en la zona norte del actual Perú y actualmente en campos y zonas eriazas de esta zona de Sudamérica en donde podemos encontrar variedades significativas de tomates silvestres, lo cual refuerza el criterio de que esta especie vegetal es originaria del antiguo Perú. El hecho de que el tomate viajó a Europa desde la capital del imperio azteca, después de la conquista de los españoles, donde se le conocía como xitomatl o fruto con ombligo; hace postular a Perú y México como posibles lugares del origen del tomate. A pesar que no importa desde qué punto de vista se proporcione la evidencia, no hay evidencia concluyente que apoye claramente un lugar, como la domesticación del tomate de sus ancestros silvestres^{12,13}

2.2.1.2. HISTORIA

El tomate es originario de Sudamérica, de ahí se ha distribuido por todo el mundo. Inicialmente, estos cultivos fueron rechazados debido a su reputación tóxica porque algunas especies que pertenecen a las solanáceas son tóxicas.

Las plantas de tomate se cultivaron originalmente en jardines como lugares de entretenimiento para la decoración, esta planta fue introducida por los españoles a Europa. En Francia y Alemania, las plantas de tomate se consideran dañinas, provocando vómitos y diarreas incontrolables, lo que afecta la salud. Sin embargo, a principios del siglo XX, Alemania cultivaba tomates como fruta comestible, y en Perú, los tomates se usaban tradicionalmente como callicidas y como enjuagues bucales para tratar la inflamación de las amígdalas.^{14,15}

2.2.1.3. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA

Es una planta perenne de porte arbustivo, que puede desarrollarse de forma rastrera, semi-erecta o erecta. Su sistema radicular presenta una raíz principal (corta y débil) y raíces secundarias (numerosas y potentes) y raíces adventicias. Sus hojas son compuestas e imparipinnada, con folíolos peciolados, lobulados y con borde dentado, en número de 7 a 9 y recubiertos de pelos glandulares. Las hojas se disponen de forma alternativa sobre el tallo. El mesófilo o tejido parenquimático está recubierto por una epidermis superior e inferior, ambas sin cloroplastos. La epidermis inferior presenta un alto número de estomas. Dentro del parénquima, la zona superior o zona en empalizada, es rica en cloroplastos. Los haces vasculares son prominentes, sobre todo en el envés, y está compuesta de un nervio principal.

La flor es regular e hipógina y perfecta, consta de cinco pétalos de color amarillo y también de cinco sépalos, de igual número de estambres soldados que se alternan con los pétalos y llegan a formar un cono estaminal que envuelve al gineceo, y de un ovario bi o

plurilocular. Las flores se conforman en inflorescencias. El fruto es una baya bi o plurilocular que puede alcanzar un peso que oscila entre unos pocos miligramos y 600 gramos. Está constituido por el pericarpio, el tejido placentario y las semillas. El fruto puede recolectarse separándolo por la zona de abscisión del pedicelo, como ocurre en las variedades industriales, en las que es indeseable la presencia de parte del peciolo, o bien puede separarse por la zona peduncular de unión al fruto.¹⁶

2.2.1.4. HÁBITAT

Este cultivo se desarrolla fácilmente en zonas cálidas, es cultivada en la mayoría de los países cálidos y templados.¹⁶

2.2.1.5. CLASIFICACIÓN CIENTÍFICA ¹⁷

Esta especie vegetal es clasificada de la siguiente manera:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Sub Clase: Asteridae

Filo: Angiospermas

Orden: Solanales

Familia: Solanáceas

Género: Solanum

Especie: *Lycopersicum L*

2.2.1.6. PROPIEDADES MEDICINALES

La planta de tomate tiene varios usos medicinales y terapéuticos, al igual que los concentrados en sus hojas y frutos. Esta planta, conocida científicamente como *Solanum lycopersicum*, tiene importantes propiedades medicinales y puede usarse para tratar o prevenir posibles enfermedades degenerativas. Las hojas de tomate tienen propiedades desinflamantes y cicatrizantes, mediante el uso tópico como ungüentos, los cuales los cuales se usan colocándolos sobre la herida superficial afectada el cual ayudará a su cicatrización. El fruto del tomate se utiliza como astringente, anti-acné, antioxidante, tónico e hidratante para la piel, especialmente en el rostro. El método de preparación consiste en pelar y triturar los tomates, y luego aplicarlos sobre la piel durante unos minutos. Además, se usa para tratar quemaduras, picazón, úlceras, llagas y dolores de cabeza.¹⁸

2.2.1.7. COMPONENTES QUÍMICOS

De la hojas y semillas de este cultivo se reporta la presencia de compuestos químicos del tipo triterpenos esteroidales glucosilados, glicoalcaloides, sapogeninas, compuestos de naturaleza fenólica, flavonoides, ácido caféico y ácido ferúlico.¹⁹

2.2.1.8. ACTIVIDAD FARMACOLÓGICA

La planta de tomate presenta una serie de efectos farmacológicos, tales como antihelmínticos, antiinflamatorios, anticancerígenos, anti-estrés oxidativo y antioxidantes, anti-agregación plaquetaria, anti-hongos y biológicos, evitando la actividad quinasa, actividad enzimática, alta actividad invertasa.

Se usa para intentar el reumatismo, la gripe, la fiebre, defender la nariz, los ojos, la cabeza y el tracto respiratorio, minimiza el peligro de cáncer de mama, cáncer de cabeza y cuello y previene patologías neurodegenerativas. Su alto contenido en licopeno lo hace muy útil para la salud, ya que este antioxidante es eficaz contra las enfermedades oncológicas que causan los radicales libres, hallándose en sus productos procesados como la salsa de tomate. El licopeno también ha demostrado propiedades protectoras contra las enfermedades cardiovasculares, mediante la prevención de la oxidación de lípidos séricos. Se ha evidenciado que el consumo de tomate de manera frecuente disminuye los niveles de colesterol LDL y de los triglicéridos. Los lípidos anteriormente mencionados producen la deposición de grasas en los vasos sanguíneos los cuales producen enfermedades cardiovasculares.

Se ha demostrado que el consumo de tomate nos provee vitamina C en un 40 % de nuestras necesidades diarias, ya que al actuar como antioxidante natural nos protege contra el cáncer actuando sobre los radicales libres. Asimismo, esta fruta u hortaliza, contiene vitamina A, hierro y potasio. Este último juega un papel importante en el mantenimiento de la salud del sistema nervioso, y el hierro, es esencial para mantener la salud de la sangre. La vitamina K es abundante en los tomates, es esencial en la coagulación de la sangre y controla el sangrado. Consumir tomate nos ayuda a mejorar la visión, por su contenido en vitamina A. El tomate elimina las toxinas del cuerpo, manteniendo sano el sistema digestivo. Previene las infecciones del tracto urinario, al reducir la incidencia de infecciones del tracto urinario, así como el cáncer de vejiga. También ayuda a disolver los cálculos biliares. Además de prevenir la diabetes, el tomate ayuda al mantenimiento de dientes sanos, huesos, pelo y piel. Su consumo diario protege la piel contra los rayos UVA, previniendo el envejecimiento. Es muy bajo en calorías ya que 100 g de tomate solamente contienen 22,17 kcal. Reduce el colesterol y protege el corazón: El licopeno en el tomate previene la oxidación de lípidos

séricos, ejerciendo así un efecto protector contra las enfermedades cardiovasculares.^{20,21}

2.2.1.9. IMPORTANCIA ECONÓMICA

El tomate es la hortaliza con mayor presencia en todo el mundo y al que se le ha dado mayor valor económico. La demanda sigue incrementando, al igual que la siembra, la producción y la comercialización. El incremento anual de la producción en los últimos años se debería primordialmente al incremento del rendimiento y, en menor medida, al crecimiento de la tierra cultivable. Los tomates frescos se consumen primordialmente en ensaladas, sancochados o fritos. En menor escala se utiliza como encurtido. En nuestro país la superficie cultivada del tomate para la campaña agrícola 2017-2018 fue de 2,400 hectáreas de las cuales 500 mil se encuentran en nuestro departamento. La producción de tomates para Junio del 2017 fue de 3,755 toneladas, 28.8 % más que la campaña del año anterior. El 99 % de exportación de pasta de tomate de 2,437.88 toneladas que el Perú reporta proviene de la empresa Icatom que opera en nuestro departamento.^{1,2}

2.2.2. POLIFENOLES

2.2.2.1. DEFINICIÓN

Son compuestos químicos que tienen un anillo bencénico y al menos uno de sus hidrógenos está reemplazado por un grupo oxidrilo, integrando los grupos de metabolitos secundarios presentes en la mayoría de las plantas, estos compuestos químicos son importantes porque contribuyen en la morfología, crecimiento y reproducción. Los polifenoles son compuestos que se vinculan a los mecanismos de

defensa de las plantas frente a los agentes externos como por ejemplo la agresión de patógenos, predadores y la radiación ultravioleta.²²

2.2.2.2. IMPORTANCIA DE LOS POLIFENOLES

Con el paso de los años se ha demostrado que sus efectos ha sido de beneficio en el desarrollo de diversas enfermedades que asocia el estrés oxidativo (enfermedades cardiovasculares, neurodegenerativas y cáncer) por lo tanto en el sistema de la salud pueden actuar como anti-flamatorios, anti-virales, anti-bacterianos, anti-trombogénicos y anti-cancerígenos.^{23,24}

2.2.2.3. CLASIFICACIÓN Y ESTRUCTURA DE LOS POLIFENOLES

Entiende de mucha variedad de molécula que están desde compuestos polimerizados altamente hasta la molécula simple con un solo anillo fenólico en su estructura, como los alcoholes y ácidos fenólicos. Las principales clases de polifenoles en los alimentos son: flavonoides, ácidos y alcoholes fenólicos, estilbenos y lignanos.

