



UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS



MODALIDAD (INVESTIGACIÓN)

TEMA:

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LAS HOJAS DE *Eugenia churutensis* X. Cornejo”

**TRABAJO DE TITULACIÓN PRESENTADO COMO REQUISITO PREVIO
PARA OPTAR POR EL GRADO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA**

AUTORA:

KENIA MARIELA BAQUE PAREDES

TUTOR:

Lcdo. PABLO A. CHACÓN MORALES, Ph. D.

GUAYAQUIL – ECUADOR

2018



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA QUÍMICA Y FARMACIA

UNIDAD DE TITULACIÓN



REPOSITORIO NACIONAL EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA

FICHA DE REGISTRO DE TESIS/TRABAJO DE GRADUACIÓN

TÍTULO Y SUBTÍTULO:	EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LAS HOJAS DE <i>Eugenia churutensis</i> X. Cornejo		
AUTOR(ES):	Baque Paredes Kenia Mariela		
REVISOR(ES)/TUTOR(ES):	Lcdo. Pablo Chacón Ph.D (Tutor) Lcdo. Adonis Bello Ph.D (Revisor)		
INSTITUCIÓN:	Universidad de Guayaquil		
UNIDAD/FACULTAD	Ciencias Químicas		
MAESTRIA/ESPECIALIDAD:			
GRADO OBTENIDO:	Tercer Nivel/ Químico Farmacéutico		
FECHA DE PUBLICACIÓN:	4 de Septiembre del 2018	N° DE PÁGINAS	67
ÁREAS TEMÁTICAS	Análisis Químico Instrumental - Fitoquímica		
PALABRAS CLAVES/KEYWORS:	<i>Eugenia churutensis</i> X. Cornejo, tamizaje fitoquímico, fenoles, flavonoides, actividad antioxidante		
RESUMEN/ABSTRACT(150-250):	<p>El presente trabajo tiene como objetivo evaluar la actividad antioxidante del extracto etanólico obtenido de las hojas de la especie endémica <i>Eugenia churutensis</i> X. Cornejo. Los resultados de los parámetros físicoquímicos que se realizaron a las hojas de esta especie fueron: humedad residual (6,34%), cenizas totales (11,83%), cenizas insolubles en ácido clorhídrico (8,47%), en la extracción por maceración se obtuvieron los resultados de sustancias solubles (17,82% extracto etanólico; 23,67% extracto acuoso) y en la extracción en caliente con etanol se obtuvo como resultado 18,51%. El tamizaje fitoquímico demostró un alto contenido de fenoles y flavonoides. La cuantificación de fenoles y flavonoides totales se determinó mediante espectrofotometría UV y sus resultados fueron 17,3 mg de fenoles por cada gramo de hojas secas y 7,52 mg de flavonoides por cada gramo de hojas secas. La actividad antioxidante que presentan 1 g de hojas secas de <i>E. churutensis</i> frente a DPPH es comparable con la que posee 0,60 mg de ácido gálico.</p>		
ADJUNTO PDF:	<input checked="" type="checkbox"/> SI	<input type="checkbox"/> NO	
CONTACTO CON AUTOR(ES):	Teléfono: 0979737425/0989996753 E-mail: kenia.baquep@ug.edu.ec		
CONTACTO CON LA INSTITUCIÓN:	Nombre: SEDE CIENCIAS QUIMICAS		
	Teléfono: 042293680		
	E-mail: www.fcq.ug.edu.ec		



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN



Dr. CARLOS SILVA HUILCAPI
DIRECTOR DE LA CARRERA
FACULTAD CIENCIAS QUÍMICAS
UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL

Ciudad.-

De mis consideraciones:

Envío a Ud. el Informe correspondiente a la tutoría realizada al Trabajo de Titulación “**EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LAS HOJAS DE *Eugenia churutensis* X. Cornejo**” de la estudiante **KENIA MARIELA BAQUE PAREDES**, indicando que ha cumplido con todos los parámetros establecidos en la normativa vigente:

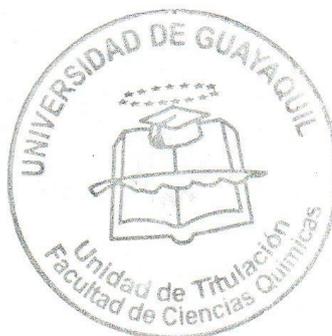
- El trabajo es el resultado de una investigación.
- La estudiante demuestra conocimiento profesional integral.
- El trabajo presenta una propuesta en el área de conocimiento.
- El nivel de argumentación es coherente con el campo de conocimiento.

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

Dando por concluida esta tutoría de trabajo de titulación, **CERTIFICO**, para los fines pertinentes, que la estudiante está apta para continuar con el proceso de revisión final.

Atentamente,

Lcdo. Pablo A. Chacón Morales, Ph. D.
Pasaporte: 136895246





FACULTAD: CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN



Guayaquil, 31 de Agosto del 2018

M. Sc. Carlos Silva H.
DIRECTOR DE LA CARRERA/ESCUELA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
UNIVERSIDAD DE GUAYAQUIL
Ciudad.-

De mis consideraciones:

Envío a Ud. el Informe correspondiente a la **REVISIÓN FINAL** del Trabajo de Titulación **EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LAS HOJAS DE *Eugenia churutensis* X. Cornejo** de la estudiante **KENIA MARIELA BAQUE PAREDES**. 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 13 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 10 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 **KENIA MARIELA BAQUE PAREDES** está apto para continuar el proceso de titulación. Particular que comunicamos a usted para los fines pertinentes.

Atentamente,

ADONIS BELLO ALARCÓN Ph.D.

DOCENTE TUTOR REVISOR

C.I. 0959948076

Urkund Analysis Result

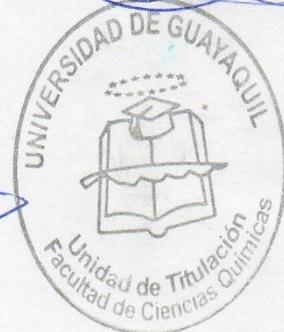
Analysed Document: TESIS_BAQUE PAREDES UR.docx (D40900584)
Submitted: 8/21/2018 8:33:00 PM
Submitted By: carolina.santiagod@ug.edu.ec
Significance: 2 %

Sources included in the report:

TESIS_MORALES-SORNOZA.pdf (D35352754)
tesis robert G.docx (D35036376)
<http://repositorio.ug.edu.ec/bitstream/redug/28417/1/BCIEQ-T-0275%20Sornoza%20Cabrera%20Gabriela%20Marcela%253b%20Morales%20P%3%A9rez%20Yamel%20Johanna.pdf>

Instances where selected sources appear

4



Pablo A Chacón Morales



**LICENCIA GRATUITA INTRASFERIBLE Y NO EXCLUSIVA PARA EL USO
NO COMERCIAL DE LA OBRA CON FINES NO ACADÉMICOS**

Yo, KENIA MARIELA BAQUE PAREDES con cedula de ciudadanía N° 0927294611 certifico que los contenidos desarrollados en este trabajo de titulación, cuyo título es **“EVALUACION DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LAS HOJAS DE *Eugenia churutensis* X. Cornejo”** es de mi absoluta propiedad y responsabilidad y según el ART. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN*, autorizo el uso de una licencia gratuita intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la presente obra con fines no académicos, en favor de la Universidad de Guayaquil, para que haga uso del mismo como fuera pertinente.

Kenia Mariela Baque Paredes

C.I: 0927294611

*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.



APROBACIÓN DEL TUTOR

Guayaquil, 21 de Agosto del 2018

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 **“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LAS HOJAS DE *Eugenia churutensis* X. Cornejo”**, presentado por **KENIA MARIELA BAQUE PAREDES**, con cedula de ciudadanía N° 0927194611, previo la obtención del título de Químico y Farmacéutico.

Este trabajo ha sido aprobado en su totalidad y se adjunta el informe de Antiplagio del programa URKUND, quedando el 2% de coincidencia. Lo Certifico.

A handwritten signature in blue ink, consisting of a large, stylized 'P' and 'M' intertwined, written over a horizontal line.

Lcdo. Pablo A. Chacón Morales, Ph. D
Pasaporte: 136895246



FACULTAD: CIENCIAS QUÍMICAS
CARRERA: QUÍMICA Y FARMACIA
UNIDAD DE TITULACIÓN



Guayaquil, 31 de Agosto del 2018

CERTIFICACIÓN DEL TUTOR REVISOR

Habiendo sido nombrado ADONIS BELLO, tutor del trabajo de titulación "EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE DE LAS HOJAS DE *Eugenia churutensis* X. Cornejo". Certifico que el presente trabajo de titulación, elaborado por BAQUE PAREDES KENIA MARIELA con cedula de ciudadanía N° 092729461-1, con mi respectiva supervisión como requerimiento parcial para la obtención del título de QUÍMICA FARMACÉUTICA, en la carrera de Química y Farmacia de la Facultad de Ciencias Químicas, ha sido **REVISADO Y APROBADO** en todas sus partes, encontrándose apto para su sustentación.

ADONIS BELLO ALARCÓN Ph.D.

C.I. No. 0959948076



CERTIFICADO DEL TRIBUNAL

El Tribunal de Sustentación del Trabajo de Titulación de la señorita **KENIA MARIELA BAQUE PAREDES**, después de ser examinados en su presentación, memoria científica y defensa oral, da por aprobado el Trabajo de Titulación.

