



UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA

**TRABAJO DE TITULACIÓN PRESENTADO COMO REQUISITO
PREVIO PARA OPTAR AL GRADO DE QUÍMICO FARMACÉUTICO**

TEMA:

**ESTUDIO BIBLIOGRÁFICO COMPARATIVO DE LA CAPACIDAD
ANTIOXIDANTE DE LAS HOJAS DE GUAYUSA (*Ilex guayusa*) Y GUAYABA
(*Psidium guajava*).**

AUTORES

HERNANDEZ PLUAS DAYANA ARACELY
ESPAÑA CARRIEL SHIRLEY DENISSE

TUTORA:

QF. SOLEDISPA CAÑARTE PILAR ASUNCIÓN MSc.

GUAYAQUIL – ECUADOR

2022 – 2023



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN



ANEXO XI.- FICHA DE REGISTRO DE TRABAJO DE TITULACIÓN

TÍTULO Y SUBTÍTULO:	"ESTUDIO BIBLIOGRÁFICO COMPARATIVO DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LAS HOJAS DE GUAYUSA (<i>Ilex guayusa</i>) Y GUAYABA (<i>Psidium guajava</i>)".		
AUTOR(ES) (apellidos/nombres):	HERNANDEZ PLUAS DAYANA ARACELY ESPAÑA CARRIEL SHIRLEY DENISSE		
REVISOR(ES)/TUTOR(ES) (apellidos/nombres):	Q.F. PILAR SOLEDISPA CAÑARTE Msc. Q.F. ZORAIDA BURBANO GÓMEZ Msc.		
INSTITUCIÓN:	UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL		
UNIDAD/FACULTAD:	FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS		
MAESTRÍA/ESPECIALIDAD :	QUÍMICA Y FARMACIA		
GRADO OBTENIDO:	TERCER NIVEL – QUÍMICO Y FARMACÉUTICO		
FECHA DE PUBLICACIÓN:	2022	No. DE PÁGINAS:	68
ÁREAS TEMÁTICAS:	Investigación bibliográfica		
PALABRAS CLAVES/ KEYWORDS:	Antioxidante, DPPH, ABTS, <i>Ilex guayusa</i> , <i>Psidium guajava</i>		
RESUMEN/ABSTRACT:	<p>"<i>Ilex guayusa</i>" y "<i>Psidium guajava</i>" son especies que pueden ser consideradas alimentos funcionales, ya que son utilizadas por diferentes culturas alrededor del mundo como implemento de la medicina tradicional. El uso de las hojas de guayusa y guayaba constituye una elección valiosa por su actividad antioxidante debido a que poseen propiedades anticancerígenas, cardiovasculares y disminuyen los niveles de glucosa en sangre, etc. El objetivo de esta investigación bibliográfica es comparar la capacidad antioxidante de la hoja de guayusa (<i>Ilex guayusa</i>) y la hoja de guayaba (<i>Psidium guajava</i>) en base a estudios realizados en diferentes países (Indonesia, Chile, Colombia, Perú y Ecuador) mediante el uso de diversos métodos químicos. El presente trabajo tiene una metodología bibliográfica, documental y comparativa. Los resultados mostraron que el método ABTS posee la ventaja de tener mayor capacidad antioxidante en menor tiempo que el DPPH, también porque es capaz de medir antioxidantes de naturaleza tanto lipofílicos e hidrofílicos. Finalmente, en base a los resultados obtenidos se concluye que la hoja de guayaba (<i>Psidium guajava</i>) tiene mayor actividad antioxidante con un resultado de $56.4614 \pm 3.7810 \mu\text{g/ml}$ en comparación a la guayusa (<i>Ilex guayusa</i>) $52.7 \pm 4.3 \mu\text{g/ml}$.</p>		
ADJUNTO PDF:	SI	NO	
CONTACTO CON AUTOR/ES:	Teléfono: +593979587169 +593 963857917	E-mail: dayanahernandez3001@hotmail.com denissecarriel@hotmail.com	
CONTACTO CON LA INSTITUCIÓN:	Nombre: FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS		
	Teléfono: (04) 2293680		
	E-mail: www.fcq.ug.edu.ec		



ANEXO VI. - CERTIFICADO DEL DOCENTE-TUTOR DEL TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Guayaquil, 16 de septiembre de 2022

Q.F. MARÍA AUXILIADORA ALARCÓN PERASSO MSC.

VICEDECANA

FACULTAD CIENCIAS QUIMICAS

UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL

Guayaquil - Ecuador

De mis consideraciones:

Envío a Ud. el Informe correspondiente a la tutoría realizada al Trabajo de Titulación

“ESTUDIO BIBLIOGRAFICO COMPARATIVO DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LAS HOJAS DE GUAYUSA (*Ilex guayusa*) y GUAYABA (*Psidium guajava*)” las estudiantes HERNANDEZ PLUAS DAYANA ARACELY Y ESPAÑA CARRIEL SHIRLEY DENISSE, indicando que han cumplido con todos los parámetros establecidos en la normativa vigente:

- El trabajo es el resultado de una investigación.
- El estudiante demuestra conocimiento profesional integral.
- El trabajo presenta una propuesta en el área de conocimiento.
- El nivel de argumentación es coherente con el campo de conocimiento.

Adicionalmente, se adjunta el certificado de porcentaje de similitud y la valoración del trabajo de integración curricular con la respectiva calificación.

Dando por concluida esta tutoría de trabajo de integración curricular, CERTIFICO, para los fines pertinentes, que el (los) estudiante (s) está (n) apto (s) para continuar con el proceso de revisión final.

Atentamente,



Firmado electrónicamente por:

PILAR ASUNCION
SOLEDISPA CAÑARTE

Q.F. Pilar Asunción Soledispa Cañarte Msc.

TUTOR DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

C.I. 0909244352

FECHA: 16 DE SEPTIEMBRE DE 2022



ANEXO VIII.- INFORME DEL DOCENTE REVISOR

Guayaquil, Septiembre 21 del 2022

**Dra. María Auxiliadora Alarcón Perasso, MgsSUBDECANA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL**

Ciudad. -

De mis consideraciones:

Envié a Ud. el Informe correspondiente a la REVISIÓN FINAL del trabajo de integración curricular, **"ESTUDIO BIBLIOGRÁFICO COMPARATIVO DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LAS HOJAS DE GUAYUSA (*Ilex guayusa*) y GUAYABA (*Psidium guajava*)"**, de las estudiantes **HERNANDEZ PLUS DAYANA ARACELY** y **ESPAÑA CARRIEL SHIRLEY DENISSE**. Las gestiones realizadas me permiten indicar que el trabajo fue revisado considerando todos los parámetros establecidos en las normativas vigentes, en el cumplimiento de los siguientes aspectos:

Cumplimiento de requisitos de forma:

El título tiene un máximo de 18 palabras.

La memoria escrita se ajusta a la estructura establecida.

El documento se ajusta a las normas de escritura científica seleccionadas por la Facultad. La investigación es pertinente con la línea y sublíneas de investigación de la carrera.

Los soportes teóricos son de máximo 5 años. La propuesta presentada es pertinente.

Cumplimiento con el Reglamento de Régimen Académico:

El trabajo es el resultado de una investigación.

El estudiante demuestra conocimiento profesional integral.

El trabajo presenta una propuesta en el área de conocimiento.

El nivel de argumentación es coherente con el campo de conocimiento.

Adicionalmente, se indica que fue revisado el certificado de porcentaje de similitud, la valoración del tutor, así como de las páginas preliminares solicitadas, lo cual indica el que el trabajo de investigación cumple con los requisitos exigidos.

Una vez concluida esta revisión, considero que el estudiante está apto para continuar el proceso de integración curricular.

Particular que comunicamos a usted para los fines pertinentes. Atentamente,



ZORAIDA DEL
CARMEN BURBANO
GÓMEZ

**Dra. ZORAIDA BURBANO GÓMEZ Mgs.
C.I. 0909393274**



ANEXO VII. - CERTIFICADO PORCENTAJE DE SIMILITUD

Habiendo sido nombrado **Q.F. Pilar Soledispa Cañarte Msc**, tutora del trabajo de integración curricular certifico que el presente trabajo ha sido elaborado por **HERNANDEZ PLUAS DAYANA ARACELY Y ESPAÑA CARRIEL SHIRLEY DENISSE**, con mi respectiva supervisión como requerimiento parcial para la obtención del título de Químico-Farmacéutico.

Se informa que el trabajo de integración curricular:

“ESTUDIO BIBLIOGRAFICO COMPARATIVO DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LAS HOJAS DE GUAYUSA (*Ilex guayusa*) y GUAYABA (*Psidium guajava*), ha sido orientado durante todo el periodo de ejecución en el programa antiplagio_(Turnitin) quedando el 4% de coincidencia.



Firmado electrónicamente por:

**PILAR ASUNCION
SOLEDISPA CANARTE**

Q.F. Pilar Asunción Soledispa Cañarte MSc.

TUTOR DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

C.I. 0909244352

FECHA: 16 septiembre- 2022

INFORME DE ANTIPLAGIO DEL PROGRAMA TURNITIN



Recibo digital

Este recibo confirma que su trabajo ha sido recibido por Turnitin. A continuación podrá ver la información del recibo con respecto a su entrega.

La primera página de tus entregas se muestra abajo.

Autor de la entrega:	Dayana Hernandez Denisse España
Título del ejercicio:	Titulación C1 2022
Título de la entrega:	ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE HOJAS DE GUAYABA Y GUAYUSA
Nombre del archivo:	ACTIVIDAD_ANTIOXIDANTE_DE_HOJAS_DE_GUAYABA_Y_GUAY...
Tamaño del archivo:	355.68K
Total páginas:	49
Total de palabras:	10,595
Total de caracteres:	53,641
Fecha de entrega:	06-sept.-2022 10:33p. m. (UTC-0500)
Identificador de la entrega:	1894130236

INTRODUCCIÓN

El presente trabajo tiene como objetivo analizar el efecto antioxidante de las hojas de guayaba y guayusa en la actividad antioxidante de la saliva humana. Para ello se realizó un estudio de laboratorio en el que se midió la actividad antioxidante de la saliva humana antes y después de la ingestión de las hojas de guayaba y guayusa. Los resultados obtenidos muestran que la ingestión de las hojas de guayaba y guayusa aumenta la actividad antioxidante de la saliva humana, lo que sugiere que estas plantas tienen un efecto antioxidante en la saliva humana.

Los resultados obtenidos en este estudio sugieren que la ingestión de las hojas de guayaba y guayusa aumenta la actividad antioxidante de la saliva humana. Este efecto puede ser debido a la presencia de compuestos bioactivos en estas plantas que actúan como antioxidantes. Los resultados obtenidos en este estudio sugieren que la ingestión de las hojas de guayaba y guayusa puede ser una estrategia efectiva para mejorar la salud bucal y prevenir enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo en la cavidad bucal.

Los resultados obtenidos en este estudio sugieren que la ingestión de las hojas de guayaba y guayusa aumenta la actividad antioxidante de la saliva humana. Este efecto puede ser debido a la presencia de compuestos bioactivos en estas plantas que actúan como antioxidantes. Los resultados obtenidos en este estudio sugieren que la ingestión de las hojas de guayaba y guayusa puede ser una estrategia efectiva para mejorar la salud bucal y prevenir enfermedades relacionadas con el estrés oxidativo en la cavidad bucal.

© Derechos de autor 2022 Turnitin. Todos los derechos reservados.



Firmado electrónicamente por:

**PILAR ASUNCION
SOLEDISPA CANARTE**



Guayaquil, 16 de septiembre 2022

APROBACIÓN DEL TUTOR

En calidad de tutor del trabajo de titulación, certifico: Que he asesorado, guiado y revisado el trabajo de titulación en la modalidad de investigación, cuyo título es: **“ESTUDIO BIBLIOGRÁFICO COMPARATIVO DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LAS HOJAS DE GUAYUSA (*Ilex guayusa*) Y GUAYABA (*Psidium guajava*).”** presentado por **HERNANDEZ PLUAS DAYANA ARACELY**, con C.I. No. **0941455990** y **ESPAÑA CARRIEL SHIRLEY DENISSE**, con C.I. No. **0955504964** previo a la obtención del título de Químicos y Farmacéuticos.

Este trabajo ha sido aprobado en su totalidad y se adjunta el informe de Antiplagio del programa TURNITIN, quedando 4% de coincidencia.



Firmado electrónicamente por:

**PILAR ASUNCION
SOLEDISPA CAÑARTE**

Q.F. Pilar Soledispa Cañarte Msc.

TUTOR

C.I. 0909244352

FECHA: 16- septiembre- 2022

Guayaquil, 16 de septiembre 2022

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR REVISOR

Habiendo sido nombrada Q.F. Zoraida Burbano Gómez Msc, tutora revisora del trabajo cuyo título es **“ESTUDIO BIBLIOGRÁFICO COMPARATIVO DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LAS HOJAS DE GUAYUSA (*Ilex guayusa*) Y GUAYABA (*Psidium guajava*).”** certifico que el presente trabajo de titulación, elaborado por las estudiantes **HERNANDEZ PLUS DAYANA ARACELY** con C.I. No. **0941455990** y **ESPAÑA CARRIEL SHIRLEY DENISSE** con C.I. No. **0955504964**; con mi respectiva supervisión como requerimiento parcial para la obtención del título de Químicos y Farmacéuticos, en la Facultad de Ciencias Químicas, ha sido REVISADO Y APROBADO en todas sus partes, encontrándose apto para su sustentación.

Atentamente



Q.F. Zoraida Burbano Gómez Msc.
DOCENTE TUTOR REVISOR
C.I. 0909393274
FECHA: 16-septiembre-2022



Guayaquil, 04 de octubre del 2022

CERTIFICADO DEL TRIBUNAL ACTA DE REGISTRO DE LA SUSTENTACIÓN FINAL

El tribunal de sustentación del trabajo de titulación de las estudiantes **ESPAÑA CARRIEL SHIRLEY DENISSE** con C.I. No. **0955504964** y **HERNANDEZ PLÚAS DAYANA ARACELY** con C.I. No. **0941455990**, después de ser examinados en su presentación, memoria científica y defensa oral da por aprobado el trabajo de titulación.



Firmado digitalmente por:
**ZORAIDA DEL
CARMEN BURBANO
GOMEZ**

Q.F. Zoraida del Carmen Burbano Gómez, Msc
PRESIDENTA DEL TRIBUNAL

**FRANCISCA
PATRICIA JIMENEZ
GRANIZO**

Firmado digitalmente por
**FRANCISCA PATRICIA
JIMENEZ GRANIZO**
Fecha: 2022.10.27
07:57:38 -05'00'

Q.F. Francisca Patricia Jiménez Granizo, Msc
DOCENTE MIEMBRO 1 DEL TRIBUNAL GENERAL



Firmado digitalmente por:
**LILIANA
ALEXANDRA
CORTEZ SUAREZ**

Q.F. Liliana Alexandra Cortez Suarez, Msc
DOCENTE MIEMBRO 2 DEL TRIBUNAL GENERAL



Firmado electrónicamente por:
**FRANCISCO XAVIER
PALOMEQUE ROMERO**

Ab. Francisco Palomeque Romero, Msc
SECRETARIO GENERAL



ANEXO XII.- DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y DE AUTORIZACIÓN DE LICENCIA GRATUITA INTRANSFERIBLE Y NO EXCLUSIVA PARA EL USO NO COMERCIAL DE LA OBRA CON FINES NO ACADÉMICOS

Nosotras, **HERNANDEZ PLUAS DAYANA ARACELY** con C.I. **0941455990** Y **ESPAÑA CARRIEL SHIRLEY DENISSE** con C.I. **0955504964**, certificamos que los contenidos desarrollados en este trabajo de integración curricular, cuyo título es **“ESTUDIO BIBLIOGRAFICO COMPARATIVO DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LAS HOJAS DE GUAYUSA (Ilex guayusa) Y GUAYABA (Psidium guajava)”** son de nuestra absoluta propiedad y responsabilidad, en conformidad al Artículo 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN*, autorizo/amos la utilización de una licencia gratuita intransferible, para el uso no comercial de la presente obra a favor de la Universidad de Guayaquil.

Dayana Hernández P.

Denisse España

DAYANA ARACELY HERNANDEZ PLUAS

SHIRLEY DENISSE ESPAÑA CARRIEL

C. I. 0941455990

C. I. 0955504964

*CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN (Registro Oficial n 899-Dic./2016) Artículo 114.- De los titulares de derechos de obras creadas en las instituciones de educación superior y centros educativos.- En el caso de las obras creadas en centros educativos, universidades, escuelas politécnicas, institutos superiores técnicos, tecnológicos, pedagógicos, de artes y los conservatorios superiores e institutos públicos de investigación como resultado de su actividad académica o de investigación tales como trabajos de titulación, proyectos de investigación o innovación, artículos académicos u otros análogos, sin perjuicio de que pueda existir relación de dependencia, la titularidad de los derechos patrimoniales corresponderá a los autores. Sin embargo, el establecimiento tendrá una licencia gratuita, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra con fines académicos.

DEDICATORIA

Le dedico este trabajo principalmente a Dios porque ha sido fundamental en mi vida y proceso estudiantil por brindarme la sabiduría necesaria y las fuerzas para que jamás desistiera, por acompañarme siempre de su mano, aunque el camino sea difícil. A mi madre Francisca Plúas, por apoyarme en todo momento en cada decisión, por su amor y enseñanza ha sido una mujer ejemplar, con su esfuerzo y fortaleza me ha llevado por el buen camino. A mis hermanos por estar siempre conmigo apoyándome y creyendo en mi a pesar de las adversidades. A mis amigos incondicionales por estar en buenos y malos momentos apoyándonos mutuamente.

Dayana Hernández P.

AGRADECIMIENTO

En especial agradezco a Dios por brindarme su apoyo y guiarme en cada una de las etapas de mi vida ya que sin el nada hubiera sido posible. Agradezco a mi familia y en especial a mi madre por ser mi soporte emocional, económico durante el trayecto de mi carrera. A nuestra tutora la Dra. Q.F. Soledispa Cañarte Pilar Asunción Msc. Por brindarnos su ayuda y disposición para que este proyecto sea culminado con éxito. A la Universidad de Guayaquil, en especial a la facultad de ciencias químicas por haberme dado la oportunidad de formarme en el ámbito profesional, A mi compañera de tesis por su ayuda y dedicación, y para finalizar a mis amigos por su amistad y apoyo moral en todo momento.

Dayana Hernández P.

DEDICATORIA

El presente trabajo se lo dedico principalmente a Dios, por ser el inspirador y darme fuerzas para continuar en este proceso de obtener uno de los anhelos más deseados. A mis padres, por su amor, trabajo y sacrificio en todos estos años, gracias a ustedes he logrado llegar hasta aquí y convertirme en lo que soy. A mi esposo que también fue un pilar fundamental a lo largo de mi carrera por su apoyo y su amor. A mis hermanos por estar siempre presentes, acompañándome y por el apoyo moral, que me brindaron a lo largo de esta etapa de mi vida. A todas las personas que me han apoyado y han hecho que el trabajo se realice con éxito en especial a aquellos que nos abrieron las puertas y compartieron sus conocimientos.

Denisse España C.