Flavonoides

En la actualidad se han identificado 4000 compuestos diferentes de flavonoides y es el grupo más distribuido en las plantas. A nivel estructural se compone de un difenilpropano (C6-C3-C6), acompañado de dos anillos aromáticos (A y B) los cuales se encuentran enlazados a través de tres átomos de carbono que forman un heterociclo oxigenado (anillo C).

Los flavonoides pueden dividirse a su vez en diferentes subclases, siendo las más relevantes: los flavonoles, flavonas, flavanonas, isoflavonas, antocianidinas y flavanoles (catequinas y proantocianidinas). Generalmente, los flavonoides pueden encontrarse asociados a distintos carbohidratos o ácidos orgánicos, aunque esporádicamente se pueden hallar en las plantas como aglicona. Los principales representantes de los flavonoles son las quercetinas, el cual se encuentran en los alimentos de origen vegetal. Actualmente los podemos encontrar en los alimentos como glucosa o ramnosa (forma glicosilada). Las flavonas son los flavonoides menos habituales en el reino vegetal y permanecen formadas primordialmente por glicósidos de luteolina y apigenina, siendo el perejil y el apio las únicas fuentes comestibles relevantes. Además, la piel de las frutas contiene grandes cantidades de flavonas polimetoxiladas (tangeretina, nobiletina y sinensetina). La estructura química de las flavanonas se caracteriza por contener una cadena saturada de tres átomos de carbono y un átomo de oxígeno en C4. Los alimentos que contienen flavanonas en altas concentraciones son los cítricos, tomates y plantas aromáticas como la menta. Dentro de las flavanonas se destacan los siguientes miembros: naringenina, (alto contenido en el pomelo), la hesperetina (naranja), y el eriodictiol (limón); aunque por lo general las flavanonas se encuentran en forma glicosilada en los alimentos, como la hesperidina (conjugado de rutinosa y hesperetina). Se ha reportado que en el zumo de naranja contiene entre 470 y 761 mg/L de hesperidina. Las isoflavonas

son químicamente similares al estrógeno y considerados como fitoestrógenos por lo que pueden unirse a los receptores. Las isoflavonas podemos encontrarlas como agliconas y también como conjugados de glucosa. Las principales isoflavonas son genisteína, daidzeína y glicoproteínas, los cuales se encuentran en las legumbres, la soja y sus derivados son la principal fuente de isoflavonas en la dieta de las personas. Las antocianinas (pelargonidina, malvidina, cianidina) son pigmentos solubles los cuales son los causantes de la mayoría de los colores como por ejemplo rojo, azul y morado en las frutas, verduras, flores y otros tejidos o productos vegetales. Las antocianinas se pueden presentar como agliconas debido a que son extremadamente inestables es por ello su presencia en las plantas en forma de glucósidos. Las antocianinas se encuentran en el vino tinto, ciertos cereales y algunas verduras. Adicionalmente las antocianidinas las podemos encontrar en alimentos, ciertos cereales y algunas verduras. Los flavanoles permanecen presentes en la naturaleza como catequinas y como 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 epicatequina (EC) son los flavanoles más comunes en las frutas, mientras que las galocatequinas, epigalocatequina (EGC) y epigalocatequingalato (EGCG), se encuentran en algunas semillas de leguminosas, uvas y principalmente en el té. Las proantocianidinas son los flavanoles responsables de otorgarle el efecto astringente de algunas frutas como por ejemplo uvas,

manzanas, bayas y bebidas como el vino, sidra, té, cerveza, así como del amargor del chocolate. Dada la dificultad para determinar la cuantificación de proantocianidinas en los alimentos por su amplio rango de estructuras y de elevados pesos moleculares, los datos disponibles en la literatura se refieren a los dímeros y trímeros de catequinas, que son tan abundantes como las propias catequinas.^{25,26,27}

Ácidos fenólicos

El ácido hidroxibenzoico (como el ácido gálico y el ácido protocatecuico) rara vez se encuentra en los alimentos derivados de plantas, por lo que se ha investigado poco sobre ellos. Estos compuestos forman parte de estructuras complejas (como los taninos hidrolizables).

El contenido de ácidos hidroxibenzoicos es relativamente bajo en algunas plantas comestibles, a excepción de los frutos rojos como por ejemplo los arándanos donde puede llegar a alcanzar los 270 mg/Kg. Asimismo el té verde proporciona a través de sus hojas una fuente importante de ácido gálico al contener hasta 4,5 g/Kg. El aceite de oliva y la frambuesa llegan a tener hasta 0.22 mg y 100 mg de ácido protocatecuico por cada kg de peso.^{25,26}

Los ácidos hidroxicinámicos

Son más comunes que el ácido hidroxibenzoico. Los principales representantes de este grupo son el ácido cumárico, cafeico y ferúlico. Estos ácidos suelen estar glicosilados en los alimentos o forman ésteres con ácido quínico, shikímico o tartárico. La combinación de

ácido cafeico y quínico produce ácido clorogénico (CGA), el cual se encuentra en muchas frutas, especialmente en el café (una taza de 128 mL de café puede contener de 70 a 350 mg de CGA). Por sí solo, el ácido ferúlico tiene el mayor contenido en granos y granos de trigo, y puede alcanzar de 0,8 a 2 g / kg de peso seco (90% del total de polifenoles).^{25,26}

Alcoholes fenólicos

El tirosol (4-hidroxifeniletanol) y el hidroxitirosol (3,4-dihidroxifeniletanol) constituyen los principales representantes dentro del grupo de los alcoholes fenólicos. El tirosol también lo podemos encontrar en bebidas alcohólicas como la cerveza, vino tinto y vino blanco.

Estilbenos

La población humana comúnmente consume resveratrol en bajas cantidades., siendo este un grupo demasiado representativo. El alimento con mayor presencia de resveratrol es la uva roja (50 - 100 g/Kg de peso neto), lo que contribuye en gran medida a la elevada concentración de resveratrol en el zumo de uva y en el vino tinto, donde alcanza hasta 0,3 - 7 mg de aglicona/L y 15 mg de glicósidos/L.

Lignanós

Los lignanos se forma mediante la dimerización oxidativa de dos unidades de fenilpropano. La mayoría de estos compuestos se encuentran naturalmente en su forma libre, mientras que los derivados glicosilados representan una minoría.^{25,26}

2.2.2.4. BIODISPONIBILIDAD Y METABOLISMO

La biodisponibilidad se puede describir de diferentes formas. Una definición ampliamente aceptada se refiere a la proporción de nutrientes que se digieren, absorben y metabolizan por vías normales. El concepto de biodisponibilidad se vuelve muy importante porque los polifenoles más abundantes no siempre son los más activos en el organismo, esto se debe a que su actividad inherente es baja, su tasa de absorción en el intestino es baja, su tasa metabólica es alta o se excreta rápidamente. En general, el metabolismo de los polifenoles se produce a través de una serie de reacciones comunes a todos ellos, que es similar a la desintoxicación metabólica que experimentan muchos organismos heterogéneos para reducir sus potenciales efectos citotóxicos, aumentar su hidrofiliidad y facilitar la eliminación urinaria o biliar. Los resultados experimentales en animales de experimentación muestran que ciertos polifenoles, como la quercetina, la daidzeína o la genisteína, pero no sus glucósidos, se pueden absorber directamente en el estómago y también se pueden absorber algunas antocianinas o ácidos fenólicos (como el ácido clorogénico). Sin embargo, la mayoría de los polifenoles restantes resisten la hidrólisis ácida del estómago y llegan al intestino delgado intactos. Sólo los glucoglucósidos, algo de ácido hidroxicinámico conjugado y algunos glucósidos pueden absorberse directamente. El estado de glicosilación de los polifenoles afectará su absorción en el intestino, porque los polifenoles deben ser tratados previamente por enzimas intestinales (como la hidrólisis de lactasa-floridamicina (hidrólisis extracelular) o la hidrólisis de β -glucosidasa (hidrólisis intracelular). Durante todo el proceso de absorción, los polifenoles se conjugan en las células intestinales y luego

se conjugan en los hepatocitos (en el caso de algunos ácidos fenólicos, metilación, sulfatación, glucuronidación y conjugación de glicina).⁴ Por lo general, los polifenoles que llegan a la sangre y los tejidos son diferentes de los polifenoles que están presentes en los alimentos. Diferentes estudios in vivo (humanos y animales) han sugerido que solamente el 5% del total de polifenoles ingeridos diariamente son absorbidos en el duodeno, y de este porcentaje, únicamente un 5%, primordialmente flavanoles, alcanzan la circulación de sangre sin cambios en su composición. Una vez absorbidos y metabolizados, los polifenoles pueden regresar al duodeno a través de la circulación enterohepática, prolongando así su presencia en el organismo. En resumen, los polifenoles que circulan en el plasma se eliminan en la orina, se unen ampliamente a la albúmina y tienen la capacidad de incorporarse a los tejidos. Especialmente aquellos tejidos que se metabolizan (hígado, estómago, intestino, colon y riñón), pero también pueden acumularse en tejidos diana específicos, como pulmón, páncreas, cerebro, corazón y bazo.^{26,28,29,30}

2.2.2.5. POLIFENOLES Y SALUD

Polifenoles e inflamación

La quercetina y el resveratrol han sido reportados como antiinflamatorios vasculares, el desequilibrio redox ha sido impedido por el aumento de quercetina o resveratrol como moduladores de la contestación inflamatoria, reduciendo, por lo menos parcialmente, la sobreexpresión de quimiocinas y moléculas de integración desde el procedimiento con oxLDL. Los datos conseguidos en dichos estudios indicaron que los polifenoles tienen la posibilidad de influir el proceso de inflamación vascular no solo como antioxidantes, sino además

como moduladores de las cadenas inflamatorias de señalización redox.^{29,30}

Los polifenoles en enfermedades cardiovasculares

Entre los mecanismos estudiados, mediante los cuales los polifenoles tienen la posibilidad de conceder custodia cardiovascular, se hallan: la optimización de la funcionalidad endotelial, inhibición de la angiogénesis, migración celular y la proliferación en los vasos sanguíneos, se ha reportado que el consumo de isoflavonas de soya disminuye el peligro de infarto al miocardio, en comentado análisis se dieron isoflavonas en la dieta de 40,500 féminas postmenopáusicas (edades 40 a 59 años), evaluándose la incidencia de infartos cerebrales y al miocardio, teniendo como resultado obtenido el incremento del consumo isoflavonas de soya reduce el riesgo de padecer de esa condición.^{29,30}