Lcdo. ADONIS BELLO, Ph.D
PRESIDENTE MIEMBRO 1 DEL TRIBUNAL

Q.F KATHERINE BUSTAMANTE Ms.c
DOCENTE MIEMBRO 2 DEL TRIBUNAL

Q.F MARIA ELENA JIMENEZ Ms.c
DOCENTE MIEMBRO 3 DEL TRIBUNAL

AB. FRANCISCO PALOMEQUE ROMERO Mg
SECRETARIO GENERAL



CARTA DE AUTORÍA DEL TRABAJO

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LAS HOJAS DE *Eugenia churutensis* X. Cornejo”

Guayaquil, 21 de Agosto de 2018

Yo, **KENIA MARIELA BAQUE PAREDES**, autora de este trabajo declaro ante las autoridades de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guayaquil, que la responsabilidad del contenido de este TRABAJO DE TITULACIÓN, me corresponde a mí exclusivamente; y el patrimonio intelectual de la misma a la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guayaquil.

Declaro también es de mi autoría, que todo el material escrito, salvo el que está debidamente referenciado en el texto. Además, ratifico que este trabajo no ha sido parcial ni totalmente presentado para la obtención de un título, ni en una Universidad nacional, ni una extranjera.

KENIA MARIELA BAQUE PAREDES

C.I.: 0927294611

AGRADECIMIENTO

Agradezco a Dios por sobre todas las cosas ya que sin él no sería nadie, por darme cada una de las maravillas que tiene la vida. A mis padres quienes me dieron el amor y las enseñanzas para seguir adelante. A mis abuelos porque sin ellos esto no sería posible, son el motor y la fuente de mis días, la razón para seguir adelante.

A mis hermanos y mis primas por sus palabras de aliento y su apoyo, a mi mejor amigo y compañero excepcional que siempre confió en mí, quien con su apoyo y amor incondicional ha estado presente en la travesía de este largo camino de carrera universitaria.

A mis amigos de la facultad, sin imaginar que llegaríamos a formar una amistad sincera, llevo conmigo muchos buenos recuerdos de cada uno. A los docentes quienes compartieron sus conocimientos conmigo durante todos los años de esta hermosa carrera, en especial aquellos que me apoyaron en diferentes formas para realizar este trabajo de titulación.

Muchas gracias a mis tutores quienes guiaron este trabajo, día con día hasta llegar a culminar el mismo con entusiasmo y apoyo para que todo sea de la manera correcta, me llena de satisfacción haberlos elegido pero sobretodo que aceptaran guiarme.

DEDICATORIA

Dedico el presente trabajo de titulación a mis abuelos y a mis padres, quienes hicieron todo esto posible esperando que se sientan orgullosos de mí y vean que todo el esfuerzo que hicieron valió la pena. A mis hermanos para se den cuenta que todo se puede lograr, solo es cuestión de esfuerzo y dedicación, para que así, puedan ver en mí una inspiración.

A mi compañero de fórmula por ser muy comprometido conmigo y estar siempre presente, quien con su cariño y esfuerzo ha caminado tomado de mi mano todo este tiempo. A mis mejores amigas a quienes llamaré colegas, por cada momento que han compartido conmigo, por ser incondicionales y leales.

“EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE DE LAS HOJAS DE *Eugenia churutensis* X. Cornejo”

Autora: Kenia Mariela Baque Paredes

Tutor: Lcdo. Pablo A. Chacón Morales, Ph. D.

RESUMEN

El presente trabajo tiene como objetivo evaluar la actividad antioxidante del extracto etanólico obtenido de las hojas de la especie endémica *Eugenia churutensis* X. Cornejo. Los resultados de los parámetros físicoquímicos que se realizaron a las hojas de esta especie fueron: humedad residual (6,34%), cenizas totales (11,83%), cenizas insolubles en ácido clorhídrico (8,47%), en la extracción por maceración se obtuvieron los resultados de sustancias solubles (17,82% extracto etanólico; 23,67% extracto acuoso) y en la extracción en caliente con etanol se obtuvo como resultado 18,51%. El tamizaje fitoquímico demostró un alto contenido de fenoles y flavonoides. La cuantificación de fenoles y flavonoides totales se determinó mediante espectrofotometría UV y sus resultados fueron 17,3 mg de fenoles por cada gramo de hojas secas y 7,52 mg de flavonoides por cada gramo de hojas secas. La actividad antioxidante que presentan 1 g de hojas secas de *E. churutensis* frente a DPPH es comparable con la que poseen 0,60 mg de ácido gálico.

Palabras claves: *Eugenia churutensis* X. Cornejo, tamizaje fitoquímico, fenoles, flavonoides, actividad antioxidante

"EVALUATION OF THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF THE LEAVES OF *Eugenia churutensis* X. Cornejo"

Author: Kenia Mariela Baque Paredes

Tutor: Lcdo. Pablo A. Chacón Morales, Ph. D.

ABSTRACT

The aim of this work is to evaluate the antioxidant activity of the ethanolic extract obtained from the leaves of the endemic species *Eugenia churutensis* X. Cornejo. The results of the physicochemical parameters that were made to the leaves of this species were: residual moisture (6,34%), total ash (11,83%), ash insoluble in acid hydrochloric (8,47%). In the extraction by maceration the soluble substances were obtained (17,82% ethanolic extract and 23,66% aqueous extract) and by extraction with heating in ethanol the soluble substances were obtained (18,51%). Phytochemical screening showed a high content of phenols and flavonoids. The determination of total phenolics and flavonoids were carried out by UV spectrophotometry and the results obtained were 17,3 mg of total phenols per gram of dried leaves weight and 7,52 mg of total flavonoids per gram of dried leaves weight. The antioxidant activity of 1 g of dried leaves of *E. churutensis* against DPPH is comparable to that of 0,60 mg of gallic acid.

Keywords: *Eugenia churutensis* X. Cornejo, phytochemical screening, phenols, flavonoids, antioxidant activity

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN	1
PROBLEMA	4
FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	4
JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA	4
HIPÓTESIS	5
OBJETIVOS	6
OBJETIVO GENERAL	6
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	6
CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO	7
I.1 Taxonomía, Morfología Y Distribución Geográfica de <i>Eugenia churutensis</i> X. Cornejo	7
I.2 Parámetros fisicoquímicos.....	9
Determinación de Humedad Residual.....	9
Determinación de Cenizas	9
Sustancias solubles	10
I.3 Métodos de extracción.....	10
Maceración	11
Extracción en caliente.....	11
I.4 Tamizaje fitoquímico	11
I.5 Espectrofotometría.....	12
Componentes del espectrofotómetro	13
I.6 Actividad Antioxidante DPPH	14
CAPÍTULO II. MARCO METODOLÓGICO.....	15
II.1 METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN.....	15
II.2 EQUIPOS, APARATOS, MATERIALES Y REACTIVOS	15
II.2.1 EQUIPOS.....	15
II.2.2 APARATOS.....	15
II.2.3 MATERIALES	15
II.2.4 REACTIVOS	16
II.3 MUESTRA	16
II.4 TÉCNICAS Y MÉTODOS.....	17
II.4.1 Determinación de parámetros Fisicoquímicos.....	17
II.4.1.1 Humedad residual.....	17

II.4.1.2 Cenizas Totales.....	17
II.4.1.3 Cenizas Insolubles en Ácido Clorhídrico	18
II.4.2 Determinación de sustancias solubles.....	18
II.4.2.1 Maceración	18
II.4.2.2 Extracción en caliente.....	19
II.4.3 Tamizaje Fitoquímico	19
II.4.4 Determinación de Fenoles totales.....	20
Preparación de los reactivos.....	20
Preparación de la muestra.....	20
Curva de calibrado.....	21
Muestra problema	21
II.4.5 Determinación de flavonoides	21
Preparación de los reactivos.....	21
Preparación de la muestra.....	22
Curva de calibrado.....	22
Muestra problema	22
II.4.6 Actividad Antioxidante <i>in vitro</i>	22
Preparación de los reactivos.....	22
Preparación de la muestra.....	23
Curva de calibrado.....	23
Muestra problema	23
CAPITULO III RESULTADOS Y DISCUSIONES	24
III.1 Determinación de los parámetros fisicoquímicos.....	24
Humedad Residual.....	24
Cenizas totales e insolubles en ácido clorhídrico	25
Sustancias solubles	25
III.2 Tamizaje fitoquímico	26
III.3 Determinación de Fenoles totales	27
III.4 Determinación de Flavonoides totales	29
III.5 Determinación de la Actividad Antioxidante.....	31
CAPITULO IV: CONCLUSIONES	33
CAPITULO V: RECOMENDACIONES	34
ANEXOS.....	44

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1: <i>E. churutensis</i> X. Cornejo, A: Ramas terminales con inflorescencias ramiflorosas en flor; B: Primer plano de una inflorescencia.....	8
Figura 2: Ubicación geográfica de <i>E. churutensis</i> X. Cornejo.....	8
Figura 3: Determinación de Humedad por el Método gravimétrico de estufa.	9
Figura 4: Determinación de Cenizas.....	10
Figura 5: Espectro Electromagnético.....	13
Figura 6: Espectrofotómetro UV Visible.....	13
Figura 7: Componentes de un espectrofotómetro.	14