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por guiarme a lo largo de mi existencia, ser el apoyo y fortaleza en aquellos momentos de dificultad y de debilidad. Agradezco a mi tutora por brindarnos su apoyo, tiempo y conocimiento para culminar nuestra tesis con éxito. A mi compañera de tesis por su dedicación y paciencia en este tiempo y a todos mis amigos que me apoyaron desde el inicio de la carrera.

Denisse España C.

LISTA DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLO

- **ABTS:** ácido 2,2'-azino-bis- (3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico)
- **DPPH:** 1,1-difenil-2-picril hidrazilo es un radical libre estable debido a la deslocalización de electrones no apareados en la molécula
- **AAO:** actividad antioxidante
- **EAG:** Expresados en ácido gálico.
- **FRAP:** capacidad reductora/antioxidante del hierro.
- **CP:** Total de contenido fenólico
- **ORAC:** Es la capacidad de absorción del radical oxígeno, expresados en μ Mol eq-trolox /g.
- **RL:** Radicales Libres.
- **ROS:** Especies reactivas de oxígeno
- **TEAC:** capacidad antioxidante equivalente al Trolox
- **IC50:** coeficiente de inhibición del radical en un 50%

INDICE DE CONTENIDO

RESUMEN	XX
ABSTRACT.....	XXI
INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO I: PROBLEMA	3
I.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	3
I.1.1. Formulación del problema	4
I.2 JUSTIFICACION E IMPORTANCIA	4
I.3. HIPOTESIS.....	5
I.4. OBJETIVOS.....	5
I.4.1 Objetivo General	5
I.4.2 Objetivos específicos	6
I.5. OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES	6
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	7
II.1. ANTECEDENTES	7
II.1.1. Antioxidantes	8
II.1.2. Clasificación de los antioxidantes	9
II.1.3. Radicales libres.....	11
II.1.4. Mecanismo de acción de los antioxidantes	13
II.1.5. Fuentes naturales de los antioxidantes	13
II.1.6. Métodos para la determinación de la actividad antioxidante	14
II.1.7. Flavonoides	16
II.2. Guayaba (Psidium guajava)	17
II.2.1. Etimología	17
II.2.2. Clasificación Taxonómica.....	18
II.2.3. Descripción botánica.....	18
II.2.4. Cultivo de la guayaba en Ecuador.....	19

II.2.5. Composición química.....	20
II.2.6. Composición nutricional de la guayaba	20
II.2.7. Propiedades terapéuticas y beneficios de la guayaba	21
II.3. Guayusa (<i>Ilex guayusa</i>).....	24
II.3.1. Etimología	24
II.3.2. Clasificación Taxonómica.....	24
II.3.3. Descripción botánica.....	25
II.3.4. Cultivo de la guayusa en Ecuador.....	26
II.3.5. Composición química.....	26
II.3.6. Composición nutricional de la guayusa	27
II.3.7. Propiedades terapéuticas y beneficios de la guayusa	27
II.4. BASES TEÓRICAS	28
CAPÍTULO III. METODOLOGIA	43
III.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN.....	43
III.2. ENFOQUE DE LA INVESTIGACION	43
III.3. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN	43
III.4. UNIDADES DE ESTUDIO	43
CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIONES	44
DISCUSIÓN	55
CONCLUSIONES	58
RECOMENDACIONES	59
BIBLIOGRAFÍA	60
GLOSARIO	67

INDICE DE TABLAS

Tabla I. Operacionalidad de variables.....	6
Tabla II. Clasificación de los antioxidantes según el sitio donde ejercen su acción.....	10
Tabla III. Clasificación de los antioxidantes según su origen.....	11
Tabla IV. Clasificación taxonómica de la guayaba.....	18
Tabla V. Composición nutricional de la guayaba.....	20
Tabla VI. Clasificación Taxonómica de la guayusa.....	24
Tabla VII. Valor nutricional de la guayusa.....	27
Tabla VIII. Resultados de la actividad antioxidante de los subproductos de la guayaba obtenida a partir de `métodos ABTS y DPPH.....	29
Tabla IX. Actividades antioxidantes de extractos de guayaba mediante ensayos DPPH.	31
Tabla X. Porcentaje de inhibición y CI50 del EHA de hojas guayaba (<i>Psidium guajava</i>) de la ciudad de Quinindé (provincia de Esmeraldas).	31
Tabla XI. Determinación de la actividad antioxidante en la hoja de guayaba de 2 variedades.....	32
Tabla XII. Capacidad antioxidante por DPPH (%actividad de eliminación de radicales).....	33
Tabla XIII. Valoración de la actividad antioxidante mediante técnica del DPPH en Guayusa (formulación 1.0 % Guayusa).....	35
Tabla XIV. Valoración de la actividad antioxidante mediante técnica del DPPH en la formulación (2.5% Guayusa).....	35
Tabla XV. Valoración de la actividad antioxidante mediante técnica del DPPH en la formulación (5% Guayusa).....	35
Tabla XVI. Capacidad antioxidante por el método ABTS en las hojas de la guayusa (<i>Ilex guayusa</i>).	38
Tabla XVII. Capacidad antioxidante por el método DPPH en las hojas de la guayusa (<i>Ilex guayusa</i>).	38
Tabla XVIII. Actividad antioxidante DPPH del extracto de té verde.	40
Tabla XIX. Actividad antioxidante DPPH del extracto de <i>Ilex guayusa</i> al 80%.40	40
Tabla XX. Actividad antioxidante DPPH del extracto de <i>Ilex guayusa</i> al 50%. 40	40
Tabla XXI. Actividad antioxidante DPPH del extracto de <i>Ilex guayusa</i> al 20%.40	40

Tabla XXII. Valoración de la actividad antioxidante DPPH del ácido ascórbico.	41
Tabla XXIII. Resultados de fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante de extractos crudos utilizando el DPPH y el ensayo de blanqueo con ácido β - caroteno-linoleico.	42
Tabla XXIV. Tamizaje fitoquímico de los extractos hidroalcohólicos de las hojas de Guayaba (<i>Psidium guajava</i>) y guayusa (<i>Ilex guayusa</i>).	44
Tabla XXV. Cuadro comparativo de los métodos utilizados para el análisis de la actividad antioxidante de las hojas de guayaba (<i>Psidium guajava</i>) y guayusa (<i>Ilex guayusa</i>) estudiadas en Latinoamérica.	46

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estructura general de los flavonoides.....	17
Figura 2. Árbol de Guayaba	18
Figura 3. Partes del Árbol de guayaba.....	19
Figura 4. Estructura de la quercetina.....	20
Figura 5. Estructura del ácido ascórbico.....	20
Figura 6. Planta de guayusa	25
Figura 7. Estructura de la teobromina	26
Figura 8. Estructura de la L-teanina.....	26

INDICE DE GRÁFICOS

Gráfica 1. Resultados de la AAO de la hoja de Guayaba (<i>Psidium guajava</i>); Indonesia/ Asia.....	48
Gráfica 2. Resultados de la AAO de la hoja de guayusa (<i>Ilex guayusa</i>); Talca/Chile	48
Gráfica 3. Resultados de la AAO de la hoja de guayusa (<i>Ilex guayusa</i>); Bogotá/ Colombia	49
Gráfica 4. Resultados de la AAO de la hoja de guayaba (<i>Psidium guajava</i>); Tingo María/ Perú.....	49
Gráfica 5. Resultados de la AAO de la hoja de guayaba (<i>Psidium guajava</i>); Loja/Ecuador	50
Gráfica 6. Resultados de la AAO de la hoja de guayusa (<i>Ilex guayusa</i>); Quito/Ecuador	50
Gráfica 7. Resultados de la AAO de la hoja de guayaba (<i>Psidium guajava</i>); Quito/ Ecuador	51
Gráfica 8. Resultados de la AAO de la hoja de guayusa (<i>Ilex guayusa</i>); Loja/Ecuador	52
Gráfica 9. Resultados de la AAO de la hoja de guayusa (<i>Ilex guayusa</i>); Quito/Ecuador	52
Gráfica 10. Resultados de los métodos utilizados para el análisis de la actividad antioxidante de las hojas de guayaba (<i>Psidium guajava</i>) y guayusa (<i>Ilex guayusa</i>).....	53



FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS
CARRERA QUIMICA Y FARMACIA



“ESTUDIO BIBLIOGRÁFICO COMPARATIVO DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LAS HOJAS DE GUAYUSA (*Ilex guayusa*) Y GUAYABA (*Psidium guajava*).

Autores: Hernández Pluas Dayana Aracely

España Carriel Shirley Denisse

Tutor: Q.F. Soledispa Cañarte Pilar Asunción Msc.

RESUMEN

“*Ilex guayusa*” y “*Psidium guajava*” son especies que pueden ser consideradas alimentos funcionales, ya que son utilizadas por diferentes culturas alrededor del mundo como implemento de la medicina tradicional. El uso de las hojas de guayusa y guayaba constituye una elección valiosa por su actividad antioxidante debido a que poseen propiedades anticancerígenas, cardiovasculares y disminuyen los niveles de glucosa en sangre, etc. El objetivo de esta investigación bibliográfica es comparar la capacidad antioxidante de la hoja de guayusa (*Ilex guayusa*) y la hoja de guayaba (*Psidium guajava*) en base a estudios realizados en diferentes países (Indonesia, Chile, Colombia, Perú y Ecuador) mediante el uso de diversos métodos químicos. El presente trabajo tiene una metodología bibliográfica, documental y comparativa. Los resultados mostraron que el método ABTS posee la ventaja de tener mayor capacidad antioxidante en menor tiempo que el DPPH, también porque es capaz de medir antioxidantes de naturaleza tanto lipofílicos e hidrofílicos. Finalmente, en base a los resultados obtenidos se concluye que la hoja de guayaba (*Psidium guajava*) tiene mayor actividad antioxidante con un resultado de 56.4614 ± 3.7810 $\mu\text{g/ml}$ en comparación a la guayusa (*Ilex guayusa*) 52.7 ± 4.3 $\mu\text{g/ml}$.

Palabras claves: Antioxidante, DPPH, ABTS, *Ilex guayusa*, *Psidium guajava*.



**FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS
CARRERA QUIMICA Y FARMACIA**



**“COMPARATIVE BIBLIOGRAPHICAL STUDY OF THE ANTIOXIDANT
CAPACITY OF GUAYUSA (*Ilex guayusa*) AND GUAVA (*Psidium guajava*)
LEAVES”**

Autores: Hernández Pluas Dayana Aracely

España Carriel Shirley Denisse

Tutor: Q.F. Soledispa Cañarte Pilar Asunción Msc.

ABSTRACT

“*Ilex guayusa*” and “*Psidium guajava*” are species that can be considered functional foods, since they are used by different cultures around the world as an implement of traditional medicine. The use of guayusa and guava leaves is a valuable choice for its antioxidant activity because they have anticancer and cardiovascular properties and lower blood glucose levels, etc. The objective of this bibliographic research is to compare the antioxidant capacity of the guayusa leaf (*Ilex guayusa*) and the guava leaf (*Psidium guajava*) based on studies carried out in different countries (Indonesia, Chile, Colombia, Peru and Ecuador) through the use of various chemical methods. The present work has a bibliographical, documentary, and comparative methodology. The results showed that the ABTS method has the advantage of having a higher antioxidant capacity in less time than the DPPH, also because it is capable of measuring both lipophilic and hydrophilic antioxidants. Finally, based on the results obtained, it is concluded that the guava leaf (*Psidium guajava*) has higher antioxidant activity with a result of 56.4614 ± 3.7810 $\mu\text{g/ml}$ compared to guayusa (*Ilex guayusa*) 52.7 ± 4.3 $\mu\text{g/ml}$.

Keywords: Antioxidant, DPPH, ABTS, *Ilex guayusa*, *Psidium guajava*

INTRODUCCIÓN

Hoy en día, existe un enorme interés por la búsqueda de recursos naturales que brinden beneficios para la salud, entre ellos, las frutas y vegetales que poseen un alto contenido de nutrientes y componentes fotoquímicos con diferentes propiedades y beneficios para el organismo humano. (Yanez, 2022)

Siendo necesario que nuestro trabajo de investigación se enfoca en el estudio de la actividad antioxidante de las hojas de (*Ilex guayusa*) y (*Psidium guajava*) por medio de varios procedimientos químicos, este se fundamenta en comparar cuál de las dos posee la mayor capacidad antioxidante.

Los antioxidantes son considerados como cualquier sustancia que presente en bajas concentraciones tiene la función de retrasar o inhibir la oxidación. Los antioxidantes tienen la posibilidad de actuar de distintas modalidades, ya sea reduciendo la concentración de oxidantes o uniéndose a iones metálicos para evadir la formación de especies reactivas etc. (Aguilar et al.2018)

Las propiedades antioxidantes no se deben estudiar solo por sus interacciones químico-biológicas, sino por su funcionalidad en el deterioro oxidativo que perjudica a los alimentos. También se utilizan en la industria alimentaria adicionados a las grasas u otros productos para retrasar los procesos de oxidación, en tanto previenen el comienzo de la rancidez oxidativa. (Coronado et al. 2018)

La guayusa es una planta que destaca por sus propiedades energizantes y su contenido en antioxidantes. Las hojas de guayusa contienen una variedad de alcaloides como teobromina y cafeína, además de saponinas, cumarinas, esteroides, terpenos, fenoles, azúcares reductores, flavonoides, quinonas y aportan los 15 aminoácidos esenciales, es interesante resaltar el contenido de

leucina. Tienen antioxidantes botánicos y contenido de cafeína, similares a los que se encuentran en el té verde. (Herrera Z. C., 2020) La Guayaba se considera como una de las fuentes alimenticias con mayor contenido de compuestos con actividad antioxidante, ya que contiene vitamina C, Además, posee abundantes fibras, vitamina A, pectina, fósforo, calcio y potasio. (Arias M. , 2019)

Hay varios métodos que nos permiten medir la capacidad antioxidante de las hojas de guayusa (*Ilex guayusa*) y guayaba (*Psidium guajava*) dentro de estos métodos tenemos los siguientes: ABTS; DPPH.

Gracias a estos métodos se logrará establecer los resultados y así mismo las respectivas conclusiones.

CAPÍTULO I: PROBLEMA

I.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Actualmente los radicales libres son los protagonistas de muchas enfermedades que provocan reacciones en cadena, la oxidación es una pérdida bioquímica de electrones, siempre asociada a otra captura que se denomina reducción.

El daño o estrés oxidativo se ha determinado como la exposición de la materia viva a distintas fuentes que generan una ruptura del equilibrio que debería existir en medio de las sustancias o componentes prooxidantes y los mecanismos antioxidantes delegados de eliminar dichas especies químicas, sea por un déficit de estas defensas o por un crecimiento exagerado de la producción de especies reactivas del oxígeno. Todo lo mencionado trae como resultado alteraciones de la relación estructura-función en cualquier órgano, sistema o conjunto celular especializado. (Gutiérrez, 2012).

Los antioxidantes son sustancias químicas que se caracterizan por impedir o retrasar la oxidación de distintas sustancias primordialmente de los ácidos grasos cuyas actitudes se generan tanto en los alimentos como en el organismo humano, en el que puede ocasionar alteraciones fisiológicas relevantes desencadenantes de distintas patologías. (Zamora, 2017)

El análisis de los efectos de los antioxidantes en la salud humana fue, y es todavía, uno de los temas de análisis más comunes en la literatura. Varios autores han descrito los efectos convenientes de los antioxidantes, contenidos en enorme pluralidad de plantas y productos naturales, en patologías neurodegenerativas como enfermedades crónicas. (Benavente & Ccaso, 2021)

Por esto, la ingesta de hojas medicinales de guayaba y guayusa es una elección de solución, ya que produce un impacto productivo en la prevención de diversas patologías entre ellas cardiovasculares, respiratorias, antiinflamatorias. Dada la importancia de las hojas hace primordial conocer sus características funcionales, por lo cual se planea evaluar y comparar la capacidad antioxidante de cada una de ellas.

I.1.1. Formulación del problema

¿Cuál de los dos extractos de hojas de guayusa (*Ilex guayusa*) y guayaba (*Psidium guajava*) presentara mayor capacidad antioxidante?

I.2 JUSTIFICACION E IMPORTANCIA

En muchos casos la ciencia ha comprobado que los antioxidantes son promotores de la salud y que su consumo es beneficioso en la prevención de enfermedades crónicas y no transmisibles como ciertos tipos de cáncer y enfermedades cardiovasculares, entre otras enfermedades, de ahí la importancia de consumir alimentos sanos y abundantes. en antioxidantes como frutas y verduras debido al alto contenido de varios antioxidantes que se encuentran en estos alimentos; neutralizar la acción de los radicales libres, consiguiendo un efecto positivo sobre la salud. (Murrieta, 2020)

Guayusa (*Ilex guayusa*) es un árbol de hoja perenne originario de América del Sur que crece entre el sur de Colombia y el norte de Perú, por sus beneficios para la salud, como el alivio de diversos dolores y la prevención de indeseables efectos sobre el sistema nervioso central, la guayusa ha sido cultivada y consumida desde la antigüedad por tribus indígenas amazónicas. (Ruiz, 2017)

En la actualidad, el consumo de guayusa se encuentra en expansión, siendo comercializada como infusión, bebida energética y/o ingrediente en otros

productos en Ecuador, USA, China y Europa. Esto refleja el interés de los consumidores por incorporar nuevos alimentos o ingredientes con efectos promotores de la salud. Lo más relevante es la actividad antioxidante, que es importante para contrarrestar el estrés oxidativo. (Ruiz, 2017)

La guayaba (*Psidium guajava*.), Es un árbol perteneciente a la familia de las mirtáceas, es una planta muy singular y tradicional que se cultiva por sus diversas propiedades medicinales y nutritivas. Las hojas se han utilizado ampliamente para el tratamiento de la diarrea, infección bacteriana, dolor e inflamación. Los extractos de guayaba y las hojas exhibieron una buena actividad antioxidante, así como libre capacidad de captación de radicales, también se utilizan ampliamente por sus propiedades antiespasmódicas, sedantes para la tos, antiinflamatorias, antidiarreicas, antihipertensivas, antiobesidad y antidiabéticas. Los estudios en modelos animales también han establecido un papel fundamental en demostrar que las hojas de guayaba actúan como potentes agentes antitumorales, anticancerígenos y citotóxicos. (Kumar et al. 2021).

I.3. HIPOTESIS

Las hojas de guayusa (*Ilex guayusa*) y guayaba (*Psidium guajava*) presentan actividades antioxidantes debido a su alto contenido de compuestos fenólicos.

I.4. OBJETIVOS

I.4.1 Objetivo General

Comparar mediante revisión bibliográfica la capacidad antioxidante de las hojas de guayusa (*Ilex guayusa*) y guayaba (*Psidium guajava*) por diferentes métodos químicos.

I.4.2 Objetivos específicos

- Identificar los compuestos bioactivos de las hojas de guayusa (*Ilex guayusa*) y guayaba (*Psidium guajava*).
- Evaluar el desempeño de los métodos DPPH y ABTS en la determinación de la actividad antioxidante de los extractos de las hojas de guayusa (*Ilex guayusa*) y guayaba (*Psidium guajava*).
- Establecer comparativamente entre las hojas de guayusa (*Ilex guayusa*) y guayaba (*Psidium guajava*), cuál tiene mayor capacidad antioxidante.