Polifenoles y diabetes

Los estudios han demostrado que los niveles bajos de antioxidantes en el plasma están relacionados con un mayor riesgo de padecer esta enfermedad, y muchas complicaciones de la diabetes que conducen a la muerte están relacionadas con el estrés oxidativo. El estrés oxidativo es causado por el desequilibrio entre la producción de (ROS) y su desintoxicación en los sistemas biológicos. Por tanto, existen razones fundamentales para el uso terapéutico de los antioxidantes y la prevención de las complicaciones de la diabetes. Los antioxidantes estudiados para reducir el estrés oxidativo de esta enfermedad son las antocianinas, que tienen mayor concentración en los frutos rojos. Un estudio informó que la ingesta de 100 gramos de polvo liofilizado de arándanos contiene 1,2 gramos de antocianinas totales. Mejora significativamente los parámetros antioxidantes.^{29,30}

Polifenoles y cáncer

El origen y las causas de varios tipos de cáncer aún no están claros, sin embargo, es bien sabido que los radicales libres (como ROS y nitrógeno) pueden producir peroxidación lipídica, induciendo varias citopatías y conduciendo al cáncer. En este caso, varios estudios han demostrado que existe una fuerte correlación negativa entre el consumo de frutas y verduras y el riesgo de diversos cánceres. Por lo tanto, durante décadas, los investigadores han estado interesados en aislar compuestos presentes en plantas para evaluar si podrían ser medicamentos contra el cáncer. Entre los principales grupos que inhiben la carcinogénesis, los antioxidantes son los polifenoles más utilizados y estudiados. En la literatura, se informa que compuestos como quercetina, rutina, luteolina, miricetina, ácido rosmarínico y catequina pueden proteger al ADN del daño causado por especies reactivas de oxígeno. El resveratrol (baja concentración) se encuentra en la dermis de las uvas y tiene una mayor concentración en el vino tinto. En diferentes estudios, se ha informado que el resveratrol ha demostrado cierta capacidad antitumoral al inducir la muerte de las células tumorales. Así como hay claras pruebas que demuestran que las catequinas (epigallocatequina, catequina, epicatequina, etcétera) que se hallan en el té verde, poseen relevantes efectos anticancerígenos.^{30,31}

Polifenoles en desórdenes neurodegenerativos

Con base en las propiedades antioxidantes de los polifenoles, también se han evaluado los beneficios de los polifenoles en Sistema nervioso central (SNC). Como se mencionó anteriormente, los radicales libres inducen la peroxidación de lípidos en las membranas celulares y desencadenan la disfunción neuronal y la muerte, por lo que el consumo de antioxidantes que pueden inhibir la peroxidación de lípidos se asocia con una reducción del riesgo de enfermedad, entre ellas Parkinson.

Un estudio mostró que el extracto de guabiyu (de origen de América del Sur) tiene al menos cuatro sustancias polifenólicas que pueden inhibir la acetilcolinesterasa, que es una enzima sobreexpresada que puede causar Alzheimer. El efecto clínico de la enfermedad de Hemer, por lo tanto, los compuestos presentes en el guabiyú antioxidante puede ser una fuente alternativa y potencial de moléculas biológicamente activas con propiedades anti-degenerativas.³¹

Se ha reportado que la catequina, la epicatequina, la quercetina y la proantocianidina pueden reducir la producción de ROS, aumentar la catalasa, la superóxido dismutasa, la glutatión reductasa y la glutatión peroxidasa y otros antioxidantes. La expresión y actividad de las enzimas son compuestos que controlan el equilibrio redox en el cuerpo.³¹

2.3. MARCO CONCEPTUAL

Actividad antioxidante: Propiedad de ciertos componentes o compuestos químicos que es capaz de atrapar electrones libres de los radicales libres.

Caracterización: Asignación de una o varias propiedades de aquello que se caracteriza.

Características organolépticas: Son aquellas particularidades del material analizado que pueden ser determinadas utilizando los órganos de nuestro sentido.

Características físico químicas: Son aquellas particularidades del material analizado que pueden ser determinadas por distintas técnicas de caracterización, de acuerdo al interés que despierte dicho material.

Concentración inhibitoria media: Es la cantidad expresada en microlitros o microgramos de un compuesto o extracto químico que tiene la capacidad para inhibir el 50 % de la absorbancia del radical libre DPPH de absorbancia comprendida entre 0,970 – 1,030.

Cuantificación: Proceso que permite conocer el contenido de un analito en la alícuota analizada y desde aquí se puede expresar en porcentaje en ppm u otra unidad.

Cultivo agro industrial: Cultivo cuyo fruto o alguna de sus partes es destinada a la industria a fin de obtenerse productos de consumo masivo.

Estudio fitoquímico: Métodos de análisis químicos dirigidos a la investigación para identificar metabolitos secundarios de especies vegetales.

Extracción: Es una operación de transferencia de materia basada en la disolución de uno o varios de los componentes de una mezcla en un disolvente selectivo.

Fenoles: Compuestos químicos de naturaleza bencénica en el que al menos uno de sus hidrógenos haya sido sustituido por el radical oxidrilo.

Flavonoides: Compuesto químico de naturaleza fenólica constituido por tres ciclos o anillos dos bencénicos y uno lactónico.

Hidrólisis: Acción del agua para separar moléculas en virtud de sus iones hidrogeniones y oxidrilo.

Porcentaje de inhibición: Es la cantidad expresada en microlitros o microgramos de un compuesto o extracto químico que tiene la capacidad para inhibir un determinado % de la absorbancia del radical libre DPPH de absorbancia sin exposición a algún antioxidante y es considerada 100 % de actividad libre del radical DPPH.

Radical libre: Especie química que exhibe o presenta un electrón desapareado lo cual lo hace ser extremadamente reactivo.

Residuo agro industrial: Parte del cultivo que se utiliza en la obtención del producto que se comercializa y es desechado.

Redox: Reacción de óxido reducción.

Solvente orgánico: Compuesto químico orgánico de naturaleza líquida muchos de los cuales tienen punto de ebullición menor al punto de ebullición del agua y se les utiliza solos o en combinación con otro para disolver materias insolubles en agua.

CAPÍTULO III

METODOLOGÍA

3.1. MATERIAL

3.1.1. Tipo, nivel y diseño de investigación

Tipo de Investigación:

El presente es un estudio básico transversal puesto que la muestra a estudiar y la información resultante es del tiempo en que se desarrollará el trabajo.

Nivel de Investigación:

Por la naturaleza y aprovechamiento de la información que se consigue en este trabajo es de carácter básico.

Diseño de la Investigación:

El diseño es analítico-experimental ya que se usará información reportada (métodos de análisis) para buscar y obtener información desconocida que nos planteamos como objetivos del trabajo.

3.1.2. La especie estudiada

Para el presente estudio la muestra la conformó 12 plantas pos cosecha de donde se obtuvieron las hojas del cultivo *Lycopersicum esculentum L.* que crece en el valle de Villacurí, en el departamento de Ica.

3.2. MÉTODOS

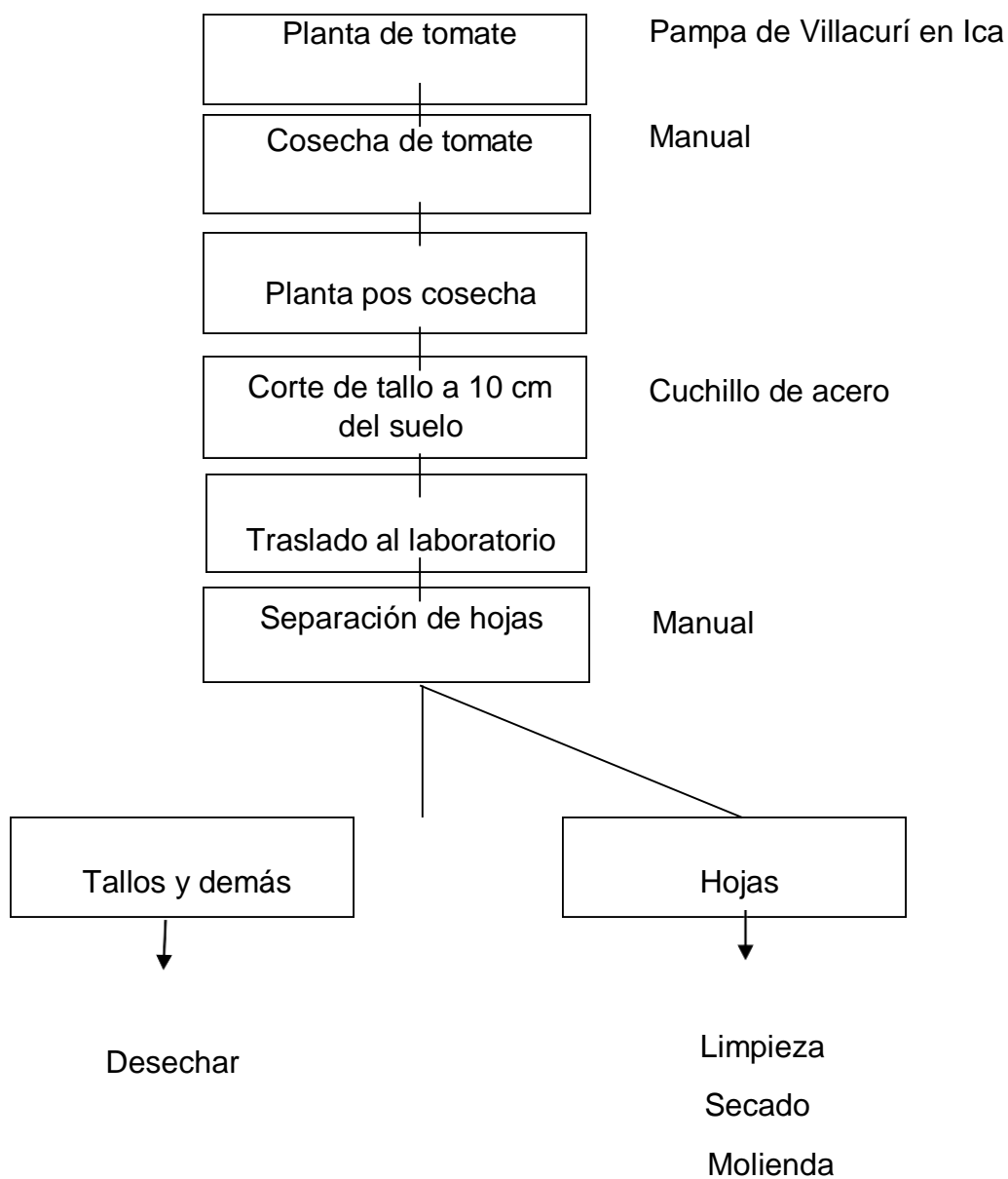
3.2.1. TRATAMIENTO A LA ESPECIE ESTUDIADA