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Taxonomía de <i>E. churutensis</i> X. Cornejo	7
Tabla 2: Tamizaje fitoquímico general	12
Tabla 3: Tamizaje fitoquímico para determinar fenoles y flavonoides.....	19
Tabla 4: Humedad Residual de hojas de <i>E. churutensis</i> X. Cornejo.....	24
Tabla 5: Porcentaje de Cenizas en hojas de <i>E. churutensis</i> X. Cornejo.....	25
Tabla 6: Sustancias Solubles obtenida por maceración de hojas de <i>E. churutensis</i> X. Cornejo.....	26
Tabla 7: Sustancias Solubles del extracto etanólico caliente de hojas de <i>E. churutensis</i> X. Cornejo.....	26
Tabla 8: Tamizaje fotoquímico de los extractos de <i>E. Churutensis</i> X. Cornejo	27
Tabla 9: Datos de la curva de calibrado de Ácido Gálico	27
Tabla 10: Absorbancia de la muestra problema	28
Tabla 11: Datos de la curva de calibrado de Quercetina.....	29
Tabla 12: Absorbancias de la muestra para Flavonoides Totales.....	30
Tabla 13: Datos de la curva de calibrado de ácido gálico (solución estándar) a 515 nm	31

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1: Curva de calibrado para Fenoles Totales.....	28
Gráfico 2: Curva de calibrado para Flavonoides Totales	30
Gráfico 3: Curva de Calibrado del ácido gálico para hallar inhibición del DPPH	32

ÍNDICE DE ANEXOS

ANEXO I: Identificación y descripción de la especie-Herbario Guay	44
ANEXO II: Determinación de parametros fisicoquimicos de <i>Eugenia churutensis</i> X. Cornejo.....	46
ANEXO III: Resultados del Tamizaje Fitoquimico, ensayos de Cloruro Férrico y shinoda	47
ANEXO IV: Determinación de Fenoles Totales.....	48
ANEXO V: Determinación de Flavonoides Totales.....	48
ANEXO VI: Determinación de la Actividad Antioxidante <i>in vitro</i>	49

INTRODUCCIÓN

A través del tiempo se ha considerado a las especies vegetales como una fuente de productos medicinales. La industria farmacéutica y los avances en farmacología desplazaron el uso de medicinas naturales y la fitoterapia, aunque en la última década ha habido un retorno al conocimiento etnobotánico. La terapia con plantas medicinales tiene como finalidad curar, prevenir o mitigar enfermedades, además de presentar diversas ventajas, entre las cuales se encuentran: disminución de efectos secundarios, menores contraindicaciones y mejor tolerancia por el organismo (Baulies, G. & Torres, R., 2012).

Myrtaceae es una gran familia que comprende alrededor de 3500-5800 especies agrupadas en 140 géneros distribuidos principalmente en los bosques tropicales de América del Sur, Sudeste de Asia y Australia (Frauches, Amaral, Largueza & Teodoro, 2016; Musthafa *et al.*, 2017). Dentro de esta gran familia se encuentran candidatos prometedores como plantas medicinales, algunas con importancia económica y comercial, como la guayaba (*Psidium spp.*) y clavo de olor (*Syzygium aromaticum*). La mayoría de las frutas tropicales de Myrtaceae pueden crecer bajo condiciones ambientales adversas, tales como: sequías, inundaciones y altas temperaturas, representando una rica fuente de metabolitos secundarios involucrados en la defensa de planta y/o en la adaptación al estrés climático. Entre los productos naturales reportados en esta familia destacan los polifenoles biológicamente activos (Reynertson *et al.*, 2008).

El género *Eugenia* es uno de los más extensos de la familia Myrtaceae con casi 1000 especies distribuidas principalmente en los bosques tropicales del continente americano (Mabberley, 1990). Éste comprende un gran número de especies con diversas aplicaciones terapéuticas (Ogunwande *et al.*, 2005). Tal es el caso de las hojas de *E. uniflora* que es usada en la medicina popular para disminuir los niveles de glucosa en sangre (Matsumura, T., 2000), también como antipirético, antirreumático, antiinflamatorio y contra enfermedades estomacales (Kanazawa, A., Patin, A., & Greene, A., 2000).

Estudios previos sobre la composición química de aceites esenciales de los miembros de este género demostraron que muchas de las especies de *Eugenia* se caracterizan por la abundancia de monoterpenos (Raj, George, Pradeep, & Sethuraman, 2007; Suksamrarn & Brophy, 1987; Alves, Alegrio, Castro & Godoy, 2000); sesquiterpenos (Apel *et al.*, 2005; Martins, Alegrio, Castro & Godoy, 1999; Fischer Limberger, Henriques & Moreno, 2005); y algunas otras mono- y sesquiterpenos oxigenados (Vila, R. *et al.*, 2004; Apel, Sobral, Schapoval & Henriques, 2004; Costa, TR., 2000; Pino, J.A. *et al.*, 2005).

A numerosas especies del género *Eugenia* se atribuyen numerosas propiedades terapéuticas, tales como agente diurético (Auricchio & Bacch, 2003), antidiarréico (Galheigo *et al.*, 2015), antifúngico (Gayoso *et al.*, 2005), antiparasitario (Rodrigues *et al.* 2013; Faqueti *et al.*, 2013), antibacteriano (Benfatti *et al.*, 2010) y antioxidante (Victoria *et al.*, 2012; Siebert *et al.*, 2015). Esto es congruente con la extensa variedad de metabolitos secundarios que han sido reportados para este taxón.

En Ecuador, este género se encuentra representado aproximadamente por 29 especies, las cuales se hallan en los bosques andinos (Ulloa & Jorgensen, 1993), y las demás están distribuidas en las diferentes provincias del país, como la provincia de Loja, Manabí, Cotopaxi, Carchi, Sucumbíos, Bolívar, Napo, y finalmente en la provincia de Guayas donde se encuentran dos especies endémicas *E. concava* B. Holst & M.L. Kawas y *E. churutensis* X. Cornejo (Fernández-Fernández *et al.*, 2015).

Estudios realizados a *E. churutensis* X. Cornejo determinaron que la composición química del aceite esencial obtenido de las hojas presenta como principales constituyentes sesquiterpenos oxigenados (48.3%), sesquiterpenos hidrocarbonados (26.4%), monoterpenos hidrocarbonados (13.8%) y aldehídos (11.6%). Por otro lado, el tamizaje fitoquímico realizado a extractos en agua y etanol demostraron un alto contenido de alcaloides, azúcares reductores, triterpenos, esteroides, taninos, saponinas, flavonoides y fenoles (Sornoza & Morales, 2018).

Las investigaciones sobre radicales libres han permitido establecer que estos poseen una relación directa con el desarrollo de diversas enfermedades de tipo neurodegenerativo, carcinogénesis, y el envejecimiento. Actualmente, debido a los

efectos perjudiciales de estas sustancias, se han realizado numerosos estudios a compuestos con potencial actividad antioxidante, pues se ha sugerido que los mecanismos de acción de estas moléculas podrían disminuir los efectos biológicos de los radicales libres en el organismo (González, 2000).

Con la finalidad de ampliar los estudios de investigación sobre la especie endémica *E. churutensis* X. Cornejo, se decide analizar la posible actividad antioxidante presente en las hojas de esta especie vegetal.

PROBLEMA

De acuerdo con los antecedentes recogidos a modo de introducción se establece el planteamiento del problema de investigación:

FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Presentarán las hojas de *Eugenia churutensis* X. Cornejo potencial actividad antioxidante?

JUSTIFICACIÓN E IMPORTANCIA

Un radical libre es un átomo o molécula que contiene un electrón desapareado, que durante el metabolismo aerobio hace que se produzcan sustancias oxidantes, tales como el anión superóxido y peróxido de hidrógeno, entre otras, que también se pueden generar por otras fuentes exógenas. La producción excesiva de estas sustancias oxidantes favorece al estrés oxidativo el cual está relacionado con los procesos inflamatorios y disfunción endotelial, considerado como el factor de riesgo principal de enfermedades cardiovasculares (Méndez, 2010).

Al estrés oxidativo se le han relacionado diversas enfermedades tales como los cambios endocrinos en la menopausia, la pérdida de masa muscular (Zacarías-Flores M, *et al.*, 2018), obesidad (Gutiérrez L, *et al.*, 2015), envejecimiento prematuro (Harman, D., 2001), cáncer (Llacuna & Mach, 2012), enfermedades cardiovasculares (Delgado & Martínez, 2009) e incluso daños provocados a nivel del ADN, tales como mutaciones somáticas y posiblemente transformaciones malignas (González-Torres, Betancourt-Rule & Ortiz-Muñiz, 2000).

Actualmente, existen evidencias de que la diabetes se debe principalmente a un desequilibrio bioquímico en la producción excesiva de radicales libres, lo que provoca daño oxidativo a las biomoléculas y que no puede ser contrarrestado por los sistemas antioxidantes de defensa (Ramos, Batista, Gómez & Zamora, 2006). Según la Organización Mundial de la Salud (OMS) a escala mundial se calcula que 422 millones de adultos tenían diabetes en 2014, en comparación con 108 millones en 1980. Desde 1980 la prevalencia mundial de la diabetes ha ascendido a casi el doble del 4,7% al 8,5% en la población adulta. En el último decenio, la prevalencia de diabetes ha

aumentado con más rapidez en los países de ingresos medianos que en los de ingresos altos (OMS, 2016).

En Ecuador, la diabetes afecta a la población con tasas cada vez más elevadas. Según la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición (ENSANUT), la prevalencia de diabetes en la población de 10 a 59 años es de 1.7% aproximadamente. Esa proporción aumenta a partir de los 30 años de edad, y a los 50, uno de cada diez ecuatorianos ya padece diabetes (OPS, 2016)

Para contrarrestar las afecciones ocasionadas por los radicales libres y el estrés oxidativo, diversos estudios proponen el consumo de especies vegetales ricas en metabolitos que ejercen actividad antioxidante, tal es el caso de los carotenoides como: el licopeno, β -carotenos presentes en el tomate crudo y zumo fresco, sandía, pomelo rosado, papaya, albaricoque rojo y guayaba rosada (Platz & Giovannucci, 2006; Key *et al.*, 2007; Giovannucci, 2002; Kim *et al.*, 2003); flavonoides o fitoestrógenos como: genisteína, quercetina, fisetina, presentes en cebolla, ajo, granada, brócoli, manzana, uva (Chan, Lok & Woo, 2009); polifenoles como: carnosol, curcumina, resveratrol, presentes en el romero, hierbabuena, tomillo, orégano, piperita, poleo, entre otros (Johnson, 2011).