I.5. OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

Tabla I. Operacionalidad de variables

Tipo	Variable	Conceptualización	Indicador
Dependiente	Metabolitos secundarios	Tamizaje fitoquímico preliminar	Por coloración
	Capacidad antioxidante	Diferentes métodos: ABTS, DPPH	%de captación de radicales libre IC%50
Independiente	Extractos de Hojas	Extracto obtenido de las diferentes muestras utilizados como solventes: etanol, metanol	Etanólico, metanólico

Fuente: Autores

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

II.1. ANTECEDENTES

La Amazonía ecuatoriana tiene una vasta diversidad de flora, se puede obtener varios beneficios para mejorar la calidad de vida de los humanos. Entre los aportes de las especies vegetales originarias de la selva ecuatoriana se resaltan puntos químicos, medicinales, alimenticios, así como culturales. (Gómez, 2018)

Las frutas y algunas plantas muestran un elevado contenido referente a su capacidad antioxidante, entre los compuestos que aportan esta característica beneficiosa se hallan: vitaminas A, C, D y E, minerales esenciales magnesio, calcio, zinc, hierro, potasio, manganeso y fosforo.

Dichos compuestos, permanecen siendo usados con un enorme uso industrial, gracias a las distintas funcionalidades tecnológicas, como la inhibición de radicales libres y además son fundamentales en la formulación de productos nutracéuticos, debido al gran aporte que muestran en la salud, por su efectividad para minimizar el peligro de accidentes cerebrovasculares, prevención del cáncer y patologías neurodegenerativas. (Zurita, 2021)

Las ventajas de los compuestos fenólicos en favor de la salud pública, es primordial documentar las características y beneficios medicinales de los compuestos fenólicos extraídos de plantas del Ecuador, tomando en cuenta que el País pertenece a los más diversos en su vegetación, puesto que según la estimación de varios estudios, tienen unas 16.087 especies vegetales, de las cuales 4.173 son especies endémicas, lo cual permitió que se lo acepte como unos de los 17 territorios mega diversos de todo el mundo. (Yanez, 2022)

Se ha conocido regionalmente a la hoja de *Ilex guayusa* por varios años por motivos culturales; no obstante, hace poco tiempo ha tomado gran importancia

el análisis, sus características químicas, medicinales y por sus propiedades antioxidantes, teniendo la posibilidad de ser difundidas a escala nacional y mundial. (Gómez, 2018)

Según (Montalvo, 2018) la especie *Ilex guayusa*, es una planta aromática y medicinal nativa de la amazonia ecuatoriana, sus propiedades estimulantes son aprovechadas por algunas organizaciones como Chankuap y Runa en la comercialización de hierbas para infusiones y bebidas energizantes ya que contiene cafeína y propiedades antioxidantes.

Según (Quintero et al. 2019) la guayaba (*Psidium guajava*) es una fruta tropical altamente perecedera, susceptible a daños mecánicos que resultan muy determinantes en la calidad del producto, como fruta es consumida en su estado natural, además procesada en forma de pulpas, jugos, mermeladas de agradable sabor y aroma. Tiene grandes cualidades nutritivas como ser fuente de vitamina C y sustancias antioxidantes, entre las que destaca el β -caroteno como precursor de la vitamina A. La obtención de productos derivados de la guayaba como alternativa de conservación mediante la aplicación de métodos combinados agregaría valor a este fruto en el país, cuyo potencial se revalorizaría actualmente, donde los esquemas de importaciones conforman elevados precios industriales.

II.1.1. Antioxidantes

Se define como antioxidante a una molécula o compuesto defensor para el organismo, que tiene como funcionalidad prevenir la formación de radicales libres, retardando la oxidación de moléculas, además son conservadores alimenticios que impiden el deterioro, rancidez, o decoloración, por su oxidación lipídica. (Zurita, 2021)

Para mantener equilibrado el estado oxidativo, las plantas y los animales mantienen sistemas de antioxidantes, como el glutatión y las enzimas (por ejemplo: Catalasa y superóxido dismutasa, elaborados internamente, o tienen la posibilidad de utilizar antioxidantes dietéticos como la vitamina C y vitamina E, ya que los seres vivos no la logramos generar y necesitamos adquirirlos mediante la alimentación. (Lopez, 2021)

Según (Escobar, 2022) Los antioxidantes inhiben la degradación oxidativa de proteínas, lípidos y ácidos nucleicos; y posibilita la obtención de beneficios para la salud, puesto que ayuda al adecuado manejo del sistema inmunitario. Además, retrasan el proceso de envejecimiento y protegen al organismo de patologías de procedencia cardíaca, cáncer y desórdenes neurológicos.

II.1.2. Clasificación de los antioxidantes

II.1.2.1. Según su solubilidad

Pueden ser compuestos antioxidantes solubles e insolubles. Su solubilidad depende de su ubicación en el alimento y de las macromoléculas a las que se unen en la matriz alimentaria, se encuentran comúnmente en dos maneras: libres (I) y conjugados (II, III y IV). Sucesivamente, el mismo antioxidante puede estar presente en la manera independiente o unida en diferentes alimentos. (Marquez, 2022)

II.1.2.2. Según su función

Los antioxidantes primarios son aquellos que rompen la reacción en cadena de la oxidación por medio de la donación de hidrógeno y la generación de radicales más estables. (Clasificación de antioxidantes alimentarios, 2019)

Los antioxidantes secundarios Estos retardan la oxidación mediante otros mecanismos, como por ejemplo la quelación de metales, la regeneración de

antioxidantes primarios, la descomposición de hidroperóxidos y la eliminación de oxígeno, entre otros. (Clasificación de antioxidantes alimentarios, 2019)

Los Antioxidantes terciarios reparan el daño provocado por los radicales libres o eliminan moléculas, modificando el potencial redox, ejemplificando la reparación del ADN. (Brito, 2018)

II.1.2.3. Según el sitio donde ejercen su acción

Tabla II. Clasificación de los antioxidantes según el sitio donde ejercen su acción

INTRACELULAR	MEMBRANA	EXTRACELULAR
Superóxido dismutasa	Vitamina E	Ceruloplasmina
Catalasa	Betacarotenos	Transferinas
Peroxidasa	Ubiquinol-10	Lactoferinas
Dt-deafarasa	-----	Albúminas
GSH	-----	Haptoglobinas
Proteínas que ligan metales	-----	Vitamina C
Sistemas proteolíticos	-----	Ácido úrico
Vitamina c	-----	Vitamina E

Fuente: (Padilla, 2021)

II.1.2.4. Según su origen

Tabla III. Clasificación de los antioxidantes según su origen

EXÓGENOS	ENDÓGENOS	COFACTORES
Vitamina e	Glutación	Cobre
Vitamina c	Coenzima Q	Zinc
Betacaroteno	Ácido tiotico	Manganeso
Flavonoides	Enzimas: Superoxidodismutasa(SOD) Catalasa Glutación peroxidasa	Hierro
Licopeno		Selenio

Fuente: (Criado & Moya, 2018)

II.1.3. Radicales libres

Son elaborados por contaminantes ambientales como: suelos, radiaciones, atmosféricos, uso de tóxicos, pesticidas, químicos y otros. Los radicales libres también son liberados en el proceso de metabolismo del cuerpo además se puede dar por estrés físico o psicológico. (Alvarez, 2021)

(Valderrama, 2020) sugiere que los radicales libres trabajan como mensajeros secundarios en las células a lo largo de la señalización que inducen y mantienen la mutagénesis, e inclusive en bajas concentraciones trabajan como custodia frente a agentes infecciosos y fundamentalmente son producto del metabolismo celular, las sustancias psicoactivas (SPA), el humo del tabaco, la contaminación ambiental, entre otros componentes.

En las frutas y las legumbres se hallan sustancias capaces de atrapar radicales libres, perfeccionando nuestra defensa antioxidante. Entre estas sustancias se

encuentran los compuestos polifenólicos, el ácido ascórbico, vitamina E y los carotenoides, además por la vida media que es de microsegundos pasa una instantánea propagación con moléculas aledañas y mayor daño potencial. Los compuestos mencionados son parte de las especies reactivas del oxígeno (ERO) o ROS (Reactive Oxygen Species). (Alvarez, 2021)

II.1.3.1. Clasificación de los radicales libres

Radicales libres inorgánicos o primarios

Proviene por transferencia de electrones sobre el átomo de oxígeno, representan diversos estados en la reducción y se caracterizan por tener una vida media bastante corta; dichos son el anión superóxido, el radical hidroxilo y el óxido nítrico. (Marquez, 2022)

Radicales libres orgánicos o secundarios

Se pueden dar por el traspaso de electrones hacia un radical primario a un átomo de una molécula orgánica o por la reacción de 2 radicales primarios entre sí, disponen una vida media un tanto más extenso que los primarios; los principales átomos de las biomoléculas son: carbono, nitrógeno, oxígeno y azufre. (Marquez, 2022)

Intermediarios estables relacionados con los radicales libres del oxígeno

Contienen un grupo de sustancias químicas distintas de los radicales libres, que generan estas sustancias ya sea como resultado de la reducción o del metabolismo de estos, entre las que se encuentran el oxígeno singlete, el peróxido de hidrógeno, el ácido hipocloroso, el peroxinitrito, los hidroperóxidos orgánicos. (Marquez, 2022)

II.1.4. Mecanismo de acción de los antioxidantes

(Huet, 2017) Define que la clasificación de los antioxidantes según el mecanismo de acción se divide en:

- a) Primarios, bloquean la formación de RL (radicales libres)
- b) Secundarios, inactivan los RL (radicales libres) formados
- c) Terciarios, reparan el daño oxidativo principalmente para ADN.

Los antioxidantes preventivos evitan la formación de radicales libres al interrumpir la quelación de los metales que participan en la cadena redox debido a sus propiedades oxido/reductoras. Algunos de estos antioxidantes son enzimas como la catalasa, el glutatión peroxidasa, superóxido dismutasa, transferrina o la ceruloplasmina. Los eliminadores de radicales libres, inhiben el inicio de la cadena redox e interrumpen su propagación, entre ellos las vitaminas A, C y E, la coenzima Q10, los flavonoides y polifenoles.

II.1.5. Fuentes naturales de los antioxidantes

Las principales fuentes naturales de antioxidantes son las frutas, verduras, semillas, cereales integrales y las plantas aromáticas. La cantidad de polifenoles naturales se ha estimado en más de un millón y a menudo se encuentran asociados con ácidos orgánicos, azúcares o polímeros. Sin embargo, la bioactividad se atribuye a la aglicona, no al azúcar.

Se encuentran en los alimentos principalmente de origen vegetal, siendo estos:

- Vitaminas: Vitamina A, C y E.
- Minerales; Selenio, Zinc y Cobre.
- Sustancias fotoquímicas: Polifenoles. (Camacho, 2020)

II.1.6. Métodos para la determinación de la actividad antioxidante

La actividad antioxidante no puede ser medida directamente, pero puede determinarse por los efectos que contiene el compuesto antioxidante en un proceso de oxidación controlado la medición de una muestra oxidante, puede usar intermediarios o productos finales para su respectiva valoración. (Tovar, 2016)

Se han especificado varios métodos para la determinación de estas actividades a partir de materiales de origen vegetal, los cuales difieren entre los métodos de solvente y las condiciones de temperatura, agitación, presión y tiempo. La capacidad antioxidante que se obtendrá depende del microambiente en el que se encuentre el compuesto. Además, se utiliza diferentes métodos como (ABTS, DPPH y FRAP) para determinar la capacidad antioxidante. (Vazquez, 2019)

II.1.6.1. Método DPPH

Este procedimiento ha sido planteado por Blois (1958) en el que se mostró por primera ocasión la capacidad del radical libre DPPH para admitir un átomo de hidrógeno (H) perteneciente de una molécula de cisteína. La molécula de 1,1-difenil-2-picrilhidrazilo (DPPH) se conoce como un radical estable debido a la división de un electrón desapareado en toda la molécula, que no está dimerizada como en su mayoría radicales libres. La deslocalización del electrón también aumenta el característico color púrpura oscuro del radical, que se absorbe en el metanol a 517 nm.

La solución DPPH reacciona con el antioxidante que puede donar átomos de hidrógeno, el color púrpura se desvanece, muchos laboratorios adoptaron el procedimiento original para la prueba DPPH, y aunque se modificó por

conveniencia, una revisión detallada de la literatura encontró que la mayoría de los estudios estaban basados en el tiempo. (Tovar, 2016)

II.1.6.2. Método ABTS

Esta prueba se basa en la activación de la metilmioglobina con peróxido de hidrógeno en presencia de ABTS para producir un catión radical, en presencia o ausencia de antioxidantes, la técnica de decoloración donde el radical se genera directamente en forma estable antes de reaccionar con el antioxidante.

Una mejor prueba para la generación de cationes ABTS implica la producción directa de cromóforo a partir del grupo transportador azul-verde, mediante una reacción entre ABTS y persulfato de potasio ($K_2S_2O_8$).

De esta manera se determinó el grado de decoloración como porcentaje de inhibición de radicales catiónicos en función de la concentración y el tiempo; así como del valor correspondiente utilizando Trolox como estándar, en las mismas condiciones. (Tovar, 2016)

II.1.6.3. Método FRAP

Es un procedimiento espectrofotométrico que mide el decrecimiento de un complejo compuesto por un cromógeno, comúnmente de TPTZ (2, 4, 6, tripiridil-s-triazina), hierro férrico incoloro a un complejo ferroso de un color azul verdoso en un ambiente ácido.

Es proporcionado y económico, tienen la posibilidad de disminuir diferentes antioxidantes como es el caso de vitamina C, ácido úrico, entre otros; pero no mide los antioxidantes que contienen grupos SH, como el glutatión, ácido lipóico y algunos aminoácidos. (Huet, 2017)

II.1.6.4. Método FOLIN-CIOCALTEU (F-C)

Es un método de uso común en las industrias agroquímicas y alimentarias, debido a la sencillez, disponibilidad de reactivos y por ser un procedimiento estandarizado. Inicialmente se aplicó al análisis de proteínas utilizando la actividad del reactivo hacia los residuos de tirosina. El reactivo FC utiliza un mecanismo de reacción de oxidación/reducción, que no es específico del fenol. De hecho, la prueba FC mide la capacidad para reducir el reactivo ácido fosfomolibdico /ácido fosfolípido a un complejo azul monitoreado por espectrofotometría, donde el molibdeno se reduce en el complejo y reacciona. En diferentes estudios, se han determinado la concentración, la alcalinidad y la temperatura del reactivo, buscando una reducción significativa en el tiempo que lleva para alcanzar el estado estacionario. (Tovar, 2016)

II.1.7. Flavonoides

Conjunto de metabolitos secundarios biosintetizados por medio de la vía del ácido shikímico, son compuestos polifenólicos y en su mayor parte se conforman de 15 átomos de carbono en su núcleo. Es importante la estructura de un esqueleto difenilpirano (C₆C₃C₆), formado por 2 anillos fenilo (A y B), enlazados a un anillo pirano, están relacionados con el pigmento de las inflorescencias, flores, frutos y hojas.

Las chalconas y auronas son flavonoides con pigmentos amarillos, antocianinas en azul, rojo y morado, realizan muchas funciones para el crecimiento y funcionamiento de las plantas, por ejemplo, protección contra los agentes agresivos de la radiación ultravioleta (UV y rayos visibles), agentes patógenos y animales herbívoros, ya que los flavonoides dominan la actividad inhibitoria de las enzimas y hormonas vegetales. (Tipantuña, 2019)

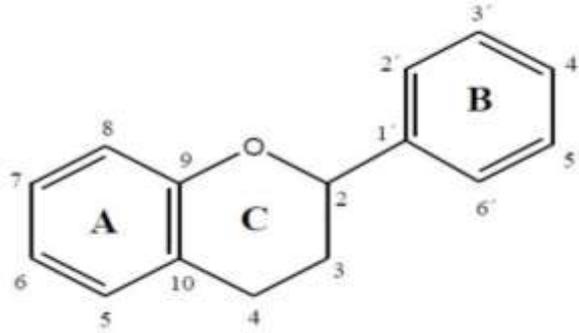


Figura 1. Estructura general de los flavonoides

Fuente: (Herrera O. , 2016)

II.2. Guayaba (*Psidium guajava*)

II.2.1. Etimología

Procede del griego psidion, nombre del granado por la semejanza de los frutos de ambas especies, la palabra guayaba se deriva de guava o guayabo, nombre popular de la fruta.

La guayaba es una fruta originaria de zonas tropicales del centro y sur de América, crece del árbol del guayabo, por lo cual es bastante común encontrarla en territorios tropicales en regiones como Colombia, Brasil, México, Ecuador, Perú, el sur de Estados Unidos, Sudáfrica e India. (Reinoso , 2019)

El extracto de su hoja se está usando como medicina natural en la diarrea, úlceras orales, en heridas de las encías hinchadas y en muchos casos para la tos. Su fruto es rico en vitaminas A, C, hierro, fósforo y calcio y minerales, tiene un elevado contenido de compuestos orgánicos e inorgánicos como metabolitos secundarios, por ejemplo, polifenoles, compuestos antivirales, antioxidantes, compuestos antiinflamatorios. (Naseer, S. et al. 2018)

II.2.2. Clasificación Taxonómica

Tabla IV. Clasificación taxonómica de la guayaba

Clasificación científica	Especie
Reino	Plantae
Subreino	Espermatophyta
División	Angiosperma
Orden	Myrtales
Género	Psidium
Especie	Guajava
Familia	Mirtáceas

Fuente: (Perez & Supho, 2019)

II.2.3. Descripción botánica

Es un árbol que crece entre los 2 y 10 metros, las hojas son simples, origina flores blancas y frutos semiesféricos o con forma de pera de color verde, rosado o crema, además desprenden un aroma muy agradable.



Figura 2. Árbol de Guayaba

Fuente: (Sanchez, 2017)

Raíz: Presenta una raíz principal de la que nacen numerosas raicillas que pueden ser superficiales o menos numerosas, llegando a alcanzar un grosor similar al de la raíz principal. Además, tienen efecto alelopático.

Tallo: Muestran brotes herbáceos verdes y angulosos. A medida que maduran, se convierten en una madera lisa de color marrón. Tienden a estar fuertemente ramificados.

Hojas: Tiene glándulas sebáceas y un peciolo corto, que son los responsables del aroma distintivo de la guayaba. Las hojas son lanceoladas de color verde oscuro.

Flor: Son hermafroditas, de color blanco y pueden ir solas o agrupados de dos o tres en racimos. Tienen un ovario rodeado de numerosos estambres y las flores aparecen en forma capullo.

Fruto: Tiene forma redonda, oblonga o en forma de pera y un cáliz persistente en la parte superior. La cutícula es de color amarillento y puede ser cerosa o lisa.

