UNIVERSIDAD POLITÉCNICA SALESIANA
SEDE CUENCA

CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA DE LOS RECURSOS NATURALES

Trabajo de titulación previo a la obtención del título de Ingeniero en Biotecnología de los Recursos Naturales

TRABAJO EXPERIMENTAL:

"DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO Y ACUOSO DE LA PULPA DEL FRUTO DE PITAHAYA (*Cereus* sp.), PRODUCIDA EN LA PROVINCIA DE MORONA SANTIAGO PARA POSIBLE USO EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA"

AUTOR:

CARLOS DAVID GUARTATANGA VILLAFUERTE

TUTORA:

DRA. MYRIAM XIMENA MANCHENO CÁRDENAS

CUENCA - ECUADOR

2022

CESIÓN DE DERECHOS DE AUTOR

Yo, Carlos David Guartatanga Villafuerte con documento de identificación N° 1450190424, manifiesto mi voluntad y cedo a la Universidad Politécnica Salesiana la titularidad sobre los derechos patrimoniales en virtud de que soy autor del trabajo de titulación: **"DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO Y ACUOSO DE LA PULPA DEL FRUTO DE PITAHAYA (*Cereus* sp.), PRODUCIDA EN LA PROVINCIA DE MORONA SANTIAGO PARA POSIBLE USO EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA"**, mismo que ha sido desarrollado para optar por el título de: *Ingeniero en Biotecnología de los Recursos Naturales*, en la Universidad Politécnica Salesiana, quedando la Universidad facultada para ejercer plenamente los derechos cedidos anteriormente.

En aplicación a lo determinado en la Ley de Propiedad Intelectual, en mi condición de autor me reservo los derechos morales de la obra antes citada. En concordancia, suscribo este documento en el momento que hago entrega del trabajo final en formato digital a la Biblioteca de la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, enero de 2022.

Carlos David Guartatanga Villafuerte

C.I. 1450190424

CERTIFICACIÓN

Yo, declaro que bajo mi tutoría fue desarrollado el trabajo de titulación: **"DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO Y ACUOSO DE LA PULPA DEL FRUTO DE PITAHAYA (*Cereus* sp.), PRODUCIDA EN LA PROVINCIA DE MORONA SANTIAGO PARA POSIBLE USO EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA"**, realizado por Carlos David Guartatanga Villafuerte, obteniendo el *Trabajo Experimental*, que cumple con todos los requisitos estipulados por la Universidad Politécnica Salesiana.

Cuenca, enero de 2022.

Dra. Myriam Ximena Mancheno Cárdenas

C.I. 0602018160

DECLARATORIA DE RESPONSABILIDAD

Yo, Carlos David Guartatanga Villafuerte con documento de identificación N° 1450190424, autor del trabajo de titulación: **"DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DEL EXTRACTO ETANÓLICO Y ACUOSO DE LA PULPA DEL FRUTO DE PITAHAYA (*Cereus* sp.), PRODUCIDA EN LA PROVINCIA DE MORONA SANTIAGO PARA POSIBLE USO EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA"**, certifico que el total contenido del *Trabajo Experimental*, es de mi exclusiva responsabilidad y autoría.

Cuenca, enero de 2022.

Carlos David Guartatanga Villafuerte

C.I. 1450190424

Dedicatoria

El presente trabajo de investigación va dedicado en especial a mis padres Raúl y Margarita, pues sin ellos no lo habría logrado. Gracias a su apoyo incondicional, esfuerzos, consejos y paciencia he podido llegar a esta etapa de mis estudios, la persona que soy hoy en día es gracias a ellos.

De igual manera esta tesis va dedicada a mis compañeros que estuvieron siempre a mi lado, brindándome su ayuda y apoyo en los momentos más difíciles.

Agradecimientos

A mis padres por todo el esfuerzo y sacrificios que tuvieron que realizar para que pueda culminar con mis estudios.

Agradezco a mi tutora de tesis Dra. Myriam Mancheno por sus enseñanzas y orientación al presente trabajo de investigación.

A todos mis docentes por los conocimientos y sabiduría impartidos durante mi vida universitaria.

A mis compañeros de carrera con los que compartí muchas experiencias dentro y fuera de las aulas.

Agradezco al personal encargado de los Laboratorios de Ciencias de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana, por la ayuda brindada durante la realización de mi trabajo de investigación.

Índice de Contenidos

Cesión de Derechos de Autor ii

Certificación iii

Declaratoria de Responsabilidad iv

Dedicatoria v

Agradecimientos vi

Índice de Contenidos vii

Índice de Figuras xi

Índice de Tablas xiii

Índice de Anexos xiv

Resumen xv

Abstract xvi

Capítulo 1 1

Antecedentes 1

1.1 Introducción 1

1.2 Problema de Investigación 3

1.3 Pregunta de Investigación 4

1.4 Justificación 4

1.5 Limitaciones 5

1.6 Objetivos 6

General 6

Específicos 6

1.7 Hipótesis 6

Capítulo 2 7

Marco Teórico 7

2.1 Definición de Términos Básicos 7

2.2 Estado del Arte 8

2.3 Bases Teóricas 9

2.3.1. Pitahaya 9

2.3.2. Antioxidantes 18

2.3.3. Metabolitos Secundarios 21

2.3.4. Screening Fitoquímico 29

2.3.5. Método de Evaluación de la Actividad Antioxidante 30

Capítulo 3 32

Marco Metodológico 32

3.1. Nivel de la Investigación 32

3.2. Diseño de la Investigación 32

3.3. Población y Muestra 32

3.4. Variables 33

3.5. Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos 33

3.6. Técnicas de Procesamiento y Análisis de Datos 33

3.7. Procedimientos de Laboratorio 34

3.7.1. Recolección de la Muestra 34

3.7.2. Tratamiento de la Muestra 35

3.7.3. Obtención de Extractos Totales 35

3.7.4. Caracterización Cualitativa 37

3.7.5. Determinación de la Capacidad Antioxidante 39

Capítulo 4 43

Resultados y Discusión 43

4.1 Obtención de los Extractos 43

4.1.1 Obtención del Extracto Acuoso 43

4.1.2 Obtención del Extracto Etanólico 44

4.2 Caracterización Cualitativa de los Extractos 44

4.3 Determinación de la Capacidad Antioxidante 50

4.3.1 Determinación de la Capacidad Antioxidante de la Solución Patrón 50

4.3.2 Determinación de la Capacidad Antioxidante del Extracto Acuoso 53

4.3.3 Determinación de la Capacidad Antioxidante del Extracto Etanólico 55

4.3.4 Determinación de la Capacidad Antioxidante del Compuesto Sintético 58

4.3.5 Comparación del IC50 de las Muestras 61

4.4 Comparación de la Capacidad Antioxidante de los Extractos de la Pulpa de Pitahaya Frente a un Compuesto Sintético 62

Conclusiones 67

Recomendaciones 69

Referencias 70

Anexos 81

Índice de Figuras

Figura 1 Planta de Pitahaya 12

Figura 2 Pitahaya en periodo de maduración natural 14

Figura 3 Clases de alcaloides 23

Figura 4 Estructura química de las saponinas 24

Figura 5 Clasificación de los fenoles y polifenoles 26

Figura 6 Estructura de taninos hidrolizables, cadena de dépsido n-gálico (recuadro) unido, vía enlace éster, al ácido quínico en su posición meta C(5) 27

Figura 7 Estructura básica de un flavonoide, subclases 29

Figura 8 Principio del ensayo de capacidad antioxidante con DPPH 31

Figura 9 Fruto de pitahaya 34

Figura 10 Preparación del extracto acuoso del fruto de pitahaya 36

Figura 11 Extracto etanólico purificado 37

Figura 12 Resultados del ensayo de Dragendorff 46

Figura 13 Resultados del ensayo de espuma 47

Figura 14 Resultados del ensayo de cloruro férrico para fenoles 48

Figura 15 Resultados del ensayo de cloruro férrico para taninos 49

Figura 16 Resultados del ensayo de Shinoda 50

Figura 17 Porcentaje de inhibición del radical DPPH del ácido Ascórbico puro 52

Figura 18 Porcentaje de inhibición del radical DPPH del extracto acuoso 55

Figura 19 Porcentaje de inhibición del radical DPPH del extracto etanólico 57

Figura 20 Porcentaje de inhibición del radical DPPH del compuesto sintético 60

Figura 21 Resultados del IC50 de la solución patrón, compuesto sintético, extracto etanólico y acuoso 61

Figura 22 ANOVA de un solo factor en el programa Minitab 19 63

Figura 23 Pesaje de la muestra 82

Figura 24 Extracto etanólico 82

Figura 25 Centrifugación de las muestras 83

Figura 26 Extracto libre de impurezas 83

Figura 27 Evaporación rotativa al vacío 84

Figura 28 Volumen final del extracto etanólico 84

Figura 29 Radical libre DPPH 85

Figura 30 Ácido ascórbico puro 85

Figura 31 Disolución del extracto acuoso 86

Figura 32 Disoluciones en diferentes fracciones 86

Figura 33 Inhibición del radical DPPH 87

Índice de Tablas

Tabla 1 Taxonomía de la planta de Pitahaya 11

Tabla 2 Composición nutricional del fruto de la pitahaya amarilla 16

Tabla 3 Preparación de muestras en diferentes fracciones 41

Tabla 4 Resultado de la preparación del extracto acuoso 43

Tabla 5 Resultado de la preparación del extracto etanólico 44

Tabla 6 Resultado de la marcha fitoquímica del extracto acuoso 45

Tabla 7 Resultado de la marcha fitoquímica del extracto etanólico 45

Tabla 8 Resultados de la actividad antirradical del ácido ascórbico puro 50

Tabla 9 Resultados de la actividad antirradical del extracto acuoso 53

Tabla 10 Resultados de la actividad antirradical del extracto etanólic 55

Tabla 11 Resultados de la actividad antirradical del compuesto sintético 58

Tabla 12 Prueba de Shapiro-Wilk en el programa IBM SPSS Statistics 62

Tabla 13 Comparación de los extractos con una solución patrón – Prueba de Dunnett, IBM SPSS Statistics 65

Tabla 14 Comparación de los extractos con una tableta de vitamina C – Prueba de Dunnett, IBM SPSS Statistics 66

Índice de Anexos

Anexo 1 Lista de abreviaturas 81

Anexo 2 Preparación de los extractos..... 82

Anexo 3 Reactivos..... 85

Anexo 4 Método DPPH..... 86

Resumen

En esta investigación, se determina la capacidad antioxidante de los extractos etanólico y acuoso de la pulpa del fruto de pitahaya (*Cereus* sp.), producida en la provincia de Morona Santiago, mediante técnicas de laboratorio, para posible uso en la industria alimentaria. La razón de este proyecto, se debe a que en la actualidad la industria alimentaria utiliza antioxidantes de origen sintético para la elaboración de sus productos, pero estos poseen efectos tóxicos demostrados por investigaciones toxicológicas. Así el uso de antioxidantes de origen natural surge como una alternativa más viable. Para la extracción de los principios activos de la pulpa de pitahaya se prepara un extracto acuoso y un extracto etanólico al 96%, en relación 3:1 a la muestra. Luego se lleva a cabo un tamizaje fitoquímico para determinar de manera cualitativa la presencia de grupos bioactivos. Por último, se mide la actividad antioxidante de los extractos por medio del método DPPH. Como resultado se obtiene un valor de IC50 de 128,2881 µg/mL para el extracto etanólico y un valor de IC50 de 611,0229 µg/mL para el extracto acuoso. Además, se compara la actividad antioxidante de los extractos con una solución patrón de ácido ascórbico puro y un compuesto sintético (tableta de vitamina C). De este modo se llega a la conclusión que el extracto etanólico de la pulpa de pitahaya muestra mayor actividad antioxidante que el extracto acuoso, pero dicha fruta no representaría un interés en la industria alimentaria como sustituto de antioxidantes de origen sintético por la baja actividad antioxidante que presenta.

Palabras clave: actividad antioxidante, DPPH, *Cereus* sp., IC50

Abstract

In this research, the antioxidant capacity of ethanolic and aqueous extracts of pitahaya fruit pulp (*Cereus* sp.), produced in the province of Morona Santiago, is determined by laboratory techniques for possible use in the food industry. The reason for this project is due to the fact that the food industry currently uses antioxidants of synthetic origin for the elaboration of its products, but these have toxic effects demonstrated by toxicological research. Thus, the use of antioxidants of natural origin emerges as a more viable alternative. For the extraction of the active principles of pitahaya pulp, an aqueous extract and a 96% ethanolic extract are prepared in a 3:1 ratio to the sample. Then, a phytochemical screening is carried out to qualitatively determine the presence of bioactive groups. Finally, the antioxidant activity of the extracts is measured by the DPPH method. As a result, we obtained an IC50 value of 128.2881 µg/mL for the ethanolic extract and an IC50 value of 611.0229 µg/mL for the aqueous extract. In addition, the antioxidant activity of the extracts is compared with a standard solution of pure ascorbic acid and a synthetic compound (vitamin C tablet). Thus, it is concluded that the ethanolic extract of pitahaya pulp shows higher antioxidant activity than the aqueous extract, but this fruit would not represent an interest in the food industry as a substitute for antioxidants of synthetic origin due to its low antioxidant activity.

Keywords: antioxidant activity, DPPH, *Cereus* sp., IC50

Capítulo 1

Antecedentes

1.1 Introducción

En América Latina existe una gran variedad de recursos endémicos, teniendo mayor importancia en el último siglo por los beneficios que se pueden obtener de dichos recursos, así mejorando la calidad de vida de quienes lo empleen. Entre los cuales podemos mencionar las siguientes utilidades: nutricionales, terapéuticos y maderables (Huachi et al., 2015). Entre los recursos alimenticios se encuentra una gran variedad de frutas, de las cuales son pocas las que aprovechamos o incluimos en nuestra dieta diaria. En los últimos años ha ganado espacio a nivel mundial la pitahaya, no solo por su sabor y aspecto exótico, si no por su composición nutricional y actividad laxante (Fuentes, 2012).

El origen de la pitahaya es desconocido ya que se encuentra distribuida en diferentes lugares, principalmente en naciones como Colombia, Costa Rica, Ecuador, Guatemala y México. De acuerdo al país de origen toma diversos nombres tales como: flor de cáliz, reina de la noche (Fuentes, 2012), pitaya, pithalla, pitajalla, provenientes de la lengua Antillana que quiere decir "fruta escamosa" (González, 2006). En el Ecuador se registró la especie *Cereus* sp. (Cactaceae) por el Banco Central del Ecuador originario del Cantón Palora en la Provincia de Morona Santiago, además se han introducidos diversas especies de pitahaya provenientes de Colombia (Huachi et al., 2015). Dicha fruta presenta beneficios tanto económicos como nutricionales, para la población que lo produce y consume, pudiéndose aplicar diferentes procesos industriales para elaborar diversos productos con esta fruta, convirtiéndose en una fuente potencial de ingresos para el país (Anchundia Sedamanos et al., 2019).

Mediante estudios llevados a cabo en distintos países, se han conseguido identificar ciertas propiedades que presenta la pitahaya para el cuerpo humano. Al ser una fruta completa por sus atributos nutricionales y composición química, sobresalen principalmente su acción antiinflamatoria y actividad antioxidante. Esto se debe gracias a la presencia de compuestos y antioxidantes naturales como: antocianinas, betacianinas, betaxantina, carotenoides, fenoles, flavonoides y distintas vitaminas (Esquivel y Araya, 2012; Jamilan et al., 2011).

Los antioxidantes naturales provenientes de frutas y verduras confieren protección contra los niveles altos de radicales libres que se generan dentro del cuerpo humano, evitando así el daño celular. (Flores Vázquez y García-Vieyra, 2016). Los radicales libres son átomos o conjuntos de ellos que tienen uno o más electrones no apareados, confiriéndoles inestabilidad y reactividad. El aumento de radicales libres en el organismo, provoca un fenómeno llamado estrés oxidativo, proceso relacionado íntimamente con muchas de las enfermedades que existen hoy en día (Cuéllar y Anzola, 2012).

Nuestra alimentación está muy relacionada con las enfermedades crónicas que padecen una parte de la población, siendo este un problema de la actualidad. El aumentado significativo de estas patologías ha propiciado a estudiar la relación que existe entre la alimentación y la salud humana. Estudios epidemiológicos han expuesto que el alto consumo de frutas y verduras, producen una acción protectora contra los radicales libres, gracias a los nutrientes y compuestos químicos producidos por las plantas que poseen actividad antioxidante (Araya et al., 2006).

Por ello, esta investigación está enfocada en determinar la capacidad antioxidante de la pulpa del fruto de pitahaya (*Cereus* sp.), producida en la provincia de Morona Santiago-Ecuador con la finalidad de generar información sobre esta fruta de gran importancia para la salud.

1.2 Problema de Investigación

Los efectos dañinos que producen los radicales libres en nuestro cuerpo, pueden ser combatidos gracias a las moléculas que poseen actividad antioxidante, dichas moléculas tienen la capacidad de prever o frenar la oxidación que ocurre en las células de nuestro organismo, contribuyendo a prevenir probables patologías que perjudiquen nuestra salud en un futuro (Huamani Mora y Paucar Capia, 2018).

En la actualidad la industria alimentaria emplea en mayor proporción antioxidantes sintéticos como parte de ingredientes en la elaboración de sus productos debido a su disponibilidad, eficacia, alto grado de estabilidad y ventaja económica. Pero investigaciones toxicológicas han expuestos los efectos tóxicos que muestran los antioxidantes sintéticos, siendo el cáncer algunas de las alteraciones fisiológicas (Figueroa Díaz y Mollinedo Moncada, 2017).

La alta variedad de plantas que existen en los diferentes ecosistemas representa la oportunidad de obtener una gran variedad de sustancias fitoquímicas como: fenoles, antocianinas, vitaminas y entre otros compuestos que muestran actividad antioxidante. Los antioxidantes naturales procedentes de especies vegetales han sido empleados en distintas áreas de la industria farmacéutica y alimentaria, como conservantes de alimentos procesados y en medicina. Entre ellos podemos mencionar la quercetina, α-tocoferol y β-caroteno que presentan actividad antioxidante similar al 2-terbutil-hidroxitolueno y 2-terbutil-hidroxianisol que son compuestos de origen sintético de mayor uso; sin embargo, estos antioxidantes sintéticos muestran el inconveniente de ser dañinos para la salud humana (Figueroa Díaz y Mollinedo Moncada, 2017).