Gracias a previos ensayos fitoquímicos, se estima que la especie a estudiar posee un alto contenido de componentes que presentan potencial actividad antioxidante, por lo que se decide realizar la evaluación de esta actividad en las hojas de la especie *E. churutensis* X. Cornejo

HIPÓTESIS

Presentará el extracto etanólico obtenido de las hojas de *Eugenia churutensis* X. Cornejo potencial actividad antioxidante.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

- Evaluar la actividad antioxidante del extracto etanólico obtenido de las hojas de *E. churutensis* X. Cornejo.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar los parámetros fisicoquímicos de las hojas de *E. churutensis* X. Cornejo.
2. Identificar mediante tamizaje fitoquímico la presencia de fenoles y flavonoides en el extracto etanólico obtenido de las hojas de *E. churutensis* X. Cornejo.
3. Cuantificar los porcentajes de fenoles y flavonoides totales presentes en el extracto etanólico obtenido de las hojas de *E. churutensis* X. Cornejo.
4. Evaluar la actividad antioxidante por medio de la captura del radical libre DPPH en el extracto etanólico obtenido de las hojas de *E. churutensis* X. Cornejo.

CAPÍTULO I: MARCO TEÓRICO

I.1 Taxonomía, Morfología Y Distribución Geográfica de *Eugenia churutensis* X. Cornejo

Eugenia es un género perteneciente a la familia Myrtaceae y se encuentra distribuido en todo el mundo. Aproximadamente 2000 especies están distribuidas a lo largo de zonas tropicales y subtropicales (McVaugh, 1963; Sánchez, 1990). En Ecuador, han sido registradas 29 especies del género *Eugenia*, pero se estima que existen 30 especies que aún no han sido reportadas (León, 1999). En la **Tabla 1** se observa la posición taxonómica de la especie en estudio.

Tabla 1: Taxonomía de *E. churutensis* X. Cornejo

Reino	Plantae
Filo	Tracheophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Mirtales
Familia	Myrtaceae
Género	<i>Eugenia</i>
Especie	<i>Eugenia churutensis</i> X. Cornejo

Fuente: Cornejo, 2017

En cuanto a su morfología (**Figura 1**), se presenta como un árbol de 7 m de altura, de corteza exfoliante, cuyas ramas terminales se caracterizan por ser glabras. Sus hojas son cartáceas, que van de elípticas a lanceoladas y oscilan entre 13 a 18 x 5 a 8 cm aproximadamente. Éstas son acuminadas en el ápice, y redondeadas en la base, la vena central está acanalada longitudinalmente hacia arriba, en la cual se observan entre 9-10 venas laterales en cada lado. La floración ocurre una vez por año en el mes de febrero, por dos semanas aproximadamente. Se presentan de 8 a 30 flores blancas, sus brotes son bracteados, contraídos, parecen ramificados y fasciculados. No se observan frutos (Cornejo, 2005).

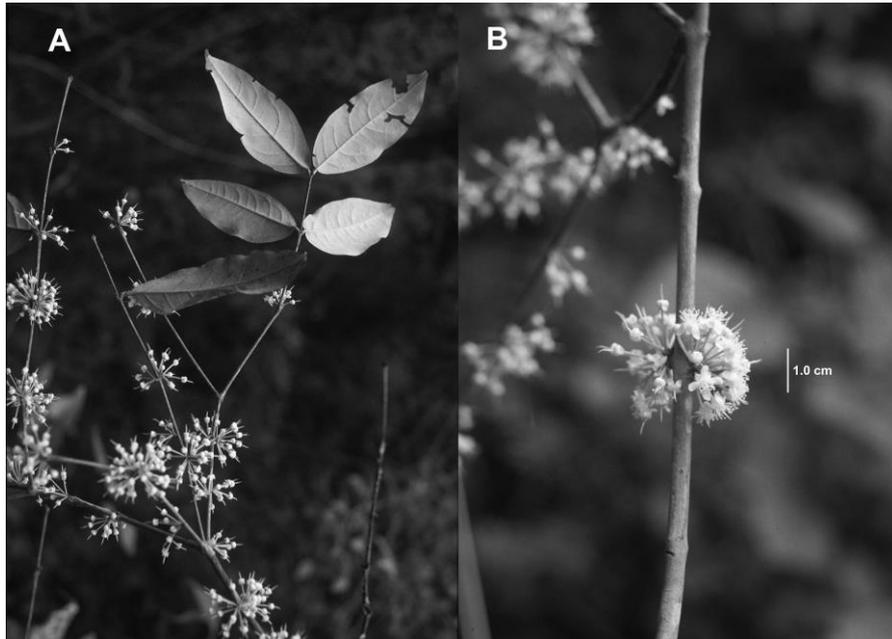


Figura 1: *E. churutensis* X. Cornejo, **A:** Ramas terminales con inflorescencias ramiflorosas en flor; **B:** Primer plano de una inflorescencia

Fuente: Cornejo, 2005

La especie *E. churutensis* X. Cornejo se encuentra en las zonas más bajas de la Reserva Fundación Andrade, una empresa privada propiedad adyacente a la Reserva Ecológica Manglares Churute (**Figura 2**). En ambas reservas se encuentra la misma vegetación forestal ya que estas crecen en bosques tropicales secos, caducifolios, con vegetación secundaria, en suelos básicos, sedimentarios (Cornejo, 2005).

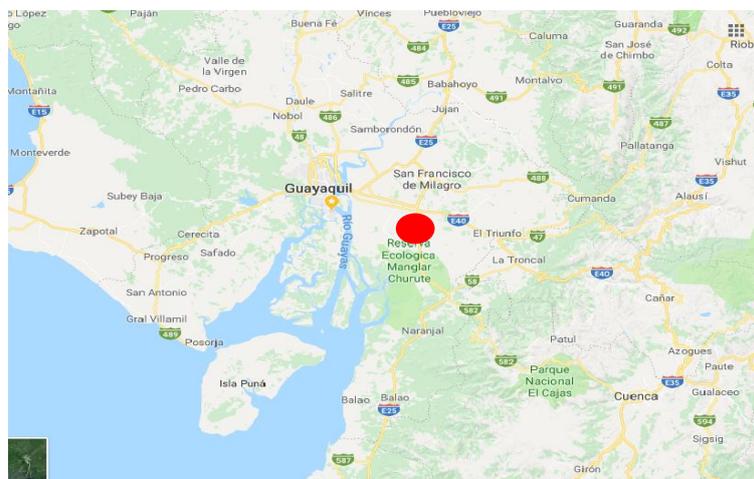


Figura 2: Ubicación geográfica de *E. churutensis* X. Cornejo

Fuente: Google Maps, 2018

I.2 Parámetros fisicoquímicos

Determinación de Humedad Residual

Para determinar el contenido de humedad en material vegetal, debe establecerse límites de aceptación. Esto es importante especialmente para aquellas especies vegetales que absorben la humedad fácilmente o se deterioran rápidamente en presencia de agua. La prueba de pérdida de agua en el secado es uno de los análisis que determina tanto el agua como la materia volátil, este secado puede llevarse a cabo calentando a temperaturas de 100 a 105 °C en una estufa (**Figura 3**) o en un desecador durante un período de tiempo especificado según las normas establecidas (WHO, 2011).



Figura 3: Determinación de Humedad por el Método gravimétrico de estufa.

Fuente: Franco, 2011

Determinación de Cenizas

Las cenizas que se obtienen después de la ignición (**Figura 4**) de los materiales vegetales pueden determinarse por tres diferentes métodos que miden la ceniza total, las cenizas insolubles en ácido y las cenizas solubles en agua. El método de cenizas totales está diseñado para medir la cantidad total de material restante después de la ignición, esto incluye tanto "ceniza fisiológica", que se deriva del tejido de la planta en sí, y la ceniza "no fisiológica", que es el residuo de la materia extraña (por ejemplo, arena y tierra) que se adhiere a la superficie de la planta. La ceniza insoluble en ácido es el residuo que se obtiene después de la ebullición de la ceniza total diluida ácido clorhídrico, esto mide la cantidad de sílice presente, especialmente como arena y tierra

silíceas. La ceniza soluble en agua es la diferencia en peso entre la ceniza total y el residuo después del tratamiento de la ceniza total con agua (WHO, 2011).



Figura 4: Determinación de Cenizas

Fuente: Cruz, 2012

Sustancias solubles

Este método determina la cantidad de componentes activos extraídos de una cantidad dada de material vegetal con diferentes solventes (WHO, 2011). El fundamento se basa en que una sustancia es más soluble en un disolvente cuando sus estructuras están íntimamente relacionadas, de acuerdo a su peso molecular, o su polaridad (Brieger, 1970). En relación a la polaridad tiene que ver con el hecho de que hay moléculas asimétricas en las que, debido a la concentración de electrones en sus átomos constituyentes, existirá una mayor posibilidad de formar un dipolo, de esta manera las moléculas con simetría espacial no forman dipolo y por lo tanto las sustancias por ellas formadas no son polares, lo cual explica gran parte de los fenómenos de solubilidad (Nuñez, 2008).