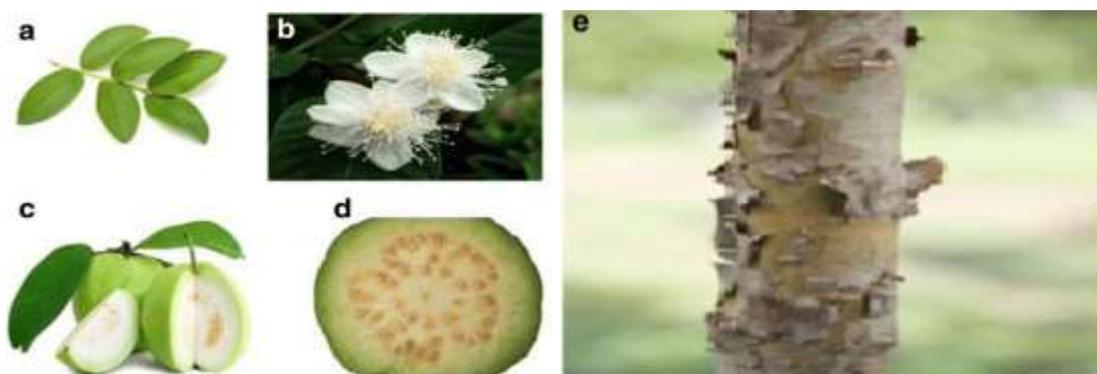


Figura 3. Partes del Árbol de guayaba

Fuente: (Naseer, S. et al. 2018)

II.2.4. Cultivo de la guayaba en Ecuador

En el Ecuador la guayaba se cultiva en muchas provincias, no obstante las áreas de mayor cultivo son: Esmeraldas, Azuay, Orellana, Zamora Chinchipe, Pichincha, pero principalmente el eje de producción se encuentra en los cantones de Mera, Palora, Puyo, Santa Clara y Baños, además en los últimos años la producción de guayaba se ha extendido en diferentes sectores de la

provincia de Tungurahua convirtiéndose en el primordial cultivo de comunidades como: La Clementina, Salate, El Obraje, etc. (Caiza, 2019)

II.2.5. Composición química

La fruta de guayaba es muy rica en vitamina A, C, hierro, fósforo y calcio, contiene saponina, ácido oleanólico, lixopiranósido, arabopiranósido, guaijavarina, quercetina y flavonoides. El ácido ascórbico y el ácido cítrico son los ingredientes principales de la guayaba desempeñan un papel importante en la actividad antimutagénica, en la siguiente figura se muestran las estructuras químicas de la quercetina y el ácido ascórbico. (Naeem, N.et al. 2018)

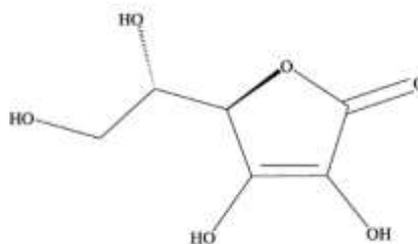
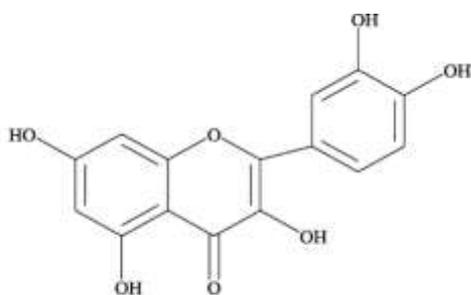


Figura 4. Estructura de la quercetina **Figura 5.** Estructura del ácido ascórbico

Fuente: (Naeem, N.et al. 2018)

II.2.6. Composición nutricional de la guayaba

Tabla V. Composición nutricional de la guayaba

Calorías: 57 kcal
- Grasas totales: 0,6 g
- Colesterol: 0 mg
- Fibra: 5,4 g
- Potasio: 290 mg

- Hidratos de carbono: 11,9 g

- Proteínas: 0,82 g

Fuente: (Monreal, 2019)

II.2.7. Propiedades terapéuticas y beneficios de la guayaba

La guayaba contiene mayor poder antioxidante que las naranjas o el limón, y es una de las frutas más utilizadas en la medicina natural ya que las hojas de guayaba tienen actividad farmacológica y pueden usarse para: agentes excretorios de fiebre también tienen efectos antibacterianos, bactericidas, cicatrizantes, antiinflamatorios, analgésicos, laxantes, nutritivos y antiespasmódicos, además pueden usarse para tratar la diabetes y otras enfermedades. (Velez & Morocho, 2021)

Trata la diabetes: Una fruta de suma importancia para esta enfermedad ya que las hojas y el fruto contienen al menos 13 sustancias valiosas contra la diabetes, es muy utilizado en él te para bajar los niveles de glucosa. Un estudio científico ha podido demostrar que el zumo natural de la guayaba ayuda a tratar la diabetes. (Martinez, 2021)

El estudio indica también que si consume el extracto de hoja de guayaba después de cada comida mejora otros síntomas de la diabetes como la hiperglucemia, hiperinsulinemia, resistencia a la insulina y la hiperlipidemia. (Cespedes & Estrada, 2019)

Enfermedades del corazón: La guayaba previene y trata enfermedades del corazón ayuda a mantener constante el ritmo cardiaco y a disminuir la presión arterial, además controla los niveles de colesterol. (Martinez, 2021)

Antiséptico: Las hojas de guayaba se utilizan como antibiótico natural contra las bacterias causantes del mal aliento. (Martinez, 2021)

Estrés: La guayaba ayuda al organismo a combatir los indicios del estrés, debido a sus vitaminas, antioxidantes y valor nutritivo. (Martinez, 2021)

Tabaquismo: Las personas con hábitos tabáquicos deben consumir a diario mayores cantidades de antioxidantes en su dieta, por ende esta fruta es muy recomendable. (Martinez, 2021)

Problemas intestinales: Es importante recalcar que esta fruta puede ser utilizada dependiendo de su maduración ya sea para tratar la diarrea o el estreñimiento, cuando está verde es rica en compuestos astringentes que ayudan a controlar la diarrea; y estando madura aporta gran cantidad de fibra insoluble, que actúa como un suave laxante. (Cespedes & Estrada, 2019)

Promueve la fertilidad Masculina: El té de hojas de guayaba posee características antioxidantes que ayudan a mejorar la fertilidad varonil. Dichos descubrimientos indican que el extracto de hojas de guayaba tiene un impacto productivo sobre la producción y la calidad de los espermatozoides, además tienen la posibilidad de mejorar los espermatozoides en hombres infértiles con oligospermia y azoospermia no obstructiva. (Velez & Morocho, 2021)

Previene la caída del cabello: Un estudio ha demostrado que las hojas de guayaba evitan la caída del cabello y ayuda al crecimiento de aquello, se debe hervir las hojas de guayaba, dejar enfriar y masajear sobre el cuero cabelludo, también se pueden moler las hojas y frotarlas para su mayor eficacia. (Cespedes & Estrada, 2019)

Acné y puntos negros: Las hojas de guayaba poseen características antisépticas, que tienen la posibilidad de contribuir a minimizar las imperfecciones de la piel. Se demostró que la pasta de hojas de guayaba es eficaz para el tratamiento de acné, las espinillas y los puntos negros. También puede realizar una infusión con las hojas de guayaba y posteriormente utilizar una crema exfoliante en el rostro. (Velez & Morocho, 2021)

Problemas estomacales: Estas hojas protegen el estómago de ulceraciones gástricas y la secreción de ácido ya que contienen propiedades efectivas que favorece la mucosa del estómago gracias a los flavonoides que contienen. (Cespedes & Estrada, 2019)

Envejecimiento cutáneo: Las hojas de guayabas son ricas en antioxidantes los cuales sirven para prevenir el daño provocado por los radicales libres y además tienen la posibilidad de proteger la piel del envejecimiento, a la vez mejorando la textura y el color de piel, debido a su contenido de flavonoides. (Velez & Morocho, 2021)

Previene el cáncer: La guayaba se caracteriza por ser rica en vitamina C, licopeno, quercetina y polifenoles. Cada uno de estos compuestos son potentes antioxidantes y la transforman en un poderoso alimento que ayudan en la prevención de diferentes tipos de cáncer, entre ellos el de mama, piel, colon, próstata y pulmón. (Monreal, 2019)

Favorece el desarrollo fetal: La guayaba podría ser una excelente alternativa en su dieta para las embarazadas ya que contiene ácido fólico lo cual es esencial para la formación del sistema nervioso del feto. (Monreal, 2019)

II.3. Guayusa (*Ilex guayusa*)

II.3.1. Etimología

Ilex guayusa es una especie de planta de la región amazónica de Ecuador y pertenece al género *Ilex*, el único género vivo de 600 especies en la familia Aquifoliaceae. Es una planta perenne de la Amazonía, que se encuentra en estado silvestre pero también se cultiva en algunas zonas subtropicales de la región andina.

Esta especie puede alcanzar una altura de 20 m y clasifica a la guayusa como un árbol de crecimiento lento. Los nombres habituales tanto del árbol como de la infusión son: Aguayusa, guayusa, huayusa, guañusa, guayyusa, wayusa, en el oriente de Ecuador, para los Jíbaros el árbol se denomina weisa, y kopíniak, en el lenguaje záparo. (Chillerón, 2020)

II.3.2. Clasificación Taxonómica

Tabla VI. Clasificación Taxonómica de la guayusa

Clasificación científica	Especie
Nombre científico	<i>Ilex guayusa</i>
Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Aquifoliales
Género	<i>Ilex</i>
Especie	<i>I. guayusa</i>
Familia	Aquifoliaceae

Fuente: (Carvajal, 2017)

II.3.3. Descripción botánica

Tronco. - Tiene un tronco que suele ser bifurcado a la altura del pecho, una concha blanca y una textura suave. Las ramas son extensibles y flexibles.

Hojas. - La textura son coriáceas, verde oscuro, completas, oblongo-elípticas, básicas, alternas sin estípulas, coriáceas, dentadas, sin pubescencias en el haz y envés, ápice acuminado, base aguda, 15-21 centímetros de extenso, 5 - 7,5 centímetros de ancho, pecíolo corto de 1 centímetros de extenso.

Flor. - Tiene una corola blanco-verdosa con pétalos obtusos, estambres en igual número que los pétalos, anteras oblongas, ovario sésil y habitualmente con 4-6 cavidades.

Fruto. - Es una baya globosa de casi 1 cm de ancho y verde. (Caranqui & Humanante, 2017)



Figura 6. *Planta de guayusa*

Fuente: (Caranqui & Humanante, 2017)

II.3.4. Cultivo de la guayusa en Ecuador

Las condiciones geográficas del Ecuador favorecen el cultivo de la guayusa, se encuentran en zonas tropicales y subtropicales del continente americano, algunas especies también se ubican en Oceanía. Las provincias donde se encuentra la guayusa son Sucumbíos, Napo, Pastaza, Morona Santiago, Zamora Chinchipe, Pichincha y Tungurahua. La distribución de la especie va desde el nivel del mar hasta los 1500 metros sobre el nivel del mar. (Parrales & Grefa, 2021)

II.3.5. Composición química

En un análisis comparativo de las hojas de guayusa llevado a cabo por Graham Wise y Demetrio Santander, se observó que en las hojas secas de Guayusa se destaca el contenido de carbohidratos y fibra cruda. Del mismo análisis destacaba su enorme contenido en K, P, Mg y Zn. (Chillerón, 2020)

Las Hojas de Guayusa contienen el 2,3% de cafeína, esta porción es mayor a la que muestra el café y el té. Además, otro de los elementos relevantes de la Guayusa es la Teobromina, la cual es un estimulante que principalmente está en el chocolate y la L-teanina que es un ácido glutámico semejante que tiene características que ayudan a minimizar el cansancio físico y de la mente combatiendo el estrés. (Ríos, 2022)

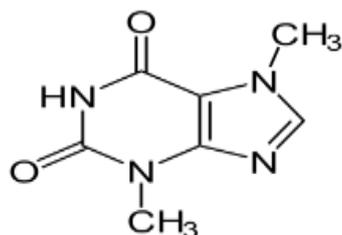


Figura 7. Estructura de la teobromina

Fuente: (Alegsa, 2021)

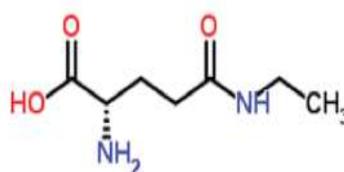


Figura 8. Estructura de la L-teanina

Fuente: (Florien, 2019)

II.3.6. Composición nutricional de la guayusa

La guayusa se consume primordialmente en infusiones sin restricción de edad, ya que no muestra efectos colaterales y tiene beneficios para la salud, teniendo un impacto purgante y estimulante sobre el sistema digestivo. (Ríos, 2022)

Tabla VII. Valor nutricional de la guayusa

Energía: 1332 KJ/ 320 kcal
Grasas: 7,8 g
Proteínas: 151 g
Fibra: 35,8 g
Grasa saturada: 3,26 g
Hidratos de carbono: 64,8 g
Azúcares: 5.2 g
Sal: 0,009 g

Fuente: (Carvajal, 2017)

II.3.7. Propiedades terapéuticas y beneficios de la guayusa

Digestión: Cuando se toma en forma de té, es similar al té verde, rico en antioxidantes que también tienen propiedades antiinflamatorias, que ayudan a calmar el estómago y permiten una digestión saludable.

Sistema inmunológico: las saponinas y los compuestos polifenólicos, presentes en este té tienen la capacidad de proteger contra enfermedades crónicas, también reducen el estrés en el sistema inmunológico, evitando así inflamaciones innecesarias en todo el cuerpo.

Sistema vascular: uno de los compuestos únicos que se encuentran en este té de guayusa es la teobromina, que también se encuentra en el chocolate amargo. Participa en la protección de la integridad de los vasos sanguíneos y las arterias, protegiendo así la salud general del corazón.

Limpia los dientes: A diferencia de otras bebidas populares como el café, el té de guayusa no mancha los dientes y ayuda a mejorar la salud bucal gracias a su contenido de antioxidantes.

Antioxidante: los compuestos polifenólicos de esta bebida pueden ayudar a reducir el estrés oxidativo y prevenir los efectos negativos de los radicales libres que pueden provocar enfermedades crónicas y cáncer.

Pérdida de peso: bajo en calorías y puede estimular el metabolismo, este té También puede ayudar a perder peso. (Estupiñán & Granda, 2019)

II.4. BASES TEÓRICAS

El estudio realizado por (Gutiérrez M. , 2016) buscó medir la actividad antioxidante de subproductos de guayaba *Psidium guajava* por diversos métodos entre ellos DPPH y ABTS, mediante solventes de hexano, etanol y metanol tomando en cuenta el tiempo y los métodos de extracción: soxhlet 5 horas y maceración dinámica 3, 6, 24 horas. La muestra obtenida en la ciudad de Guayaquil fue sometida a deshidratación durante 36 horas hasta alcanzar el 10% de humedad asegurando la disminución de la actividad del agua, el crecimiento bacteriano y actividad enzimática, luego fue llevado a molienda y tamiz para obtener partículas de tamaño 125 μm a 250 μm .

Para la determinación de la actividad antioxidante mediante el ABTS, se realizó lo siguiente:

Se preparó la solución ABTS mediante la mezcla de:

- Solución A: se pesó 101.5 mg de ABTS, se aforo a 25 ml de agua destilada.
- Solución B: se pesó 17.57 mg de K₂S₂O₄ y se aforo a 25 ml de agua destilada.
- Se mezcló la solución A y B; y se dejó reaccionar a temperatura ambiente durante 12 horas.

Para la preparación de la solución de trabajo:

- Se mezcló 1ml de la solución patrón ABTS con 60 ml de metanol.
- Se sometió a espectrofotómetro a una absorbancia de 734 nm.

Para la determinación de la actividad antioxidante mediante el DPPH, se realizó lo siguiente:

- Se pesó 24 mg y se disolvió en 100 ml de metanol.

Para la preparación de la solución de trabajo

- Se mezcló 10 ml de la solución patrón DPPH con 45 ml de metanol.
- Se usó el espectrofotómetro a una longitud de onda de 515 nm.

Tabla VIII. Resultados de la actividad antioxidante de los subproductos de la guayaba obtenida a partir de métodos ABTS y DPPH

	Tiempo (h)	Método	Solvente		
			Hexano	Etanol	Metanol
ABTS (μmol TE/g BH)	5	Soxhlet	3.17 ± 0.09	50.39 ± 1.61	22.07 ± 0.36
	3	Maceración dinámica	3.01 ± 0.06	28.29 ± 2.28	40.92 ± 2.22
	6		2.53 ± 0.16	10.23 ± 1.77	43.32 ± 2.32
	24		4.46 ± 0.17	20.49 ± 3.41	29.91 ± 0.94
DPPH (μmol TE/g BH)	5	Soxhlet	1.21 ± 0.04	26.96 ± 0.11	14.91 ± 0.45
	3	Maceración dinámica	1.48 ± 0.21	11.26 ± 2.13	22.25 ± 3.38
	6		1.30 ± 0.18	10.84 ± 1.69	22.95 ± 2.72
	24		2.25 ± 0.02	14.13 ± 1.46	39.87 ± 0.02

Fuente: (Gutiérrez M. , 2016)

Los mejores resultados fueron por el método ABTS con el solvente etanol mediante el método de extracción soxhlet con un resultado de 50.39 $\mu\text{mol TE/g}$ BH, sin embargo, por el método de maceración dinámica se obtuvo mejor resultados por el solvente metanol con 43.32 $\mu\text{mol TE/g}$ BH.

(Hartati et al, 2020) en Indonesia evaluó la capacidad antioxidante de la hoja de guayaba "*Psidium guajava*", por el método DPPH. La extracción se realizó por reflujo usando polaridad creciente de los solventes, n-hexano como solvente no polar, acetato de etilo como solvente semipolar y etanol como solvente polar, consecutivamente. Se aplicaron 300 gramos de la muestra en polvo. Cada disolvente se repitió tres veces.

cada extracto fue procesado en varias concentraciones y mezclado con la solución de DPPH de 39.4mg/ml (volumen 1: 1).

- Se preparó una solución de DPPH en metanol
- La absorbancia se evaluó a 515 nm por espectrofotometría UV-vis, después de 30 min de incubación
- El estándar fue el ácido ascórbico
- El análisis se llevó a cabo por triplicado
- El color púrpura de la solución de DPPH cambiará cuando el antioxidante elimine el radical libre, por lo que IC₅₀(concentración inhibitoria 50%) se puede determinar a partir de la muestra.

Tabla IX. Actividades antioxidantes de extractos de guayaba mediante ensayos DPPH.

Muestra	Actividad antioxidante	Patrón
Guayaba	DPPH	Ácido ascórbico
Extracto de n-hexano	0,3391± 0,0110 mg/ml	29,4561± 1.573
Extracto de acetato de etilo	0,5927± 0,0290 mg/ml	29,4561± 1.573
Extracto de etanol	0,3493± 0,0120 mg/ml	29,4561± 1.573

Fuente: (Hartati,et al. 2020)

Estudio realizado en Esmeraldas por (Arias N., 2019) evaluó la actividad antioxidante de los extractos hidroalcohólicos (EHA) de las hojas de guayaba *Psidium guajava* L., mediante el método del radical 2,2-difenil-1- picrilhidrazilo (DPPH) usando el estándar referencial butil hidroxitolueno.

En este ensayo se determinó que los EHA obtenidos de las hojas de *Psidium guajava*, poseen una alta capacidad de captación de radicales libres.

Tabla X. Porcentaje de inhibición y CI50 del EHA de hojas guayaba (*Psidium guajava*) de la ciudad de Quinindé (provincia de Esmeraldas).

<i>Psidium guajava</i> L. Quinindé					
Concentración	% de inhibición de DPPH				CI ₅₀
	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3	Promedio	
1000	98,11	97,36	94,72	96,73	0,87
750	93,21	93,02	92,08	92,77	
500	83,40	83,40	83,77	83,52	
250	64,53	65,28	66,23	65,35	
100	52,64	52,45	53,40	52,83	
50	48,49	47,92	49,25	48,55	

Fuente: (Arias N. , 2019)

Se realizó tres repeticiones a una concentración que va de 1000 ppm a 50 ppm del EHA, dando como resultado que el mayor porcentaje de inhibición del radical DPPH 1000 ppm es de 91,76% y un CI 50 de 0,87 ppm.