A) OBTENCIÓN DE HOJAS POS COSECHA SECAS Y MOLIDAS

Los procesos para obtener las hojas pos cosecha, secas y molidas de *Lycopersicum esculentum L.* se ilustran en el siguiente flujograma:

FLUJOGRAMA N° 01

PROCESOS PARA OBTENER LAS HOJAS POS COSECHA SECAS Y MOLIDAS DE *Lycopersicum esculentum L.*



Las hojas se limpian y se secan a la sombra durante 10 días y luego se lleva a la estufa a 55 – 60 °C hasta sequedad total. Transcurrido este proceso inmediatamente se procede a la molienda con la ayuda de un molino manual.

B) CARACTERIZACIÓN DEL MATERIAL SECO Y MOLIDO

1º. Análisis organoléptico

Color y aspecto: 5,0 g del material seco y molido es colocado en una luna de reloj y desde aquí se juzga su color, además se evalúa el aspecto previo contacto con los dedos de la mano.

Sabor y olor: El material esparcido en la luna de reloj es utilizado para determinar su olor y sabor.

La panelista fue una sola persona.

2º. Determinación de cenizas

Método: Se utilizó el método Gravimétrico.

Fundamento: Se basa en la incineración de la parte orgánica de la muestra al ser sometido a altas temperaturas dejando la parte mineral o ceniza los cuales son generalmente de color blanco o grisáceos y en la determinación gravimétrica del residuo.

Procedimiento:

Se transfiere 5,0 g de muestra a analizar a una cápsula de peso conocido, luego se lleva la cápsula con la muestra a calor directo de una cocina eléctrica, hasta que esté completamente carbonizada.

La cápsula que contiene el material carbonizado se lleva a una mufla graduada a una temperatura de 550-560°C y se mantiene allí durante 2 horas.

Posteriormente se retira la cápsula de la mufla y se pasa a un desecador para que se enfríe y por último se pesa.

Se repite este proceso hasta alcanzar constancia de peso.

Cálculo:

$$\% \text{ de ceniza} = \frac{\text{g ceniza} \times 100}{\text{Peso de la muestra}}$$

Dónde:

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

g ceniza = g de ceniza que quedan.

Peso de la muestra= 5 g

100 = para referir a porcentaje.

3.2.2. OBTENCIÓN DE EXTRACTOS

A) OBTENCIÓN DEL EXTRACTO ETANÓLICO

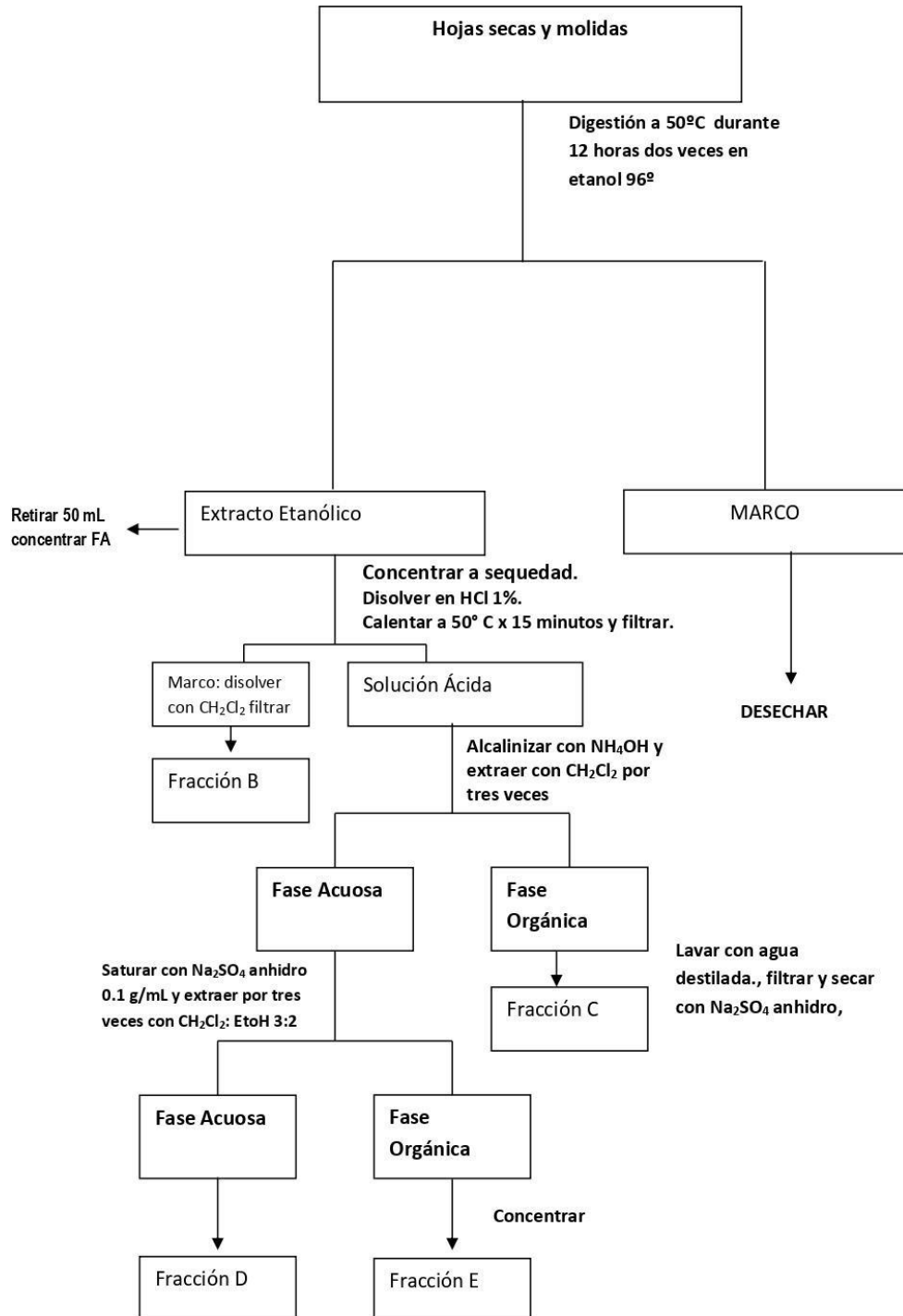
Se coloca 50,0 g del material seco y molido en un erlenmeyer de 1,000 mL y se adiciona 400 mL de etanol 96°, posteriormente se añade la pastilla magnética. Luego lo anteriormente mencionado se lleva al plato calefactor con agitación magnética y se ajusta los mandos del equipo o plato calefactor para alcanzar 50°C, se mantiene así durante 12 horas, seguidamente se procede a filtrar. El líquido filtrado se guarda y al marco se le adiciona 300 mL de etanol y se repite la segunda extracción durante 12 horas más de donde se obtiene un segundo líquido filtrado que se une al primero y ambos se concentran hasta la eliminación del solvente.

El marco se desecha.^{34,35}

B) FRACCIONAMIENTO DEL EXTRACTO ETANÓLICO

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

FLUJOGRAMA Nº 2
OBTENCIÓN DE LAS FRACCIONES DEL EXTRACTO
ETANÓLICO DE LAS HOJAS POS COSECHA SECAS Y
MOLIDAS DE *Lycopersicum esculentum L.*



3.2.3. CARACTERIZACIÓN DE LOS EXTRACTOS

1º. Análisis organoléptico se determinó:

Color: En un tubo de ensayo se depositan 3 g del extracto a evaluar y se deja en reposo durante cinco minutos, evaluando así el color.

Olor: En una luna de reloj se depositan 3 g del extracto a evaluar, luego se agita con la ayuda de una varilla y se procede a evaluar el olor.

Sabor: Con ayuda de una cucharilla de plástico se retiran unos mg del extracto a evaluar y se lleva a la boca para la evaluación del sabor, el extracto no es ingerido.

Aspecto: De las apreciaciones anteriores y palpando la consistencia del extracto se evaluó el aspecto.

2º. Determinación de cenizas

Método: Gravimétrico.

Fundamento: Se basa en la incineración de la parte orgánica de la muestra al ser sometido a altas temperaturas dejando la parte mineral o ceniza los cuales son generalmente de color blanco o grisáceos y en la determinación gravimétrica del residuo.