I.3 Métodos de extracción

Los métodos de extracción con Soxhlet y maceración son los más utilizados para determinar cualitativamente la presencia de metabolitos secundarios a través del tamizaje fitoquímico (Hemalatha, Nivetha, Mohanapriya, Sharmila, Muthukumaran & Gopinath, 2015).

Maceración

Se entiende por maceración al contacto del material vegetal con un solvente determinado, entre los más utilizados se pueden mencionar, el agua, etanol, metanol, hexano, acetona, entre otros. Constituyendo un conjunto homogéneamente mezclado en el cual el solvente actúa simultáneamente sobre todas las proporciones de la droga, circulando a través en todas las direcciones y sentidos, disolviendo sus principios activos hasta producirse una concentración en equilibrio con la del contenido celular, durante un tiempo prolongado que puede variar de horas a días, según lo establezca el investigador (Carriño & García, 2010).

Extracción en caliente

Consiste en la interacción de fases, entre el producto a extraer y el disolvente, volviéndose más factible que la maceración debido a que se utiliza calor para acelerar el proceso. Aunque una desventaja de esta extracción hace que se destruya ciertas propiedades del material vegetal, por lo cual es importante conocer el punto de ebullición del solvente a utilizar para evitar llegar a este. (Fernarolis, 1975).

I.4 Tamizaje fitoquímico

El tamizaje fitoquímico o "screening" fitoquímico es una de las etapas iniciales de la investigación fitoquímica, que permite determinar cualitativamente los principales grupos de constituyentes químicos presentes en una planta y, a partir de allí, orientar la extracción y/o fraccionamiento de los extractos para el aislamiento de los grupos de mayor interés. Este estudio consiste en la extracción de las diferentes partes de la planta con disolventes apropiados y la aplicación de reacciones de coloración. Estos procedimientos permiten la evaluación rápida, con reacciones sensibles, reproducibles y de bajo costo, los resultados del tamizaje fitoquímico constituyen únicamente una orientación y deben interpretarse en conjunto con los resultados del "screening" farmacológico (Sharapin, N. *et al.*, 2000). En la **tabla 2** observamos el tamizaje fitoquímico general:

Tabla 2: Tamizaje fitoquímico general

ENSAYO	METABOLITO
Sudan	Compuestos grasos
Dragendorff	Alcaloides
Wagner	Alcaloides
Baljet	Compuestos con agrupamiento lactónico
Borntreger	Quinonas
Liebermann-Buchard	Triterpenos Esteroides
Catequinas	Catequinas
Resinas	Resinas
Fehling	Azúcares reductores
Espuma	Saponinas
Cloruro Férrico (FeCl₃)	Compuestos fenólicos taninos
Shinoda	Flavonoides
Antocianidinas	Estructuras de secuencia C6-C3-C6 del grupo de los flavonoides
Mucilagos	Estructura tipo polisacárido

Fuente: Miranda, M. & Cuéllar, A., 2001

I.5 Espectrofotometría

La espectrofotometría es una técnica analítica que permite determinar la concentración de un compuesto, basándose en la absorción de las radiaciones electromagnéticas. Las longitudes de onda de las radiaciones que una molécula puede absorber y la eficiencia con la que se absorben dependen de la estructura atómica y de las condiciones del medio. En espectrofotometría de absorbancia se utilizan las regiones del ultravioleta de 195-400 nm y el visible 400-780 nm (**Figura 5**) (Abril-Díaz, *et al.*, 2010).

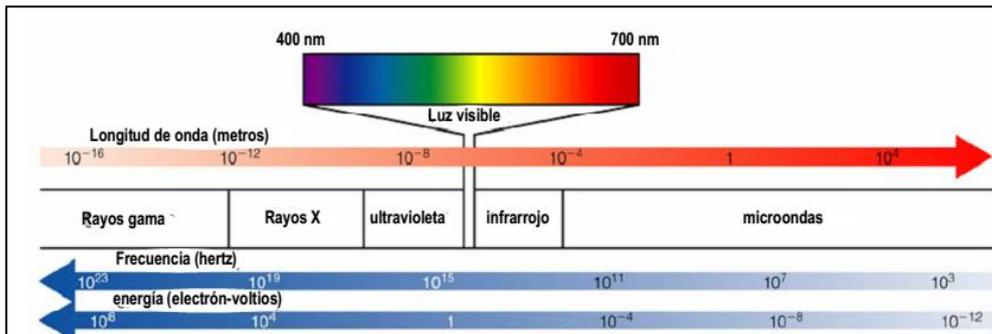


Figura 5: Espectro Electromagnético

Fuente: Abril-Díaz, *et al.*, 2010

Espectrofotómetro

El espectrofotómetro UV (**Figura 6**) es un instrumento para desarrollar análisis espectroscópicos basados en las absorciones de radiación UV que tienen lugar en el analito, debido a las transiciones electrónicas que este puede experimentar [principalmente de 200 a 400 nm (UV cercano)]. Estos equipos pueden estar equipados con un sólo detector o un detector multicanal, configurados por medidas con un solo rayo (SB) o doble rayo (DB) y designados para la medición de una longitud fija o para adquirir un espectro de absorción completo (Arenas & López, 2004).



Figura 6: Espectrofotómetro UV Visible

Fuente: Autora

Componentes del espectrofotómetro

Pese a la variedad de los diseños de este equipo, se puede indicar que los principales componentes de un espectrofotómetro son (**Figura 7**):

Una fuente de energía radiante, por lo general puede ser una lámpara de deuterio y tungsteno. Un monocromador para la selección de radiaciones de una determinada longitud de onda compuesto por filtros, prismas, redes de difracción. Un compartimento que contenga la muestra, las cuales van a estar colocadas en cubetas que pueden ser de vidrio, cuarzo o plástico transparente. Un detector de luz y un amplificador que se encarga de convertir las señales luminosas en señales eléctricas. Y finalmente un registrador o sistema de lectura de datos (Abril-Díaz, *et al.*, 2010).

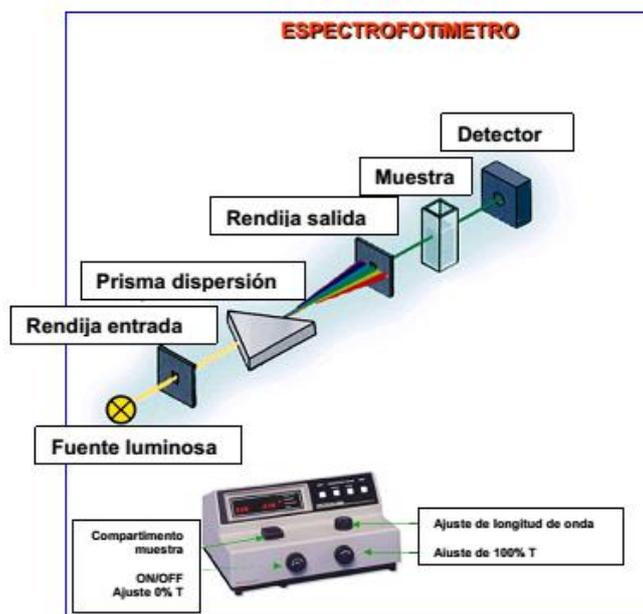


Figura 7: Componentes de un espectrofotómetro.

Fuente: Abril-Díaz, *et al.*, 2010

I.6 Actividad Antioxidante DPPH

Es uno de los análisis de captación de radicales libres, la molécula 1,1-difenil-2-picril-hidrazilo (DPPH) es conocida como un radical libre estable debido a la deslocalización de un electrón desapareado sobre la molécula completa. Cuando la solución de DPPH reacciona con el sustrato antioxidante, que puede donar un átomo de hidrógeno, el color violeta se desvanece. (Tovar, 2013)

CAPÍTULO II. MARCO METODOLÓGICO

II.1 METODOLOGÍA DE LA INVESTIGACIÓN

El método empleado para el desarrollo de este proyecto es de tipo experimental y descriptivo, el cual se basó en la obtención de evidencias reales mediante la utilización de una serie de técnicas ya establecidas con la finalidad de conocer los parámetros físicos-químicos tales como la humedad, cenizas, sólidos solubles, así como también la actividad antioxidante de las hojas de *Eugenia churutensis* X. Cornejo. Estas técnicas fueron llevadas a cabo en el Laboratorio de Química Orgánica II y Laboratorio de Análisis Orgánico de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guayaquil.

II.2 EQUIPOS, APARATOS, MATERIALES Y REACTIVOS

II.2.1 EQUIPOS

- Balanza Analítica marca BOECO BBL-31
- Estufa marca TREAS
- Mufla marca ELEKTRO
- Espectrofotómetro marca Shimadzu

II.2.2 APARATOS

- Hornilla eléctrica marca IMACO
- Soporte universal

II.2.3 MATERIALES

- Cisoles de 50ml
- Espátulas
- Beackers
- Balón de 500ml
- Condensador de serpentina
- Matraces de 100ml y 250ml
- Tubos de ensayo
- Pipetas graduadas

- Pipetas volumétricas
- Micropipetas (100 uL)
- Pipeta pasteur
- Auxiliares de pipetas
- Fiolas elenmeyer
- Embudos
- Papel filtro
- Probeta graduada (50 mL y 100 mL)
- Vidrio reloj
- Mangueras
- Pinzas

II.2.4 REACTIVOS

- Agua destilada
- Etanol
- Cloruro férrico al 5%
- Acetato de sodio
- Ácido clorhídrico al 10%
- Folin Ciocalteu
- Cloruro de aluminio al 10%
- Carbonato de sodio
- Quercetina
- Ácido gálico
- DPPH

II.3 MUESTRA

La muestra utilizada, son las hojas de *Eugenia churutensis* X. Cornejo las cuales fueron previamente recolectadas en la Reserva Ecológica Andrade, Km 43 vía Guayaquil Machala, a su vez esta especie fue identificada y descrita por el M.Sc. Xavier Cornejo, quién reportó por primera vez la especie endémica.