Estudio realizado por (Ordoñez et al, 2017) en el centro de Investigaciones de Productos Naturales de la Amazonía de la Universidad Nacional Agraria de la Selva ubicado en la ciudad de Tingo. Los autores evaluaron la capacidad antioxidante de la guayaba (*Psidium guajava*) en hoja tierna, madura y yema terminal, el cual fueron sometidas a ebullición por 30 minutos, luego se mantuvo sobre una malla de plástico a temperatura ambiente por 2 a 3 horas, posterior se secó en una estufa a 65°C por 14 a 16 horas, se realizó la molienda de este, y se envaso.

Para la evaluación del radical DPPH, se reaccionó 25 µl de muestra con 975 µl de DPPH, y se determinó en el espectrofotómetro a una lectura de 515nm.

Tabla XI. Determinación de la actividad antioxidante en la hoja de guayaba de 2 variedades.

Componentes	Variedades	
	Rosado EAG(g/100g)	Blanco EAG (g/100g)
Corteza	18,155 ± 0,30 ^c	19,843 ± 0,14 ^d
Hoja tierna	14,086 ± 0,09 ^e	15,463 ± 0,25 ^f
Hoja Madura	15,207 ± 0,41 ^e	21,516 ± 0,26 ^c
Hoja yema terminal	16,603 ± 0,20 ^d	17,778 ± 0,25 ^e
Flor	21,664 ± 0,52 ^b	32,119 ± 0,26 ^b
Fruto	45,923 ± 0,03 ^a	65,675 ± 0,12 ^a

Fuente: (Ordoñez et al, 2017)

En la variedad rosada y blanca, ambas hojas tiernas tuvieron mayor actividad antioxidante con un valor de IC50 =14,086 ± 0,09 µg/mL y IC50 15.463 ± 0,25 µg/mL, por tanto, concluyeron que las hojas de guayaba en comparación de la corteza o cualquier otra parte del fruto, presentan mejores resultados.

El estudio de (Cárdenas et al, 2022) en la ciudad Antioquia se evaluó la capacidad antioxidante de diferentes extractos de alta polaridad obtenidos de la hoja guayusa *Ilex guayusa* mediante el ensayo DPPH.

- Se utilizó 990 µL de una solución metanólica de DPPH (0,1 mm)
- se mezcló con 10 µL de los extractos a 40 a 200 ppm.
- Las mezclas se mantuvieron a temperatura ambiente y en oscuridad durante 30 min.
- Posteriormente se midió la absorbancia a 520 nm en un espectrofotómetro
- La capacidad antioxidante se cuantificó utilizando las curvas de calibración de ácido ascórbico, trolox y rutina.
- Se utilizó metanol como control negativo.

La capacidad antioxidante de los extractos se calculó como

$$\text{DPPH} = [(AB - AA) / AB] \times 100$$

Se utilizó una curva de calibración de ácido ascórbico, trolox y rutina, se usó metanol como control negativo.

Tabla XII. Capacidad antioxidante por DPPH (%actividad de eliminación de radicales).

Muestra	Actividad antioxidante	Patrón
Guayusa		
	DPPH IC50	Ácido ascórbico
Extracto de acetato de etilo	36,02 ± 0,16 mg/ml	1,00 mg/ml
Extracto de etanol	50,86± 0,16 mg/ml	1,00 mg/ml

Fuente: (Cárdenas et al, 2022)

De acuerdo con los resultados obtenidos en este estudio, se pudo corroborar que el extracto etanólico (EE) obtenido de guayusa mostraron la mayor capacidad antioxidante por el método DPPH. Adicionalmente, fue posible

relacionar esta capacidad con el alto contenido de flavonoides presente en este extracto.

Con base a lo anterior y en estudios futuros, la guayusa (*Ilex guayusa*) podría proponerse como una fuente importante de compuestos antioxidantes con posible aplicación en la medicina y la industria alimentaria.

En Quito (Silva M., 2018) evaluó la capacidad antioxidante de la hoja de guayusa (*Ilex guayusa*) por el método de DPPH.

- Se realizó la percolación de está utilizando un solvente de agua destilada y glicerina en una relación de 60:40.
- Se añadieron 500 mL de solvente sobre 1 kg de guayusa y se dejó reposar durante una hora.
- Se procedió a depositarla en el percolador de acero inoxidable, con un tapón de algodón a la salida de la llave.
- Se añadió más solvente hasta que el mismo quedó a 10 cm sobre la droga y se tapó el percolador dejándolo en reposo durante 48 horas.
- Se recogió el percolado hasta obtener la cantidad de 2 L y se añadieron 2 g de phenova.
- Se obtuvo un extracto fluido al 50 % formado por una parte de droga y dos partes de solvente.

Se midió la absorbancia de los frascos de forma ascendente empezando por el blanco y terminando con el de mayor cantidad de muestra. El porcentaje de inhibición se calculó mediante la siguiente formula:

$$\% \text{ inhibicion} = 1 - (AA / AB) * 10$$

AA representa la absorbancia del DPPH con el extracto

AB representa la absorbancia del DPPH sin el extracto

Tabla XIII. Valoración de la actividad antioxidante mediante técnica del DPPH en Guayusa (formulación 1.0 % Guayusa)

Concentración en uL/mL BLANCO	% de inhibición ABS 1 a 517 nm	% de inhibición ABS 2 a 517 nm	% de inhibición ABS 3 a 517 nm
0	0.000	0.000	0.000
10	0.9840	0.9071	0.9238
20	5.0028	5.0169	5.0230
40	11.6142	11.6876	11.7608
80	27.2803	27.2913	27.3220
100	33.4163	33.3757	33.3850
IC 50	146.96	146.97	146.88
\bar{IC} 50 μ L/mL		146.94	

Fuente: (Silva M., 2018)

Tabla XIV. Valoración de la actividad antioxidante mediante técnica del DPPH en la formulación (2.5% Guayusa)

Concentración en uL/mL BLANCO	% de inhibición ABS 1 a 517 nm	% de inhibición ABS 2 a 517 nm	% de inhibición ABS 3 a 517 nm
0	0	0	0
10	6.51222581	6.33095499	6.42530717
20	17.3212625	16.9045005	17.1660783
40	36.9208468	36.7096597	36.9126782
500	71.6673049	71.6630077	71.7592973
IC 50	74,76	74,93	74,71
\bar{IC} 50 uL/mL		74,8	

Fuente: (Silva M., 2018)

Tabla XV. Valoración de la actividad antioxidante mediante técnica del DPPH en la formulación (5% Guayusa)

Concentración en uL/mL BLANCO	% de inhibición ABS 1 a 517 nm	% de inhibición ABS 2 517 nm	% de inhibición ABS 3 517 nm
0	0	0	0
50	6.49432362	6.48493151	0.44604986
100	17.3054302	17.0410959	11.4467887
400	36.9087676	36.8136986	20.7344772
500	71.6618794	71.709589	49.3035602
IC 50	55.78	55.91	55.75
\bar{IC} 50 uL/mL		55.78	

Fuente: (Silva M., 2018)

Se elaboró un gráfico de porcentaje de inhibición vs la concentración, representando la actividad antioxidante con una concentración IC50 en μ L/mL,

calculado a partir de la ecuación de la recta. Se obtuvo buenos valores en las absorbancias, lo que señaló una buena actividad antioxidante.

Estudio realizado por (Godoy, 2016), determinó la actividad antioxidante de la hoja de guayusa (*Ilex guayusa*), el cual fueron recolectadas en la provincia de Zamora Chinchipe, el método de extracción que se utilizó por maceración dinámica mediante los solventes hexano y metanol.

- Posteriormente se centrifugó a 6000rpm por 10 minutos.
- Se separó el sobrenadante.
- Se realizó una segunda extracción con 1000ml de solvente.
- Se centrifugó y se separó el segundo sobrenadante.
- Se mezclaron los sobrenadantes.
- Se llevó al rotaevaporador a 45°C a presión reducida para eliminar el resto de solvente al vacío.

Para la determinación de la actividad antioxidante por el método ABTS, se realizó lo siguiente:

Solución de trabajo para ABTS

- **Solución A:** Se pesó 101.5mg de ABTS y se aforó a 25 ml con agua destilada.
- **Solución B:** Se pesó 17.57mg de K₂S₂O₈ y se aforó a 25 ml con agua destilada.
- Se mezcló la solución A y B, dejando reacción por 12 horas en la oscuridad.
- Se tomó una alícuota de 1ml de la solución de trabajo y se adicionó 60 ml de metanol.

- Se midió la lectura a una absorbancia de 734nm.

Curva estándar de Trolox para ABTS

- Se pesó 12.5mg de Trolox.
- Se aforó a 50ml de metanol.
- Se tomó alícuota entre 0.4ml a 14ml.
- Se aforó 25ml de metanol.

Procedimiento de lectura de muestras de ABTS

Para la lectura de la curva y muestra se realizó el siguiente procedimiento:

- Se tomó 150 μ L de cada alícuota (0.4 a 14 ml.) y de cada muestra
- Se agregó 2850 μ L de solución de trabajo.
- Se dejó reaccionar 2 horas protegido de la luz.
- Se midió la lectura a 734nm en un espectrofotómetro UV visible.

Para la determinación de la actividad antioxidante por el método DPPH, se realizó lo siguiente:

Solución de trabajo para DPPH

- Se pesó 24mg de DPPH.
- Se aforó a 100ml de metanol.
- Se tomó una alícuota de 10ml y se adicionó 45ml de metanol.
- Se midió la lectura a una absorbancia de 515nm.

Curva estándar de Trolox para DPPH

- Se pesó 12.5mg de Trolox.
- Se aforó a 50ml de metanol.
- Se tomó una alícuota entre 0.4 a 14 ml.
- Se aforó a 25ml con metanol.

Procedimiento de lectura de muestras de DPPH

Para la lectura de la curva y muestra se realizó el siguiente procedimiento:

- Se tomó 150 μL de cada alícuota (0.4 a 14 ml.) y de cada muestra.
- Se agregó 2850 μL de solución de trabajo.
- Se dejó reaccionar 24 horas protegido de la luz.
- Se midió la lectura a 515nm en un espectrofotómetro UV visible.

Tabla XVI. Capacidad antioxidante por el método ABTS en las hojas de la guayusa (*Ilex guayusa*).

Tiempo de extracción	ABTS							
	EtOH				Hexano			
	Hojas deshidratadas		Hojas frescas		Hojas deshidratadas		Hojas frescas	
	mg Trolox/g extracto	mg Trolox/100 g planta	mg Trolox/g extracto	mg Trolox/100 g planta	mg Trolox/g extracto	mg Trolox/100 g planta	mg Trolox/g extracto	mg Trolox/100 g planta
3 horas	1.78 \pm 0.45	6.34 \pm 0.45 ^{aa}	4.48 \pm 0.07	5.95 \pm 0.42 ^{aa}	0.05 \pm 0.02	0.18 \pm 0.01 ^{aa}	0.23 \pm 0.03	0.30 \pm 0.11 ^{aa}
6 horas	0.85 \pm 0.04	5.77 \pm 0.41 ^{aa}	3.00 \pm 1.34	3.69 \pm 1.24 ^{aa}	0.04 \pm 0.01	0.17 \pm 0.01 ^{aa}	0.08 \pm 0.01	0.39 \pm 0.10 ^{aa}
12 horas	1.51 \pm 0.08	5.44 \pm 1.13 ^{aa}	3.71 \pm 0.86	6.07 \pm 0.64 ^{aa}	0.09 \pm 0.06	0.30 \pm 0.16 ^{aa}	0.68 \pm 0.58	0.36 \pm 0.04 ^{aa}
24 horas	1.70 \pm 0.51	7.21 \pm 0.31 ^{aa}	8.16 \pm 5.80	6.38 \pm 0.00 ^{aa}	0.05 \pm 0.00	0.22 \pm 0.04 ^{aa}	0.67 \pm 0.29	0.51 \pm 0.03 ^{aa}

Fuente: (Godoy, 2016)

Tabla XVII. Capacidad antioxidante por el método DPPH en las hojas de la guayusa (*Ilex guayusa*).

Tiempo de extracción	DPPH							
	EtOH				Hexano			
	Hojas deshidratadas		Hojas frescas		Hojas deshidratadas		Hojas frescas	
	mg Trolox/g extracto	mg Trolox/100 g planta	mg Trolox/g extracto	mg Trolox/100 g planta	mg Trolox/g extracto	mg Trolox/100 g planta	mg Trolox/g extracto	mg Trolox/100 g planta
3 horas	3.13 \pm 1.27	10.95 \pm 2.53 ^{aa}	14.77 \pm 4.10	19.41 \pm 3.78 ^{aa}	0.06 \pm 0.01	0.19 \pm 0.01 ^{aa}	0.25 \pm 0.01	0.33 \pm 0.10 ^{aa}
6 horas	1.47 \pm 0.17	9.92 \pm 0.06 ^{aa}	3.83 \pm 1.34	4.75 \pm 1.12 ^{aa}	0.05 \pm 0.01	0.18 \pm 0.01 ^{aa}	0.06 \pm 0.02	0.29 \pm 0.04 ^{aa}
12 horas	3.71 \pm 1.15	12.94 \pm 2.02 ^{aa}	9.14 \pm 4.43	14.71 \pm 5.41 ^{aa}	0.10 \pm 0.08	0.33 \pm 0.08 ^{aa}	0.56 \pm 0.46	0.31 \pm 0.02 ^{aa}
24 horas	3.53 \pm 1.33	14.77 \pm 0.57 ^{aa}	13.82 \pm 7.04	11.83 \pm 2.90 ^{aa}	0.05 \pm 0.00	0.05 \pm 0.00 ^{aa}	0.48 \pm 0.26	0.35 \pm 0.03 ^{aa}

Fuente: (Godoy, 2016)

Se obtuvieron resultados de la capacidad antioxidante de los extractos de la hoja de guayusa medidas por el método ABTS y DPPH, ambas exponen la presencia de antioxidantes. Tomando en cuenta el rendimiento de los extractos,

el tiempo de maceración en 12 horas realizadas en hojas frescas y como solvente etanol, el seleccionado como el mejor tratamiento frente al hexano.

(Fonseca, 2017) Realizó un estudio en Quito en la hoja de la guayusa (*Ilex guayusa*), fueron obtenidas de la provincia Morona Santiago, para realizar el extracto fluido, se empleó el método de percolación y como solvente distintas concentraciones hidroalcohólicas 20%, 50%, 80% y uno de té verde al 50%, el cual fue el referente natural de comparación.

Valoración de la actividad antioxidante por el método DPPH

- Se preparó una solución 0.5mM de DPPH con etanol al 96%.
- Como control positivo se preparó una solución de ácido ascórbico a 1000ppm.
- Se diluyó el extracto de guayusa (*Ilex guayusa*) a una concentración 1:10 y el té verde (control positivo) fue diluido a concentración 0.1:10.

Lectura del radical DPPH en espectrofotómetro

- Se preparó un frasco ámbar el cual corresponde al blanco.
- Se preparó diluciones de extractos de guayusa (*Ilex guayusa*) y ácido ascórbico en volumen de 5µL, 10µL, 20µL, 50µL, 100µL, 150µL, 200µL.
- 2.8ml de DPPH y se enrasó a un volumen de 3ml con etanol al 96%.
- Se agitó a 200rpm durante 30 minutos a temperatura ambiente.
- Se midió la lectura a 517nm en un espectrofotómetro.

Para valorar la actividad captadora de radicales libres se realizó cálculos mediante la siguiente formula:
$$\% \text{Inhibición} = \frac{Ab - Aa}{Ab} \times 100$$

Sin embargo, para determinar la IC50se construyó una gráfica de porcentaje de inhibición vs concentración de los extractos mediante una línea de regresión.

Tabla XVIII. Actividad antioxidante DPPH del extracto de té verde.

Concentración $\mu\text{L/mL}$ del blanco	Porcentaje de inhibición % I 1	Porcentaje de inhibición % I 2	Porcentaje de inhibición % I 3
0	0	0	0
1,66	5,2547	5,1252	5,9844
3,33	5,5265	4,9888	5,9972
6,66	13,4687	12,7809	13,5991
16,66	32,9948	32,7850	33,3487
33,33	58,3244	58,2027	58,5358
50	76,4784	76,3894	76,5938
66,66	92,0218	92,0097	92,0608
IC₅₀ $\mu\text{L/mL}$	32,549	32,671	32,401

Fuente: (Fonseca, 2017)

Tabla XIX. Actividad antioxidante DPPH del extracto de *Ilex guayusa* al 80%.

Concentración $\mu\text{L/mL}$ del blanco	Porcentaje de inhibición % I 1	Porcentaje de inhibición % I 2	Porcentaje de inhibición % I 3
0	0	0	0
1,66	5,2495	4,9538	5,0966
3,33	9,1502	9,0004	9,0249
6,66	17,6179	17,4758	17,2389
16,66	41,8448	41,7281	41,7489
33,33	81,0033	81,0040	81,0155
50	89,7780	89,7597	89,7683
IC₅₀ $\mu\text{L/mL}$	23,823	23,863	23,865

Fuente: (Fonseca, 2017)

Tabla XX. Actividad antioxidante DPPH del extracto de *Ilex guayusa* al 50%.

Concentración mg/mL del blanco	Porcentaje de inhibición % I 1	Porcentaje de inhibición % I 2	Porcentaje de inhibición % I 3
0	0	0	0
1,66	4,1310	4,2418	4,6348
3,33	7,8509	7,5792	7,6504
6,66	16,7489	16,6538	16,7496
16,66	41,6886	41,5109	41,5152
33,33	73,7363	73,6447	73,6949
50	88,2922	88,3000	88,2921
IC₅₀ mg/mL	25,033	25,070	25,040

Tabla XXI. Actividad antioxidante DPPH del extracto de *Ilex guayusa* al 20%.

Concentración $\mu\text{L/mL}$ del blanco	Porcentaje de inhibición % I 1	Porcentaje de inhibición % I 2	Porcentaje de inhibición % I 3
0	0	0	0
1,66	1,9311	1,9976	2,5910
3,33	3,1902	3,2126	4,3337
6,66	6,8523	6,2244	7,1164
16,66	14,3663	14,2225	15,1655
33,33	30,7611	30,4888	30,9569
50	40,9755	40,7522	41,2112
66,66	59,5297	59,3920	59,6602
IC₅₀ $\mu\text{L/mL}$	57,238	57,490	57,013

Fuente: (Fonseca, 2017)

Tabla XXII. Valoración de la actividad antioxidante DPPH del ácido ascórbico.

Concentración µL/mL del blanco	Porcentaje de inhibición % I 1	Porcentaje de inhibición % I 2	Porcentaje de inhibición % I 3
0	0	0	0
1,66	0,3298	4,6404	4,6918
6,66	4,9494	7,7355	7,9291
16,66	20,7848	24,5273	24,8792
50	96,0785	96,2639	96,2726
66,66	96,0881	96,2822	96,2979
IC₅₀ µL/mL	31,916	30,951	30,895

Fuente: (Fonseca, 2017)

Los resultados obtenidos de DPPH, demostró que el extracto de guayusa (*Ilex guayusa*) al 80% presenta mayor actividad antioxidante, superando al té verde, quedando en evidencia que el extracto de guayusa (*Ilex guayusa*) al 20% presenta menor actividad captadora del radicales libres.