En cuanto algunas de las propiedades medicinales atribuidas a la pitahaya podemos mencionar que van desde calmar problemas estomacales; mejorando el funcionamiento del tracto digestivo hasta atenuar dificultades endocrinogenas (Huachi et al., 2015).

La cualidad más notable de la fruta de la pitahaya es su actividad antioxidante gracias a la cáscara, pulpa y semillas, por la presencia de compuestos fitoquímicos y ácidos grasos naturales (Chemah et al., 2010).

1.3 Pregunta de Investigación

¿Tienen actividad metabólica los extractos -etanólico y acuoso- de la pulpa del fruto de pitahaya (*Cereus* sp.)?

1.4 Justificación

Para la obtención de energía dentro de la célula se debe llevar a cabo procesos bioquímicos, la oxidación es un proceso fundamental para la vida. La oxidación es un fenómeno que consiste en la perdida de electrones, cesión de hidrogeno o captación de oxígeno. Pero este oxígeno puede producir una incontrolada formación de radicales libres de oxígeno, modificando macromoléculas y procesos celulares (Elejalde Guerra, 2001).

Los antioxidantes juegan un papel importante atenuando los radicales libres, existe dos tipos de antioxidantes; los endógenos y los exógenos. El cuerpo humano produce antioxidantes endógenos como forma de defensa natural, las cuales podemos mencionar la catalasa y el superóxido dismutasa. En cambio, dentro de los antioxidantes exógenos se encuentran la vitamina C, vitamina E, entre otros. Por otro lado, podemos mencionar los compuestos bioquímicos producidos por las plantas como los carotenoides, antocianinas y polifenoles, los mismos que poseen la capacidad de donar hidrogeno y agentes reductores, ayudando en la reducción de especies reactivas de oxígeno (Katsube et al., 2003).

Los radicales libres tienen la capacidad de provocar un sin número de enfermedades como síndromes neurodegenerativos, ciertos tipos de cáncer y entre otras patologías, por ello, los antioxidantes tienen un papel importante en la reducción de los mismos evitando así el llamado estrés oxidativo. Con respecto a la relación que existe entre ciertas enfermedades y sus tratamientos, aún quedan muchas incógnitas sobre su origen de que los provoca, pese a los estudios científicos realizados (Venereo Gutiérrez, 2002).

Por ello, en el presente estudio se evaluó la actividad antioxidante de los extractos etanólico y acuoso de la pulpa del fruto de pitahaya basándonos en investigaciones previas que reportan efectos beneficiosos en la población que lo consume.

Se recomienda incorporar en la dieta diaria de niños, jóvenes y adultos el fruto de pitahaya, ya que posee cualidades medicinales y nutricionales benéficas para el organismo humano, cuenta con fibra, fósforo, vitamina C y calcio, el último mineral ayuda a fortificar huesos y dientes. Además, el ácido ascórbico presente en la fruta de pitahaya protege el sistema inmunológico, retarda el envejecimiento prematuro e impulsa la producción de colágeno. De igual modo la pitahaya cuenta con un sin número de aplicaciones; combate la hipertensión arterial, regula el flujo sanguíneo, calma complicaciones estomacales e intestinales. Por tal motivo ha provocado investigar la afinidad que existe entre los antioxidantes y las especies reactivas de oxígeno, causantes del estrés oxidativo (Figueroa Díaz y Mollinedo Moncada, 2017).

1.5 Limitaciones

La investigación se va a llevar a cabo en los laboratorios de Ciencias de la Vida de la Universidad Politécnica Salesiana sede Cuenca, durante un periodo de 6 meses, donde las limitaciones pueden ser las siguientes: tiempo, estructura física, reactivos y materiales.

1.6 Objetivos

General

Determinar la capacidad antioxidante de los extractos etanólico y acuoso de la pulpa del fruto de pitahaya (*Cereus* sp.), producida en la provincia de Morona Santiago, mediante técnicas de laboratorio, para posible uso en la industria alimentaria.

Específicos

- Cualificar los fitoconstituyentes de los extractos etanólico y acuoso de la pulpa del fruto de pitahaya (*Cereus* sp.) obtenidos mediante maceración, por medio de marchas fitoquímicas, determinando sus metabolitos secundarios.
- Evaluar la capacidad antioxidante de los extractos etanólico y acuoso de la pulpa del fruto de pitahaya (*Cereus* sp.), a través del método de DPPH, determinando la capacidad de captura de radicales libres.
- Comparar los niveles de capacidad antioxidante de los extractos etanólico y acuoso de la pulpa del fruto de pitahaya (*Cereus* sp.), frente a un compuesto sintético, mediante análisis estadístico estableciendo cual presenta mayor capacidad antioxidante.
- Elaborar un artículo científico de la capacidad antioxidante de los extractos etanólico y acuoso de la pulpa del fruto de pitahaya (*Cereus* sp.), mediante la información generada en el presente estudio, para su posible publicación.

1.7 Hipótesis

El tipo de solvente de extracción incide en la capacidad antioxidante en los extractos de pitahaya influyendo en su actividad antioxidante por su composición química.

Capítulo 2

Marco Teórico

2.1 Definición de Términos Básicos

Antioxidantes: son moléculas que se encuentran contenidas en los alimentos, capaces de prevenir o retardar los efectos dañinos de los radicales libres en relación con las funciones fisiológicas en los seres humanos (Coronado et al., 2015).

***Capacidad Antioxidante*:** se considera capacidad antioxidante a la facultad que tiene una sustancia en frenar la degradación oxidativa, por consiguiente, un antioxidante tiene una alta capacidad de reaccionar en contra de las especies reactivas de oxígeno (Londoño Londoño, 2012).

***DPPH*:** abreviatura de radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH). Compuesto químico estable de color azul-violeta oscuro, decolorándose hacia amarillo pálido por reacción con una sustancia antioxidante. Su principal aplicación es en ensayos que determinen la capacidad antioxidante de un compuesto (Oporta y Pérez Bucardo, 2019).

***Estrés Oxidativo*:** se denomina a la relación que existe entre la acción perjudicial de un radical libre y las células, pero en circunstancias normales hay una armonía en la producción de especies reactivas de oxígeno con los antioxidantes (endógeno y exógeno), evitando una toxicidad mayor provocada por la oxidación y por consiguiente un menor daño celular. Cuando se origina una carencia en el sistema antioxidante o incremento precipitado de radicales libres ocasiona un desequilibrio (Quintanar y Calderón, 2009).

***Metabolito Secundario*:** son sustancias no esenciales producidas por microorganismos y plantas, que no son necesarios para el crecimiento o reproducción de los organismos que los producen. A pesar de ello no todas las especies tienen la facultad de elaborar metabolitos secundarios, deben contener genes biosintéticos para codificar estas moléculas. Los metabolitos secundarios poseen frecuentemente conformaciones químicas complejas y raras en la naturaleza, pero pueden ser sintetizados con sustancias semejantes (Fierro Fierro y Vergara Onofre, 2011).

***Radicales libres*:** especies químicas inestables, que se caracterizan por poseer uno o más electrones no apareados, pudiendo ocasionar la creación de otros radicales libres en una reacción en cadena. Conforman parte de las especies reactivas de oxígeno (Núñez Sellés, 2011). Tienen una vida media de microsegundos, no obstante, pueden propagarse rápidamente con las moléculas que se encuentran en su alrededor generando un deterioro mayor. Consiguen perturbar cerca de un millón de moléculas a lo largo de la reacción en cadena (Zamora, 2007).

2.2 Estado del Arte

En los resultados de Figueroa Díaz y Mollinedo Moncada (2017) determinaron los fitoconstituyentes y actividad antioxidante del extracto etanólico del mesocarpio de una variedad de pitahaya roja, confirmando la presencia de compuestos como carbohidratos, azúcares reductores, flavonoides, compuestos fenólicos, esteroides y alcaloides. La evaluación de la actividad antioxidante se expresa en IC50 cuyo resultado fue 1,331 ug/mL., demostrando que el extracto de pitahaya presenta actividad antioxidante.

Huamani Mora y Paucar Capia (2018) determinó y comparó la capacidad antioxidante de los extractos del fruto liofilizado de pitahaya amarilla (*Hylocereus megalanthus*) y pitahaya roja (*Hylocereus undathus*). Mediante screening fitoquímico, identificó en ambas especies la presencia de taninos, lípidos, esteroides, carbohidratos y alcaloides. El porcentaje de inhibición del radical

DPPH en la pitahaya amarilla fue de 66.78% y para la pitahaya roja del 70.71%, los cuales fueron expresados en mg TE/100 g de fruto liofilizado obteniéndose 795 mg TE /100 g de fruto liofilizado para pitahaya amarilla y 893 mg TE/100 g de fruto liofilizado para pitahaya roja. Como resultado la pitahaya roja presentó mayor capacidad antioxidante que la pitahaya amarilla.

Chauca Aguilar (2019) determinó el contenido de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de guayaba (*Psidium guajava*), arándano (*Vaccinium myrtillus*) y fracciones comestibles y no comestibles de pitahaya (*Selenicereus megalanthus*), y aguaymanto (*Physalis peruviana*). Los resultados de la actividad antioxidante de las diferentes fracciones de pitahaya se expresan en IC50 con un intervalo de valores de 7,70 – 22,25 µmol Trolox/g muestra liofilizada, demostrando que los extractos de pitahaya presentan poca actividad antioxidante.

En el año de 2020, Figueroa Haro realizó la extracción de antocianinas a partir de la cáscara de pitahaya roja (*Hylocereus undatus*) mediante la microencapsulación del extracto de dicha fruta con diferentes tipos de polímeros: maltodextrina y goma arábiga. Además, evaluó de actividad antioxidante de los diferentes microencapsulado de pitahaya mediante el método DPPH, el microencapsulado de maltodextrina presentó un porcentaje de inhibición del radical DPPH de 58,60 % es decir 405,01 µmol/L equivalentes de Trolox, mientras que, el microencapsulado de goma arábiga presentó 72,22 % de inhibición del radical DPPH, con un valor de 498,33 µmol/L equivalentes de Trolox.

2.3 Bases Teóricas

2.3.1. Pitahaya

Según Jiménez (2011) la familia de la pitahaya está integrada aproximadamente por 2000 variedades a nivel global, contando con mayor presencia en el continente americano y asiático.

De hecho, la pitahaya es nativa de Latinoamérica cuenta con numerosas variedades en países como Brasil, Colombia, Costa Rica, Ecuador, Guatemala, Honduras y México. Sin embargo, en el continente asiático podemos encontrar esta fruta exótica en Malaysia, Tailandia, Taiwán y Vietnam (Delgado Millán, 2010).

Investigaciones realizadas en México, impulsadas por el interés generado en el incremento de la producción de pitahaya en dicho país, han revelado la baja variabilidad entre especies, a pesar de contar con 55 géneros y 850 especies. La existencia de esta fruta en lugares geográficamente distintos, se debe en gran parte al ser humano, dado que es el responsable de distribuir su germoplasma, no obstantes las aves también han ayudado a dispersar sus semillas (Mandujano *et al*., 2002).

La clasificación botánica de esta familia es muy complicada, en vista de que numerosas especies mantienen características morfológicas semejantes, denominándose genéricamente "Pitahaya" a todas estas variedades. Son cuatro los géneros que sobresalen de esta especie: *Cereus* sp., *Hylocereus* sp., *Selenicereus* sp., *Stenecereus* sp. (Le Bellec et al., 2006). Kondo et al., (2013) menciona que en Bolivia, Colombia, Ecuador, Perú y Venezuela se halla la variedad de pitahaya amarilla, siendo originaria de esta región.

En nuestro país existe muy poca información en referencia al origen de la pitahaya amarilla (*Cereus* sp.), aunque se sabe de la existencia de esta fruta. Podemos encontrar en las provincias de Loja, Morona Santiago y Pichincha una variante que muestra características similares a la pitahaya amarilla conocida como *Hylocereus* sp. (Rios y Borgtoft Pedersen, 1997).

Según Beltrán Torres (2015) la fruta de pitahaya es muy apetecida a nivel global, países como Colombia e Israel son los principales productores de pitahaya amarilla, exportando al mercado occidental. En tanto que Indonesia, Tailandia y Vietnam son los mayores proveedores de pitahaya roja en el mercado oriental. En el 2014, Ecuador cerro su producción anual de 128.13 toneladas de pitahaya exportada, teniendo una cuota gradual en mercados como China, Estados Unidos, Hong Kong, la Unión Europea y Singapur, lo que figura 1'243.000 USD de ingresos para el país.

2.3.1.1. Características Botánicas

Tabla 1

Taxonomía de la planta de Pitahaya

Reino	Plantae
Clase	Angiospermae
Subclase	Dicotyledoneae
Orden	Opuntiales
Familia	Cactaceae
Nombre Científico	*Cereus* sp.
Variante	*Hylocereus* sp.

Nota. Adaptado de "Desarrollo de la pitahaya (*Cereus* sp.) en Ecuador" (50-58), por L. Huachi et al., 2015, *LA GRANJA. Revista de Ciencias de la Vida*, *22*(2).

Huachi et al., (2015) describen que el cultivo de pitahaya crece en ambientes subtropicales (cálidos húmedos) con temperaturas que oscilan entre 18◦C y 25◦C, a una altitud entre los 800 a 1850 msnm, adaptable perfectamente a una alta intensidad lumínica. Se desarrolla en suelos con pH levemente ácido de 5.5 a 6.5, asimismo estos deben estar bien drenados. La pitahaya es una planta cactácea, perenne y trepadora alcanzando a medir una altura de hasta 2m. Se desarrolla en forma de arbusto con cladodios que miden entre 0.50 a 1.50 m de largo y de 0.03 a 0.06 m de ancho.

Figura 1

Planta de Pitahaya

Nota. Fotografía tomada en el sector de Sevilla Don Bosco - Cantón Morona en la Provincia de Morona Santiago. Fuente: Autor.

***Tallo*:** el tallo es de tipo flexuoso, filocladio, triangular, xerofítico y rico en clorofila encargado de realizar las funciones de fotosintéticas, está conformando por cerca del 90 a 94% de agua cuando el mismo se encuentra totalmente hidratada. Los tallos muestran tres aristas y sus lados son cóncavos; además crecen sobre los tallos grupos de espinas de 2 a 4 mm rodeados de areolas. Las ramificaciones y flores surgen de la parte superior de las areolas, solo tras desarrollarse completamente las espinas, enseguida se originan yemas reproductivas o vegetativas en el meristemo areolar. Las nuevas ramificaciones se desarrollan de forma recta con pedúnculo colgante (Perea Dallos et al., 2010).

***Flor*:** las dimensiones de la flor de pitahaya son las siguientes: de longitud puede medir entre 20 a 40 cm y de diámetro aproximadamente 25 cm. El ovario está envuelto por brácteas escamosas con espinas prolongadas; los sépalos tienen un color amarillo verdoso; los pétalos dependiendo la variedad pueden ser amarillos, blancos o rosados. La flor tiene un aspecto de trompeta, es decir son infundibuliformes. Permanecen en una postura erecta en dirección hacia el sol, sin embargo, una vez polinizadas adoptan una posición colgante. Los murciélagos son los encargados de polinizar durante horas de la noche, en tanto que las abejas en horas del día, cautivados por el néctar que produce la flor. La flor es conocida como “reina de la noche”, solo se extienden una hora a hora y media posterior a la puesta del sol y se cierran seis horas tras el amanecer. Adicionalmente emite un aroma olor a vainilla y banano que seduce a muchos insectos (Perea Dallos et al., 2010).

Fruto: el tiempo que tarda en formarse el fruto va desde los 4 a 8 meses, a partir de la polinización hasta la cosecha. Desde la germinación de la areola hasta flor toma 45 a 50 días y desde la flor a fruta son 100 a 120 días aproximadamente. La fruta es muy sabrosa en forma de una baya ovoide envuelta de areolas y escamas (Perea Dallos et al., 2010).

El fruto de la pitahaya amarilla mide aproximadamente 15 cm de longitud y de 6 a 10 cm de diámetro, su peso oscila entre 170 a 450 gramos y adicionalmente las semillas se encuentran dentro de la fruta. Encima del fruto presenta grupos de espinas que se separan con sencillez una vez el fruto haya alcanzado su madures (Perea Dallos et al., 2010).

Figura 2

Pitahaya en periodo de maduración natural

Nota. Adaptado de *Manual Técnico del cultivo de pitahaya* (p. 39), por Y. Vargas et al., 2020, INIAP. Manual N° 117 x. Joya de los Sachas, Ecuador.

***Cáscara y Semilla*:** Su cáscara es gruesa y la fruta contiene abundantes semillas, más o menos 650 por fruto. La semilla muestra un matiz marrón oscuro a negro y mide entre 2 y 4 mm (Pera Dallos et al., 2010). En la cáscara, pero además en la pulpa están presentes compuestos importantes como las betalaínas. Las betalaínas son pigmentos naturales solubles en agua, conforman dos conjuntos estructurales: las betacianinas y betaxantinas. Son compuestos que

actúan como antioxidantes similares a las vitaminas previniendo la muerte celular temprana. Por otro lado, las semillas poseen una gran cantidad de ácidos grasos; como el ácido linoléico 64.5%, ácido oleico 13,9 y ácido palmítico 14.4% confiriendo una capacidad antioxidante a la semilla (Huachi et al., 2015).