Las hojas fueron cortadas, secadas y pulverizadas para los posteriores análisis realizados.

II.4 TÉCNICAS Y MÉTODOS

II.4.1 Determinación de parámetros Fisicoquímicos

II.4.1.1 Humedad residual

Se empleó el método gravimétrico, utilizando el material vegetal previamente secado, se pesó un crisol vacío y posterior a ello tarando se pesó 2 g de muestra en una balanza analítica y fue llevado a una estufa durante 5 horas a 105 °C. Pasado el tiempo indicado, la cápsula se retiró de la estufa y se colocó en el desecador, donde se dejó enfriar a temperatura ambiente, se pesó y se volvió a colocar en la estufa durante 1 h, así sucesivamente hasta obtener una masa constante. Repetir el ensayo por triplicado. Expresión de los resultados:

$$\%H = \frac{M_2 - M_1}{M_2 - M} \times 100$$

Donde:

% H = pérdida en peso por desecación (%)

M2 = masa de la cápsula con la muestra de ensayos (g)

M1 = masa de la cápsula con la muestra de ensayo desecada (g)

M = masa de la cápsula vacía

100 = factor matemático

II.4.1.2 Cenizas Totales

Se pesan 2 g de muestra vegetal en un crisol de porcelana (previamente pesado), se procede a incinerar en una mufla a una temperatura entre 550-600 °C hasta obtener residuo de color blanco o grisáceo (3 a 4 h aproximadamente). Se deposita el sistema (crisol-muestra) en un desecador para que se enfríe a temperatura ambiente y se vuelve a pesar (Miranda & Cuellar 2000), en este se determinó el residuo inorgánico que queda después de calcinar las drogas. El procedimiento se realiza por triplicado. Las masas determinadas son sustituidas en la siguiente ecuación:

$$\%C = \frac{N}{P} \times 100$$

Donde:

N= gramos de cenizas

P= gramos de la muestra

100= factor matemático

II.4.1.3 Cenizas Insolubles en Ácido Clorhídrico

Para la determinación de sustancias minerales insolubles en ácido clorhídrico se utilizó igualmente el método gravimétrico para las cenizas totales y estas se disuelven en 25 mL de HCl. Calentar en baño hirviente por 5 minutos. Filtrar cuantitativamente a través de papel filtro libre de cenizas, enjuagar la cápsula y el filtro con agua caliente. Colocar el filtro en la cápsula e incinerar. Para los cálculos se utiliza la ecuación:

$$\%C. HCl = \frac{M_2 - M}{M_1 - M} \times 100$$

Donde:

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

M₁= masa del crisol con la porción de ensayos (g)

M = masa del crisol vacío (g)

M₂= masa del crisol con las cenizas ácido clorhídrico (g)

100= factor matemático

II.4.2 Determinación de sustancias solubles

II.4.2.1 Maceración

Se pesó 1 g del material vegetal molido, luego se colocó en un recipiente de vidrio con tapa, se adiciono 10 mL del disolvente, macerar durante 6 horas con agitación constante luego se dejó reposar durante 18 horas a temperatura ambiente. Transcurrido este tiempo, se procedió a filtrar, el filtrado se llevó a una estufa a 40°C y se evaporo hasta sequedad, se enfrió y se pesó para calcular el contenido de materia extraíble.

II.4.2.2 Extracción en caliente

Se pesó aproximadamente 20 g de material vegetal molido, en un balón de vidrio, se adicionó 300 mL de etanol y se dejó reposar durante 1 hora. Luego se conectó el balón a un condensador y se calentó durante 1 hora sin llegar a ebullición. Se dejó enfriar y se filtró rápidamente a través de un papel de filtro. El filtrado se llevó a una estufa a 40°C y se evaporó hasta sequedad, se enfrió y se pesó para calcular el contenido de materia extraíble. Para ambos extractos se tomó en cuenta la siguiente ecuación:

$$\%SS = \frac{R}{M} \times 100$$

Donde:

%SS = porcentaje de sustancias solubles

R= masa del residuo

M= masa de la muestra utilizada

100= factor matemático

II.4.3 Tamizaje Fitoquímico

En el extracto obtenido por maceración, se realizaron diferentes ensayos cualitativos, tales como el ensayo de Cloruro Férrico al 10% y Shinoda los cuales consisten en reacciones químicas de identificación, mediante las cuales se dan cambios de coloración o formación de precipitados, con la finalidad de determinar la presencia de metabolitos secundarios como fenoles y flavonoides que puedan estar presentes en el material vegetal. Las pruebas fueron realizadas en el Laboratorio de Análisis Orgánico de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Guayaquil. (Miranda, M. & Cuéllar, A., 2001). En la **Tabla 3** se observa el procedimiento que se llevara a cabo para estos análisis

Tabla 3: Tamizaje fitoquímico para determinar fenoles y flavonoides

Ensayo	Metabolito	Procedimiento	Observación
Cloruro Férrico (FeCl₃)	Compuestos fenólicos taninos	Si el extracto es acuoso se añade acetato de sodio para neutralizar y 3 gotas de una solución de FeCl ₃ al 5% en	Coloración roja – vino, verde intenso, azul

		solución salina fisiológica. A una alícuota del extracto alcohólico se adiciona el reactivo.	
Shinoda	Flavonoides	Si la alícuota del extracto se encuentra en alcohol, se diluye con 1 mL de HCl concentrado y un pedacito de cinta de magnesio metálico, se espera 5 minutos, se añade 1 mL de alcohol amílico, se mezclan las fases y se deja reposar hasta que se separen.	Cuando la fase del alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, carmelita o rojo; intenso en todos los casos.

Fuente: Miranda, M. & Cuéllar, A., 2001

II.4.4 Determinación de Fenoles totales

Se determinó el contenido de fenoles totales según lo descrito por (Samaniego, 2006) para lo cual se propone la siguiente metodología.

Preparación de los reactivos

Solución patrón: se pesaron 12,5 mg de ácido gálico en matraces volumétricos de 25 mL y se llevó a volumen con agua destilada, la concentración fue de 500 mg/L esto se realizó por triplicado.

Solución de Carbonato de Sodio al 10%: se pesó 10 g de Na_2CO_3 y se llevó a un matraz volumétrico de 100 mL con agua destilada en caliente, se enfrió y se filtró.

Solución de Folin-Ciocalteu: se tomó 5 mL del reactivo 2 N y se llevó a volumen en un matraz de 50 mL con agua destilada.

Preparación de la muestra

A partir de 20 g de las hojas secas y pulverizadas, mediante la extracción en caliente se obtuvieron 3,721 g de residuo del extracto etanólico, el cual se procedió a concentrar a 65400 mg/L. De este extracto se realizaron diferentes diluciones a concentraciones de 3270 mg/L, 2616 mg/L, 1962 mg/L, 654 mg/L y 65,4 mg/L.

Curva de calibrado

Se preparó a partir de la solución madre de ácido gálico, tomando volúmenes de 1, 2, 3, 5 y 7 mL llevándolos a volumen en matraces de 10 mL hasta enrase. Las concentraciones de estas soluciones son de 50, 100, 150, 250 y 350 mg/L respectivamente. De cada una de estas soluciones se tomó 100 µL y se llevó a un matraz aforado de 10 mL, se adiciona 0,5 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu, y 2 mL de Na₂CO₃ al 20%, se agito bien y se llevó a volumen con agua destilada. Se dejó reposar por 30 minutos y se leyó su absorbancia a 725 nm usando agua destilada como blanco.

Muestra problema

Se tomó 100 µL de la solución preparada para la muestra y se llevó a un matraz volumétrico de 10 mL, se adiciono 0,5 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu, 2 mL de Na₂CO₃ al 20% y se enraso con agua destilada, se dejó reposar por 30 minutos y se leyó su absorbancia a 725 nm, por triplicado. Los resultados se expresan como ácido gálico en mg/mL

II.4.5 Determinación de flavonoides

Se determinó la concentración de flavonoides según lo descrito por (Pourmorad *et al.*, 2006) para lo cual se propone la siguiente metodología.

Preparación de los reactivos

Solución patrón: se pesaron 80 mg de quercetina en un matraz volumétrico de 100 mL y se llevó a volumen con etanol al 96%, la concentración fue de 800 mg/L.

Solución de Tricloruro de Aluminio al 10%: se pesó 10 g de AlCl₃ y se llevó a un matraz volumétrico de 100 mL con etanol.

Solución de Acetato de Potasio 1 M: se pesó 9,8 g de acetato de potasio y se llevó a un matraz volumétrico de 100 mL con agua destilada.

Preparación de la muestra

A partir de 20 g de las hojas secas y pulverizadas, mediante la extracción en caliente se obtuvieron 3,721 g de residuo del extracto etanólico, el cual se procedió a concentrar a 65400 mg/L. De este extracto se realizaron diferentes diluciones a concentraciones de 2616 mg/L, 1962 mg/L, 654 mg/L y 65,4 mg/L.