El estudio de (Jara et al, 2018) determinó la actividad antioxidante de la hoja de la guayusa (*Ilex guayusa*), la muestra fue obtenida en la región Sierra y Amazonía del Ecuador, el vegetal fue sometido a secado bajo luz solar, el método que se empleó para la extracción es la maceración haciendo uso del solventes orgánicos como etanol, acetato de etilo, y diclorometano.

Evaluación de la actividad antioxidante por DPPH

- Se preparó 2ml de solución DPPH.
- Se mezcló 1ml del extracto que fue llevado a diferentes concentraciones (10, 50, 100 µg/mL).
- Reposar por 30 minutos.
- Se realizó la lectura a una absorbancia de 515nm en un espectrofotómetro.
- Se utilizó la quercetina como referencia y DMSO al 2% como control.

Para valorar la actividad secuestrante de radicales libres se realizó los siguientes

cálculos $\% \text{ de eliminación de radicales libres DPPH} = 100 \times (1 - AE/AD)$

Nota: AE, es la absorbancia de la solución después de agregar el extracto y AD es la absorbancia de la solución de DPPH en blanco.

Tabla XXIII. Resultados de fenoles totales, flavonoides y actividad antioxidante de extractos crudos utilizando el DPPH y el ensayo de blanqueo con ácido β - caroteno-linoleico.

Sample	Total Phenolics (GAE mg/g)	Total flavonoids (RE mg/g)	DPPH IC ₅₀ (μ g/mL)	B- carotene IC ₅₀ (μ g/mL)
Curarina EtOH	43.9 \pm 2.8	32.0 \pm 1.5	28.5 \pm 1.5	15.5 \pm 2.1
Curarina EtOAc	13.9 \pm 1.5	15.8 \pm 1.1	100.6 \pm 4.8	37.8 \pm 2.5
Zhute DCM	14.4 \pm 1.0	15.7 \pm 1.1	95.7 \pm 3.7	78.3 \pm 3.2
Zhute EtOAc	28.9 \pm 1.8	26.0 \pm 2.2	73.3 \pm 3.2	42.7 \pm 2.7
Guayusa EtOH	54.0 \pm 3.8	46.0 \pm 2.0	17.5 \pm 1.4	55.6 \pm 1.6
Guayusa EtOAc	36.0 \pm 2.2	20.0 \pm 1.8	52.7 \pm 4.3	85.7 \pm 3.7
<i>S. dulcis</i> EtOH	50 \pm 3.5	43.0 \pm 2.3	18.2 \pm 1.5	25.3 \pm 1.3
<i>S. dulcis</i> EtOAc	27.2 \pm 2.0	68.0 \pm 2.5	70.5 \pm 3.8	68.3 \pm 4.0
Iguila EtOH	57.0 \pm 4.3	48.0 \pm 2.4	15.3 \pm 2.3	23.3 \pm 1.8
Moradilla EtOH	14.0 \pm 0.7	48.0 \pm 2.5	87.5 \pm 2.8	93.7 \pm 2.2
Quercetine	-	-	5.8 \pm 0.4	6.7 \pm 1.2

Fuente: (Jara et al, 2018)

De acuerdo a los resultados, los autores concluyeron que las muestras en extracto etanólico posee mayor actividad antioxidante de cualquier otro extracto, a su vez se encuentra relacionada con el contenido de fenoles totales y flavonoides.

CAPÍTULO III. METODOLOGIA

III.1. TIPO DE INVESTIGACIÓN

La metodología que se realizó para la presente investigación fue la revisión bibliográfica, documental y comparativa. Se llevó a cabo una búsqueda de información en las diferentes bases de datos científicos como ScienceDirect, Scielo, Google Académico, Redalyc, PubMed, de donde se obtuvo la información sobre la hoja de guayaba y hoja de guayusa para su posterior comparación.

III.2. ENFOQUE DE LA INVESTIGACION

Este estudio se trata de un enfoque cualitativo, ya que se desarrollará un análisis bibliográfico de los compuestos bioactivos que contiene la hoja de guayaba y guayusa, como de su actividad antioxidante.

III.3. DISEÑO DE LA INVESTIGACIÓN

El objetivo de esta investigación es comparar la actividad antioxidante entre las hojas de Guayaba (*Psidium guajava*) y Guayusa (*Ilex guayusa*) por medio de una revisión bibliográfica, tal se orienta hacia un tipo de diseño de indagación descriptiva-comparativa.

En las técnicas utilizadas en este diseño de investigación cualitativo se incluye: estudio bibliográfico, comparativo y detallado para las dos muestras con la actividad destinada.

III.4. UNIDADES DE ESTUDIO

- Hoja de guayaba (*Psidium guajava*)
- Hoja de guayusa (*Ilex guayusa*)

CAPÍTULO IV RESULTADOS Y DISCUSIONES

En cumplimiento al primer objetivo para identificar los metabolitos secundarios de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) y guayusa (*Ilex guayusa*), se empleó el tamizaje fitoquímico, el cual se detalla a continuación una tabla de resultados.

Tabla XXIV. Tamizaje fitoquímico de los extractos hidroalcohólicos de las hojas de Guayaba (*Psidium guajava*) y guayusa (*Ilex guayusa*).

Guayaba (<i>Psidium guajava</i>)			Guayusa (<i>Ilex guayusa</i>)		
Metabolitos secundarios	Métodos	Valoración	Metabolitos secundarios	Métodos	Valoración
Alcaloides	Test Dragendorff	-	Alcaloides	Test Dragendorff	+++
	Test Mayer	-		Test Mayer	+++
	Test Wagner	-		Test Wagner	+++
Esteroides/terpenoides	Test Salkowski	+	Esteroides/terpenoides	Test de Lieberman-Burchard	+++
	Test de Liebermann-Burchard	+		Zack	+++
Taninos	Cloruro Férrico 5%	++	Taninos	Cloruro Férrico 5%	+++
				Gelatina salada	++
				Ácido Clorhídrico	+++
Saponinas	Espuma	++	Saponinas	Espuma	+
Fenoles	Acetato de plomo	++	Quinonas	Borntranger	+
Glicósidos	Antraquinonas (test de Borntrager)	-	Identificación de cardiotónicos	Baljet	++
				Kedde	++
	Glicósidos cardiacos (test de Keller Killiani)	-		Raymond-Harhoud	+
			Azúcares reductores	Fehling A y B	+
			Antocianinas	Con HCl	-
Fehling A y B	+++	R. Benedict	+++		
Cumarinas	NaOH (LUZ UV)		+	Flavonoides	Shinoda
Flavonoides	R. Shinoda	++	Cianidina		+++

				Medio Alcalino	+++
--	--	--	--	----------------	-----

Fuente: (Arias , 2019) (Ortega & Madrigal , 2018) (Utreras, 2019)

En la tabla XXIV, se describe el análisis fitoquímico de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) y guayusa (*Ilex guayusa*) en extractos hidroalcohólicos realizados por diversos autores, los cuales mostraron la presencia de metabolitos secundarios donde (+++) significa abundante, (++) moderado, (+) escaso y (-) negativo.

Según la investigación de Nelly Arias en el año 2019, en la hoja de guayaba (*Psidium guajava*) por extracto hidroalcohólico, se evidenció la ausencia de glicósidos y alcaloides, una escasa presencia de esteroides y terpenos, pero se observó la notoria presencia de taninos, saponinas y fenoles.

En la investigación de los autores Jackeline Ortega y Jimmy Madrigal en el año 2018, mostraron los metabolitos presentes en la guayaba (*Psidium guajava*) por extracto hidroalcohólico, siendo de mayor intensidad los glicósidos mediante los métodos Fehling A y B, y el reactivo Benedict, de mediana intensidad los flavonoides y de baja intensidad las cumarinas.

Por otra parte, la investigación de Vanessa Utreras en el año 2019, en las hojas de guayusa (*Ilex guayusa*) mediante extracto hidroalcohólico, se encontró presencia de abundante alcaloides, esteroides, terpenos, taninos y flavonoides, de moderada intensidad en cardiotónicos, escasa en azúcares reductores, saponinas, quinonas, y determinó la ausencia de antocianinas.

En cumplimiento al segundo objetivo para evidenciar el desempeño de los métodos DPPH y ABTS, se realizó una tabla comparativa, el cual permitió comparar el análisis de la actividad antioxidante de las hojas de Guayaba (*Psidium guajava*) y Guayusa (*Ilex guayusa*).

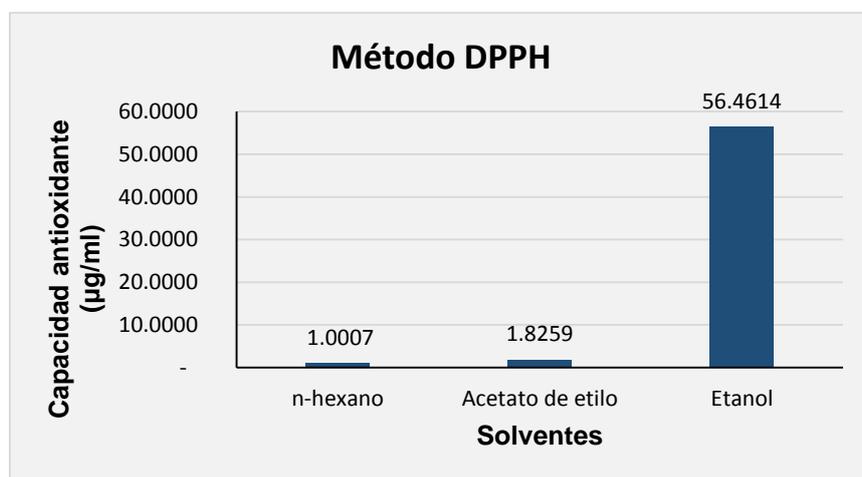
Tabla XXV. Cuadro comparativo de los métodos utilizados para el análisis de la actividad antioxidante de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) y guayusa (*Ilex guayusa*) estudiadas en Latinoamérica.

País	Fruta utilizada	Parte de la fruta utilizada	Extracto	Método		Autor
				DPPH	ABTS	
Indonesia/ Asia	Guayaba	Hoja seca	n-hexano	1.0007 ± 0.0270 µg/ml	----	(Hartati et al, 2020)
			Acetato de etilo	1.8259 ± 0.0700 µg/ml	----	
			Etanol	56.4614±3.7810 µg/ml	----	
Talca/Chile	Guayusa	Hoja fresca	Acetato de etilo	17.5±1.4 µg/mL	----	(Jara et al, 2018)
			Etanol	52.7±4.3 µg/mL		
Bogotá/ Colombia	Guayusa	Hoja fresca	Etanólico	4.58 ppm	3.82 ppm	(Cárdenas et al, 2022)
Tingo María/ Perú	Guayaba	Hoja tierna	Hidroalcohólico	14,086±0.09 EAG (g/100g)	----	(Ordoñez et al, 2017)
		Hoja madura		15,207±0.41 EAG (g/100g)		
		Hoja yema terminal		16,603±0.20 EAG (g/100g)		
Loja/Ecuador	Guayaba	Hoja seca	Hexano	1.21±0.04 µmol TE/g BH	3.17±0.09 µmol TE/g BH	(Gutiérrez M. , 2016)
			Etanol	26.96±0.11 µmol TE/g BH	50.39±1.61 µmol TE/g BH	

			Metanol	14.91±0.45 µmol TE/g BH		22.07±0.36 µmol TE/g BH	
Quito/ Ecuador	Guayusa	Hoja fresca	Agua destilada y glicerina	F: 1.0%	146.94 µL/mL	----	(Silva M., 2018)
				F: 2.5%	74.8 µL/mL	----	
				F: 5%	55.78 µL/mL	----	
Quito/Ecuador	Guayaba	Hoja fresca	Hidroalcohóli co	91.76%/ 0.87 ppm		----	(Arias N., 2019)
Loja/ Ecuador	Guayusa	Hoja deshidrat ada	Etanol	3.53±1.33 mg trolox/g extracto		1.70±0.51 mg trolox/g extracto	(Godoy, 2016)
			Hexano	0.05±0.00 mg trolox/g extracto		0.05±0.00 mg trolox/g extracto	
		Hoja fresca	Etanol	13.82±7.04 mg trolox/g extracto		8.16±5.80 mg trolox/g extracto	
			Hexano	0.48±0.26 mg trolox/g extracto		0.67±0.29 mg trolox/g extracto	
Quito/Ecuador	Guayusa	Hoja fresca	Hidroalcohóli co	F: 20%	57,490 µL/mL	----	(Fonseca , 2017)
				F: 50%	25,070 µL/mL		
				F: 80%	23,863 µL/mL		

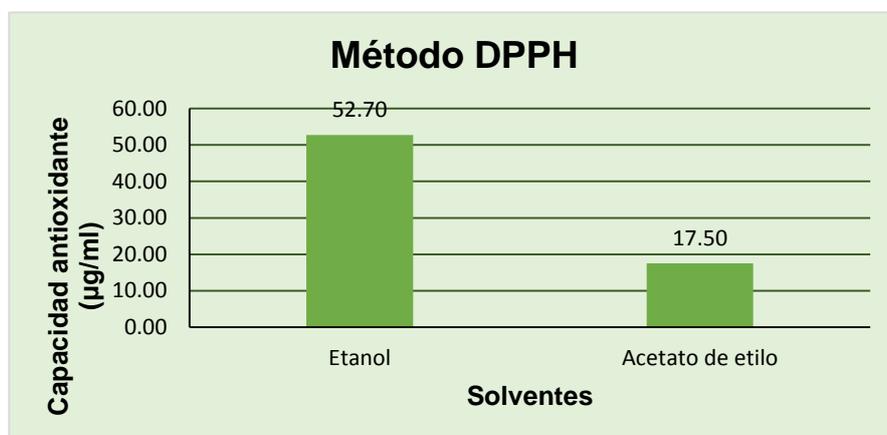
Fuente: Autores

En la tabla XXV, se puede apreciar diversas investigaciones que fueron realizadas por autores de diferentes países de Latinoamérica sobre el análisis de la actividad antioxidante de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) y guayusa (*Ilex guayusa*).



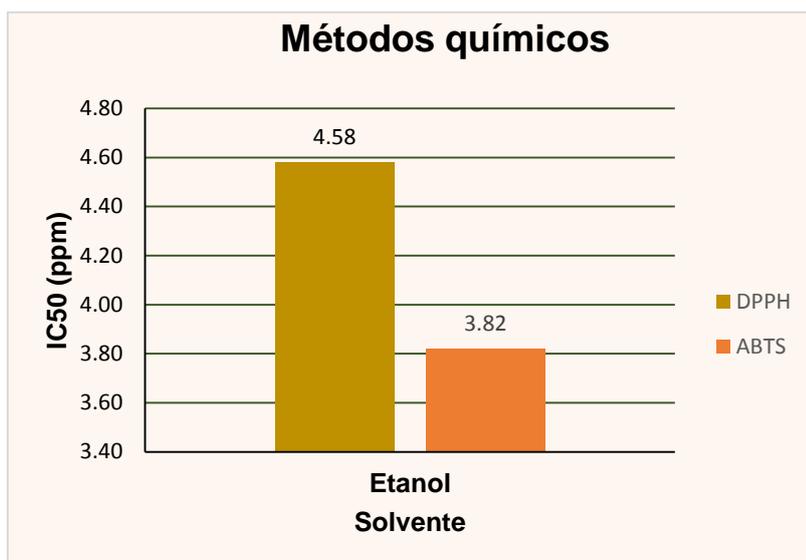
Gráfica 1. Resultados de la AAO de la hoja de Guayaba (*Psidium guajava*); Indonesia/ Asia

En el estudio de (Hartati et al, 2020) realizadas en hojas de guayaba (*Psidium guajava*) mediante el método DPPH, mostraron la capacidad antioxidante en extracto de n-hexano 1.0007 ± 0.0270 µg/ml, extracto de acetato de etilo 1.8259 ± 0.0700 µg/ml y extracto de etanol 56.4614 ± 3.7810 µg/ml, siendo el extracto etanólico el mejor solvente.



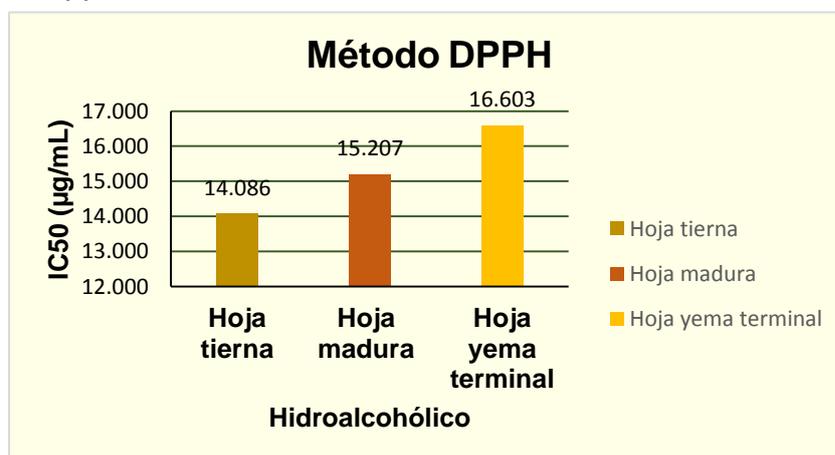
Gráfica 2. Resultados de la AAO de la hoja de guayusa (*Ilex guayusa*); Talca/Chile

Según la investigación de los autores (Jara et al, 2018) sobre la actividad antioxidante de la hoja de guayusa (*Ilex guayusa*) utilizando el método DPPH, se evidencio que el extracto etanólico presenta mayor actividad antioxidante con un resultado de 52.7 ± 4.3 µg/mL en comparación al extracto acetato de etilo 17.5 ± 1.4 µg/mL.



Gráfica 3. Resultados de la AAO de la hoja de guayusa (*Ilex guayusa*); Bogotá/ Colombia

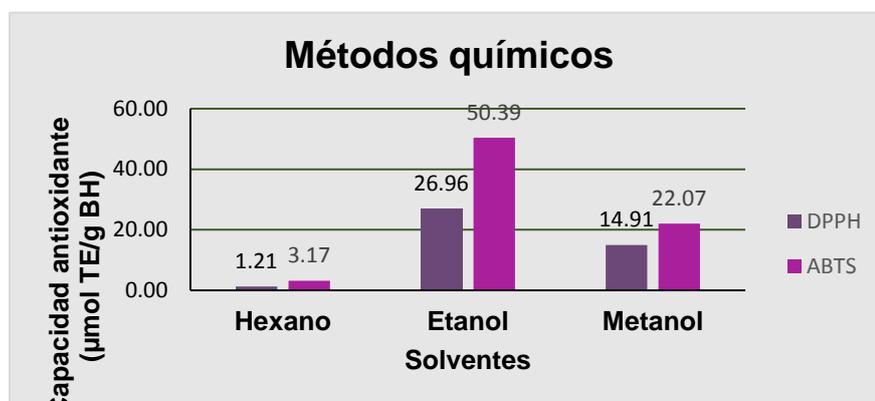
Por otra parte, el estudio de los autores (Cárdenas et al, 2022) realizada en la hoja de guayusa (*Ilex guayusa*), mostraron que en extracto etanólico tanto el método DPPH y ABTS tienen mayor actividad antioxidante con valores de IC50 4.58 ppm y 3.82 ppm.