2.3.1.2. Composición Química

Según Perea Dallos y col (2010) mencionan de cada 100 g de la porción comestible de la pitahaya se consigue la siguiente composición nutricional:

Tabla 2

Composición nutricional del fruto de la pitahaya amarilla

Nutriente	Cantidad
Agua	89,4 g
Proteínas	1,2 g
Grasa	0,4 g
Carbohidratos	15 g
Fibra	0,8 g
Cenizas	0,6 g
Tiamina	0,36 mg
Riboflavina	0,04 mg
Niacina	0,2 mg
Ácido ascórbico	25 mg
Sodio	50 mg
Calcio	8 mg
Fosforo	30 mg
Hierro	0,6 mg
Potasio	339 mg
Magnesio	200 mg

Nota. Adaptado de *Cactaceae pitahaya Selenicereus megalanthus (K. Schum. ex Vaupel) Moran (Cactaceae)* (p. 105-135), por M. Perea Dallos et al., 2010, Biotecnología aplicada al mejoramiento de los cultivos de frutas tropicales.

Por las propiedades nutricionales que presenta dicha fruta, en países como Ecuador está tomando un mayor realce el cultivo de la pitahaya, pudiendo generar proyectos que dinamicen la economía de las localidades que se dedican a su producción. La fruta de pitahaya se consume principalmente en porciones frescas o añadidas con otras frutas, pero además se puede procesar la pulpa de pitahaya como materia prima en la fabricación de productos alimenticios como yogur, refrescos, mermeladas, complemento deshidratado en cereales entre otros, mientras que en la industria farmacéutica se podría utilizar en la elaboración de suplementos digestivos. Para conservar la pulpa de pitahaya y perdurar sus propiedades organolépticas existe una variedad de metodologías, entre ellas podemos mencionar al proceso IQF (Individual QuicK Freezing - método de congelación utilizado en la industria de procesamiento de alimentos) (Huachi et al., 2015).

Los beneficios que se obtienen al consumir el fruto de pitahaya en nuestro organismo son muy altos, podemos aprovechar la variedad de compuestos bioquímicos como las betalaínas que coadyuvan en la creación de colágeno, proteína importante para lucir una piel joven y sana, de igual manera las betalaínas vigorizan los vasos sanguíneos y contribuyen a combatir las alergias e infecciones producidas por virus y bacterias (Minshew, 2009). De igual manera podemos mencionar que es un excelente alimento que podemos recurrir al momento de presentar dolores o malestares en el tracto digestivo (Huachi et al., 2015).

Según Jamilan et al., (2011) las características físico-químicas más relevantes que se le atribuyen al fruto de pitahaya es el volumen de fructosa de 4 a 20 g/L y de 30 a 55 g/L de glucosa presentes en el zumo de pitahaya. También contiene ácidos orgánicos como el ácido cítrico y ácido láctico en una proporción de 0.3 a 1.5 %. Presenta un bajo nivel de acidez en un rango de 2.4 a 3.4 g/L. Adicionalmente cuenta con el aminoácido Prolina de 1.1 a 1.6 g/L encargado reparar, curar y mantener diferentes tejidos.

2.3.2. Antioxidantes

Los compuestos que presentan la habilidad de evitar el daño celular causado por procesos oxidativos normales dentro de nuestro organismo se denominan antioxidantes (Belsare et al., 2010). Los antioxidantes protegen de la oxidación a las moléculas sensibles a las especies reactivas de oxígeno, ceden hidrógenos evitando que se formen los famosos radicales libres promotores de enfermedades (Reyes et al., 2011).

Los organismos aerobios han perfeccionado maneras de protección antioxidante contra sustancias originadas con el oxígeno capaces de provocar daño, llamadas especies reactivas del oxígeno (ROS). Cuando existe una alta producción de especias reactivas y sobrepasa a los antioxidantes producidos por el organismo, se genera el conocido estrés oxidativo. El ser humano produce enzimas catalíticas como la catalasa, glutatión peroxidasa y superóxido dismutasa responsables de suprimir radicales libres y demás especies reactivas, pese a esto los agentes endógenos no resultan suficientes para la defensa del cuerpo humano. Por ello, la alimentación provee de agentes antioxidantes exógenos primordiales para gozar de una buena salud. Resultan ser los más importantes por la facilidad de ser incorporados a nuestro organismo, por tal razón de debe consumir alimentos sanos (frutas y verduras), disponer de los mismos y tener conocimientos básicos sobre el tema (Faría et al., 2007).

Según Figueroa Díaz y Mollinedo Moncada (2017) incorporar frutas y verduras a nuestra dieta nos brinda bienestar y resguardo contra algunas patologías, entre las más dañinas podemos mencionar ciertos tipos de cáncer, enfermedades cardiovasculares y cerebrovasculares. La capacidad antioxidante presente en lo vegetales se adjudica a la presencia de compuestos como flavonoides, polifenoles, beta-caroteno, vitamina C y vitamina E. Por tal motivo es indispensable realizar investigaciones de frutas y vegetales poco conocidos que demuestren potencial nutricional y medicinal, dando a conocer a la población para su consumo.

Para determinar la actividad antioxidante de un compuesto o muestra, existen diversos métodos basados en los diferentes generadores de radicales libres. En efecto la muestra reaccionaría con las especies reactivas de oxígeno, impidiendo la propagación de radicales libres a causa de la capacidad antioxidante de los compuestos presentes en una muestra natural. La actividad antioxidante no se alcanza a establecer de forma directa, sino lo que verdaderamente se determina es el efecto antioxidante de una muestra. Lo correcto sería aislar los distintos compuestos que integran una muestra de zumo para determinar la capacidad antioxidante de cada uno en forma individual, sin embargo, es muy complicado precisar la concentración y numero de las sustancias contenidas en la muestra (Sánchez, 2002).

Castro (2008) describe que los antioxidantes tienen la cualidad de donar electrones a los radicales libres, previniendo que estos los obtengan de las células que se encuentran a su alrededor. Lo más fascinante es que los antioxidantes naturales no pierden su estabilidad electroquímica, por tal motivo en la industria alimentaria se los utiliza como ingredientes para la elaboración de productos procesados, ya que evitan o impiden la formación de sustancias indeseadas o rancidez en el producto debido a la oxidación.

2.3.2.1. Clasificación de los Antioxidantes

***a) Según su Origen*:** Los antioxidantes endógenos son moléculas que se fabrican en el interior del organismo y pueden ser enzimáticos o no enzimáticos, entre ellos podemos mencionar a los siguientes: catalasa, coenzima Q, glutatión, glutatión peroxidasa y peróxido dismutasa. También dentro de esta clasificación se encuentran los antioxidantes exógenos que son producidos por los vegetales e incorporamos a nuestro organismo mediante la alimentación. Presentan una ventaja sobre los antioxidantes endógenos ya que podemos introducirlos a nuestro organismo de forma voluntaria (Heredia Vásquez, 2013).

***b) Propiedades Protectoras en Diferentes Etapas del Proceso de Oxidación*:** Los antioxidantes primarios anticipan la creación de nuevas especies reactivas de oxígeno. Se logra cambiando las especies reactivas de oxígeno en moléculas menos nocivas, previo a que ocurra la reacción oxidativa o se originen de otras moléculas, destacan las siguientes enzimas: glutatión peroxidasa, coenzimas superóxido y la catalasa. Mientras tanto los antioxidantes secundarios capturan los radicales y evitan las reacciones en cadena, por ejemplo, antioxidantes endógenos como la bilirrubina, glutatión urato y ubiquinona; y los antioxidantes endógenos como β-caroteno, vitamina C y E (Figueroa Díaz y Mollinedo Moncada, 2017).

***c) Fuente*:** Dentro de esta clasificación encontramos a los antioxidantes sintéticos, fabricados de manera artificial y a los antioxidantes naturales, procedentes de orígenes biológicos (Heredia Vásquez, 2013).

2.3.3. Metabolitos Secundarios

Para el correcto funcionamiento de los procesos químicos que ocurre dentro de las plantas el carbono, nitrógeno y energía del ambiente son componentes indispensables para la elaboración de biomoléculas llamadas metabolitos. Los metabolitos se clasifican en dos grupos los primarios y los secundarios. Dentro de los metabolitos primarios se encuentran los aminoácidos, azúcares, lípidos y nucleótidos encargados de desempeñar funciones que van directamente relacionados con la supervivencia, crecimiento y reproducción de las plantas. Las plantas a diferencia de los demás seres vivos, ocupan una valiosa cantidad del carbono y energía absorbido para la elaboración de metabolitos secundarios (metabolitos especializados), moléculas orgánicas que no actúan de forma directa en procesos como la síntesis y transporte de nutrientes, respiración y fotosíntesis (Buchanan et al., 2015).

Según Gechev et al. (2014) estudios previos han determinado que existe más de 200 000 tipos de metabolitos secundarios por lo que este grupo presentan gran variedad de estructuras químicas. Por un lado, los metabolitos primarios están ligados directamente con el crecimiento y desarrollo de los vegetales, mientras que los metabolitos secundarios cumplen funciones específicas en el interior de las plantas y la interacción con el medio ambiente (Kasote et al., 2015).

Los metabolitos secundarios cumplen una función muy importante a la hora de cautivar organismos responsables de realizar la polinización, almacenan pigmentos en las flores o desprenden sustancias químicas volátiles que resultan atractivos para los polinizadores (Karppinen et al., 2016). Además, secretan sustancias químicas a través de las raíces hacia la rizosfera para captar microbios que contribuyen para el mantenimiento de un suelo saludable (Tsunoda y van Dam, 2017).

Desde otra perspectiva, en modo de defensa secretan sustancias volátiles cuando las hojas son atacadas por orugas para llamar la atención de avispas cazadoras y se alimenten de estos gusanos. También generan sustancias desagradables o venenosas para ahuyentar insectos dañinos (Moore et al., 2014).

Según Ncube y Van Staden (2015) los metabolitos secundarios a diferencia de los metabolitos primarios no se encuentran en todas las variedades de plantas, esto quiere decir que ciertos grupos bioquímicos se hallan localizados en forma limitada en el reino vegetal.

Las plantas producen metabolitos secundarios en pequeñas cantidades, la síntesis de un determinado compuesto dependerá de la familia, género o especie que la produzca (Martínez-Esteso et al., 2015). De acuerdo a las diferentes estructuras químicas los metabolitos secundarios se pueden clasificar en múltiples grupos, siendo los más investigados los alcaloides, compuestos fenólicos, glucósidos cianogénicos, glucosinolatos y terpenoides (Buchanan et al., 2015).

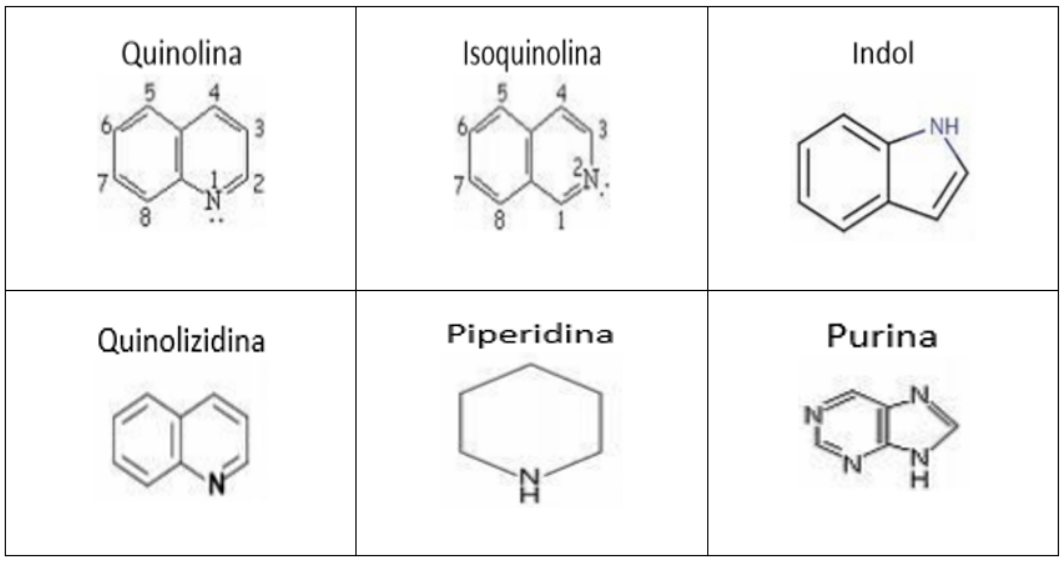
2.3.3.1. Alcaloides

Ávalos García y Pérez-Urria (2011) mencionan que hay más de 15.000 metabolitos secundarios dentro del grupo de los alcaloides, compartiendo características propias de esta familia como presentar actividad biológica, solubilidad en agua y mostrar por lo menos un átomo de nitrógeno dentro de la molécula. Los alcaloides por lo general son heterocíclicos, no obstante, existe algunas sustancias nitrogenadas alifáticas como por ejemplo la colchicina y mescalina. Podemos hallar estos metabolitos secundarios por lo generalmente en dicotiledóneas herbáceas, sin embargo, están presentes en alrededor del 20% en plantas vasculares. Los alcaloides tienen efecto sobre los neurotransmisores cuando son consumidos por los seres humanos ocasionando efectos fisiológicos y psicológicos (alucinaciones).

En medicina se los puede utilizar en dosis bajas por los efectos terapéuticos que pueden presentar, sirven para aliviar dolores musculares, como analgésicos o tranquilizantes. Aunque son tóxicos cuando se consumen en dosis muy altas pudiendo ocasionar la muerte (Ávalos García y Pérez-Urria, 2011).

Figura 3

Clases de alcaloides



Nota. Adaptado de “Metabolismo secundario de plantas”, por A. Ávalos García y E. Perez-Urria Carril, 2011, *Reduca (Biología)*, *2*(3).

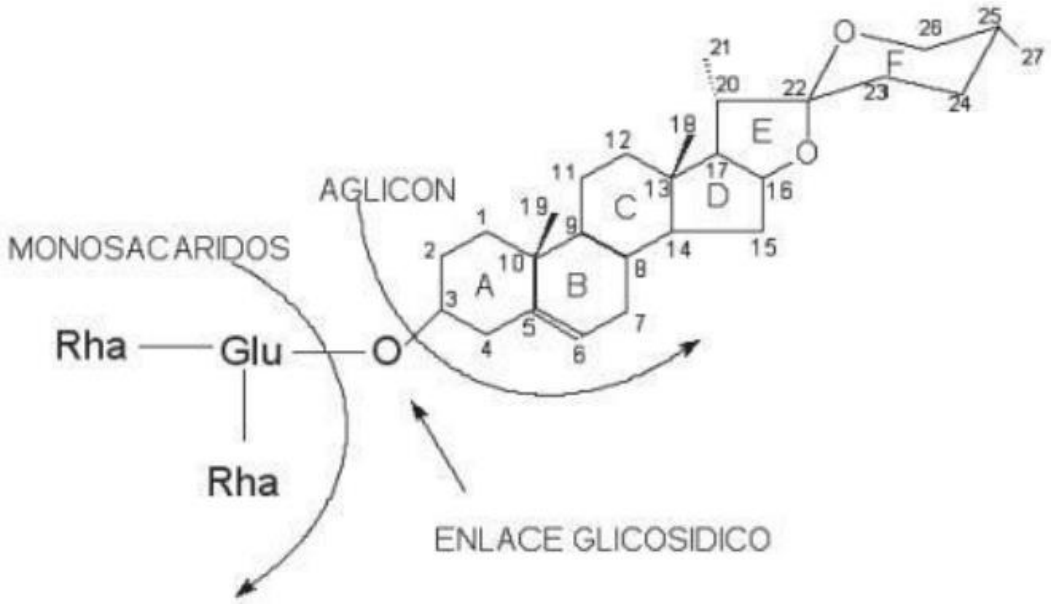
2.3.3.2. Saponinas

Las saponinas son metabolitos secundarios repartidos extensamente en los vegetales, que pertenecen al grupo de los glicósidos, estructuralmente están conformados por una aglicona unida a una cadena ramificada de azúcares mediante un hidroxilo del carbono-3 del aglicon. Las saponinas se dividen en dos grupos: las saponinas esteroidales y las saponinas terpénicas. Los esteroidales son producidos en gran parte en monocotiledóneas, en tanto que las dicotiledóneas

elaboran las terpénicas. Debido a las diferentes estructuras químicas que muestran las saponinas, se han utilizado en diversos campos como la cosmética y la medicina, gracias a la actividad biológica y farmacológica presente en las mismas. Se han elaborado diversos productos como jabones, anticancerígenos, antimicrobianos, hemolíticos y demás. Sin embargo, en altas concentraciones las saponinas glicoalcaloides pueden llegar a ser tóxicos en animales, insectos, microbios y seres humanos. Por lo que en la industria alimentaria se los puede llegar a valorar como antinutricionales (Diaz Puentes, 2009).

Figura 4

Estructura química de las saponinas



Nota. Adaptado de “Estudio comparativo de tres metodologías cuantitativas de extracción de saponinas de la *Melisa Officinalis* (toronjil)” (p. 47-51), por T. Flores et al., 2013, *Revista Peruana de Química e Ingeniería Química, 16*(2).