Procedimiento:

Se transfiere 10 mL de la muestra a analizar a una cápsula de peso conocido, luego se lleva la cápsula con la muestra a calor directo suave en una cocina eléctrica hasta que se seque, posteriormente se incrementa el calor hasta carbonizar la muestra y la cápsula que contiene el material carbonizado se lleva a una mufla graduada a temperatura de 550-560 °C y se mantiene allí durante 2 horas. Luego se retira la cápsula de la mufla y se pasa a un desecador para que se enfríe y finalmente se pesa. Se repite este proceso hasta alcanzar peso constante.^{34,35}

Cálculo:

$$\% \text{ de ceniza} = \frac{\text{g ceniza} \times 100}{\text{mL analizados}}$$

Dónde:

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

g ceniza = g de ceniza que quedan.

mL analizados = 10.

100 = para referir a porcentaje.

3º. Análisis de metabolitos secundarios

Para esta parte del trabajo se usó las fracciones del extracto etanólico, los cuales fueron preparados a una concentración de 100 mg/mL. Se utilizaron reacciones de precipitación y coloración para determinar el tipo de compuestos químicos presentes en estos extractos.

Las reacciones que se usaron fueron:

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

Procedimiento: A 2 mL de muestra a ensayar se agrega 0,5 mL de solución de FeCl₃ al 5 %.

Se considera positiva si aparecen coloraciones de color azul, verde o negra.

Se ensayó en el extracto etanólico o fracción A.

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

Procedimiento: En un tubo de ensayo se colocó 3 mL de solución de gelatina 1 % en NaCl 10 % y se agregó 0,5 mL de la muestra a ensayar.

La formación de un precipitado o turbidez de color blanco o crema es indicativa de presencia de taninos.
Se ensayó en el extracto etanólico o fracción A.

C. REACCIÓN DE SHINODA: Para determinar flavonoides.

Procedimiento: A 1 mL de muestra a analizar se le añaden unas 8-10 partículas de limadura de magnesio y seguidamente se añaden 6 gotas de ácido clorhídrico concentrado. Se espera a que termine la reacción y se añade 1 mL de alcohol amílico, luego se agita y se deja en reposo, finalmente se observa el color en la fase amílica.

Es positivo si se observa la aparición de una coloración anaranjada o roja.

Se ensayó en el extracto etanólico y fracción D.

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

Procedimiento: Se colocan 2 mL de muestra a analizar en un tubo de ensayo y se agrega 1 mL de ácido clorhídrico concentrado, luego se pone en baño maría hirviente durante 15 minutos, se retira, se enfría y posteriormente se adicionan 2 mL de agua destilada y 3 mL de alcohol amílico. Finalmente se deja en reposo durante 15 minutos y se observa el color en la fase amílica.

Se considera positiva si hay aparición de un color que va desde el carmesí oscuro hasta rosado débil, esto para leucoantocianidinas y de color marrón para las catequinas.

Se ensayó en el extracto etanólico y fracción D.

E. REACCIÓN DE LIEBERMANN BURCHARD: Para determinar esteroides y/o triterpenos.

Se coloca 5 mL de la muestra a analizar en una cápsula de porcelana y se concentran a sequedad en baño maría. Seguidamente se disuelve con 3 mL cloroformo y desde aquí se cogen las alícuotas.

Procedimiento: A 2 mL de muestra disuelta en cloroformo, se agrega 5 gotas de ácido acético, se mezcla y se adiciona unas gotas del reactivo anhídrido acético/H₂SO₄ 50:1.

Se considera positiva si aparece un color azul, verde o anaranjado.

Se ensayó en la fracción B y C.

F. REACCIÓN DE BORNTRAGER: Para determinar nafto y/o antraquinonas.

Procedimiento: A 2 mL de muestra se agrega 2 mL de solución acuosa de hidróxido de sodio al 10%, se agita suavemente y se observa el color que toma la fase acuosa.

Se considera positiva cuando la fase acuosa se torna de color roja.

Se ensayó en la fracción B.

G. REACCIONES DE DRAGENDORFF, WAGNER, HAGER Y MAYER:

Se procedió a ejecutar 4 reacciones sobre la fracción C.

Las reacciones fueron:

Reacción de Dragendorff

Procedimiento:

Se acidificó el extracto a ensayar con gotas de ácido clorhídrico al 1% y se añadieron 3 gotas del reactivo. La aparición de un precipitado anaranjado o rojo indican que la reacción es positiva.

Reacción de Wagner

Procedimiento:

La muestra a analizar se acidificó con ácido clorhídrico al 1% y se añade 2 ó 3 gotas del reactivo. La aparición de un precipitado marrón indica que la reacción es positiva.

Reacción de Hager

Procedimiento:

A 0,3 mL del extracto se acidificó con ácido clorhídrico al 1% y se añade 3 gotas del reactivo. La aparición de precipitado crema-amarillo indica que la reacción es positiva.

Reacción de Mayer

Procedimiento:

A 0,3 mL de muestra se acidificó con ácido clorhídrico al 1% y se añade 3 gotas de reactivo. La aparición de un precipitado amarillo indica que hay reacción es positiva.

H. PRUEBA DE FLUORESCENCIA: Para determinar cumarinas.

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:

Se marca tenuemente con lápiz tres puntos equidistantes; en el primero y segundo punto se impregna 1 gota del extracto a ensayar, al tercer punto 1 gota de hidróxido de potasio 0,5 M; se espera a que se sequen; y luego al primer punto se agrega 1 gota de hidróxido de potasio 0,5 M y se espera que seque. Seguidamente se observa a la luz ultravioleta de 366 nm de longitud de onda.

La aparición de fosforescencia en el primer punto es indicativa de la presencia de cumarinas.

Se ensayó en el extracto etanólico y fracción B.

I. PRUEBA DE LA ESPUMA: Para determinar saponinas.

Procedimiento: En un tubo de ensayo de 13 x 100 se colocan 3 mL del extracto a ensayar y se añade agua destilada para completar 10 mL, finalmente se agita fuertemente durante 1 minuto.

La presencia de saponinas será indicada por la formación de espuma que persistirá durante 30 minutos y a una altura no menor a 1 cm.³⁶

Se ensayó en el extracto etanólico o fracción A.

3.2.4. DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE POLIFENOLES TOTALES

Para esta determinación se empleó la fracción A y D preparadas a una concentración de 14 mg/mL y 10 mg/mL, respectivamente por dar resultados positivos a la presencia de fenoles.

A) MÉTODO

Se utilizó el método espectrofotométrico.

B) FUNDAMENTO

El método se fundamenta en la reducción del reactivo de Folin-Ciocalteu (que es una mezcla de ácido fosfotúngstico y ácido fosfomolibdico) de color amarillo a una coloración azul conformada por óxidos de tungsteno y de molibdeno. La intensidad del color azul se mide espectrofotométricamente. La pérdida de coloración es por la reducción ocasionada por los fenoles que reducen al reactivo de Folin-Ciocalteu.

C) PREPARACIÓN DE REACTIVOS

Reactivo de Folin-Ciocalteu:

Fue adquirido en Cimatec Perú.

Preparación de Carbonato de sodio 20 %:

Se pesaron 20 g de carbonato de sodio y se disolvieron en agua destilada cantidad suficiente para 100 mL.

Preparación de Ácido Gálico:

Se prepara la solución madre de ácido gálico: pesando 1,0000 g de ácido gálico y disolviéndolo en agua destilada cantidad suficiente para 100 mL. Luego se cogen 5 fioles de 100 mL y se añade 5, 10, 15, 20 y 25 mL de la solución patrón a cada una y se completan a 100 mL con agua destilada con lo que consigue obtener soluciones de 50, 100, 150, 200, y 250 mg de ácido gálico/100 mL, respectivamente.

D) DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE FENOLES TOTALES

El trabajo con cada extracto se realizó por triplicado. Para determinar el contenido de polifenoles se procedió como se indica en el siguiente cuadro:

CUADRO N° 1.

SET DE TRABAJO PARA DETERMINAR POLIFENOLES

Muestra	Ensayo	Muestra analizadas(mL)	Agua destilada (mL)	Na ₂ CO ₃ 20% (mL)	Reactivo Folin-Ciocalteu (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 D	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

Los reactivos se adicionaron en el orden de izquierda a derecha, se mezclaron adecuadamente y se dejó en reposo durante 30 minutos tapándolos de la luz; tiempo después del cual se lleva a la lectura en el espectrofotómetro a 700 nm de longitud de onda.

3.2.5. DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE FLAVONOIDES TOTALES

El trabajo se realizó en las fracciones A y D preparadas a una concentración de 1,4 % y 1,0 %, respectivamente.

A) MÉTODO DE TRICLORURO DE ALUMINIO

Fundamento: El catión de aluminio forma complejos estables con flavonoides presentes en solución metanólica; produciéndose un desplazamiento de la absorbancia hacia longitudes de onda mayores y una intensificación de la absorción. Esta propiedad es solamente de los flavonoides y no de otras sustancias fenólicas.

B) REACTIVOS

Preparación de la Solución de AlCl_3 al 10% en etanol 96°:

Se pesan 10,0000 g de tricloruro de aluminio y se disuelven con etanol 96° cuantitativamente hasta completar un volumen de 100 mL en una fiola.

Preparación de la Solución madre de quercetina 0.05%:

Se pesan 50 mg de quercetina y se disuelven cuantitativamente con etanol 96° hasta completar un volumen de 100 mL en una fiola.

Preparación de estándares de quercetina:

A partir de la solución madre de quercetina se preparan 25 mL de soluciones estándar de concentraciones de 4,0, 8,0, 12,0, 16,0 y 20,0 mg de quercetina/100 mL que se disuelven en etanol 96°, respectivamente.

Preparación de acetato de potasio 1 M:

Se pesa un 0,1 mol de acetato de potasio y se diluye con agua destilada cantidad suficiente para 100 mL.

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

De cada muestra a analizar se cogerá 0,5 mL y se pondrá en contacto con 1,5 mL de etanol 96°, 0,1 mL de solución de AlCl_3 10 % en etanol, 0,1 mL de solución de acetato de potasio 1 M y se diluye agregándole 2,8 mL de agua destilada. Se deja en reposo durante 30 minutos y finalmente se lee a longitud de onda (λ) =415 nm.