Gráfica 4. Resultados de la AAO de la hoja de guayaba (*Psidium guajava*); Tingo María/ Perú

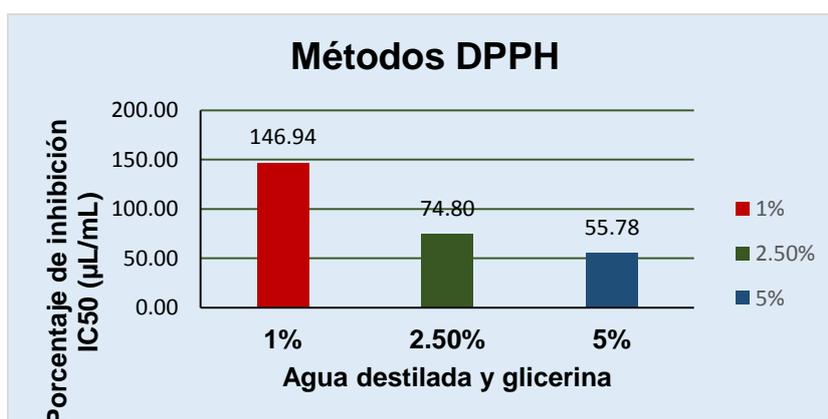
Según la investigación de los autores (Ordoñez et al, 2017), mediante el método DPPH evaluaron los diferentes estados de la hoja de guayaba (*Psidium guajava*), presentando mayor inhibición la hoja tierna con un valor de $14,086 \pm 0.09$ EAG

(g/100g), seguida la hoja madura $15,207 \pm 0.41$ EAG (g/100g) y por último la hoja yema terminal $16,603 \pm 0.20$ EAG (g/100g).



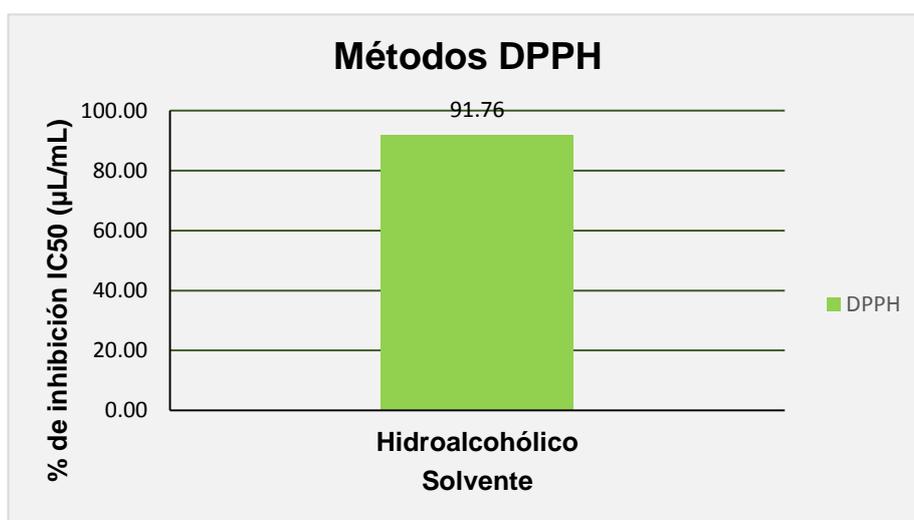
Gráfica 5. Resultados de la AAO de la hoja de guayaba (*Psidium guajava*); Loja/Ecuador

En la investigación realizada por (Gutiérrez M. , 2016), se muestra diferente capacidad antioxidante de la hoja de guayaba (*Psidium guajava*) entre los métodos DPPH y ABTS, el cual se ve afectado por la variación de los extractos. Los cuales presentaron mejores resultados por el método ABTS con valores de 3.17 ± 0.09 µmol TE/g BH (base húmeda), 50.39 ± 1.61 µmol TE/g BH y 22.07 ± 0.36 µmol TE/g BH.



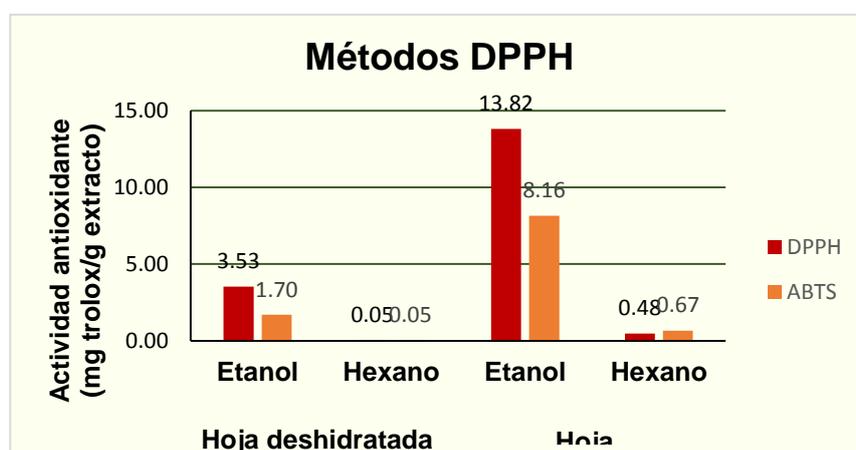
Gráfica 6. Resultados de la AAO de la hoja de guayusa (*Ilex guayusa*); Quito/Ecuador

El estudio de (Silva M., 2018), diseñó una formulación con diferentes concentraciones (1.0%, 2.5% y 5.0%) de extracto fluido de hoja de guayusa (*Ilex guayusa*) para uso cosmético, el cual evidenció la valoración de la actividad antioxidante mediante el método DPPH, en la formulación 1.0% el valor fue 146.94 $\mu\text{L/mL}$, en la formulación 2.5%= 74,8 $\mu\text{L/mL}$ y en la formulación 5.0%= 55.78 $\mu\text{L/mL}$.



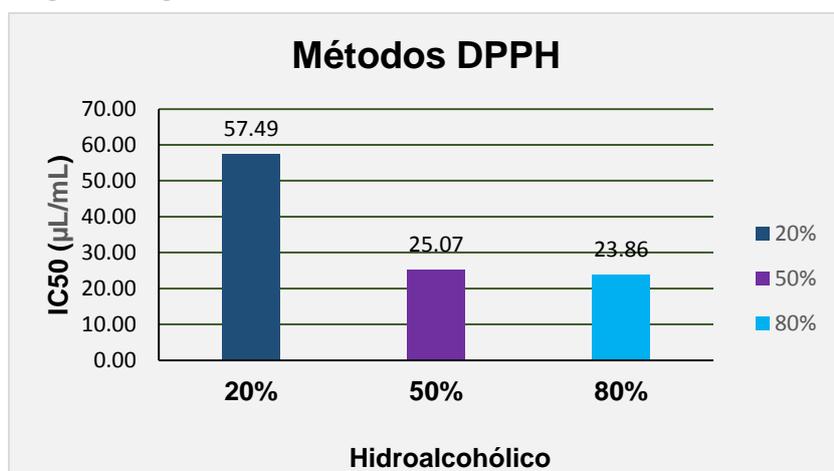
Gráfica 7. Resultados de la AAO de la hoja de guayaba (*Psidium guajava*); Quito/ Ecuador

Según el estudio realizado por (Arias N., 2019) en la hoja de guayaba (*Psidium guajava*), reveló el valor de IC50 por el método DPPH en extracto hidroalcohólico el cual fue 0,87 ppm y el porcentaje de inhibición del radical DPPH de 91,76%.



Gráfica 8. Resultados de la AAO de la hoja de guayusa (*Ilex guayusa*);
Loja/Ecuador

En la investigación de (Godoy, 2016), mostró los resultados de la actividad antioxidante de las hojas deshidratadas y frescas de la guayusa (*Ilex guayusa*) por la técnica DPPH y ABTS en extractos de etanol y hexano. La extracción con etanol en hoja deshidratada dio como resultado en DPPH 3.53 ± 1.33 mg trolox/g extracto y en ABTS 1.70 ± 0.51 mg trolox/g extracto. Mientras en la hoja fresca en DPPH 13.82 ± 7.04 mg trolox/g extracto y ABTS 8.16 ± 5.80 mg trolox/g extracto. Por otra parte, la extracción con hexano en hoja deshidratada tanto en DPPH y ABTS dieron resultados de 0.05 ± 0.00 mg trolox/g extracto. En hoja fresca mediante DPPH dio un valor de 0.48 ± 0.26 mg trolox/g extracto y en ABTS 0.67 ± 0.29 mg trolox/g extracto.

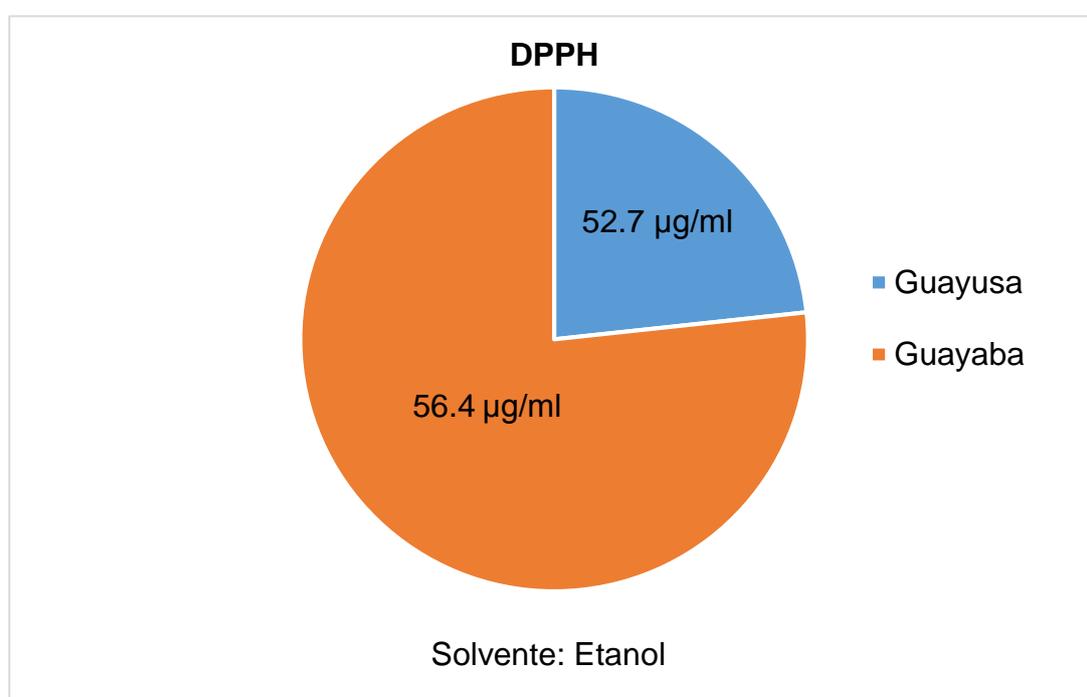


Gráfica 9. Resultados de la AAO de la hoja de guayusa (*Ilex guayusa*);
Quito/Ecuador

En el estudio de (Fonseca, 2017), determinó la actividad antioxidante de la hoja de guayusa (*Ilex guayusa*) por el método DPPH en extracto hidroalcohólico, el cual se realizó en diferentes concentraciones (20%, 50%, 80%), siendo el extracto de guayusa (*Ilex guayusa*) al 80% quien mostró mayor capacidad antioxidante con un valor de $23,863 \mu\text{L/mL}$, seguido del extracto 50%: $25,070$

$\mu\text{L}/\text{mL}$ y el extracto del 20%: $57,490 \mu\text{L}/\text{mL}$. **Nota:** La muestra que tiene el menor valor de IC_{50} es el que posee mejor actividad antioxidante.

En cumplimiento del tercer objetivo, se analizó la tabla de resultados de los métodos utilizados para el análisis de la actividad antioxidante de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) y guayusa (*Ilex guayusa*) estudiadas en Latinoamérica, el cual se elaboró una gráfica circular presentando la actividad antioxidante entre ambas hojas mediante el ensayo de DPPH con la finalidad de determinar quién de ellas tienen mayor capacidad de captar los radicales libres.



Gráfica 10. Resultados de los métodos utilizados para el análisis de la actividad antioxidante de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) y guayusa (*Ilex guayusa*)

Fuente: Autores

Cabe destacar que hubo dificultad en correlacionar los resultados realizados por diversos autores, debido a que estos fueron llevados a diferentes concentraciones. Sin embargo, se pudo citar el estudio (Hartati et al, 2020) el cual presentó los resultados de la actividad antioxidante de la guayaba en

extracto de etanol por el método DPPH fue 56.4614 ± 3.7810 $\mu\text{g/ml}$, por su parte el estudio de (Jara et al, 2018) mostraron que la actividad antioxidante de la guayusa mediante el método DPPH en extracto etanólico fue de 52.7 ± 1.4 $\mu\text{g/ml}$.

DISCUSIÓN

Compuestos bioactivos

Para identificar los compuestos bioactivos responsables de la actividad antioxidante de las hojas de guayusa (*Ilex guayusa*) y guayaba (*Psidium guajava*), se empleó el tamizaje fitoquímico, método cualitativo que permitió la identificación de los metabolitos secundarios presente en las hojas de guayusa (*Ilex guayusa*) y guayaba (*Psidium guajava*), se realizaron en extracto hidroalcohólicos, los cuales fueron: glicósidos, alcaloides, esteroides, terpenos, taninos, saponinas, fenoles, cumarinas, cardiotónicos y azúcares reductores. El estudio de (Utreras, 2019) presentó el análisis fitoquímico en la hoja de guayusa (*Ilex guayusa*) utilizando como solvente agua y etanol, los resultados no evidencia diferencia alguna entre solventes. Otro estudio contradice lo antes expuesto, (Palchicaza, 2019) mostró resultados del tamizaje fitoquímico realizado en extractos etanólico, acuoso y etéreo, presentando que el extracto acuoso tiene mayor variedad de metabolitos presentes, dando mejores resultados, el cual coincide con el autor (Manzano et al, 2018).

Capacidad antioxidante

De acuerdo con los resultados presentados por distintos autores sobre la capacidad antioxidante de las hojas de guayusa (*Ilex guayusa*) y guayaba (*Psidium guajava*) mediante diferentes métodos químicos, los cuales se tomó en consideración los métodos DPPH y ABTS, según (Tovar J. , 2018) ambos son caracterizados como métodos colorimétricos, pero difieren en la capacidad de captar radicales libres preformado, estequiometria de reacción, cinética y mecanismo de acción. El método DPPH en comparación al ABTS, es un método rápido, sencillo y económico. Por su parte, el método ABTS presenta la gran

ventaja de ser disueltos en medios orgánicos u acuosos y medir antioxidantes de naturaleza hidrofílicos y lipofílicos, lo opuesto al método DPPH que solo puede medir antioxidantes en solventes orgánicos, convirtiéndose de esta manera en una limitante en medir compuestos hidrofílicos. Sin embargo, los valores pueden diferir según el empleo del tipo de extracción y solvente como tratamiento, en estudios similares como los realizados por (Jara et al, 2018) mostraron que utilizando extractos etanólico genera mejores resultados que cualquier otro solvente, presentando mayor contenido fenólico total y flavonoides seguido de mayor actividad antioxidante, los cuales están estrechamente enlazados. Otro estudio similar es la de Pérez-Jiménez et al, en el 2006, evaluaron la influencia que tiene los solventes en la determinación de la capacidad antioxidante, en el método ABTS se encontró que los extractos acuosos poseen más 40% de actividad antioxidante que los disueltos con metanol-agua (50:50 v/v), contrario al DPPH que en extractos acuosos tiene una disminución de la actividad antioxidante.

Comparación entre las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) y guayusa (*Ilex guayusa*).

Se analizó la tabla de resultados de los métodos utilizados para el análisis de la actividad antioxidante de las hojas de guayaba (*Psidium guajava*) y guayusa (*Ilex guayusa*) estudiadas en Latinoamérica, el cual se dedujo que guayaba (*Psidium guajava*) tiene mayor actividad antioxidante en comparación a la guayusa (*Ilex guayusa*), debido a que están correlacionado con el contenido de fenoles totales y flavonoides, pudiéndose citar el estudio de (Restrepo, 2019) presenta resultados del contenido de fenoles de variedades de guayaba en diferentes estados de madurez, cuyo valores fueron superiores de 305.2 mg ácido

gálico/100 g fruta, mientras en el estudio de (Jara et al, 2018) no superó los 54 mg de ácido gálico/g de extracto/100 g fruta de guayusa.

CONCLUSIONES

- Se identificó los compuestos bioactivos de las hojas de guayusa (*Ilex guayusa*) y guayaba (*Psidium guajava*) mediante el screening fitoquímico en extracto hidroalcohólico, obteniendo en la hoja de la guayaba (*Psidium guajava*), la presencia de esteroides/ terpenoides, taninos, saponinas, fenoles, cumarinas, flavonoides y ausencia de alcaloides y glicósidos. En cuanto a la hoja de la guayusa (*Ilex guayusa*) se encontró la presencia de Alcaloides, esteroides/ terpenoides, taninos, saponinas, quinonas, cardiotónicos, azúcares reductores, flavonoides y ausencia de antocianinas.
- Se evaluó el desempeño que tiene el método DPPH y ABTS en la determinación de la actividad antioxidante de los extractos de las hojas de guayusa (*Ilex guayusa*) y guayaba (*Psidium guajava*), el cual el ABTS mostró la ventaja en captar antioxidantes en menor tiempo que el DPPH, aparte de medir antioxidantes de naturaleza tanto lipofílicos e hidrofílicos.
- Se comparó la actividad antioxidante entre las hojas de guayusa (*Ilex guayusa*) y guayaba (*Psidium guajava*), mediante el método DPPH, el cual se concluye que la hoja de guayaba (*Psidium guajava*) tiene mayor actividad antioxidante con un resultado de 56.4614 ± 3.7810 $\mu\text{g/ml}$ en comparación a la guayusa (*Ilex guayusa*) 52.7 ± 4.3 $\mu\text{g/ml}$.

RECOMENDACIONES

- Se recomienda realizar estudios farmacológicos en la hoja de guayusa (*Ilex guayusa*) y guayaba (*Psidium guajava*) con el fin de elaborar un fitofármaco.
- Se debe profundizar estudios en la hoja de guayusa (*Ilex guayusa*) donde se pueda emplear otras metodologías para la determinación de actividad antioxidante.
- Se debe realizar futuras investigaciones experimentales con las hojas de guayusa (*Ilex guayusa*) y guayaba (*Psidium guajava*) para comparar los resultados bibliográficos frente a los actualizados.