2.3.3.3. Fenoles

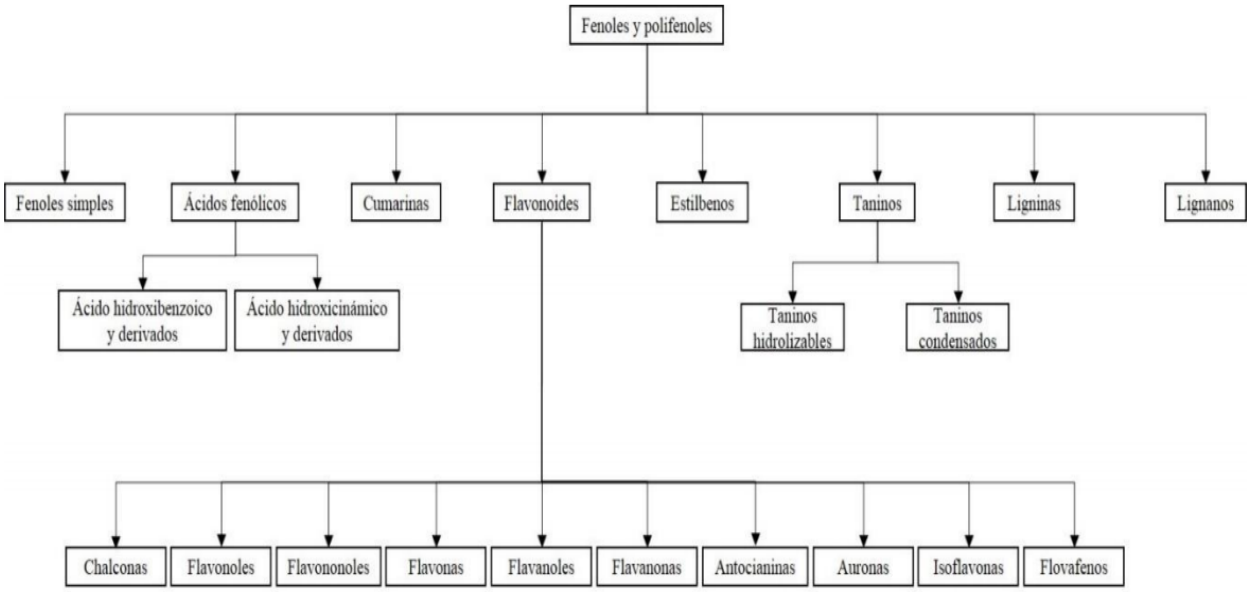
Las plantas producen uno de los grupos más abundantes de metabolitos secundarios en la naturaleza los fenoles, la cual se han determinado más de 8000 compuestos bioquímicos (Pandey y Rizvi, 2009). El sabor amargo y astringente en frutas, hojas y verduras se debe a la presencia de fenoles en estos alimentos, pero posee propiedades beneficiosas para quienes los incorporan en su dieta diaria como el efecto antiinflamatorio y anticancerígeno (Shahidi y Ambigaipalan, 2015). Asimismo, se le atribuye importantes efectos protectores contra el asma, diabetes, envejecimiento, hipertensión y enfermedades cardiovasculares que se pueden presentar en un futuro (Pandey y Rizvi, 2009).

La característica más importante que presentan los fenoles es su actividad antioxidante, tienen la facultad de capturar radicales libres sin perder su estabilidad química, así evitando que estas moléculas perjudiciales se unan y dañen moléculas de ADN, por consiguiente, previniendo el comienzo de procesos carcinogénicos. De igual manera impiden la peroxidación lipídica, proceso por el cual los radicales libres atrapan electrones de los lípidos, pudiendo producir daño estructural en las membranas de células sanas. Este daño en las membranas celulares ocasiona interferencias en el transporte de moléculas alimenticias, repercutiendo en el crecimiento y multiplicación celular. Los fenoles se oxidan antes que otras sustancias, favoreciendo a la protección contra procesos oxidativos causados por diferentes agentes ya sea externos o internos, por ejemplo, la luz o especies reactivas (González et al., 2018).

Según Shahidi y Ambigaipalan (2015) los fenoles y polifenoles de acuerdo a su estructura química se pueden dividir en: ácidos fenólicos, cumarinas, estilbenos, fenoles simples, flavonoides, ligninas y taninos entre otras sustancias bioquímicas.

Figura 5

Clasificación de los fenoles y polifenoles



Nota. Adaptado de "Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects–A review" (p. 820-897), por F. Shahidi y P. Ambigaipalan, 2015, *Journal of functional foods, 18*.

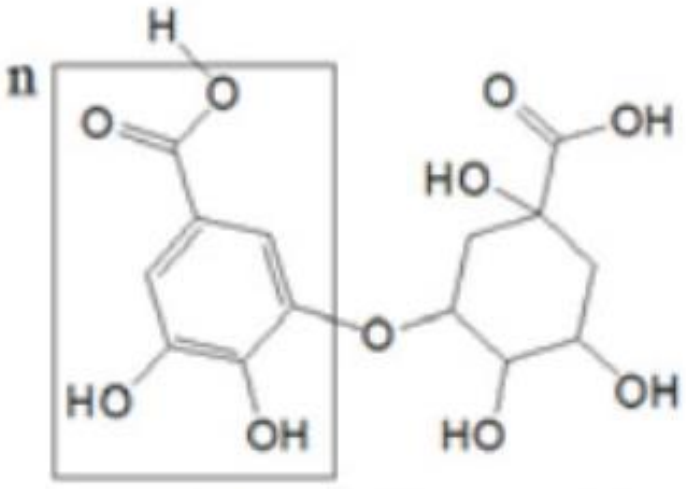
2.3.3.4. Taninos

Rengifo Zevallos (2018) menciona que los taninos químicamente son sustancias polifenólicos y están repartidos extensamente en el reino vegetal en varias especies de plantas. Este grupo de metabolitos secundarios se puede clasificar de acuerdo a su estructura química en taninos condensados y en taninos hidrolizables. Los taninos posees atributos farmacológicos tales como actividad antioxidante, cicatrizante y antimicrobiano.

De hecho, Estos metabolitos secundarios tienen la facultad de lograr una condición médica llamada hipocolesterolemia, estudios han comprobado que una dieta rica en alimentos como el aceite de oliva y uvas, con gran contenido de taninos disminuye altos niveles de colesterol malo. Además, ejercen un efecto antiinflamatorio sobre la mucosa intestinal aliviando problemas estomacales. También actúa como astringente, influyendo como antihemorrágico local facilitando la coagulación de la sangre. Por otro lado, se lo considera como una sustancia antinutritiva ya que al unirse con las proteínas y coagularse reducen la absorción de algunos minerales como el hierro. Los taninos presentan un sabor a acre y reaccionan con el agua formando compuestos coloidales (Angaspilco Sánchez y Cárdenas Gastelo, 2017).

Figura 6

Estructura de taninos hidrolizables, cadena de dépsido n-gálico (recuadro) unido, vía enlace éster, al ácido químico en su posición meta C(5)



Nota. Adaptado de “Caracterización, mediante espectrometría de masas de alta resolución MALDI/FT-ICR, de taninos hidrolizables de la tara (*Caesalpinia spinosa*)” (p. 106-114), por J. Z. Dávalos et al., 2017, *Revista de la Sociedad Química del Perú*, *83*(1).

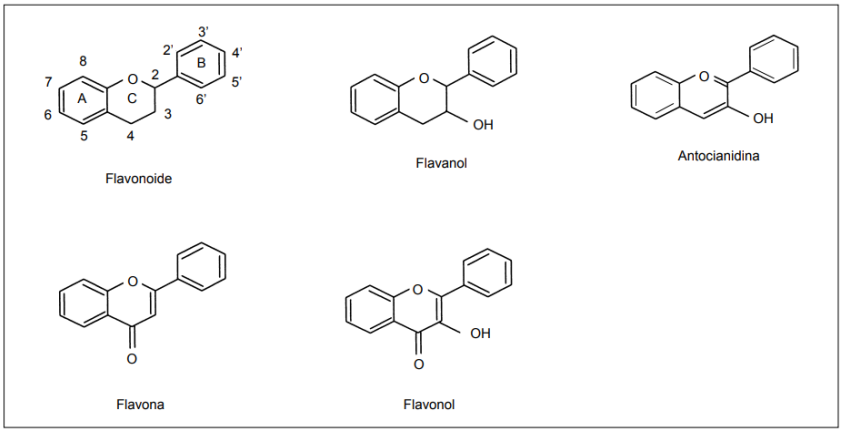
2.3.3.5. Flavonoides

Los flavonoides son metabolitos secundarios pertenecientes al grupo de los polifenólicos, están distribuidos en un gran número de plantas vasculares con semilla como las gimnospermas y angiospermas, pero además se ha registrado la presencia de estos metabolitos en taxones de plantas más primitivos como los musgos, helechos cola de caballo, algas entre otras. Se ha identificado aproximadamente 10,000 flavonoides siendo el tercer grupo más grande de metabolitos secundarios después de los alcaloides y terpenoides. Una forma en respuesta de las plantas contra el ataque de herbívoros, hongos, parásitos, patógenos y radiación UV, fue la biosíntesis de flavonoides. Adicionalmente los flavonoides tienen la capacidad de comunicarse con la naturaleza, mediante los colores que estos compuestos pueden tomar como el amarillo, anaranjado azul, púrpura, y rojo; así luciendo llamativos en las plantas que los producen atrayendo a los polinizadores. Investigaciones realizadas han dado a conocer las propiedades biológicas y farmacológicas que expresan los flavonoides entre las cuales podemos mencionar el efecto antioxidante, anticancerígeno, antiviral, antibacteriano, antiinflamatorio, antialérgico, cardioprotector, hepatoprotector, neuroprotector y demás (Santos et al., 2017).

Según León Durán (2020) los flavonoides se pueden clasificar en 13 subclases, pero los más relevantes son los siguientes: antocianidinas, antocianinas, catequinas, flavonas, flavonoles, iso–flavonoles y proantocianidinas.

Figura 7

Estructura básica de un flavonoide, subclases



Nota. Adaptado de “Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes” (p. 271-278), por S. Martínez-Flores et al., 2002, *Nutrición hospitalaria*, *17*(6).

2.3.4. Screening Fitoquímico

Mendoza Lara et al. (2020) menciona que, para identificar cualitativamente los diversos grupos de metabolitos secundarios presentes en una especie vegetal, se debe realizar un screening fitoquímico o marcha fitoquímica, proceso inicial que se debe llevar a cabo en una investigación para determinar la presencia de sustancias de mayor interés, como por ejemplo los alcaloides, compuestos cardiotónicos, compuestos fenólicos, cumarinas, flavonoides, terpenos, entre otros. De igual manera se emplea como un proceso exploratorio y método para el control de calidad

El screening fitoquímico se basa en la separación de los metabolitos secundarios contenidos en una muestra vegetal, para ello se debe recurrir a diferentes tipos de solventes según la polaridad de los principios activos a extraer, posterior a la obtención de los extractos se deberá aplicar reactivos que produzcan reacciones de color o precipitación estableciendo la identidad de un grupo metabólico. Para que este método sea factible de llevar a cabo, la evaluación debe ser

rápida con reacciones sensibles, reproducibles y económicamente accesibles. Los resultados del screening fitoquímico se los debe interpretar únicamente como una orientación y para obtener resultados más exactos se los combina con el screening farmacológico. La ventaja que posee el screening fitoquímico es la obtención resultados en poco tiempo (Arica Velásquez y Becerra Chávez, 2020).

Según Arica Velásquez y Becerra Chávez (2020) indican que cuando se obtiene resultados negativos en las distintas reacciones para determinar un compuesto en particular, pueden atribuirse a varios factores como la ausencia o mínima concentración del metabolito, selección incorrecta del disolvente de extracción o producto de la contaminación.

2.3.5. Método de Evaluación de la Actividad Antioxidante

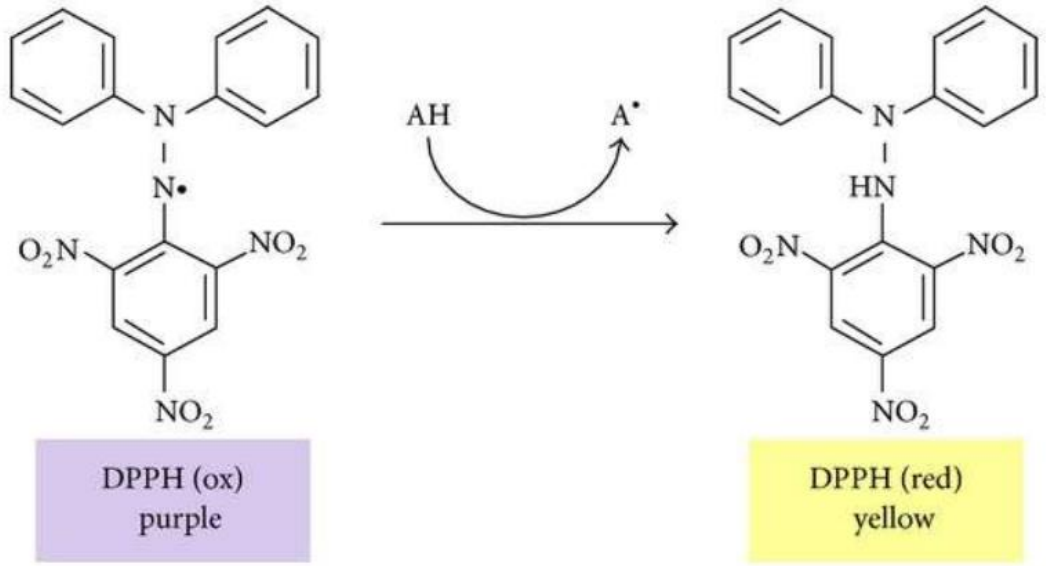
Los métodos que existen hoy en día para establecer la capacidad antioxidante son muy diversos, todos se fundamentan en su capacidad para atrapar radicales libres. Podemos mencionar algunos: $DPPH^{\cdot}$, $ABTS^{\cdot +}$ y ORAC. El método de estudio utilizado para efectuar el análisis de la actividad antioxidante fue el 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH). Este método fue expuesto por primera vez por Blois en 1958, comprobó la facultad del radical libre DPPH para recibir un átomo de hidrógeno procedente de una molécula de cisteína. El ensayo DDPH es muy conocido por la simplicidad y alta sensibilidad que presentan este método. El 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo es un radical libre a causa de la deslocalización de un electrón desparejado en la molécula completa, por consiguiente, no dimeriza a comparación de otros radicales libres (Mishra et al., 2012).

El 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo es un radical orgánico nitrogenado, este método consiste en juntar un antioxidante contenido en una muestra vegetal y el $DDPH\cdot$, así provocando una reacción que busca disminuir el radical $DDPH\cdot$ en una molécula estable y no reactiva. Para determinar la transformación del radical libre se evalúa la perdida de absorbancia a una longitud de onda de 517

o 515 nm. La solución del radical libre (DDPH·) es de color púrpura intenso pasando al color amarillo (DDPH-H estable) cuando ejerce efecto la actividad antioxidante de la muestra vegetal. El método en cuestión mide la capacidad antioxidante total de una muestra, por lo que no es específico para una clase de metabolito en particular. La actividad antioxidante de una muestra se expresa en IC50, concentración mínima necesaria para inhibir al 50% la cantidad inicial del radical libre (DPPH·) (Villanueva Gutiérrez, 2020).

Figura 8

Principio del método DPPH



Nota. Adaptado de Estudio comparativo de la actividad antioxidante en fresas de cultivos de origen tradicional versus ecológico, por J. López do Campo, 2017, Universidad de Coruña.

Capítulo 3

Marco Metodológico

3.1. Nivel de la Investigación

El presente estudio tiene un nivel de investigación descriptiva, ya que se determinó la capacidad antioxidante del extracto etanólico y acuoso de la pulpa del fruto de pitahaya (*Cereus* sp.). La investigación descriptiva consiste en la caracterización de un hecho, fenómeno, individuo o grupo, con el fin de establecer su estructura o comportamiento. Los resultados de este tipo de investigación se ubican en un nivel intermedio en cuanto a la profundidad de los conocimientos se refiere. (Arias, 2012).

3.2. Diseño de la Investigación

La investigación es de tipo experimental o diseño experimental ya que consiste en someter la pulpa de pitahaya (*Cereus* sp.), a diferentes factores que buscan determinar que extracto presenta mayor actividad antioxidante. Esto conlleva a someter un objeto o grupo de individuos, a determinadas condiciones, estímulos o tratamientos, para observar los efectos o reacciones que se producen (Arias, 2012).

3.3. Población y Muestra

En el presente estudio se contó con una población finita, se recolectó la fruta de pitahaya (*Cereus* sp.) en el sector de Sevilla Don Bosco - Cantón Morona en la Provincia de Morona Santiago, caracterizada por ser homogénea ya que se encuentra en el mismo piso climático.

Al contar con una población finita, nuestra muestra es un subconjunto representativo de la población disponible, es decir la muestra de la investigación es de tipo muestreo al azar simple, es decir que todas las frutas tienen la misma probabilidad de ser seleccionadas (Arias, 2012).

3.4. Variables

Variable Independiente: Solventes

Variable Dependiente: Actividad antioxidante

Variable Interviniente: Laboratorista, trabajar de forma individual en todo el proceso. Tiempo de maceración de los extractos.

Variable Extraña: Factores ambientales: ecosistema, temperatura, altitud y latitud del cultivo.

3.5. Técnicas e Instrumentos de Recolección de Datos

Las técnicas de recolección de datos empleados son: análisis documental y la observación no estructurada. Los instrumentos de recolección de datos usados son: computadora y sus unidades de almacenaje, diario de campo, cámara (fotografías).

3.6. Técnicas de Procesamiento y Análisis de Datos

El análisis de datos experimentales se realizó mediante herramientas estadísticas. En la investigación se utilizó gráficos y tabulaciones que muestran las características de la pitahaya. Los datos obtenidos son procesados con los programas: Microsoft Word 2019, Microsoft Excel 2019, Minitab 19 y IBM SPSS Statistics.

3.7. Procedimientos de Laboratorio

3.7.1. Recolección de la Muestra

Se recolectó 1 kilo de fruta de pitahaya (*Cereus* sp.), y se utilizó como materia prima únicamente la pulpa, al ser esta la parte que se consume y aprovecha de dicha fruta, descartando la cáscara pesar de presentar actividad antioxidante en un estudio realizado por Figueroa y colaboradores (2011).

Figura 9

Fruto de pitahaya

Nota. Fotografía tomada en los laboratorios "Ciencias de la Vida" de la Universidad Politécnica Salesiana Sede Cuenca. Fuente: Autor.

3.7.2. Tratamiento de la Muestra

Se procede a seleccionar la muestra, para ello debemos considerar únicamente a los frutos que presentes propiedades organolépticas óptimas como: madurez firme, buen aspecto, libre de golpes y daños. Una vez seleccionado los frutos procedemos a lavar con agua destilada y retirar cuerpos extraños y polvo que puedan ocasionar algún tipo de contaminación cruzada. Seguidamente retiramos de forma manual la cáscara de la pulpa, con ayuda un cuchillo de acero inoxidable, previamente desinfectado. Colocamos en un recipiente mientras realizamos los preparativos previos a realizar los extractos.