Curva de calibrado

Se prepararon a partir de la solución madre de quercetina seis (6) soluciones, tomando volúmenes de 1, 3, 5, 10, 30 y 40 mL llevándolos a volumen en matraces de 100 mL hasta enrase con etanol al 96%. Las respectivas concentraciones de estas soluciones son 8, 24, 40, 80, 240 y 320 mg/L. De cada una de estas soluciones se tomó 500 µL y se llevó a tubos de ensayos, se adicione 1,5 mL de etanol al 96%, más 100 µL de la solución de AlCl_3 al 10%, 100 µL de la solución de Acetato de potasio 1 M, por último, se agregaron 2,8 mL de agua destilada, se agito y se dejó reposar por 30 minutos. Se leyó su absorbancia a 415 nm usando etanol como blanco.

Muestra problema

Se tomaron 500 µL de la dilución preparada para la muestra y se llevó a un tubo de ensayo se adicione 1,5 mL de etanol al 96%, más 100 µL de la solución de AlCl_3 al 10%, 100 µL de la solución de acetato de potasio 1 M, por último se agrega 2,8 mL de agua destilada se agito y se dejó reposar por 30 minutos. Se leyó su absorbancia a 415 nm se realizó el análisis por triplicado.

II.4.6 Actividad Antioxidante *in vitro*

En esta metodología se busca evaluar mediante la capacidad captadora del radical DPPH, la capacidad antioxidante de los extractos. Se propone la utilización de la metodología descrita por (Cruzado, Pastor, Castro, & Cedrón, 2013)

Preparación de los reactivos

Solución patrón: se pesaron 2,5 mg de ácido gálico en un matraz volumétrico de 50 mL y se llevó a volumen con etanol al 96%, la concentración fue de 50 mg/L.

Solución de DPPH: se pesó 3 mg de DPPH y se llevó a un matraz volumétrico de 50 mL con etanol.

Preparación de la muestra

A partir de 20 g de las hojas secas y pulverizadas, mediante la extracción en caliente se obtuvieron 3,721 g de residuo del extracto etanólico, el cual se procedió a concentrar a 65400 mg/L. De este extracto se realizó una dilución a una concentración de 3270 mg/L.

Curva de calibrado

Se prepararon a partir de la solución madre de ácido gálico cinco (5) soluciones, tomando volúmenes de 1, 2, 3, 4, y 5 mL llevándolos a volumen en matraces de 10 mL hasta enrase con etanol al 96%. Las respectivas concentraciones de estas soluciones son 5, 10, 15, 20, y 25 mg/L. De cada una de estas soluciones se tomó 200 μ L y se llevó a tubos de ensayos, se adiciono 2 mL de la solución de DPPH, se agito y se dejó reposar por 30 minutos. Se leyó su absorbancia a 517 nm usando etanol como blanco.

Muestra problema

Se tomaron 200 μ L de la dilución preparada para la muestra y se llevó a un tubo de ensayo se adiciono 2 mL de la solución de DPPH, se agito y se dejó reposar por 30 minutos. Se leyó su absorbancia a 517 nm se realizó el análisis por triplicado.

CAPITULO III RESULTADOS Y DISCUSIONES

III.1 Determinación de los parámetros fisicoquímicos

A las hojas de la especie se le determinaron los parámetros fisicoquímicos como: humedad residual, cenizas totales, cenizas insolubles en ácido clorhídrico, sustancias solubles en etanol y agua.

Humedad Residual

Para el análisis de humedad residual de las hojas de *E. churutensis* X. Cornejo, se procedió a secarlas al ambiente por tres días y después en una estufa a 40 °C por tres días. Después se trituraron manualmente y se utilizó el método gravimétrico para su análisis donde se pesaron inicialmente 2 g aproximadamente de las hojas.

Estudios realizados a la especie *Eugenia clarensis* muestran que el porcentaje de humedad residual es 5.33% (Puerto, 2014), para la especie *Eugenia uniflora* el resultado es 8% (Morel, 2017), Las Normas y Farmacopeas establecen, en dependencia del material vegetal, un contenido de humedad residual entre 8 y 14 % (LouZhi-cen, 1980), comparando los resultados obtenidos para *E. churutensis* y lo descrito en la bibliografía el porcentaje de humedad residual se encuentra dentro de estos valores reportados para especies del mismo género. En la **Tabla 4** se refleja el resultado de humedad residual, el cual se realizó por triplicado, se calculó la media y coeficiente de variación respectivamente.

Tabla 4: Humedad Residual de hojas de *E.churutensis* X.Cornejo

N°	Humedad (%)
1	6,33
2	6,23
3	6,47
Promedio	6,34
CV (%)	1,92

Elaborado por: Autora

Cenizas totales e insolubles en ácido clorhídrico

Las cenizas restantes, obtenidas después de la ignición de los materiales a base de hierbas incluyen cenizas fisiológicas, que se deriva del tejido de la planta en sí, y la ceniza no fisiológica, que es el residuo de la materia extraña; por ejemplo, arena y tierra que se adhiere a la superficie de la planta. Las cenizas insolubles en ácido miden la cantidad de sílice presente, especialmente como arena y tierra silíceas (WHO, 2001).

Los análisis realizados a la especie *Eugenia clarensis* muestra que el valor de cenizas totales es 2.350% y las cenizas insolubles en HCl es 0.594% (Puerto, 2014). En los análisis realizados a otras especies pertenecientes familia Myrtaceas para la especie *Myrciastes halli* muestra que sus resultados de cenizas totales es 8,82 % y en cenizas insolubles en ácido clorhídrico es del 1,07 % (Chávez, 2016). Las Farmacopeas plantean un índice de cenizas totales hasta el 5 % y para cenizas insolubles en ácido clorhídrico es alrededor del 2 % para plantas medicinales (LouZhi-cen, 1980; WHO 1998), comparando los resultados obtenidos para la especie *E.churutensis* sobrepasa los valores tomados como referencias en la bibliografía. En la **Tabla 5** se reflejan los resultados obtenidos para las cenizas totales y cenizas insolubles en ácido clorhídrico

Tabla 5: Porcentaje de Cenizas en hojas de *E. churutensis* X. Cornejo

Parámetro	Porcentaje
Cenizas totales	11,83%
Cenizas insolubles en ácido clorhídrico	8,47%

Elaborado por: Autora

Sustancias solubles

Para la determinación de sustancias solubles se realizó una maceración acuosa y etanólica a temperatura ambiente y los solventes se llevaron a evaporación completa en una estufa a 40 °C y por cálculos de diferencia se obtuvieron los resultados. En la **tabla 6 y 7** se reflejan los resultados obtenidos para los diferentes extractos, se calculó la media y coeficiente de variación respectivamente, estos análisis se realizaron por triplicado, a excepción del extracto etanólico caliente el cual solo se realizó una vez.

Tabla 6: Sustancias Solubles obtenida por maceración de hojas de *E.churutensis* X.Cornejo

N°	Maceración	
	Sustancias Solubles (%)	
	Etanólico	Acuoso
1	17,94	23,55
2	17,71	23,78
3	17,81	23,68
Promedio	17,82	23,67
CV	0,64	0,49

Elaborado por: Autora

Tabla 7: Sustancias Solubles del extracto etanólico caliente de hojas de *E.churutensis* X.Cornejo

Extracción en caliente	Sustancias solubles (%)
Etanólico	18,51

Elaborado por: Autora

Los valores obtenidos para las sustancias solubles obtenidas a partir de maceración acuosa y etanólica muestran que el porcentaje de materia extraíble en las hojas es de naturaleza muy polar dando como resultado 23,67% en comparación de las sustancias solubles del extracto etanólico caliente que tiene como resultado 17,82%. Paradójicamente se puede indicar que estos resultados obtenidos se dan debido a la falta de desecación del extracto acuoso.

III.2 Tamizaje fitoquímico

Los resultados obtenidos en el tamizaje fitoquímico de los extractos acuoso y etanólico de las hojas de *E. churutensis* X. Cornejo se muestran en la **Tabla 8**. El análisis cualitativo de los metabolitos secundarios para los ensayos de Cloruro Férrico y Shinoda mostró la presencia o la ausencia de estos en los diferentes tipos de extractos.

Se puede evidenciar que en el tamizaje de los extractos acuoso y etanólico para la especie de *E. clarensis* tiene como resultado tres cruces para los ensayos de $FeCl_3$ y

Shinoda (Nguyen *et al.*, 2016). Otro análisis realizado a la misma especie evidencia como resultado de su tamizaje fitoquímico frente a dichos ensayos en extracto etanólico tres cruces y en acuoso una cruz (Puerto, 2014).

Tabla 8: Tamizaje fotoquímico de los extractos de *E.Churutensis* X. Cornejo

Ensayo	Metabolito	Maceración	
		Acuosa	Etanólica
FeCl₃	Fenoles y/o Taninos	Azul violeta (+++)	Verde intenso (+++)
Shinoda	Flavonoides	Carmelita (++)	(-)

Elaborado por: Autora

III.3 Determinación de Fenoles totales

Para la determinación de fenoles totales se realizó una curva de calibrado con ácido gálico como estándar obtenido diferentes absorbancias para cada una de las concentraciones que se establecieron. En la **tabla 9** se puede observar los datos de la curva de calibrado de ácido gálico y en el **gráfico 1** se puede apreciar curva de la calibrado.