D) PROCEDIMIENTO PARA OBTENER LA CURVA DE CALIBRACIÓN DE LA REACCIÓN QUERCETINA TRICLORURO DE ALUMINIO

El equipo se calibra con un blanco que no contiene ni muestra ni estándar solo solvente etanol 96° y reactivo. De cada estándar de 4, 8, 12, 16 y 20 mg de quercetina/100 mL, se cogió 0,5 mL similarmente a los procesos con las muestras analizadas. Las absorbancias de estas determinaciones sirven para expresar los resultados de la muestra como contenido de flavonoides equivalentes a quercetina.

E) CÁLCULOS

Utilizando el método de los mínimos cuadrados y los resultados de las absorbancias versus las concentraciones de las soluciones estándares de quercetina se obtiene los valores a, b y m de la recta que fueron utilizados para determinar la concentración de flavonoides en las muestras conociendo sus absorbancias.

3.2.6. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

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-picrilhidrazil (DPPH) es un compuesto químico radical que cuando son expuestos a agentes secuestradores de radicales libre su concentración disminuye. Este proceso se mide usando un espectrofotómetro.

B) FUNDAMENTO

El método se basa en que el radical libre DPPH (solución color violeta) reacciona con compuestos secuestradores de electrones desapareados, disminuyendo su concentración (pérdida de la intensidad de color) que es monitoreada a una longitud de onda de 517 nanómetros.

C) PREPARACIÓN DE REACTIVOS

Preparación de la Solución DPPH:

Se pesan 22,00 mg del reactivo y se disuelven en 100 mL de metanol. La solución preparada se guarda protegiéndola de la luz del día.

Preparación de la Solución Amortiguadora de Acetato pH 6:

Para preparar 500 mL de ácido acético 0,1 M, se diluye en 1 L con agua destilada y se va incorporando 136,08 g de acetato sódico tri hidrato mientras se mide con un potenciómetro el pH de la solución.

D) DETERMINACIÓN DEL % INHIBICIÓN AL RADICAL DPPH

El % de inhibición al radical libre DPPH es la concentración del extracto expresada en microlitros que es capaz de hacer disminuir en las unidades % respectivas la concentración de una solución patrón del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) cuya absorbancia conocida es de 100 %.^{32,33}

E) SET DE TRABAJO PARA DETERMINAR LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE

Los procesos para determinar el % de inhibición al radical libre DPPH se presentan en el siguiente cuadro:

CUADRO N° 2
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 D	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				

Los reactivos se adicionaron en el orden de izquierda a derecha, se mezclaron adecuadamente y se dejó en reposo durante 30 minutos protegiéndolo de la luz; después se lleva a lectura en un espectrofotómetro a 517 nm de longitud de onda.

CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. RESULTADOS

4.1.1. DEL MATERIAL OBJETO DE ESTUDIO

A) De la obtención del material a estudiar

El promedio de hojas secas y molidas que deja cada planta pos cosecha de *Lycopersicum esculentum L.* es de 826,8 g

B) De la caracterización del material seco y molido

De las características organolépticas del material seco y molido fueron las siguientes:

Color: Verde.

Olor: Suigeneris.

Sabor: Desagradable, áspero, astringente y amargo.

Aspecto: Tiene un aspecto de polvo granuloso.

Del contenido de cenizas:

El promedio del contenido de cenizas fue de 5,08 g/100g.

4.1.2. DE LA OBTENCIÓN DE EXTRACTOS

A) Del extracto etanólico

El rendimiento del extracto etanólico por el método de digestión utilizado es de 13,87 %.

B) Del fraccionamiento del extracto etanólico

De 10.00 g de extracto etanólico o fracción A se obtiene:

5,26 g de fracción B.

0,84 g de fracción C.

1,73 g de fracción D.

4.1.3 DE LA CARACTERIZACIÓN DE LOS EXTRACTOS

A) Del análisis organoléptico

Para esta parte del trabajo se examinaron los extractos libres de solvente. Los resultados se presentan en el siguiente cuadro:

CUADRO N° 3
RESULTADOS DEL ANÁLISIS ORGANOLÉPTICO AL
EXTRACTO ETANÓLICO Y SUS FRACCIONES.

EXTRACTO O FRACCIÓN	COLOR	OLOR	SABOR	ASPECTO
Etanólico	Verde intenso	Suigeneris	Amargo Áspero	Pasta
Fracción B	Verde intenso	Inodoro	Amargo Áspero	Pasta Pegajosa
Fracción C	Ámbar claro	Inodoro	Amargo	Película Pastosa
Fracción D	Ámbar	Inodoro	Soso	Película Pastosa

Fuente: Los autores del trabajo.

B) De la determinación de cenizas

Solamente se determinó las cenizas del extracto etanólico siendo su resultado 1,92 %.

C) De la determinación de metabolitos secundarios

Las reacciones se trabajaron con soluciones preparadas al 1 % a partir de extractos o fracciones libres de solventes. Los resultados se presentan en el siguiente cuadro:

CUADRO N° 4.
RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE METABOLITOS SECUNDARIOS EN LAS HOJAS POS COSECHA DE *Lycopersicum esculentum L.*

REACCIÓN	EXTRACTO O FRACCIÓN	RESULTADO
TRICLORURO FÉRRICO	Etanólico Fracción D	++++ ++
GELATINA SAL	Etanólico Fracción D	++++ -
SHINODA	Etanólico Fracción D	+++ +++
BORNTRAGER	Fracción B	-
LIEBERMANN	Fracción B	+++
BURCHARD	Fracción C	++
FLUORESCENCIA	Etanólico	++
ROSENHEIM	Etanólico Fracción D	+ Catequinas + catequinas
DRAGENDORFF	Fracción C	++++
MAYER	Fracción C	++
HAGER	Fracción C	+++
WAGNER	Fracción C	+++
ESPUMA	Etanólico	+

4.1.4. DE LA DETERMINACIÓN CUANTITATIVA DE POLIFENOLES TOTALES

A. De las absorbancias de las soluciones patrón de ácido gálico

Los resultados \bar{X} de 3 determinaciones se presentan en el cuadro y gráfico siguiente:

CUADRO N° 5.

RESULTADO DE LAS ABSORBANCIAS DE LAS SOLUCIONES PATRÓN DE ÁCIDO GÁLICO FRENTE AL REACTIVO DE FOLIN-CIOCALTEU.

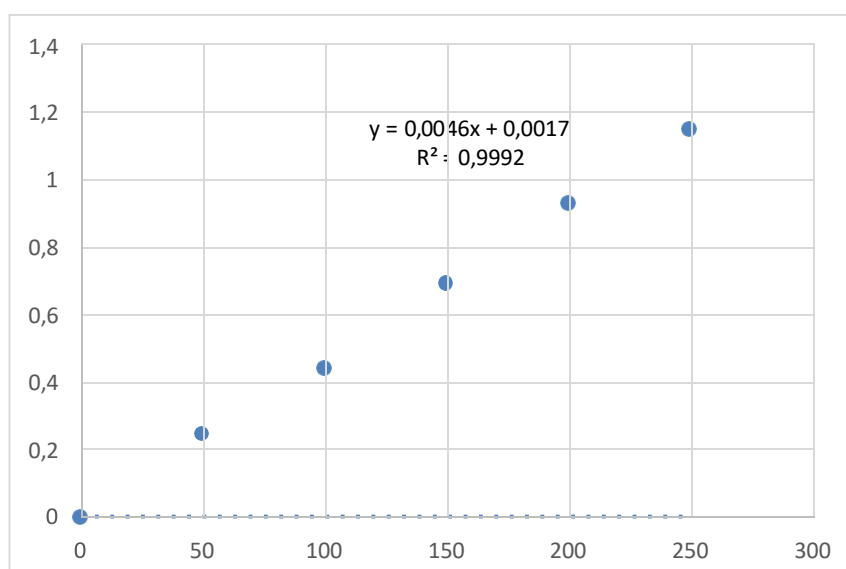
Muestra	Absorbancias	Absorbancia menos blanco
Blanco	0,036	0,000
50	0,283	0,247
100	0,477	0,441
150	0,728	0,692
200	0,965	0,929
250	1,186	1,150

Fuente: Los autores del trabajo.

GRÁFICO N° 01

CURVA DE ABSORBANCIAS DE LAS SOLUCIONES PATRÓN DE ÁCIDO GÁLICO VERSUS EL REACTIVO DE FOLIN-CIOCALTEU.

Fuente: Cuadro N° 5



Estos datos fueron analizados por el método estadístico de los mínimos cuadrados y se determinaron los valores de la recta: $Y = mx + b$

Obteniéndose los siguientes valores:

$$m = 0,0017$$

$$b = 0,0046$$

$$R^2 = 0,9992$$

Con estos datos y aplicando la ecuación de la recta se calculan las concentraciones de fenoles totales de las muestras (valores X) ya que se conocen las absorbancias (valores Y) de las muestras.

B. ABSORBANCIAS Y CONTENIDO DE POLIFENOLES EN LAS MUESTRAS ANALIZADAS

Los resultados de las absorbancias, contenido de fenoles expresados como mg equivalente a ácido gálico/100 mL y % (g de fenoles (EAG)/100 g de muestra) se presentan en los cuadros y gráficos siguientes:

CUADRO N° 6

RESULTADO PROMEDIO DE 3 DETERMINACIONES DE POLIFENOLES EXPRESADOS COMO mg DE POLIFENOLES (EAG)/100 mL EN MUESTRAS ANÁLIZADAS.

FRACCIÓN	ABSORBANCIA	ABSORBANCIA - BLANCO	mg FT
Blanco	0,038	----	----
Extracto Etanólico	0,786	0,750	162,67
Fracción D	0,450	0,412	89,19

Fuente: Los autores del trabajo.