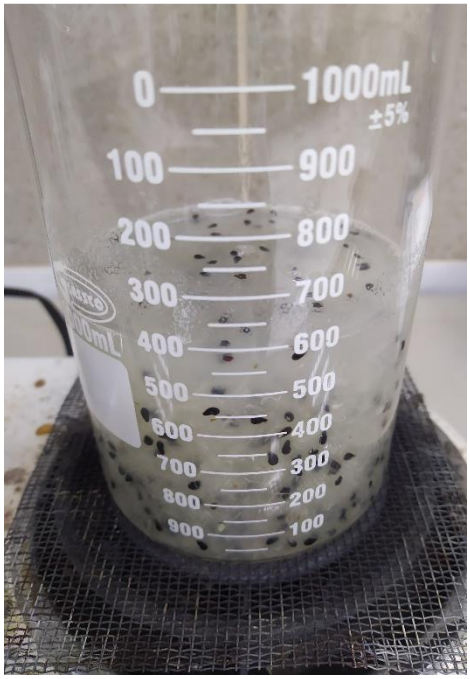
3.7.3. Obtención de Extractos Totales

3.7.3.1. Obtención Total del Extracto Acuoso

Para obtener el extracto acuoso se utilizó 200 g de pulpa de pitahaya triturada con 400 mL de agua destilada, es decir en relación 3:1 a la muestra. Luego se realizó una decocción por un tiempo de 10 minutos y se procedió a enfriar para purificar el extracto a través de un tamiz. Después centrifugamos el extracto a 3000 rpm durante 15 min y recuperamos el sobrenadante. Finalmente, sometemos el extracto obtenido a evaporación rotativa a 75°C. El producto obtenido se refrigera en un frasco ámbar hasta su posterior uso (Flores Vázquez y García-Vieyra, 2016).

Figura 10

Preparación del extracto acuoso del fruto de pitahaya



Nota. Fotografía tomada en los laboratorios "Ciencias de la Vida" de la Universidad Politécnica Salesiana Sede Cuenca. Fuente: Autor.

3.7.3.2. Obtención Total del Extracto Etanólico

De igual manera para obtener el extracto etanólico se utilizó 200 g de pulpa de pitahaya triturada con 400 mL de etanol al 96%, es decir en relación 3:1 a la muestra. Pero a diferencia del extracto acuoso, dejamos macerar a temperatura ambiente durante una semana. Transcurrido los 7 días purificamos el extracto mediante un tamiz. Luego centrifugamos el extracto a 3000 rpm durante 15 minutos y recuperamos el sobrenadante. Por último, sometemos el extracto obtenido a evaporación rotativa a 60°C. El producto final se refrigera en un frasco ámbar hasta su posterior uso (Flores Vázquez y García-Vieyra, 2016).

Figura 11

Extracto etanólico purificado

Nota. Fotografía tomada en los laboratorios "Ciencias de la Vida" de la Universidad Politécnica Salesiana Sede Cuenca. Fuente: Autor.

3.7.4. Caracterización Cualitativa

3.7.4.1. Prueba para Determinar Alcaloides

Ensayo de Dragendorff: En un tubo de ensayo colocar 1 mL de la muestra más 1 gota de ácido clorhídrico concentrado, calentamos a baño maría y dejamos enfriar. Con la solución acuosa ácida agregamos 3 gotas del reactivo de Dragendorff. Este procedimiento se realiza en tubos por separado para el extracto acuoso y etanólico. La formación de precipitado naranja marrón, indica la presencia de alcaloides (Pujol Garcia et al., 2020).

3.7.4.2. Prueba para Determinar Saponinas

Ensayo de Espuma: En un tubo de ensayo colocar 1 mL del extracto etanólico más 5 mL de agua destilada y se procede a agitar fuertemente por 10 minutos (Pujol Garcia et al., 2020). Mientras que para el extracto acuoso se coloca 2 mL de la muestra en un tubo de ensayo y se agita fuertemente por 10 minutos. La formación de espuma sobre la superficie del líquido de al menos 2 mm de altura y persistencia por más de 2 minutos, da como resultado positivo a saponinas (Ramos Carrión y Solórzano Ramos, 2016).

3.7.4.3. Prueba para Determinar Fenoles

Ensayo de Cloruro Férrico: En un tubo de ensayo colocar 1 mL del extracto más 3 gotas de cloruro férrico al 10% en solución salina fisiológica. Este procedimiento se realiza en tubos por separado para el extracto acuoso y etanólico. La formación de una coloración rojo marrón, amarillo rojizo y rojo da como resultado positivo a compuestos fenólicos en general (Flores Vázquez y García-Vieyra, 2016).

3.7.4.4. Prueba para Determinar Taninos

Ensayo de Cloruro Férrico: En un tubo de ensayo colocar 1 mL del extracto más 3 gotas de cloruro férrico al 5% en solución salina fisiológica. Este procedimiento se realiza en tubos por separado para el extracto acuoso y etanólico. La formación de una coloración verde intenso da como resultado a taninos del tipo pirocatecólicos. Mientras que el desarrollo de una coloración azul da como resultado a taninos del tipo pirogalotánicos (Mejía Calle, 2019).

3.7.4.5. Prueba para Determinar Flavonoides

Ensayo de Shinoda: En un tubo de ensayo colocar 1 mL de muestra más 1 mL de ácido clorhídrico concentrado y 0,5 cm de cinta de magnesio metálico. Después de la reacción se espera 5 minutos y añadimos 1 mL de alcohol amílico. Se deja mezclar las dos fases y se deja reposar hasta que se separen. Este procedimiento se realiza en tubos por separado para el extracto acuoso y etanólico. Se considera positivo a flavonoides cuando el alcohol amílico toma una coloración amarilla, naranja, carmelita o rojo; en todos los casos debe ser un color intenso (Pujol Garcia et al., 2020).

3.7.5. Determinación de la Capacidad Antioxidante

3.7.5.1. Preparación del Reactivo DPPH

Para la elaboración del radical libre DPPH se necesita pesar 49 mg del reactivo DPPH, la cual vamos a aforar en un balón de 250 mL con etanol al 96%, obteniendo una solución con una concentración de 0,5 mM. La solución se almacena en un frasco color ámbar para proteger el reactivo de la luz. Por último, colocamos el frasco con la solución en el refrigerador hasta el momento de su utilización en el ensayo.

3.7.5.2. Preparación de la Solución Patrón

Se empleó como patrón una solución de ácido ascórbico puro, para ello se pesó 25 mg de ácido ascórbico y se aforó en un balón de 25 mL con etanol al 96%. Luego cubrimos completamente el balón de aforo con papel aluminio para protegerlo de la luz y así evitar su oxidación. Posteriormente colocamos el balón en el equipo Rotamix Type 48200 y dejamos reposar durante 30 minutos con agitación constante. Para finalizar colocamos la solución en un frasco color ámbar y lo almacenamos dentro del refrigerador hasta su posterior uso.

3.7.5.3. Preparación de las Muestras

Para la investigación de los extractos vegetales, se toma 1 mL de extracto acuoso y se afora en un balón de 10 mL con etanol al 96%, es decir en relación 10:1 a la muestra, de la misma manera se procede con el extracto etanólico. También realizamos el mismo procedimiento para el compuesto sintético, sustancia utilizada para comprar la actividad antioxidante con los extractos vegetales. El compuesto sintético empleado para el análisis comparativo es una pastilla comercial (Cebión) de ácido ascórbico adquirida en una farmacia.

3.7.5.4. Preparación de Muestras en Diferentes Fracciones

La preparación de las disoluciones en diferentes fracciones a partir de las muestras previamente preparadas se resume en la tabla N°3. Preparamos las disoluciones en balones de aforo de 10 mL cubiertos completamente con papel aluminio para protegerlos de la luz.

Tabla 3

Preparación de muestras en diferentes fracciones

Frasco	Muestra (µL)	DPPH (mL)	Etanol 96% (µL)
Blanco	0	2.9	100
1	1	2.9	99
2	5	2.9	95
3	10	2.9	90
4	20	2.9	80
5	50	2.9	50
6	80	2.9	20
7	100	2.9	0

Nota. Fuente: Autor.

Una vez preparadas las disoluciones en los balones de aforo se sitúan en un vaso de precipitación y se pone a agitar en el equipo Rotamix Type 48200 durante una hora a temperatura ambiente.

Para el análisis de las muestras se usa el espectrofotómetro UV-VIS a una longitud de onda de 517 nm. Adicionalmente se debe encerar el equipo con etanol al 96% antes de leer las muestras.

Luego se mide la absorbancia de las disoluciones en forma ascendente comenzando por el blanco hasta la disolución con mayor concentración de muestra. Además, se debe colocar las disoluciones en celdas transparentes para poder ser medidas por el espectrofotómetro.

Para calcular el porcentaje de inhibición de radicales libres se calcula mediante la siguiente fórmula:

$$\%\ Inhibición = \left(1 - \frac{A_m}{A_b}\right) * 100$$

Donde:

A_m: Representa la absorbancia del DDPH con la muestra.

A_b: Representa la absorbancia del DDPH sin la muestra o llamado blanco.

Capítulo 4

Resultados y Discusión

4.1 Obtención de los Extractos

4.1.1 Obtención del Extracto Acuoso

Partiendo de un extracto acuoso de volumen inicial de 600 mL de muestra y solvente, se filtró y posterior a ello se colocó el extracto en la centrifugadora para sedimentar las partículas en suspensión y obtener un extracto libre de impurezas, consiguiendo un volumen de 450 mL de extracto. Luego se llevó el extracto a evaporación rotativa para concentrarlo a una temperatura de 75°C durante 4 horas aproximadamente. El extracto reducido presenta una consistencia viscosa con una tonalidad ligera a color blanco. Se obtuvo 240 mL de extracto acuoso libre de residuos.

Tabla 4

Resultado de la preparación del extracto acuoso

Especie vegetal	Peso de la muestra	Solvente	Volumen del solvente	Volumen final
Cereus sp.	200 g	Agua destilada	400 mL	240 mL

Nota. Como resultado se obtuvo 240 mL de extracto acuoso concentrado. Fuente: Autor.

4.1.2 Obtención del Extracto Etanólico

Partiendo de un extracto etanólico de volumen inicial de 600 mL de muestra y solvente, se filtró y posterior a ello se colocó el extracto en la centrifugadora para sedimentar las partículas en suspensión y obtener un extracto libre de impurezas, obteniendo un volumen de 450 mL de extracto. A posteriori se llevó el extracto a evaporación rotativa para concentrarlo a una temperatura de 60° C durante 4 horas aproximadamente. El extracto reducido presentando una consistencia fluida con una tonalidad ligera a color amarillo claro. Se obtuvo 250 mL de extracto acuoso libre de residuos.

Tabla 5

Resultado de la preparación del extracto etanólico

Especie vegetal	Peso de la muestra	Solvente	Volumen del solvente	Volumen final
Cereus sp.	200 g	Etanol	400 mL	250 mL

Nota. Como resultado se obtuvo 250 mL de extracto etanólico concentrado. Fuente: Autor.

4.2 Caracterización Cualitativa de los Extractos

Los resultados obtenidos tras realizar las marchas fitoquímicas a los extractos acuoso y etanólico, exponen la presencia o ausencia de los metabolitos secundarios: alcaloides, saponinas, fenoles, taninos y flavonoides, descritos en las siguientes tablas N°6 y N°7.

Tabla 6

Resultado de la marcha fitoquímica del extracto acuoso

Metabolito secundario	Identificación de metabolitos	Resultado
Alcaloides	Precipitado naranja marrón	Negativo
Saponinas	Espuma	Positivo
Fenoles	Coloración rojo marrón, amarillo rojizo, rojo	Positivo
Taninos	Coloración verde intenso	Positivo
Flavonoides	Coloración amarilla, naranja, carmelita o rojo	Positivo

Nota. Fuente: Autor.

Tabla 7

Resultado de la marcha fitoquímica del extracto etanólico

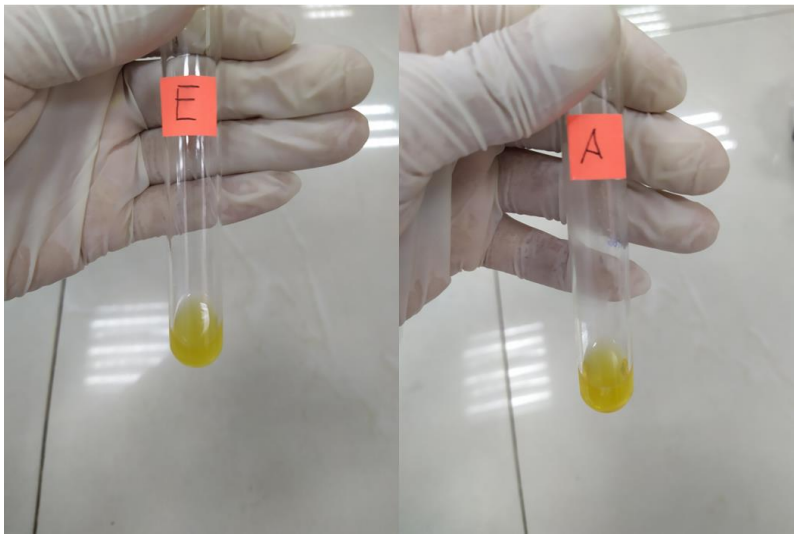
Metabolito secundario	Identificación de metabolitos	Resultado
Alcaloides	Precipitado naranja marrón	Negativo
Saponinas	Espuma	Negativo
Fenoles	Coloración rojo marrón, amarillo rojizo, rojo	Positivo
Taninos	Coloración verde intenso	Positivo
Flavonoides	Coloración amarilla, naranja, carmelita o rojo	Positivo

Nota. Fuente: Autor.

Los resultados revelan la ausencia de alcaloides tanto en el extracto acuoso como en el etanólico, presentan una coloración amarilla verdosa resultando como negativo al ensayo de Dragendorff, se puede observar en la figura 12. Sin embargo, en el estudio realizado por Arévalo Cotrina (2021) demuestra la presencia de alcaloides en una variedad de pitahaya amarilla cultivada en Perú, esta variación se puede dar por los diferentes factores ambientales que existen según la procedencia de dicho cultivo.

Figura 12

Resultados del ensayo de Dragendorff

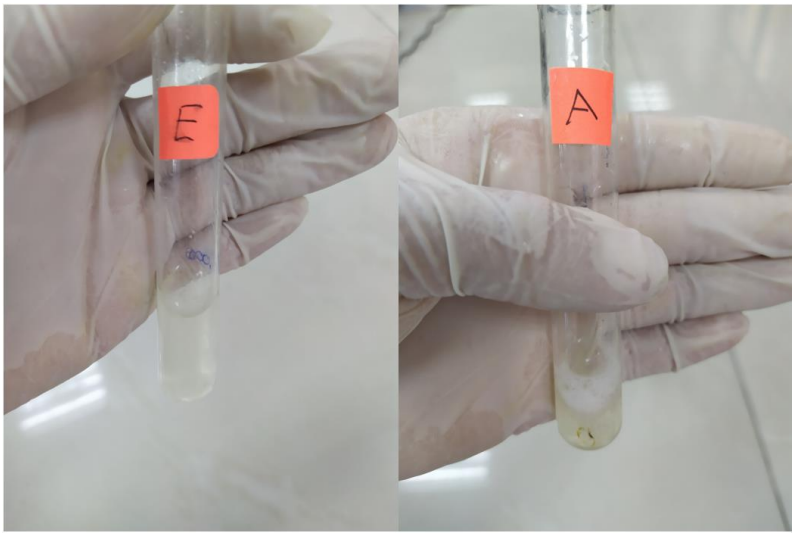


Nota. Determinación de alcaloides. Etiqueta con la letra E = extracto etanólico y etiqueta con la letra A = extracto acuoso. Fuente: Autor.

En el ensayo para determinar la presencia de saponinas, se demostró únicamente en el extracto acuoso, al observarse la presencia de una capa de espuma sobre el extracto, mientras que el en extracto etanólico no se observó la formación de espuma, como podemos ver en la figura 13. En la investigación realizado por Vásquez y García (2016) determinan la presencia de saponinas en ambos extractos.

Figura 13

Resultados del ensayo de espuma

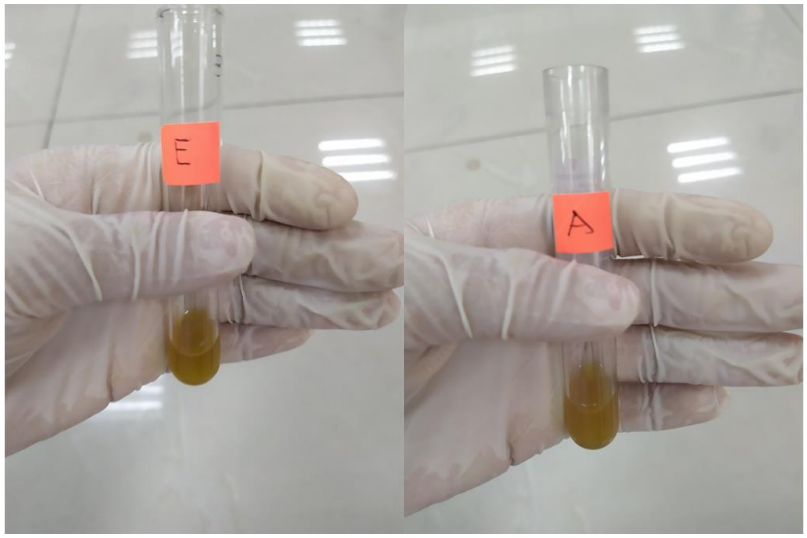


Nota. Determinación de saponinas. Etiqueta con la letra E = extracto etanólico y etiqueta con la letra A = extracto acuoso. Fuente: Autor.

Se evidenció la presencia de fenoles en los extractos acuosos y etanólico, presentando una coloración amarillo rojizo, se puede observar en la figura 14. En el estudio realizado por Arévalo Cotrina (2021) menciona que dicha coloración indica la presencia de isoflavonas, compuestos químicos que pertenecen a la familia química de los polifenoles.