BIBLIOGRAFÍA

1. Arias , N. (2019). *Evaluación de la actividad antioxidante, según la farmacogeografía, en extractos.* Obtenido de <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/20370/1/T-UCE-0008-CQU-208.pdf>
2. Aguilar, O. (2018). Antioxidantes e inhibición de radicales libres: lipoperoxidación y carbonilación.
3. Alegsa, L. (2021). *Teobromina.* Obtenido de <https://es.alegsonline.com/art/99229>
4. Alvarez, C. (2021). *NIVEL DE CONOCIMIENTO DE LAS PROPIEDADES ANTIOXIDANTES DE LAS FRUTAS.* Obtenido de http://repositorio.unid.edu.pe/bitstream/handle/unid/209/T117_73012560_T%20%20%20%20%20T117_25603266_T.pdf?sequence=1&isAllowed=y
5. Arteaga, Y., Radice, M., Ramo, L., Bravo, S., García, Y., & Scalvenzi, L. (2019). *Optimización de la extracción asistida por ultrasonido de antioxidantes fenólicos de Ilex guayusa Loes. hojas utilizando la metodología de superficie de respuesta.* Obtenido de <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e03043>
6. Benavente, K., & Ccaso, Y. (2021). *Antioxidantes: perspectiva actual de la salud humana.* Obtenido de <http://repositorio.upads.edu.pe/xmlui/bitstream/handle/UPADS/189/TESIS%20%20BACH.BENAVENTE%20RODRIGUEZ%20KARELIA%20Y%20BACH.CCAZO%20LAQUISE%20YOVANA%20PDF.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
7. Brito, R. E. (2018). *Antioxidantes alimentarios.* Obtenido de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=63914#:~:text=%2D%20Antioxidantes%20terciarios%3A%20reparan%20el%20da%C3%B1o,ejemplo%2C%20la%20reparaci%C3%B3n%20del%20ADN.>
8. Caiza, R. (2019). *INDUCCIÓN DE FLORACIÓN Y COSECHA EN LA GUAYABA.* Obtenido de <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/29437/1/Tesis-226%20%20Ingenier%C3%ADa%20Agron%C3%B3mica%20-CD%20626.pdf>
9. Camacho, L. (2020). *Determinación de la capacidad antioxidante de plantas aromáticas. Calendula officinalis.* Obtenido de UNIVERSIDAD DE JAÉN Facultad de Ciencias Experimentales: <https://hdl.handle.net/10953.1/1234>
10. Caranqui, J., & Humanante, A. (2017). *Estudio sobre la Taxonomía y Estado de Conservación de la Guayusa (Ilex guayusa Loess.) del Cantón Pastaza.* Obtenido de Repositorio Institucional de la Escuela Superior

11. Cárdenas et al. (2022). High polarity extracts obtained from *Ilex guayusa* Loes. leaves, exhibit antioxidant capacity. *School of Pharmaceutical and Food Sciences*, 29(1).
12. Carvajal, E. (2017). *ANÁLISIS DE LA CALIDAD DE LA HOJA DE GUAYUSA*. Obtenido de <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/21566/1/Carvajal%20Ca%C3%B1arte%20Eddy%20Leonardo.pdf>
13. Céspedes, M. d., & Estrada, P. (2019). “*EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD INHIBITORIA DE LA ENZIMA ALFA GLUCOSIDASA*”. Obtenido de <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/43542/1/BCIEQ-T-0411%20C%3a9spedes%20Guzm%3a1n%20Mar%3ada%20del%20Cisne%3b%20Estrada%20Cadena%20Pa%3bal%20Jefferson.pdf>
14. Chillerón, Z. (2020). *Optimización en la obtención de infusiones de guayusa (Ilex guayusa; Loes. 1901) con alto contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante*. Obtenido de Universidad Politecnica de Valencia : <http://hdl.handle.net/10251/147816>
15. *Clasificación de antioxidantes alimentarios*. (2019). Obtenido de BTSA: <https://www.btsa.com/clasificacion-de-los-antioxidantes-alimentarios-antioxidantes-primarios/#:~:text=Antioxidantes%20primarios%20o%20de%20tipo,gene raci%C3%B3n%20de%20radicales%20m%C3%A1s%20estables>.
16. Coronado H, M. (2018). *Antioxidantes: perspectiva actual para la salud humana*. Obtenido de https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?pid=S0717-75182015000200014&script=sci_arttext&tlng=p
17. Criado, M., & Moya, C. (2018). *Vitaminas y Antioxidantes*. Obtenido de http://2011.elmedicointeractivo.com/Documentos/doc/VITAMINAS_Y_ANTIOX_EL_MEDICO.pdf
18. Ecoandes. (2018). *Guayusa*. Obtenido de <https://productosecoandes.com/guayusa/>
19. Escobar, L. A. (2022). *UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO*. Obtenido de <http://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/34951/1/CAL%20001.PDF>
20. Estupiñán, L., & Granda, B. (2019). *Estudio de factibilidad para la elaboración de una bebida tipo kombucha a base de té de guayusa (Ilex guayusa)*. Tesis. Obtenido de Repositorio Institucional de la Universidad de Guayaquil: <http://repositorio.ug.edu.ec/handle/redug/46806>

21. Florien. (2019). *L-theanina*. Obtenido de Florien fitoterapia: <https://florien.com.br/wp-content/uploads/2016/06/L-THEANINA.pdf>
22. Fonseca, R. (2017). *Flavonoides y actividad antioxidante en la especie Ilex guayusa (Loes)*. Obtenido de Universidad Politécnica Salesiana SEDE Quito: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/13881/1/UPS-QT11519.pdf>
23. Godoy, S. (2016). *Atomización de los antioxidantes de las hojas de guayusa (Ilex guayusa Loes)*. Obtenido de Universidad técnica particular de Loja: <https://dspace.utpl.edu.ec/bitstream/123456789/15736/1/Sharon%20Nathaly%20Godoy%20Alvarez.pdf>
24. Gómez, M. C. (2018). *UNIVERSIDAD SAN FRANCISCO DE QUITO*. Obtenido de <https://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/4797/1/120877.pdf>
25. Gualli, A., Arias, R., et all. (2016). *Estudio comparativo del té de la especie (Ilex guayusa) procedente de la región Amazónica y el producto comercial de la empresa: Aromas de Tungurahua*. Obtenido de Facultad de mecánica y ciencia de la producción: <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/24391/1/Paper%20tesis%20adriana.%20segunda%20revisi%C3%B3n%20Dra%20Manzano.pdf>
26. Gutiérrez, J. &. (2017). *Daño oxidativo, radicales libres y antioxidantes*.
27. Gutiérrez, M. (2016). *Extracción e identificación de los compuestos fenólicos con actividad antioxidante en subproductos agroindustriales de guayaba (Psidium guajava L.) variedad pera rosada*. Obtenido de Universidad Técnica particular de Loja: <https://dspace.utpl.edu.ec/bitstream/123456789/14425/1/Gutierrez%20Novillo%20Maria%20Augusta.pdf>
28. Hartati et al. (2020). Crystal Guava (*Psidium guajava* L. "Crystal"): Evaluation of In Vitro Antioxidant Capacities and Phytochemical Content. *The Scientific World Journal*.
29. Herrera, O. (2016). *Efecto antioxidante y antitumoral in vitro del extracto etanólico de la raíz de Waltheria ovata Cav. lucraco en línea celular de cáncer de próstata DU-145*. Obtenido de Researchgate: https://www.researchgate.net/figure/Figura-4-Estructura-basica-de-flavonoides-y-sistema-de-numeracion-Benitez-2006-Esta_fig3_303960971
30. Herrera, Z. C. (Junio de 2020). *Optimización en la obtención de infusiones de guayusa (Ilex guayusa; Loes. 1901) con alto contenido de compuestos fenólicos y actividad antioxidante*. Obtenido de (TRABAJO FINAL DE GRADO EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LOS ALIMENTOS)

- Universidad Politecnica de Valencia:
<https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/147816/Chiller%C3%B3n%20-%20Optimizaci%C3%B3n%20en%20la%20obtenci%C3%B3n%20de%20infusiones%20de%20guayusa%20%28Ilex%20guayusa%3B%20Loes.%201901%29%20con%20....pdf?sequence=1>
31. Huet, C. (2017). *Métodos Analíticos para la Determinación de Antioxidantes en Muestras Biológicas*. Obtenido de FACULTAD DE FARMACIA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE:
<http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/CRISTINA%20HUET%20RE%C3%91A.pdf>
 32. Infoagro, R. (2019). *El cultivo de la Guayaba*. Obtenido de https://www.infoagro.com/documentos/el_cultivo_guayaba.asp#:~:text=MORFOLOG%C3%8DA,al%20de%20la%20ra%C3%ADz%20principal.
 33. Jara et al. (2018). *Antioxidant activity and total phenolics of plants used in traditional medicine in Ecuador*. Obtenido de ResearchGate:
https://www.researchgate.net/publication/269202887_Antioxidant_activity_and_total_phenolics_of_plants_used_in_traditional_medicine_in_Ecuador
 34. Kumar, M., Tomar, M., Amarowicz, R., & saurabh, v. (Abril de 2021). *guayaba (Psidium guajavaL.) Hojas: composición nutricional, perfil fitoquímico y bioactividades que promueven la salud*. Obtenido de https://www.researchgate.net/publication/350544448_Guava_Psidium_guajava_L_Leaves_Nutritional_Composition_Phytochemical_Profile_and_Health-Promoting_Bioactivities
 35. Lopez, J. H. (2021). *Métodos analíticos para la determinación de capacidad antioxidante*. Obtenido de <https://repository.unad.edu.co/bitstream/handle/10596/41776/oemontealegrec.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
 36. Marquez, J. &. (2022). *ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN CASCARA DE AGUACATE*.
 37. Martinez, A. (07 de Febrero de 2022). *Extractos de alta polaridad obtenidos de Ilex guayusa Loes. Hojas, exhiben la capacidad antioxidante*. Obtenido de Revistas UdeA:
<https://revistas.udea.edu.co/index.php/vitae/article/view/347297>
 38. Martinez, V. (2021). *Propiedades nutricionales de la guayaba*. Obtenido de <https://www.botanical-online.com/como-citar>
 39. Montalvo, R. F. (2018). *FLAVONOIDES Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE EN LA ESPECIE ILEX GUAYUSA*.
 40. Monreal, A. (2019). *Guayaba: propiedades, beneficios y valor nutricional*. Obtenido de <https://www.lavanguardia.com/comer/materia->

prima/20211228/3433/aguacate-propiedades-beneficios-valor-nutricional.html

41. Murrieta, A. (noviembre de 2020). *COMPOSICIÓN QUÍMICA Y ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE*. Obtenido de <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/51153/1/BCIEQ-T-0574%20Murrieta%20Zambrano%20Arianna%20Gissella%3b%20Villamar%20Abadie%20Cristina%20del%20Roc%20ado.pdf>
42. Naseer, S., Hussain, S., & Naeem, N. (2018). *La fitoquímica y el valor medicinal de Psidium guajava (guayaba)*. Obtenido de <https://link.springer.com/article/10.1186/s40816-018-0093-8#citeas>
43. Ordoñez et al. (2017). Cuantificación de polifenoles totales y actividad antioxidante en hojas, corteza, flores y frutos de dos variedades de guayaba (*Psidium guajava* L.). *Investigación y Amazonía*, 1(2), 48- 52.
44. Ortega & Madrigal . (2018). *EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANO DEL EXTRACTO ALCOHÓLICO DE LA HOJA DE GUAYABA (Psidium guajava)*. Obtenido de UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS: <http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/27926/1/BCIEQ-T-0241%20Ortega%20P%20Jackeline%20Alexandra%3b%20Madrigal%20Vera%20Jimmy%20Alfredo.pdf>
45. Padilla, A. Q. (2021). *“DETERMINACIÓN DE FENOLES TOTALES .* Obtenido de <http://repositorio.unh.edu.pe/bitstream/handle/UNH/4099/TESIS-2021-ING.%20AGROINDUSTRIAL-QUISPE%20PADILLA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
46. Palchicaza, M. (2019). *“EVALUACIÓN DEL EFECTO ANTIINFLAMATORIO DE Ilex guayusa (Loes), Vernonanthura patens (Kunth) Y Theobroma cacao (Linneo) EN EL MODELO ANIMAL RATA (Rattus norvegicus) DE LABORATORIO”*. Obtenido de ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/10967/1/56T00874.pdf>
47. Parrales, J., & Grefa, A. (22 de Julio de 2021). *FACTORES CLAVE Y GENERACIÓN DE VALOR AGREGADO A LA PRODUCCIÓN DE GUAYUSA WIÑAK CON PERSPECTIVA DE EXPORTACIÓN AL MERCADO INTERNACIONAL*. Obtenido de Repositorio digital UNESUM: <http://repositorio.unesum.edu.ec/handle/53000/3068>
48. Perez, R., & Supho, L. (2019). *“EVALUACIÓN DE LA CINÉTICA DE LA DESHIDRATACIÓN*. Obtenido de <http://repositorio.unsa.edu.pe/bitstream/handle/UNSA/10783/IQpegarm%26sumeld.pdf?sequence=1&isAllowed=y>

49. Reinoso, A. (2019). *Determinación de la diversidad genética de la guayaba*. Obtenido de <https://repositorio.usfq.edu.ec/bitstream/23000/11004/1/143286.pdf>
50. Restrepo, L. (2019). *Estudio del contenido de fenoles y su actividad antioxidante en 3 variedades de guayaba (Psidium guajava L.) Colombiana en diferentes estados de madurez*. Obtenido de Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias: <https://repositorio.unal.edu.co/bitstream/handle/unal/78439/TESIS%20MAESTRIA%20JULIO%20OLAYA.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
51. Ríos, G. (2022). *EVALUACIÓN DE CAPACIDAD ANTIOXIDANTE Y CONCENTRACION DE CAFÉINA DE UNA BEBIDA CON HOJAS DE GUAYUSA (Ilex guayusa) E INFUSIÓN DE CAFÉ (Coffea arabica)*. Obtenido de <https://cia.uagraria.edu.ec/Archivos/R%C3%8DOS%20REYES%20GEN%C3%89SIS%20JACQUELINE.pdf>
52. Ruiz, A. G. (septiembre de 2017). *Guayusa (Ilex guayusaL) composición y capacidad antioxidante*. Obtenido de <https://www.onlinedoctranslator.com/app/gettranslateddocument/10.1002%40jsfa.8255.en.es.pdf>
53. Rural, S. d. (2019). *datos sobre la guayaba*.
54. S., J. Z. (marzo de 2007). https://scielo.conicyt.cl/scielo.php?pid=S0717-75182007000100002&script=sci_arttext&lng=p.
55. Sanchez, M. (2017). *La guayaba, árbol tropical*. Obtenido de <https://www.jardineriaon.com/author/monica-sanchez>
56. Silva M. (2018). *Valoración de las especies Ilex guayusa (guayusa) y plukenetia volubilis L. (Sacha inchi), como una materia prima cosmética antioxidante*. Obtenido de Universidad Politécnica Salesiana SEDE Quito. Ingeniería en biotecnología de los recursos naturales: <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/15034/1/UPS-QT12109.pdf>
57. Tipantuña, C. (2019). *Contenido de flavonoides totales y actividad antioxidante en inflorescencias, hojas y tallos de plantas endémicas: Verbena litoralis Kunth y Duranta triacantha Juss. Trabajo de titulación previo a la obtención del título de Ingeniera Agrónoma*. Obtenido de Repositorio digital de la Universidad Central del Ecuador: <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/19952>
58. Tovar, J. (2016). *DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE POR DPPH Y ABTS DE 30 PLANTAS RECOLECTADAS EN LA ECOREGION CAFETERA*. Obtenido de [Título profesional, Universidad Tecnológica de Pereira]. Repositorio Academico de la Universidad Tecnológica de Pereira.: <https://repositorio.utp.edu.co/items/32d48e6c-0676-44c3-bde6-c827ea08f7dd>

59. univision. (2020). *La guayaba previene el cáncer, fortalece la inmunidad, adelgaza* . Obtenido de <https://www.univision.com/estilo-de-vida/bienestar/la-guayaba-previene-el-cancer-fortalece-la-inmunidad-adelgaza-y-transforma-la-salud-de-8-maneras>
60. Utreras, V. (2019). *Determinación de la concentración mínima de fenoles presentes en extractos etanólicos de hojas de guayusa (Ilex guayusa Loes.) con mayor actividad inhibitoria en las enzimas α - y β -glucosidasa.* Obtenido de UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR. FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS: <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/19244/1/T-UCE-0008-CQU-152.pdf>
61. Valderrama, L. (2020). *ESTRATEGIA DIDÁCTICA PARA LA ENSEÑANZA DE ANTIOXIDANTES.*
62. Vazquez, M. d. (2019). Frutas tropicales como fuentes de antioxidantes y sus perspectivas en la industria. *Universidad Tecnológica del Sureste de Veracruz. Departamento de Ingeniería Química. Av.*
63. Velez , A., & Morocho, J. (2021). *PROYECTO PARA LA ELABORACIÓN DE GUAYABA.* Obtenido de <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/14830/1/226T0095.pdf>
64. Yanez, L. (2022). *Compuestos fenólicos en plantas del Ecuador, revisión de propiedades y beneficios* . Obtenido de <http://www.dspace.uce.edu.ec/handle/25000/26414>
65. Zahin, M., Ahmad, I., & Aqil, F. (2017). *Potencial antioxidante y antimutagénico de los extractos de hojas de Psidium.* Obtenido de 10.1080/01480545.2016.1188397
66. Zamora, J. (2017). *ANTIOXIDANTES: MICRONUTRIENTES EN LUCHA POR LA SALUD.*
67. Zurita, A. Z. (2021). *UNIVERSIDAD CENTRAL DEL ECUADOR.* Obtenido de <http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/24074/1/UCE-FCQ-ZAMBRANO%20DANIEL.pdf>

GLOSARIO

- **ABTS:** Este método evalúa la actividad antioxidante equivalente a Trolox (TEAC), se basa en la reducción de la coloración verde/azul producida por la reacción del radical ácido 2,2'-azino-bis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico con el antioxidante presente en la muestra.
- **Capacidad antioxidante:** Es la capacidad de una sustancia para inhibir la oxidación.
- **DPPH:** Es un compuesto químico formado por moléculas estables de radicales libres. Se utiliza en las determinaciones de poder antioxidante gracias a su capacidad de aceptar un átomo de hidrógeno por parte de un agente antioxidante.
- **ERO:** Especies reactivas de oxígeno
- **Hidrofílicos:** Es una sustancia que tiene afinidad por el agua. En una disolución o coloide, las moléculas hidrófilas son a su vez lipóforas, es decir, no se pueden mezclar con lípidos o grasas.
- **Oxígeno singlete:** Es el nombre común utilizado para las formas energéticamente excitadas del oxígeno molecular (O_2), con dos electrones apareados en los orbitales de energía más alta (orbital antienlazante).
- **Superóxido:** Son un grupo de metaloenzimas presentes frecuentemente en organismos aeróbicos, aerotolerantes y algunos anaerobios obligados. Son esenciales para su defensa contra la toxicidad producida por los metabolitos parcialmente reducidos, generados durante la reducción biológica normal del oxígeno molecular.

- **Transferrina:** Es la principal proteína de la sangre con capacidad de unión al hierro, para transportarlo por todo el organismo.
- **Trolox:** Es un análogo hidrosoluble del alfa-tocoferol. En virtud de su alta solubilidad en agua y su amplia disponibilidad comercial, el Trolox es universalmente empleado como estándar en (las curvas de comparación de) diversos ensayos de actividad antioxidante.
- **Nutracéuticos:** Son productos basados en ingredientes procedentes de la propia naturaleza (animales, plantas o minerales) y se caracterizan por ser ricos en determinados nutrientes, lo cual determina su incidencia en la nutrición y en nuestra salud.