**4.1.5. De la determinación del contenido de flavonoides totales
De la curva de calibración entre quercetina y tricloruro de
aluminio**

Los resultados se presentan en el siguiente cuadro:

**CUADRO N°7.
RESULTADOS DE LAS ABSORBANCIAS PARA ELABORAR
LA CURVA DE VALORACIÓN QUERCETINA TRICLORURO
FÉRRICO.**

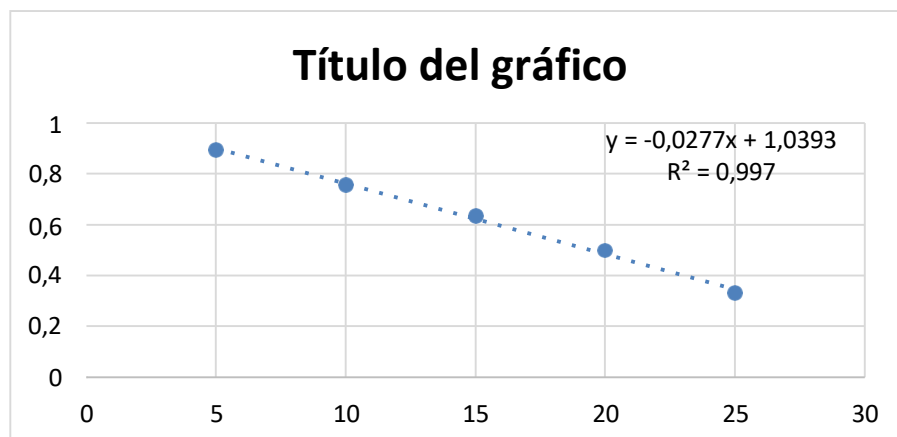
CONCENTRACIÓN DE SOLUCIÓN ESTÁNDAR DE QUERCETINA mg/100 mL	ABSORBANCIAS
2,00	0,196
8,00	0,411
12,0	0,610
16,0	0,812
20,0	1,044

Fuente: Los autores del trabajo.

Estos resultados fueron analizados por el método estadístico de los mínimos cuadrados y se obtienen los valores de la recta:

Conociendo la absorbancia de las muestras analizadas matemáticamente se procedió a calcular la concentración de flavonoides, que se presenta en el siguiente gráfico:

GRÁFICO Nº 2
CURVA DE VALORACIÓN QUERCETINA TRICLORURO
FÉRRICO.



Fuente cuadro Nº 7

Estos datos fueron analizados por el método estadístico de los mínimos cuadrados y se determinaron los valores de la recta: $Y = mx + b$

Obteniéndose los siguientes valores:

$$m = 1,0393$$

$$b = - 0,00277$$

$$R^2 = 0,997$$

Con estos datos y aplicando la ecuación de la recta se calculan las concentraciones de flavonoides totales de las muestras (valores X) ya que se conocen las absorbancias (valores Y) de las muestras.

Los resultados del contenido de flavonoides totales se presentan en el siguiente cuadro:

CUADRO N° 8**RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE FLAVONOIDES
TOTALES EN HOJAS POS COSECHA DE *Lycopersicum
esculentum L.***

MUESTRA	ABSORBANCIA	ABSORBANCIA - BLANCO	CONCEN TRACIÓN
Blanco	0,024	0,000	0,000
Fracción A	0,486	0,462	8,36
Fracción D	0,504	0,480	8,74

4.1.6. DE LA DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE**A. DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LAS SOLUCIONES
PATRÓN DE ÁCIDO GÁLICO**

Las absorbancias de las soluciones de ácido gálico 5, 10, 15, 20 y 25 mg/100 mL versus el reactivo DPPH se presentan en el siguiente cuadro:

CUADRO N° 9.**% DE ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE AL RADICAL LIBRE DPPH
DEL EXTRACTO ETANÓLICO DE LAS HOJAS POS
COSECHA DEL TOMATE Y SU FRACCIÓN D.**

Muestr a ensaya da	Absorban cia	Disminuci ón de absorbanc ias	% de la disminuci ón	% actividad antioxida nte
DPPH	1,026	0,000	100	0,00
Fracció n A	0,516	0,490	47,75	52,24
Fracció n D	0,706	0,300	29,23	70,77

Fuente: Los autores del trabajo.

4.2. DISCUSIÓN

Sin duda alguna el desarrollo de los pueblos está ligado directamente al desarrollo de su actividad económica, en donde Ica se basa en la explotación de sus recursos naturales renovables; como por ejemplo la agroindustria, sin embargo, es necesario evaluar los impactos ambientales que generan los procedimientos al culminar un proceso productivo. La agroindustria galopante genera inevitablemente grandes cantidades de residuos agrarios que en nuestro medio no se utilizan con fines económicos ya que terminan siendo quemados. En el departamento de Ica uno de los cultivos de notable importancia económica es el *Lycopersicum esculentum L.* (tomate) especie vegetal de la familia de las solanáceas que el reporte bibliográfico de Medina J, Aviña G, García J⁶ señalan como especies promisorias de fuente de metabolitos secundarios. Guano G, Esperanza G⁹ trabajaron con extractos de hojas de tomate y demostró la actividad cicatrizante que tienen los extractos ensayados, además este autor reporta un contenido de 1,19 mg de polifenoles totales (equivalentes a ácido gálico)/1 g de hoja y un contenido de 0,799 mg flavonoides totales (equivalentes a quercetina)/1g de hoja. Estas apreciaciones son concordantes con los hallados en mi trabajo, pues al trabajar con las hojas pos cosecha de tomates he determinado un alto rendimiento de metabolitos secundarios, de la extracción por digestión que ensaye he determinado un rendimiento de 13,87 g de extracto libre de solvente/100 g de hojas secas y molidas el mismo que tiene compuestos de naturaleza fenólica, flavonoides, alcaloides entre otros. De la cuantificación del contenido de polifenoles totales utilizando el reactivo de Folin-Ciocalteu en el extracto etanólico al 1,4 % y la fracción D del extracto etanólico al 1,0 % determine un contenido de 162,67 y 89,19 mg de polifenoles totales (equivalentes a ácido gálico/100 mL). El contenido de flavonoides determinado en mi trabajo de investigación fue de 8,36 y 8,74 mg de flavonoides totales (equivalentes a quercetina/100 mL) para el extracto etanólico

y su fracción D, respectivamente en donde indica que la fracción D es concentrada en contenido de flavonoides o que la obtención de flavonoides del extracto etanólico de hojas pos cosecha del tomate podría ir por ese método. En nuestro trabajo de investigación además hemos determinado la actividad antioxidante del extracto etanólico y su fracción D determinando que dichos extractos tienen una capacidad de 52,24 % y 70,77 % para inhibir la actividad del radical libre DPPH de una solución DPPH de absorbancia 1,026. La pérdida de intensidad de color expresada como disminución de la actividad del radical libre DPPH de 1.026 a valores de 0,516 y 0,706 es ocasionada por compuestos químicos con capacidad para atrapar radicales libres.

CONCLUSIONES

Las características de las hojas pos cosecha de *Lycopersicum esculentum L.* secas y molidas tienen un aspecto granuloso pulverulento de color verde y olor suigeneris de sabor áspero, astringente y amargo. Presentan 5,08 g/100g como contenido de cenizas.

De 100 g de hojas pos cosecha de *Lycopersicum esculentum L.* por el método de digestión de 50-55°C dos veces durante 12 horas se obtiene 13,87 g de extracto etanólico. El fraccionamiento de 10 g del extracto etanólico produce 5,26 g de fracción B, 0,84 g de fracción C y 0,173 g de fracción D.

En las hojas pos cosecha de *Lycopersicum esculentum L.* se ha determinado la presencia de compuestos químicos de naturaleza fenólica, taninos, flavonoides, cumarinas, triterpenos y/o esteroides, catequinas, alcaloides y saponinas.

El contenido de polifenoles totales en la fracción A preparada al 1,4 % es equivalente al de una solución de ácido gálico 162,67 mg ácido gálico/100mL. Mientras que la fracción D preparada al 1 % tiene un contenido de polifenoles totales equivalentes al de una solución de ácido gálico 89,19 mg/100mL. Para estos mismos extractos el contenido de flavonoides totales es de 8,36 y 8,74 mg equivalentes a quercetina/100mL.

La capacidad para inhibir al radical libre DPPH para el extracto etanólico y su fracción D es de 52,24 y 70,77 %, respectivamente.

RECOMENDACIONES

Realizar otros estudios sobre la actividad antioxidante empleando otros modelos experimentales.

Estudiar los posibles usos de los compuestos químicos presentes en el extracto etanólico de las hojas pos cosecha de *Lycopersicon esculentum* L.; someterlo a screening farmacológico para determinar sus propiedades y evaluar su utilidad a fin de dar un valor económico agregado a este subproducto.

Separar los componentes químicos de la fracción A y D que son los responsables de la promisorio actividad antioxidante que presenta este extracto.