Figura 14

Resultados del ensayo de cloruro férrico para fenoles

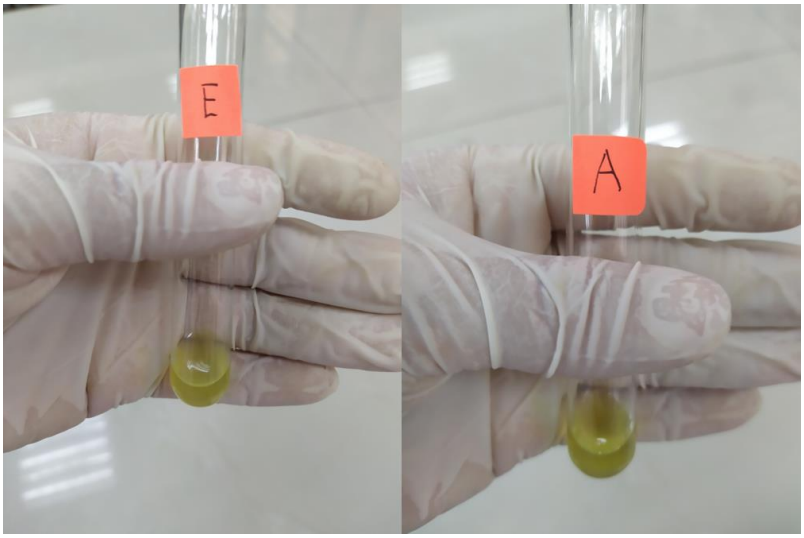


Nota. Determinación de fenoles. Etiqueta con la letra E = extracto etanólico y etiqueta con la letra A = extracto acuoso. Fuente: Autor.

Los taninos se encuentran presentes en ambos extractos, poseen una coloración verde intenso, pero el extracto acuoso manifiesta una ligera coloración más oscura que el extracto etanólico, podemos ver en la figura 15. Los resultados coinciden con el trabajo realizado por Vásquez y García (2016). El color verde intenso demuestra la presencia de taninos del tipo pirocatecólicos (Barrera et al., 2014).

Figura 15

Resultados del ensayo de cloruro férrico para taninos

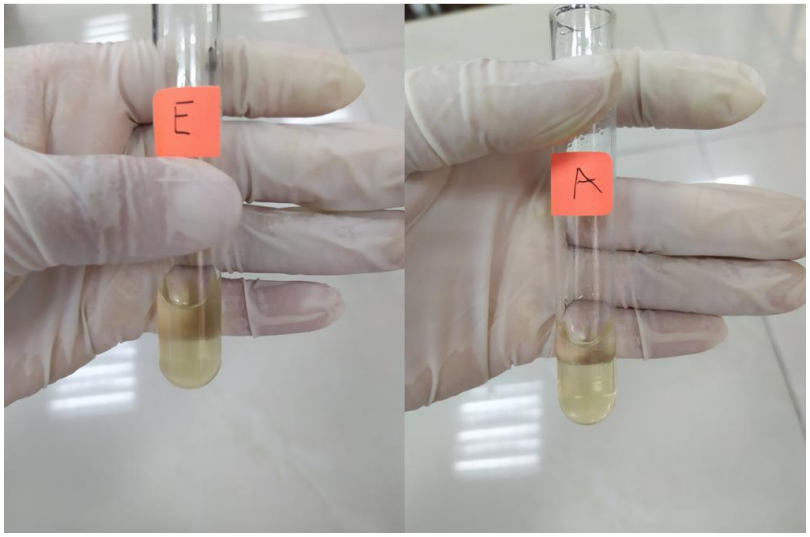


Nota. Determinación de taninos. Etiqueta con la letra E = extracto etanólico y etiqueta con la letra A = extracto acuoso. Fuente: Autor.

En el ensayo para flavonoides, dio como resultado positivo para los dos extractos al presentar una coloración amarillo claro, sin embargo, debe ser de una tonalidad más intensa, por lo que nuestros extractos tendrían pequeñas cantidades de flavonoides, pero el extracto etanólico presenta una ligera coloración más oscura a diferencia del extracto acuoso, se puede observar en la figura 16. Los resultados coinciden con el trabajo realizado por Vásquez y García (2016).

Figura 16

Resultados del ensayo de Shinoda



Nota. Determinación de flavonoides. Etiqueta con la letra E = extracto etanólico y etiqueta con la letra A = extracto acuoso. Fuente: Autor.

4.3 Determinación de la Capacidad Antioxidante

Los resultados de la actividad antioxidante de los extractos acuoso y etanólico del fruto de pitahaya, junto al compuesto sintético (Tableta de Cebión) de comparación se describen en las siguientes tablas N°9, N°10, N°11. Además, se utilizó como solución patrón ácido ascórbico puro descrito en la tabla N°8. Los datos generados fueron obtenidos por triplicado para mayor exactitud.

4.3.1 Determinación de la Capacidad Antioxidante de la Solución Patrón

En la tabla 8 se muestra la actividad antioxidante de la solución patrón de ácido ascórbico puro, el porcentaje de inhibición del radical DPPH empieza desde concentraciones bajas y asciende según aumenta la concentración de la solución patrón. En la figura 17 se muestra como el porcentaje de inhibición es lineal.

Tabla 8

Resultados de la actividad antirradical del ácido ascórbico puro

uL de Extracto	Concentración (µg /mL)	Absorbancia 517 nm			Promedio	% Inhibición
Blanco	0	3,2290	3,2265	3,2295	3,2283	0,00
1	0,333	3,2012	3,2221	3,2219	3,2151	0,4099
5	1,667	3,1950	3,1420	3,0600	3,1323	2,9737
10	3,333	3,0629	3,0025	3,0337	3,0330	6,0496
20	6,667	2,8095	2,7328	2,7312	2,7578	14,5742
50	16,667	1,7846	1,7663	1,7727	1,7745	45,0330
80	26,667	0,6005	0,5988	0,5987	0,5993	81,4360
100	33,333	0,4508	0,4903	0,5122	0,4844	84,9952
					IC50 µg/mL	17,2048

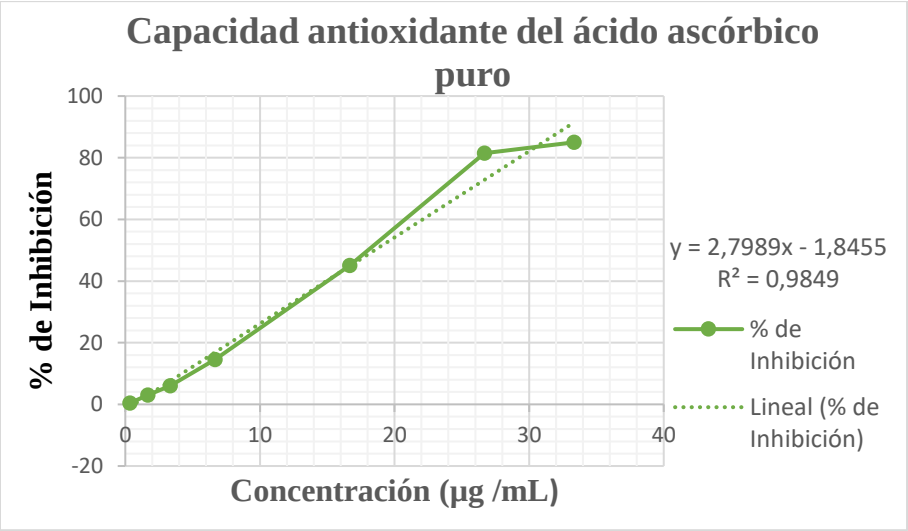
Nota. Absorbancias obtenidas mediante el equipo espectrofotómetro UV-VIS. Fuente: Autor.

Se pudo evidenciar que la solución patrón de ácido ascórbico puro posee una alta capacidad antioxidante, ya que a una concentración de 33,333 µg/mL inhibe el 84,9952% del radical DPPH. Posee un IC50 de 17,2048 µg/mL, siendo una sustancia idónea para comparar con los datos obtenido de los extractos acuoso y etanólico.

Según el estudio realizado por Meriño Serrano (2019) denominado como: "Determinación de la capacidad antioxidante de los extractos de Jackfruit (*Artocarpus heterophylus Lam*.) obtenidos mediante solventes de diferente polaridad" el ácido ascórbico puro tiene un valor de IC50 de 17,576 µg/mL, esto demuestra que los datos conseguidos en el presente trabajo investigativo son similares.

Figura 17

Porcentaje de inhibición del radical DPPH del ácido Ascórbico puro



Nota. Fuente: Autor.

A medida que aumenta la concentración del ácido ascórbico asciende el porcentaje de inhibición del radical DPPH, esto significa que la actividad antioxidante de la solución patrón es bastante lineal, alcanzando un máximo de reducción del 84,9952% del radical libre. Mediante los valores obtenidos en la ecuación de la recta se determina el valor de IC50.

4.3.2 Determinación de la Capacidad Antioxidante del Extracto Acuoso

En la tabla 9 se evidencia la actividad antioxidante del extracto acuoso, el porcentaje de inhibición del radical DPPH empieza desde concentraciones bajas y asciende según aumenta la concentración del extracto acuoso, sin embargo, la actividad antioxidante final es bastante baja. En la figura 18 se muestra como el porcentaje de inhibición es lineal.

Tabla 9

Resultados de la actividad antirradical del extracto acuoso

uL de Extracto	Concentración (µg /mL)	Absorbancia 517 nm			Promedio	% Inhibición
Blanco	0	3,1470	3,1420	3,1404	3,1431	0,00
1	0,333	3,0966	3,0970	3,0965	3,0967	1,4773
5	1,667	3,0778	3,0746	3,0770	3,0765	2,1200
10	3,333	3,0687	3,0699	3,0666	3,0684	2,3766
20	6,667	3,0570	3,0574	3,0575	3,0573	2,7308
50	16,667	3,0430	3,0416	3,0499	3,0448	3,1264
80	26,667	3,0148	3,0140	3,0142	3,0143	4,0968
100	33,333	3,0036	3,0035	3,0036	3,0036	4,4394
					IC50 µg /mL	611,0229

Nota. Absorbancias obtenidas mediante el equipo espectrofotómetro UV-VIS. Fuente: Autor.

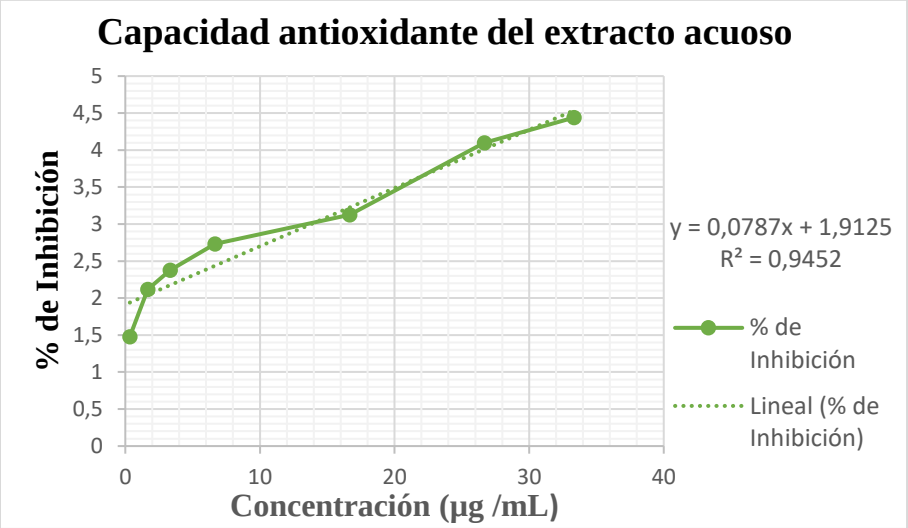
Al valorar la capacidad antioxidante del extracto acuoso a una concentración de 33,333 µg/mL inhibe el 4,4394% del radical DPPH. Contrastando la solución patrón con el extracto acuoso, podemos decir que el porcentaje de captación de radiales libres es muy superior en la solución patrón. El IC50 del extracto acuoso es de 611,0229 µg/mL lo que evidencia que el extracto posee poca acción eliminadora del radical libre DPPH, a menor valor del IC50 mayor actividad anti radical.

Según Galvez Rivas y Zaldaña Burgos (2020) en su investigación denominada: "Determinación de la actividad antioxidante por el método DPPH en diez frutos de especies vegetales pertenecientes a la flora salvadoreña" estudia los extractos acuosos liofilizados de pitahaya, níspero entre otros, determinado así que el fruto de pitahaya presenta baja capacidad de captación del radical libre. La actividad antioxidante de la pitahaya es de 826.05 µmol ET/ 100g frente a 7559.49 µmol ET/ 100g que presenta el níspero. Los valores mencionados expresan el promedio de µmol Equivalentes de Trolox por cada 100g de fruto fresco.

Sin embargo, los resultados de Galvez Rivas y Zaldaña Burgos (2020) no se pueden comparar con los datos obtenidos en nuestro estudio puesto que utiliza diferentes técnicas para determinar la actividad antioxidante. Coincidiendo con la poca capacidad antioxidante que posee el extracto acuoso de pitahaya.

Figura 18

Porcentaje de inhibición del radical DPPH del extracto acuoso



Nota. Fuente: Autor.

A medida que aumenta la concentración del extracto acuoso asciende el porcentaje de inhibición del radical DPPH, pero el rendimiento es demasiado bajo. De igual manera para calcular el valor de IC50 utilizamos los valores de la ecuación de la recta.

4.3.3 Determinación de la Capacidad Antioxidante del Extracto Etanólico

En la tabla 10 se demuestra la actividad antioxidante del extracto etanólico, el porcentaje de inhibición del radical DPPH empieza desde concentraciones bajas y asciende según aumenta la concentración del extracto etanólico, sin embargo, la actividad antioxidante final es baja. En la figura 19 se muestra como el porcentaje de inhibición no es lineal.

Tabla 10

Resultados de la actividad antirradical del extracto etanólico

uL de Extracto	Concentración (µg /mL)	Absorbancia 517 nm			Promedio	% Inhibición
Blanco	0	3,2154	3,1806	3,1801	3,1920	0,00
1	0,333	3,1412	3,1510	3,1400	3,1441	1,5027
5	1,667	3,1056	3,1057	3,1059	3,1057	2,7036
10	3,333	3,0095	2,9999	2,9998	3,0031	5,9190
20	6,667	2,9299	2,9292	2,9290	2,9294	8,2279
50	16,667	2,8422	2,8405	2,8399	2,8409	11,0013
80	26,667	2,7700	2,7715	2,7705	2,7707	13,2006
100	33,333	2,7285	2,7311	2,7316	2,7304	14,4620
					IC 50 µg /mL	128,2881

Nota. Absorbancias obtenidas mediante el equipo espectrofotómetro UV-VIS. Fuente: Autor.

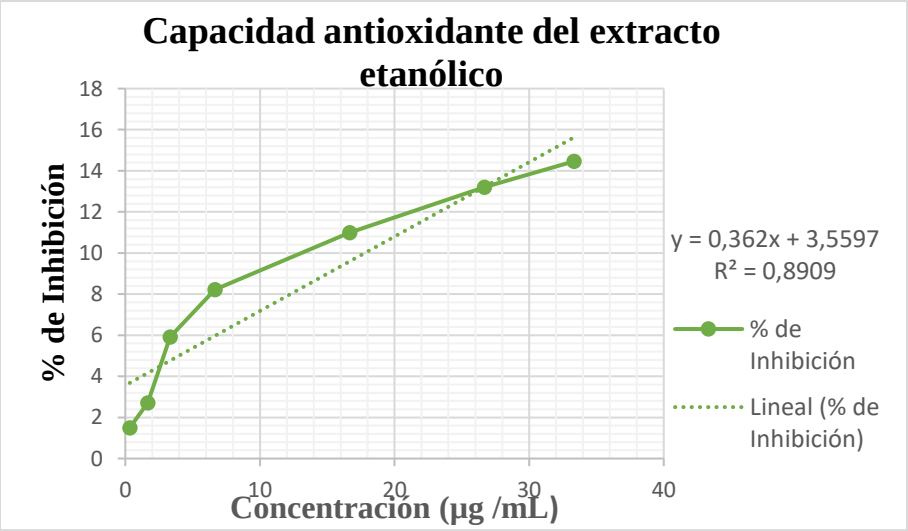
Al evaluar la capacidad antioxidante del extracto etanólico, se evidenció que posee mayor captación del radical DPPH que el extracto acuoso. Comparado la solución patrón con el extracto etanólico, el porcentaje de captación del radical libre sigue siendo mayor en la solución patrón. El extracto etanólico a una concentración de 33,333 µg/mL inhibe el 14,4620% del radical DPPH y posee un IC50 de 128,2881 µg/mL.

En la investigación realizada por Alcántara Castillo (2018) “Comparación in vitro de la capacidad antioxidante de *Selenicereus Megalanthus, Hylocereus Undatus Y Opuntia Ficus-Indica*” realizó el estudio en extracto etanólico de una variedad de pitahaya amarilla cultivada en el Perú y obtuvo un valor de IC50 de 96,26 µg/mL, comparando con el valor obtenido en nuestro estudio presenta una capacidad antioxidante ligeramente superior.

Chauca Aguilar y Chávez Quintana (2020) en su estudio “Fenoles y capacidad antioxidante de *Psidium guajava, Vaccinium myrtillus, Selenicereus megalanthus* y *Physalis peruviana* de diferentes procedencias” describen la capacidad antioxidante de la pitahaya amarilla provenientes de Perú y Brasil, donde obtuvo valores entre 8,15 y 22,25 µmol TEAC/g de muestra liofilizada siendo el fruto de arándano el que obtuvo la mayor capacidad antioxidante con 205,33 µmol TEAC/g en su estudio. Mostrando así muy poca actividad antioxidante en la pitahaya.

Figura 19

Porcentaje de inhibición del radical DPPH del extracto etanólico



Nota. Fuente: Autor.

La actividad antirradical empieza desde concentraciones bajas del extracto y asciende en forma lineal hasta alcanzar un máximo de 14,4620% de eliminación del radical libre DPPH. La actividad antioxidante es ligeramente superior al extracto acuoso. De la misma forma utilizamos los valores de la ecuación de la recta para calcular el valor de IC50.

4.3.4 Determinación de la Capacidad Antioxidante del Compuesto Sintético

Se utilizó una tableta de vitamina C de 500 mg de la marca Cebión para comparar la actividad antioxidante con los extractos acuoso y etanólico. Por lo que se preparó una solución a una concentración de 1000 ppm. En la tabla 11 se muestra la actividad antioxidante del compuesto sintético, el porcentaje de inhibición del radical DPPH empieza desde concentraciones bajas y asciende según aumenta la concentración del compuesto sintético. En la figura 20 se muestra como el porcentaje de inhibición es lineal.

Tabla 11

Resultados de la actividad antirradical del compuesto sintético

uL de Extracto	Concentración (µg /mL)	Absorbancia 517 nm			Promedio	% Inhibición
Blanco	0	3,1423	3,1421	3,1426	3,1423	0,00
1	0,333	3,1409	3,1404	3,1398	3,1404	0,0626
5	1,667	3,0953	3,0962	3,0960	3,0958	1,4798
10	3,333	2,8992	2,8986	2,8993	2,8990	7,7427
20	6,667	2,8312	2,8321	2,8312	2,8315	9,8918
50	16,667	2,0504	2,0505	2,0508	2,0506	34,7438
80	26,667	1,2135	1,2222	1,2287	1,2215	61,1287
100	33,333	1,0966	1,0966	1,0969	1,0967	65,0992
					IC 50 µg /mL	23,1132

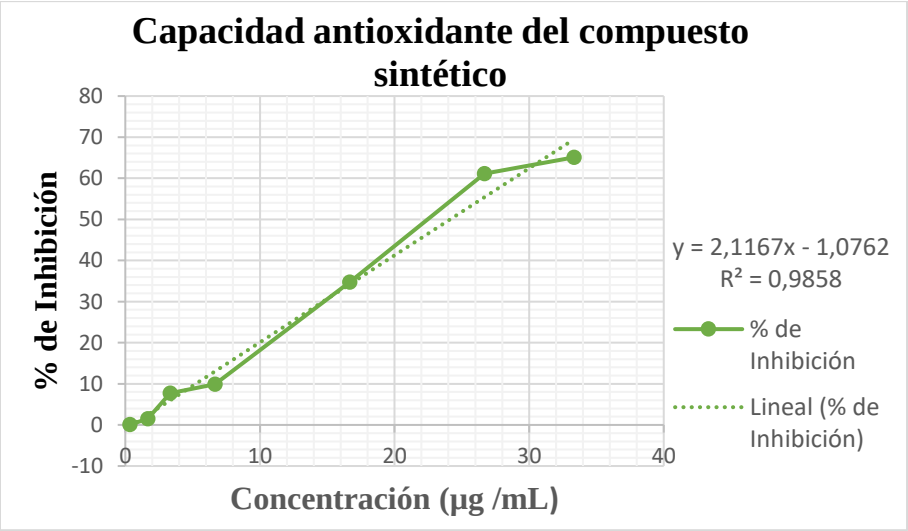
Nota. Absorbancias obtenidas mediante el equipo espectrofotómetro UV-VIS. Fuente: Autor.

El compuesto sintético obtuvo un IC50 de 23,1132 µg/mL lo que demuestra que posee una alta capacidad antioxidante. Contrastando los resultados obtenidos de los extractos de la pulpa de pitahaya con la tableta de ácido ascórbico, es por mucho superior la inhibición del radical DPPH en el compuesto sintético.

En la investigación realizada por Mejía Calle (2019) evalúo la actividad antioxidante de una pastilla de ácido ascórbico donde constató que el IC50 es de 113,4747 µg/mL, demostrando que no posee una actividad antioxidante significativa como en la tableta de vitamina C de nuestro estudio. La diferencia que existe entre los dos valores puede deberse a la marca comercial y la cantidad de ácido ascórbico contenido en cada pastilla.

Figura 20

Porcentaje de inhibición del radical DPPH del compuesto sintético



Nota. Fuente: Autor.

El compuesto sintético presenta una relación más estrecha entre la concentración y el porcentaje de inhibición del radical libre DPPH, pues la acción antioxidante alcanza un máximo del 65,0992%, siendo mucho mayor en comparación con los extractos acuoso y etanólico. A partir de concentraciones bajas se evidencia la actividad antioxidante. Para calcular el valor de IC50 utilizamos los valores correspondientes a la ecuación de la recta.

4.3.5 Comparación del IC50 de las Muestras

En la figura 21 se puede observar que la solución patrón (ácido ascórbico puro) posee la mayor capacidad antioxidante seguido del compuesto sintético (tableta de vitamina C), a diferencia de los extractos de la pulpa del fruto de pitahaya que no presentan una inhibición significativa del radical DPPH, siendo el extracto acuoso el que presenta la actividad antioxidante más baja. En tanto que menor sea el valor del IC50 mayor será la capacidad antioxidante.

Figura 21

Resultados del IC50 de la solución patrón, compuesto sintético, extracto etanólico y acuoso

Nota. Datos expresados en µg/mL. Fuente: Autor.

4.4 Comparación de la Capacidad Antioxidante de los Extractos de la Pulpa de Pitahaya Frente a un Compuesto Sintético

Para realizar la estadística inferencial se aplica la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk. Se utiliza dicho Test para contrastar la normalidad de un conjunto de datos, pues se analizan muestras menores a 50 datos. Se plantea las siguientes hipótesis:

Ho= Los datos poseen una distribución normal

Ha= Los datos no poseen una distribución normal

Tabla 12

Prueba de Shapiro-Wilk

Pruebas de normalidad

	Kolmogorov-Smirnov[a]			Shapiro-Wilk		
	Estadístico	gl	Sig.	Estadístico	gl	Sig.
Patrón	,268	7	,138	,818	7	,061
Tableta de vitamina C	,286	7	,088	,828	7	,076
Extracto Etanólico	,146	7	,200*	,941	7	,649
Extracto Acuoso	,154	7	,200*	,958	7	,805

*. Esto es un límite inferior de la significación verdadera.

a. Corrección de significación de Lilliefors

Nota. Prueba realizada en el programa IBM SPSS Statistics. Fuente: Autor.

En vista de que todos los datos obtenidos en la columna de significancia son mayores a 0.05, demuestran que los valores resultantes de la capacidad antioxidante de las diferentes muestras poseen una distribución normal, por lo tanto, se acepta la hipótesis nula.

Tras realizar la prueba de normalidad se plantea un modelo ANOVA completamente al azar, donde el factor de entrada es el tipo de solvente (variable independiente) y el factor de salida es la actividad antioxidante de cada extracto (variable dependiente), con un nivel de confianza del 95%. Para este modelo se aplica las siguientes hipótesis:

$Ho = \mu 1 = \mu 2 = \mu 3$

$Ha = \mu 1 \neq \mu 2 \neq \mu 3$

Figura 22

ANOVA de un solo factor en el programa Minitab 19

Información del factor

Factor	Niveles	Valores
Extractos	2	Acuoso; Etanólico

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Extractos	1	95,94	95,94	7,24	0,020
Error	12	159,10	13,26		
Total	13	255,04			

Resumen del modelo

S	R-cuad.	R-cuad. (ajustado)	R-cuad. (pred)
3,64121	37,62%	32,42%	15,09%

Medias

Extractos	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
Acuoso	7	2,910	1,064	(-0,089; 5,908)
Etanólico	7	8,15	5,04	(5,15; 11,14)

Desv.Est. agrupada = 3,64121

Nota. Fuente: Autor.

De acuerdo con el resultado obtenido en el modelo ANOVA completamente al azar, se puede evidenciar el que valor de *p* es menor a 0,05; por lo tanto, se acepta la hipótesis alternativa que dicta que no todas las medias son iguales. En resumen, los extractos de la pulpa de pitahaya presentan diferencias significativas, siendo el extracto etanólico el que presenta mayor actividad antioxidante que el extracto acuoso.

Para contrastar la actividad antioxidante de los extractos de la pulpa de pitahaya con el patrón (ácido ascórbico puro) y tableta de vitamina C (compuesto sintético), se lleva a cabo la prueba estadística de Dunnett.

El método de Dunnett se utiliza en ANOVA para crear intervalos de confianza para las diferencias entre la media de un conjunto de tratamientos y la media de un tratamiento control.

Tabla 13

Comparación de los extractos con una solución patrón

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Actividad_Antioxidante

T de Dunnett (bilateral)[a]

(I) Muestras	(J) Muestras	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Extracto Etanólico	Patrón	-25,4935000	11,5333276	,072	-53,156953	2,169953
Extracto Acuoso	Patrón	-30,7291857*	11,5333276	,029	-58,392639	-3,065733

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

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

Nota. Prueba de Dunnett en el programa IBM SPSS Statistics. Fuente: Autor.

Como se observa en la tabla N°13 tanto el extracto etanólico como el acuoso presentan una diferencia significativa con solución patrón de ácido ascórbico puro. Los valores negativos en la sección de diferencia de medias hacen referencia a que los extractos poseen menor capacidad antioxidante que el patrón.

Tabla 14

Comparación de los extractos con una tableta de vitamina C

Comparaciones múltiples

Variable dependiente: Actividad_Antioxidante

T de Dunnett (bilateral)[a]

(I) Muestras	(J) Muestras	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Extracto Etanólico	Tableta de vitamina C	-17,5902143	8,7872835	,107	-38,667098	3,486669
Extracto Acuoso	Tableta de vitamina C	-22,8259000*	8,7872835	,033	-43,902783	-1,749017

*. La diferencia de medias es significativa en el nivel 0.05.

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

Nota. Prueba de Dunnett en el programa IBM SPSS Statistics. Fuente: Autor.

De igual manera en la tabla N°14 se puede evidenciar que los extractos de la pulpa de pitahaya muestran diferencias significativas con la tableta de vitamina C. Los valores negativos exponen la poca capacidad antioxidante que poseen los extractos frente un compuesto sintético.

Conclusiones

De acuerdo con la investigación “determinación de la capacidad antioxidante del extracto etanólico y acuoso de la pulpa del fruto de pitahaya (*Cereus* sp.), producida en la provincia de Morona Santiago para posible uso en la industria alimentaria” se concluye lo siguiente:

Conforme a los resultados obtenidos en la marcha fitoquímica o screening fitoquímico, se observó la presencia de compuestos como lo son fenoles, taninos y flavonoides en el extracto etanólico; en tanto que en el extracto acuoso se evidenció la presencia de saponinas, fenoles, taninos y flavonoides. Los ensayos de los diferentes metabolitos secundarios una vez finalizados, presentaban tonalidades ligeras, sin embargo, deben ser de una tonalidad más intensa. En consecuencia, se puede concluir que la pulpa de pitahaya posee pequeñas cantidades de sustancias activas que le otorgan a los extractos poca actividad antioxidante.

Por medio del método DPPH se determinó la capacidad antioxidante de cada extracto, presentando una mayor actividad antioxidante el extracto etanólico con un 14,4620% de inhibición del radical libre DPPH y un valor de IC50 de 128,2881 µg/mL, mientras que el extracto acuoso obtuvo un 4,4394% de inhibición del radical libre DPPH y un valor de IC50 de 611,0229 µg/mL.

A través de análisis estadístico ANOVA completamente al azar se comprobó la diferencia que existe entre el extracto etanólico y el extracto acuoso respecto a la capacidad antioxidante que posee cada uno, se obtuvo un valor de p de 0,020 siendo menor al valor de significancia de 0,05; razón por la cual se acepta la hipótesis alternativa. Se puede concluir que la desigualdad que existe entre las medias de la actividad antioxidante de los extractos es significativa.

Además, con el método estadístico de Dunnett se comparó las medias de la actividad antioxidante de los extractos de la pitahaya con las medias de la actividad antioxidante de una solución patrón de ácido ascórbico puro y un compuesto sintético (tableta de vitamina C), obteniendo como resultado valores negativos. Por lo tanto, se concluye que el ácido ascórbico puro y compuesto sintético poseen mayor capacidad antioxidante que los extractos de la pulpa de pitahaya.

Mediante el presente estudio se concluye así que el extracto etanólico de la pulpa de pitahaya muestra mayor actividad antioxidante que el extracto acuoso. Además, que la capacidad antioxidante de un alimento procedente de una especie vegetal está influenciada por el estado de madurez de la fruta, factores genéticos y condiciones medio ambientales. Por lo cual dicha fruta no sustituiría el uso de antioxidantes de origen sintético o a su vez se pudiese combinar con los mismos en la elaboración de productos dentro de la industria alimentaria.

Recomendaciones

Tener una correcta asepsia al momento de preparar los extractos para así evitar una contaminación cruzada con las muestras, pues podrían proliferar microorganismos durante el tiempo de maceración y conservación de los extractos.

Proteger en todo momento los extractos y reactivos utilizados en el método de DPPH contra la luz, mediante la utilización de papel aluminio. Exponer las muestras y reactivos el menor tiempo posible cuando se lleva a cabo el ensayo para evitar su degradación a causa de la luz.

Evaluar la actividad antioxidante de muestras frescas de la pulpa de pitahaya sin recurrir al uso de tratamientos térmicos como la evaporación rotativa que pueden deteriorar los compuestos bioactivos presentes en dicha fruta o a su vez recurrir a la técnica de liofilización pues degrada en menor proporción las sustancias químicas presenten en los alimentos de origen vegetal.

Se recomienda estudiar la capacidad antioxidante de la pitahaya utilizando los residuos como la cáscara para ampliar la bibliografía existente.

Determinar la capacidad antioxidante de la pitahaya mediante diferentes tipos de solventes como por ejemplo una solución hidro-alcohólica, metanol entre otras.

Determinar la capacidad antioxidante de la fruta de pitahaya mediante la evaluación por diferentes métodos espectrofotométricos como son los siguientes: ABTS y ORAC.

Se recomienda continuar con el estudio de la actividad antioxidante de las diferentes variedades de pitahaya cultivadas en distintas zonas del Ecuador.

Referencias

Alcántara Castillo, D. J. (2018). *Comparación in vitro de la capacidad antioxidante de Selenicereus Megalanthus, Hylocereus Undatus Y Opuntia Ficus-Indica.* [Tesis de licenciatura, Universidad Cesar Vallejo].

Anchundia Sedamanos, K. J., Vaque Zambrano, K. L. y Dávila Medina, F. (2019). *Plan de negocios para la elaboración y comercialización de mermelada de pitahaya en la ciudad de Guayaquil*. *Observatorio de la Economía Latinoamericana*.

Angaspilco Sánchez, F. y Cárdenas Gastelo, W. M. (2017). *Determinación de taninos y flavonoides del extracto acuoso de vainas de Caesalpinia spinosa (Molina) Kuntze "Taya" procedentes de las provincias de Jaén, Contumazá y Cajamarca.* [Tesis de pregrado, Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo].

Araya, H., Clavijo, C. y Herrera, C. (2006). *Capacidad antioxidante de frutas y verduras cultivados en Chile*. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, *56*(4).

Arévalo Cotrina, A. J. C. (2021). *Actividad laxante del Hylocereus megalanthus (Pitahaya amarilla) frente al Hylocereus monacanthus (Pitahaya roja) en Mus musculus (Ratones Albinos).* [Tesis de pregrado, Universidad Privada de Huancayo Franklin Roosevelt].

Arias, F. G. (2012). *El proyecto de investigación. (6ª ed..)*. Episteme.

Arica Velásquez, N. M. y Becerra Chávez, M. A. (2020). *Polifenoles totales y actividad antioxidante de los extractos metanólico y etanólico del epicarpio de la pomarrosa Syzygium malaccense L*. [Tesis de pregrado, Universidad de Guayaquil].

Ávalos García, A. y Perez-Urria Carril, E. (2011). Metabolismo secundario de plantas. *Reduca (Biología), 2*(3).

Barrera, C. A. C., Parra, J. y Suarez, L. E. C. (2014). *Caracterización química del aceite esencial e identificación preliminar de metabolitos secundarios en hojas de la especie raputia heptaphylla (rutaceae). Elementos*, *4*(4), 31-39.

Beltrán Torres, V. N. (2015). *Desarrollo de un proyecto para la creación de una Microempresa de producción y comercialización de pitahaya ubicada en la comunidad de Chinimpí, del cantón Palora, provincia de Morona Santiago*. [Tesis de pregrado, Universidad Central del Ecuador].

Buchanan, B. B., Gruissem, W. y Jones, R. L. (Eds.). (2015). *Biochemistry and molecular biology of plants*. John wiley & sons.

Chauca Aguilar, M. A. (2019). *Fenoles y capacidad antioxidante de guayaba (Psidium guajava), arándano (Vaccinium myrtillus) y fracciones comestibles y no comestibles de pitahaya (Selenicereus megalanthus) y aguaymanto (Physalis peruviana).* [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Toribio Rodríguez de Mendoza de Amazonas].

Chauca Aguilar, M. A. y Chávez Quintana, S. G. (2020). Fenoles y capacidad antioxidante de *Psidium guajava, Vaccinium myrtillus, Selenicereus megalanthus* y *Physalis peruviana* de diferentes procedencias. *Bioagro*, *32*(3), 225-230.

Chemah, T. C., Aminah, A., Noriham, A. y Wan Aida, W.M. (2010). Determination of pitaya seeds as a natural antioxidant and source of essential fatty acids. *International Food Research Journal*, 17, 1003-1010.

Coronado, M., Vega y León, S., Gutiérrez, R., Vázquez, M. y Radilla, C. (2015). Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana. *Revista chilena de nutrición*, *42*(2), 206-212.

Cuéllar, F. A. y Anzola, C. (2012). Comparación de la capacidad antioxidante del arazá (Eugenia stipitata Mc vaugh) durante la maduración. *Vitae*, *19*(1), S385-S387.

Dávalos, J. Z., Romero, V. L., Sánchez, J. I., Chávez, J. y Valderrama-Negrón, A. (2017). Caracterización, mediante espectrometría de masas de alta resolución MALDI/FT-ICR, de taninos hidrolizables de la tara (Caesalpinia spinosa). *Revista de la Sociedad Química del Perú*, *83*(1), 106-114.