FUENTES DE INFORMACIÓN

1. Ministerio de Agricultura y Riego. Boletín estadístico de producción agrícola y ganadera. IV trimestre 2017. Disponible en: http://siea.minagri.gob.pe/siea/sites/default/files/produccion-agricola-ganadera-ivtrimestre2017_220318_0.pdf
2. Koichi N, Keishiro I. Estudio sobre el caso de la producción creciente del tomate en los desiertos mediante el sistema agrario con poco insumo: desafíos en la zona costera del Perú 2011. Disponible en: http://www.uap.edu.pe/Investigaciones/Esp/Revista_14_Esp_02.pdf
3. Familia: Solanáceas. Disponible en: <http://exa.unne.edu.ar/biologia/diversidadv/documentos/ANGIOSPERMAS/Asterideas/Euasterideas%20I%20o%20Lamiideas/Solanales/4-Solanaceae.pdf>
4. Iler D. Evaluación de la actividad nematocida *in vitro* de aceites esenciales frente a *Meloidogyne*. Trabajo de Titulación en Ingeniera Bioquímica, Universidad Técnica de Ambato. Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos. Ecuador 2017.
5. Crisanto K, Ayquipa G. Efecto del extracto etanólico de semillas de *Ricinus communis* L. sobre adultos de *Bemisia tabaci* GENN., en condiciones de laboratorio. SAGASTEGUIANA. 2013; 1(1): 11-18.
6. Medina J, Aviña G, Garcia J. Flavonoids identified from *Physalis* gender (Solanaceae), its antioxidant capacity and importance as chemical markers: A review. *Naturaleza y Desarrollo*. 2014; 12(1).
7. Fernández A, Cuesta O, Fuentes V y col. Actividad anti-plasmodial de especies de *Solanaceae* presentes en Cuba. *Rev Cubana Med Trop*. 2015; 67(3).
8. Serna J, Correa J. Extractos de hojas de tomate *Lycopersicon esculentum* como fago-inhibidores de *Atta cephalotes*. *Agronomía Colombiana*. 2003; 21(3):142-153.

9. Guano G, Esperanza G. Evaluación de la actividad cicatrizante del extracto de las hojas de tomate (*Solanum lycopersicum L*) en lesión, inducida en ratones (*Mus musculus*). Tesis para optar el título de Bioquímica Farmacéutica. Riobamba-Ecuador 2015.
10. Quintanilla A, Ramírez B, Rivas H. Evaluación de la actividad insecticida de los extractos alcohólicos de cuatro especies vegetales en el control de la chinche pata de hoja (*Leptoglossus zonatus Linneo.*) a nivel de laboratorio. Trabajo de graduación para optar al grado de: Licencia en Química y Farmacia. San Salvador 2003.
11. Rueda A, Echeverri F, Torres F y col. Perfil químico y microbiológico del tomate de árbol (*Cyphomandra spp.*) y su papel contra *Colletotrichum Gloeosporioides Penz* agente causal de la antracnosis. Actual Biol. 2005; 27 (1):117-121.
12. Merino R, Martín G. Producción de Semillas Híbridas de Tomates (*Solanum lycopersicum L.*) Determinados e Indeterminados en el valle de Cañete. Trabajo Monográfico para optar el título de Ingeniero Agrónomo. Universidad nacional Agraria la Molina. Lima-Perú 2017.
13. El cultivo del tomate: Origen. Disponible en: allmacigos.cl/bt/EL%20CULTIVO%20DEL%20TOMATE.pdf
14. Sañudo R, Martínez G, Ruiz R, Medina S, Piña H, Félix J. Potencial endofítico de diferentes aislados de *Beauveria bassiana* en plantas de tomate (*Lycopersicon esculentum Mill.*). Tesis para obtener el grado de Maestro en Ciencias en Desarrollo Sustentable de Recursos Naturales. Sinaloa México 2013.
15. Brouwer C, County H. El Tomate, sus Datos e Historia. Extensión Agent-Horticulture. Disponible en: counties.agrilife.org/harris/files/2011/05/eltomate.pdf
16. Vergani R. *Lycopersicum esculentum*: Una breve historia. Disponible en: www.horticom.com/pd/imagenes/50/956/50956.pdf
17. El tomate, taxonomía, y descripciones botánicas, morfológicas, fisiológicas y ciclo biológico o agronómico. Disponible en:

<http://www.agroes.es/cultivos-agricultura/cultivos-huerta-horticultura/tomate/339-tomate-descripcion-morfologia-y-ciclo>.

18. Rodríguez V, Morales J. Evaluación de alternativas de protección física y química de semilleros de tomate (*Lycopersicum esculentum Mill*) contra el ataque del complejo mosca blanca (*Bemisia tabaci*, *Gennadius*)-geminivirus y su efecto en el rendimiento, en el municipio de Tisma, Masaya. Tesis para optar el título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Nacional Agraria. Managua 2007.
19. Reardon J. North Carolina Department of Agriculture and Consumer Services Food and Drug Protection Division. Disponible en: <http://www.ncagr.gov/fooddrug/espanol/documents/Tomate.pdf>
20. Montoya C. Aspectos bioquímicos y bioactivos de catorce accesos de tomate (*Solanum lycopersicum L.*) conservados en el banco portugués de germoplasma vegetal. Tesis para optar el grado de Maestro en Farmacia y química de los Productos Naturales. Universidad de Salamanca 2017.
21. Usos Medicinales del tomate. Disponible en: <https://www.misabueso.com/salud/Tomate>
22. Polifenol. wikipedia, la enciclopedia libre. Disponible en: <https://es.wikipedia.org/wiki/Polifenol>
23. Mercado G, de la Rosa L, Wall A. y col. Compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante de especias típicas consumidas en México. Nutr Hosp. 2013; 28(1):36-46.
24. Diahann J. Beneficios de los compuestos fenólicos en la salud. Efectos en la obesidad. Disponible en: http://www.inv.gov.ar/inv_contenidos/pdf/foro/2018/Seminario_Vino_y_Salud.pdf
25. Barberán F. Los polifenoles de los alimentos y la salud. Alim. Nutri. Salud. 2003; 10 (2): 41-53.
26. Quiñones M, Miguel M, Aleixandre A. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. Nutr Hosp. 2012; 27(1):76-89.

27. Porras A, López A. Importancia de los grupos fenólicos en los alimentos. *Temas selectos de Ingeniería de los Alimentos*. 2009; 3(1):121-134.
28. Zapata C, Cardona M. Estudio de la biodisponibilidad de los antioxidantes hidrosolubles tipo flavonoides para su utilización en la industria de las bebidas. Tesis para optar al título de Especialista en Alimentación y Nutrición. Universidad Lasallista 2014.
29. Lutz M. Biodisponibilidad de compuestos bioactivos en alimentos. *Perspectivas en Nutrición Humana*. 2013; 15(2):217-226.
30. 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.
31. Delgado L. Mecanismos de acciones implicadas en la bioactividad de flavonoides. *Caenorhabditis elegans* y líneas celulares como sistemas modelo. Tesis para optar el Grado de Doctor en Farmacia. Universidad de Salamanca 2015.
32. Repo R, Encina C. Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas peruanas. *Rev Soc Quím Perú*. 2008; 74(2):108-124.
33. Brand W, Cuvelier M, Berset C. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensm.- Wiss. u.-Technol.* 1995; 28:25–30.
34. Harris D. *Análisis Químico Cuantitativo*. 2da Edición. España: Editorial Reverté S.A. ;2001.
35. Skook A, Wets D, Holler J. *Fundamentos de Química Analítica Cuantitativa*. 9na Edición. México: Editorial Reverté S.A.; 2003.
36. Lock O. *Investigaciones Fitoquímicas*. 1ra Edición. Perú: Fondo Editorial Pontificia Universidad Católica del Perú; 1992.

Ica, Diciembre del 2019

.....

Bach. Luz M. Cahuana Tapia

Tesista

.....

Bach. Giovani E. Cuello Medina

Tesista

.....

Mag. Unfredo P.

Apumayta Vega

Asesor

ANEXO. 1 Matriz de consistencia

Anexo Nº 01.

Problema.	Hipótesis.	Variables.	Objetivos.	Indicadores.
<p>Principal.</p> <p>¿Cuáles son las características y que contenido de fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante tienen el extracto etanólico de las hojas pos cosecha de <i>Lycopersicum esculentum L.</i>?</p>	<p>Principal.</p> <p>Hipótesis principal.</p> <p>De las hojas pos cosecha de <i>Lycopersicum esculentum L.</i> se obtiene extracto etanólico con rendimientos de entre 8 - 12 % de compuestos fenólicos y flavonoides que tienen marcada actividad antioxidante.</p> <p>Hipótesis secundarias.</p> <p>El extracto etanólico 10 % de las hojas pos cosecha de <i>Lycopersicum esculentum L.</i> tiene un contenido de entre 60-80 mg de fenoles totales equivalente ácido gálico/100 mL. respectivamente.</p> <p>-El extracto etanólico 10 % de las hojas pos cosecha de <i>Lycopersicum esculentum L.</i> tiene un contenido de entre 20 – 40 mg de flavonoides totales equivalente quercetina/100 mL. respectivamente.</p> <p>-El extracto etanólico de las hojas pos cosecha de <i>Lycopersicum esculentum L.</i> son capaces de inhibir entre 40 - 50 % la actividad del radical libre DPPH, respectivamente.</p>	<p>Variable Independiente.</p> <p>Hojas pos cosecha de <i>Lycopersicum esculentum L.</i></p> <p>Variables Dependientes.</p> <p>- Características del extracto</p> <p>- Contenido de fenoles totales</p> <p>-Contenido de flavonoides</p> <p>-Actividad antioxidante</p>	<p>Objetivo General.</p> <p>Caracterizar y determinar el contenido de fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante que tienen el extracto etanólico de las hojas pos cosecha de <i>Lycopersicum esculentum L.</i></p> <p>Objetivos Específicos.</p> <p>Caracterizar los extractos etanólicos de las hojas pos cosecha de <i>Lycopersicum esculentum L.</i></p> <p>-Cuantificar el contenido de fenoles totales del extracto etanólico de las hojas pos cosecha de <i>Lycopersicum esculentum L.</i></p> <p>-Cuantificar el contenido de flavonoides del extracto etanólico de las hojas pos cosecha de <i>Lycopersicum esculentum L.</i></p> <p>-Determinar la actividad antioxidante del extracto etanólico de las hojas pos cosecha de <i>Lycopersicum esculentum L.</i></p>	<p>Características morfológicas</p> <p>Rendimiento y metabolitos secundarios</p> <p>mg de fenoles totales equivalente a EAG/100 mL</p> <p>mg de flavonoides totales equivalente a quercetina/ mL</p> <p>Reacción DPPH</p>

Anexo № 02.



Anexo № 03.



Anexo № 04.