Delgado Millán, J. A. (2010). *Análisis general de mercado de la pitahaya amarilla (Selenicereus megalanthus), con fines de su comercialización en la República Popular China (RPC)*. [Tesis de pregrado, Universidad Autónoma de Occidente].

Diaz Puentes, L. N. (2009). Interacciones moleculares entre plantas y microorganismos: saponinas como defensas químicas de las plantas y su tolerancia a los microorganismos. Una revisión. *RET. Revista de estudios transdisciplinarios*, *1*(2), 32-55.

Elejalde Guerra, J. I. (2001). Estrés oxidativo, enfermedades y tratamientos antioxidantes. In *Anales de medicina interna* (Vol. 18, No. 6, pp. 50-59). Arán Ediciones, SL.

Esquivel, P. y Araya, Y. (2012). Características del fruto de la pitahaya (Hylocereus sp.) y su potencial de uso en la industria alimentaria. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, *3*(1), 113-129.

Faria, A., Monteiro, R., Mateus, N., Azevedo, I., & Calhau, C. (2007). Effect of pomegranate (Punica granatum) juice intake on hepatic oxidative stress. *European Journal of Nutrition, 46*(5), 271-278.

Fierro Fierro, F. y Vergara Onofre, M. (2011). *Impacto de la biología molecular y las nuevas tecnologías en el conocimiento de la función celular y sus aplicaciones*. Universidad Autónoma Metropolitana.

Figueroa Díaz, S. L. y Mollinedo Moncada, O. (2017). *Actividad antioxidante del extracto etanólico del mesocarpio del fruto de Hylocereus undatus "pitahaya" e identificación de los fitoconstituyentes*. [Tesis de pregrado, Universidad Wiener].

Figueroa Haro, J. N. (2020). *Microencapsulación de antocianinas con actividad antioxidante extraídas a partir de la cáscara de pitahaya roja (Hylocereus undatus)* [Tesis de pregrado, Universidad Técnica de Ambato]

Figueroa, R., Tamayo, J., González, S., Moreno, G. y Vargas, L. (2011). Actividad antioxidante de antocianinas presentes en cáscara de pitahaya (Hylocereus undatus). *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, *12*(1), 44-50.

Flores Vázquez, J. y García-Vieyra, M. I. (2016). Perfil fitoquímico y actividad antioxidante de extractos de pitahaya Hylocereus undatus. *Jóvenes en la ciencia*, *2*(1), 29-33.

Flores, T., Huamán, J. H. y Tomás, G. (2013). Estudio comparativo de tres metodologías cuantitativas de extracción de saponinas de la Melisa Officinalis "toronjil". *Revista Peruana de Química e Ingeniería Química*, *16*(2), 47-51

Fuentes, V. R. (2012). *Etnobotánica de cactaceae en cuba*. Instituto de Investigaciones en Fruticultura Tropical, Ministerio de la Agricultura, C. Habana.

Galvez Rivas, A. M. y Zaldaña Burgos, J. D. (2020) *Determinación de la actividad antioxidante por el método DPPH en diez frutos de especies vegetales pertenecientes a la flora salvadoreña.* [Tesis de pregrado, Universidad de El Salvador].

Gechev, T. S.; Hille, J.; Woerdenbag, H. J.; Benina, M.; Mehterov, N.; Toneva, V.; Fernie A. R. y Mueller-Roeber, B. (2014). Natural products from resurrection plants: Potential for medical applications. *Biotechnology Advances*, *32*(6), 1091-1101.

González, C. G., González, M. A., Saritama, R. C. y Aguilar, J. A. (2018). Determinación de fenoles en Ají Gallinazo (Capsicum frutescens)-Ají Rocoto (Capsicum pubescens) aplicando Espectrofotometría. *In Conference Proceedings* (*Vol. 2*, No. 2).

González, I. (2006). *Desarrollo y aplicación de procesos tecnológicos para la elaboración de conservas a base de pitaya (stenocereussp.) de la región mixteca.* [Proyecto Fin de Carrera, Universidad Tecnológica de la Mixteca].

Heredia Vásquez, J. (2013). *Propiedades fisicoquímicas y antioxidantes de polvos nanoestructurados de Ardisia compressa kunth*. [Tesis de Maestría, Universidad Veracruzana].

Huachi, L., Yugsi, E., Paredes, M. F., Coronel, D., Verdugo, K. y Santamaría, P. C. (2015). Desarrollo de la pitahaya (Cereus sp.) en Ecuador. *LA GRANJA. Revista de Ciencias de la Vida*, *22*(2), 50-58.

Huamani Mora, D. J. y Paucar Capia, P. E. (2018). *Determinación del Contenido de Ácido Ascórbico y Capacidad Antioxidante del Fruto Liofilizado de Pitahaya Amarilla (Hylocereus Megalanthus) y Pitahaya Roja (Hylocereus Undathus)*. [Tesis de pregrado, Universidad Católica de Santa María].

Jamilan, B., Shu, C. E., Kharidah, M., Dzulkifly, M. A. y Norinazan, A. (2011). Physico-chemical characteristics of red pitaya (hylocereus polirhizus) peel. *International Food Research Journal*, *18*: 279–286.

Jiménez, C. (2011). Las cactáceas mexicanas y los riesgos que enfrentan. *Revista Digital Universitaria*, 2–23.

Karppinen, K., Zoratti, L., Nguyenquynh, N., Häggman, H. y Jaakola, L. (2016). On the developmental and environmental regulation of secondary metabolism in Vaccinium spp. Berries. *Frontiers in Plant Science*, *7*(655).

Kasote, D. M., Katyare, S. S., Hegde, M. V. y Bae, H. (2015). Significance of antioxidant potential of plants and its relevance to therapeutic applications International Journal of Biological *Sciences. 11*: 982-991.

Katsube, N., Iwashita, K., Tsushida, T., Yamaki, K. y Kobori, M. (2003). Induction of apoptosis in cancer cells by bilberry (Vaccinium myrtillus) and the anthocyanins. *Journal of agricultural and food chemistry*, *51*(1), 68-75.

Kondo, T., Martínez, M., Medina, J. A., Rebolledo Roa, A., Cardozo Burgos, C., Toro M., J. C., Durán, A., Labrador, N. R., Quintero, E. M., Imbachi López, K., Delgado, A., Manrique Burbano, M. B., Murcia Riaño, N., Rojas Triviño, A., Orozco, M. L. y Muñoz, D. (2013).

Manual técnico: Tecnología para el manejo de pitaya amarilla Selenicereus megalanthus (K. Schum. ex Vaupel) Moran en Colombia. CORPOICA, 96 p.

Le Bellec, F., Vaillant, F. y Imbert, E. (2006). Pitahaya (Hylocereus spp.): a new fruit crop, a market with a future. *Fruits*, *61*(4), 237-250.

León Durán, M. D. (2020). *Optimización de la producción de metabolitos secundarios tipo flavonoides en cultivos en suspensión de células de Thevetia peruviana.* [Tesis de Maestría. Universidad Nacional de Colombia].

Londoño Londoño, J. (2012). *Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad. In Desarrollo y Transversalidad serie Lasallista Investigación y Ciencia*. Corporación Universitaria Lasallista. 9(9):130- 162.

López do Campo, J. (2017). *Estudio comparativo de la actividad antioxidante en fresas de cultivos de origen tradicional versus ecológico*. [Trabajo de Fin de grado, Universidad de Coruña].

Mandujano, M., Golubov, J. y Reyes, J. (2002). Lo que usted siempre quiso saber sobre las cactáceas y nunca se atrevió a preguntar. *Biodiversitas*, *40*(4), 4-7.

Martínez-Esteso, M. J., Martínez-Márquez, A., Sellés-Marchart, S., Morante-Carriel, J. A. y Bru-Martínez, R. (2015). The role of proteomics in progressing insights into plant secondary metabolism. *Frontiers in plant science*, *6*, 504.

Martínez-Flórez, S., González-Gallego, J., Culebras, J. M. y Tuñón, M. (2002). Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes. *Nutrición hospitalaria*, *17*(6), 271-278.

Mejía Calle, P. E. (2019). *Evaluación de la capacidad antioxidante de extractos alcohólico y acuoso de romero (Rosmarinus officinalis), frente a un compuesto sintético.* [Tesis de pregrado, Universidad Politécnica Salesiana].

Mendoza Lara, Y. D., Morales, P. A., Sánchez Garzón, J. y Patillo Olaya, J. F. (2020). Componentes bioactivos del tomate y su posible poder antimicrobiano: estudio in vitro. *Revista Cubana de Medicina Natural y Tradicional*, *3*.

Meriño Serrano, C. C. (2019). *Determinación de la capacidad antioxidante de los extractos de Jackfruit (Artocarpus heterophylus Lam.) obtenidos mediante solventes de diferente polaridad*. [Tesis de pregrado, Universidad Politécnica Salesiana].

Mishra, K., Ojha, H. y Chaudhury, N. K. (2012). Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results. *Food chemistry*, *130*(4), 1036-1043.

Moore, B. D., Andrew, R. L., Külheim, C. y Foley, W. J. (2014). Explaining intraspecific diversity in plant secondary metabolites in an ecological context. *New Phytologist*, *201*(3), 733-750.

Ncube, B. y Van Staden, J. (2015). Tilting plant metabolism for improved metabolite biosynthesis and enhanced human benefit. *Molecules*, *20*(7), 12698-12731.

Núñez Sellés, A. J. (2011). Terapia antioxidante, estrés oxidativo y productos antioxidantes: retos y oportunidades. *Revista Cubana de Salud Pública*, *37*, 644-660.

Oporta, I. L. y Pérez Bucardo, Y. J. (2019). *Determinación de actividad antioxidante en diez especies vegetales recolectadas en la zona Nor-central de Nicaragua mediante el ensayo*

DPPH agosto-noviembre 2018. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional Autónoma de Nicaragua].

Pandey, K. B. y Rizvi, S. I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative medicine and cellular longevity*, *2*.

Perea Dallos, M., Tirado, A., Micán Gutiérrez, Y., Fischer, G. y Rodriguez Riaño, J. (2010). Cactaceae pitahaya Selenicereus megalanthus (K. Schum. ex Vaupel) Moran (Cactaceae). Biotecnología aplicada al mejoramiento de los cultivos de frutas tropicales, 105-135.

Pujol Garcia, A.; Tamargo, B.; Salas, E.; Calzadilla, C.; Acevedo, R. y Sierra, G. (2020). Tamizaje fitoquímico de extractos obtenidos de la planta Sapindus saponaria L que crece en Cuba. *Bionatura*, *5*(3).

Quintanar, M. y Calderón, J. (2009). La capacidad antioxidante total. Bases y aplicaciones. *Revista de educación bioquímica*, *28*(3), 89-101.

Ramos Carrión, M. R. y Solórzano Ramos, R. F. (2016). *Características farmacognósticas de las hojas de alternanthera lanceolata (benth.) schinz "lancetilla" proveniente del distrito de Urpay provincia de Sánchez Carrión región La Libertad*. [Tesis de pregrado, Universidad Nacional de Trujillo].

Rengifo Zevallos, D. R. (2018). Estudio fitoquímico cualitativo preliminar y cuantificación de flavonoides y taninos del extracto etanólico de hojas de Desmodium vargasianum Schubert. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, *84*(2), 175-182.

Reyes, A., Galicia, M. y Carrillo, M. (2011). Antioxidantes: la magia de lo natural. *Rev Tlatemoani*, *8*, 1-16.

Rios, M. y Borgtoft Pedersen, H. (1997). Uso y manejo de recursos vegetales: memorias del segundo simposio ecuatoriano de etnobotánica y botánica económica. *Abya-Yala, xxv,416.*

Santos, E. L., Sales Maia, B. H. L. N., Ferriani, A. P. y Dias Teixeira, S. (2017). Flavonoids: Classification, biosynthesis and chemical ecology. *Flavonoids-From Biosynthesis to Human Health; IntechOpen: London, UK*, 1-14.

Shahidi, F. y Ambigaipalan, P. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects–A review. *Journal of functional foods*, *18*, 820-897.

Tsunoda, T. y van Dam, N. M. (2017). Root chemical traits and their roles in belowground biotic interactions. *Pedobiologia*, *65*, 58-67.

Vargas, Y., Pico, J., Díaz, A., Sotomayor, D., Burbano, A., Caicedo, C., Paredes, N., Congo, C., Tinoco, L., Bastidas, S., Chuquimarca, J., Macas, J. y Viera, W. (2020). *Manual Técnico del cultivo de pitahaya*. INIAP. Manual N° 117 x. Joya de los Sachas, Ecuador, 39p.

Venereo Gutiérrez, J. R. (2002). Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes. *Revista Cubana de medicina militar*, *31*(2), 126-133.

Villanueva Gutiérrez, M. (2020). *Comparación de la capacidad antioxidante en vainas frescas y vainas secas de Caesalpinia spinosa "Tara" mediante el método de 2, 2–difenil-1-picrilhidrazil (DPPH).* [Tesis de pregrado, Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo].

Zamora, J. D. (2007). Antioxidantes: micronutrientes en lucha por la salud. *Revista chilena de nutrición*, *34*(1), 17-26.

Anexos

Anexo 1 Lista de abreviaturas

µmol ET	µmol Equivalentes de Trolox
ABTS	ácido 2,2´, azino-bis (3-etilbenzotiazolin)-6-sulfónico
ANOVA	Análisis de la varianza
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazilo
Ha	Hipótesis alternativa
Ho	Hipótesis nula
IC50	Concentración mínima necesaria para inhibir al 50% del radical libre DPPH
mM	Milimolar
nm	Nanómetro
ORAC	Capacidad de absorción de radicales de oxígeno
ppm	Partes por millón
ROS	Especies reactivas del oxígeno
rpm	Revoluciones por minuto
UV-VIS	Luz ultravioleta visible
Valor *p*	Significación estadística.

Anexo 2 Preparación de los extractos

Figura 23

Pesaje de la muestra

Nota. Fotografía tomada en los laboratorios "Ciencias de la Vida" de la Universidad Politécnica Salesiana Sede Cuenca. Fuente: Autor.

Figura 24

Extracto etanólico

Nota. Fotografía tomada en los laboratorios "Ciencias de la Vida" de la Universidad Politécnica Salesiana Sede Cuenca. Fuente: Autor.

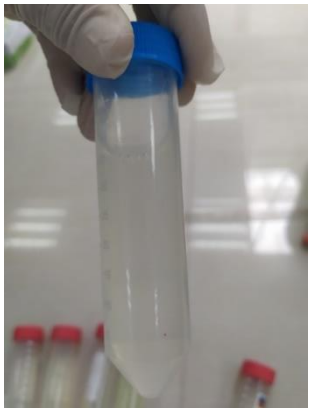
Figura 25

Centrifugación de las muestras

Nota. Fotografía tomada en los laboratorios “Ciencias de la Vida” de la Universidad Politécnica Salesiana Sede Cuenca. Fuente: Autor.

Figura 26

Extracto libre de impurezas



Nota. Fotografía tomada en los laboratorios “Ciencias de la Vida” de la Universidad Politécnica Salesiana Sede Cuenca. Fuente: Autor.

Figura 27

Evaporación rotativa al vacío

Nota. Fotografía tomada en los laboratorios “Ciencias de la Vida” de la Universidad Politécnica Salesiana Sede Cuenca. Fuente: Autor.

Figura 28

Volumen final del extracto etanólico

Nota. Fotografía tomada en los laboratorios “Ciencias de la Vida” de la Universidad Politécnica Salesiana Sede Cuenca. Fuente: Autor.

Anexo 3 Reactivos

Figura 29

Radical libre DPPH

Nota. Fotografía tomada en los laboratorios "Ciencias de la Vida" de la Universidad Politécnica Salesiana Sede Cuenca. Fuente: Autor.

Figura 30

Acido ascórbico puro

Nota. Fotografía tomada en los laboratorios "Ciencias de la Vida" de la Universidad Politécnica Salesiana Sede Cuenca. Fuente: Autor.

Anexo 4 Método DPPH

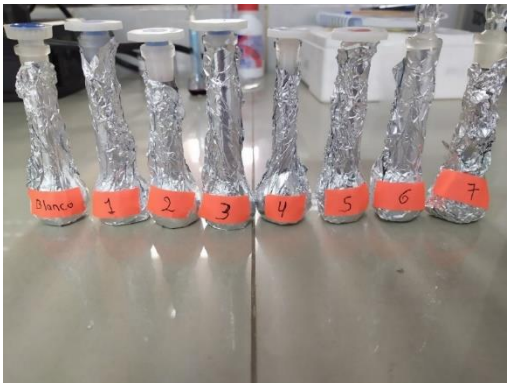
Figura 31

Disolución del extracto acuoso

Nota. Fotografía tomada en los laboratorios "Ciencias de la Vida" de la Universidad Politécnica Salesiana Sede Cuenca. Fuente: Autor.

Figura 32

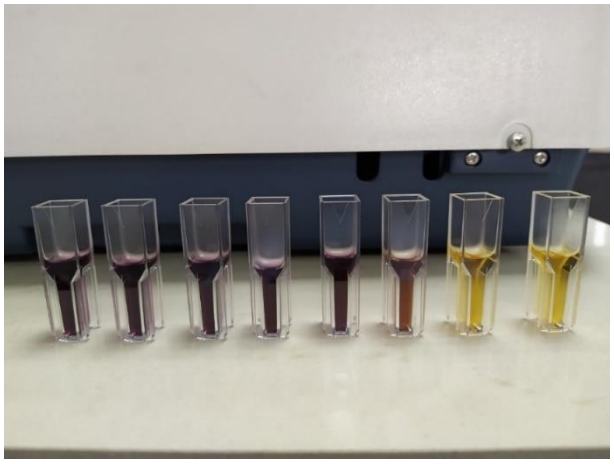
Disoluciones en diferentes fracciones



Nota. Fotografía tomada en los laboratorios "Ciencias de la Vida" de la Universidad Politécnica Salesiana Sede Cuenca. Fuente: Autor.

Figura 33

Inhibición del radical DPPH



Nota. Fotografía tomada en los laboratorios "Ciencias de la Vida" de la Universidad Politécnica Salesiana Sede Cuenca. Fuente: Autor.