Tabla 9: Datos de la curva de calibrado de Ácido Gálico

Alícuotas (mL)	Concentración (mg/L)	Absorbancia
1	50	0,09
2	100	0,16
3	150	0,25
5	250	0,41
7	350	0,54

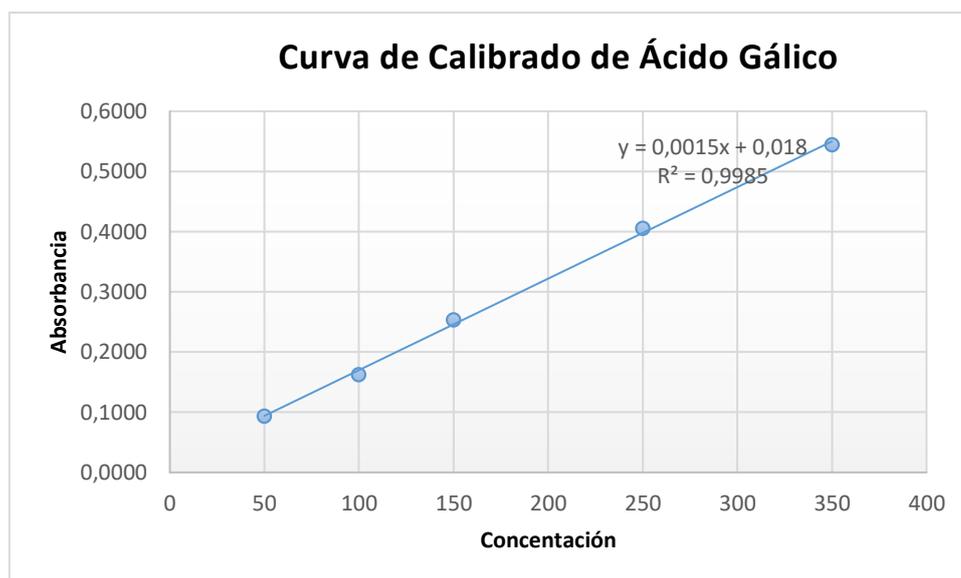


Gráfico 1: Curva de calibrado para Fenoles Totales

Se determinó la cantidad de fenoles totales presentes en el extracto etanólico en caliente de las hojas de *E. churutensis*, por la interpolación de las absorbancias de la muestra en la ecuación de la curva de calibrado. Se estableció que la concentración de fenoles totales en la muestra era de 243,33 mg/L. El valor de la concentración total de la muestra era de 2616 mg/L (obtenida a partir del extracto etanólico luego de la remoción del solvente). Así pues, la relación entre los fenoles y la muestra es de 93,0 mg de fenoles por cada gramo del crudo etanólico llevado a sequedad. Tomando en consideración que el extracto etanólico (3,721 g) se preparó a partir de 20 g de muestra de material vegetal (seco y molido) y asumiendo que todos los derivados fenólicos presentes en las hojas resultaron solubles en etanol, se puede afirmar que hay una cantidad aproximada de 17,3 mg de derivados fenólicos por cada gramo de material vegetal seco. En la **tabla 10** se puede apreciar las absorbancias de la muestra.

Tabla 10: Absorbancia de la muestra problema

Lecturas	Absorbancias
1	0,3829
2	0,3829
3	0,3831
Promedio	0,3830
CV	0,03

Comparando el resultado obtenido con otros estudios de determinación de fenoles totales para el género *Eugenia*, se observa que en la especie *Eugenia clarensis* se reporta un contenido de fenoles totales de 41,90 mg/g de extracto etanólico (Avalos, 2017). Para *Eugenia jamboolana*, la cantidad de derivados fenólicos totales reportada varía de acuerdo a los extractos evaluados (3,98 mg/g en éter de petróleo; 24,27 mg/g

en tolueno; 5,82 mg/g en acetato de etilo; 6,07 mg/g en acetona y 40,94 mg/g en agua) de material vegetal seco (Sukmasari et al., 2018). En la *Eugenia polyantha* fue reportado un valor de 8,20 mg de derivados fenólicos totales por cada por gramo de material vegetal seco extraído con etanol (Othman et al., 2014). Para la especie *Eugenia uniflora* se reportaron 269,65 mg por gramo de extracto etanólico (Suhendi & Hanwar, 2011).

Como puede observarse en los datos anteriormente expuestos, luego de comparar los resultados se observa que la cantidad de fenoles totales depende fundamentalmente de dos factores: la especie estudiada y el extracto estudiado. El resultado obtenido para *E. churutensis* (17,3 mg/g de hojas secas o 93,0 mg/g de extracto) está ubicado entre el rango de los valores señalados en la bibliografía para *E. jamboolana*; es superior a la cantidades reportadas para la especie *E. polyantha* y *E. clarensis* e inferior al de *E. uniflora*.

III.4 Determinación de Flavonoides totales

Para la determinación de flavonoides totales se realizó una curva de calibrado con quercetina como estándar obtenido diferentes absorbancias para cada una de las concentraciones que se establecieron. En la **tabla 11** podemos observar los datos de la y en el **grafico 2** se puede apreciar curva de la calibrado.

Tabla 11: Datos de la curva de calibrado de Quercetina

Alícuotas (ml)	Concentración (mg/L)	Absorbancia
1	8	0,01
3	24	0,06
5	40	0,11
10	80	0,34
30	240	0,98
40	320	1,81

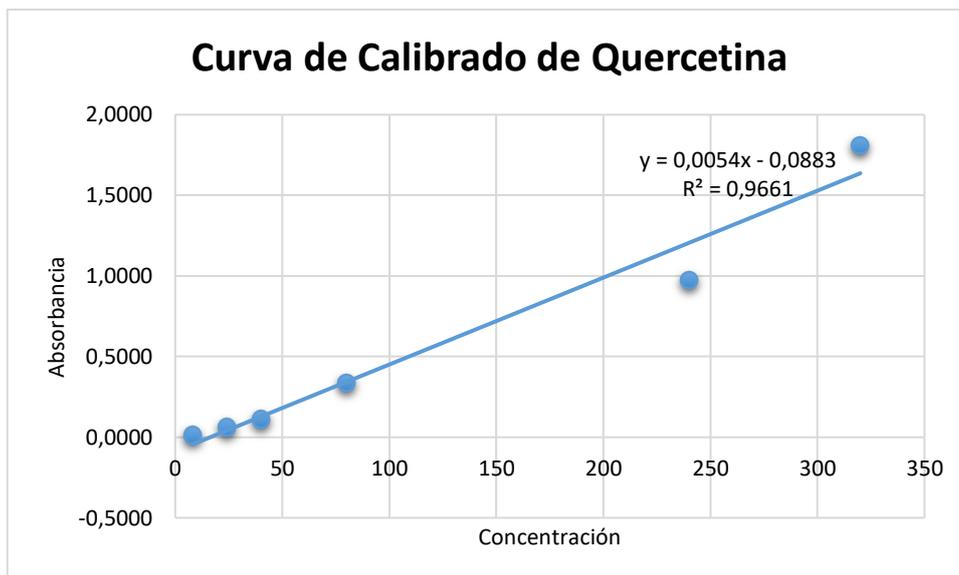


Gráfico 2: Curva de calibrado para Flavonoides Totales

Para expresar la cantidad de flavonoides totales presentes en el extracto etanólico de *E. churutensis* X. Cornejo, se tomó en cuenta la ecuación de la curva de calibrado y con las absorbancias obtenidas, se determinó mediante interpolación de datos la concentración de flavonoides totales la cual dio como resultado 79,28 mg/L. Entonces, se puede afirmar que por cada 1962 mg/L (concentración de la muestra) hay 79,28 mg/L; es decir que por cada gramo de extracto hay 40,41 mg de flavonoides equivalentes a quercetina. Finalmente, por cada gramo de material vegetal seco hay 7,52 mg de flavonoides equivalentes a quercetina. En la **tabla 12** se puede apreciar las absorbancias de la muestra.

Tabla 12: Absorbancias de la muestra para Flavonoides Totales

Lecturas	Absorbancias
1	0,3403
2	0,3379
3	0,3412
Promedio	0,3398
CV	0,50

En la bibliografía se reporta para *Eugenia jamboolana*, una cantidad de flavonoides totales que varía entre 1,11 y 42,90 mg por cada 100 gramos de material vegetal seco dependiendo del extracto estudiado [1,11 mg en éter de petróleo; 42,90 mg en tolueno; 27,03 mg en acetato de etilo; 26,85 mg en acetona y 2,78 mg en agua (Sukmasari et al., 2018)]. En la *Eugenia polyantha* se reporta un valor de 12 mg de flavonoides totales por cada por gramo de material vegetal seco extraído con etanol (Othman et al., 2014), al

contrastar este valor con el resultado obtenido para *E.churutensis* (7,52 mg/g de hojas secas), se hace evidente que el contenido de flavonoides totales duplica al de la especie en estudio. Para la especie *Eugenia uniflora* se reportaron 87,81 mg de flavonoides totales por gramo de extracto etanólico (Suhendi & Hanwar, 2011), al igual que en el caso anterior, la presencia de flavonoides en esta especie duplica al taxón en estudio. (40,41 mg/g de extracto etanólico). Es notorio que en las especies *E. jamboolana* y *E. uniflora* la cantidad de flavonoides totales es menor que la cantidad de derivados fenólicos totales, tal como se ha establecido para *E. churutensis*.

III.5 Determinación de la Actividad Antioxidante

Para determinar la actividad antioxidante del extracto etanólico de las hojas de *E. churutensis* se procedió a realizar una curva de calibración (**Tabla 13, Gráfico 3**) que relaciona diferentes concentraciones ácido gálico con su capacidad para decolorar el radical 1,1-difenil-2-picrilhidracilo (DPPH). La decoloración del DPPH se expresa como porcentaje de inhibición. Finalmente, por interpolación de datos, se estableció que la muestra evaluada de concentración 3270 ppm (absorbancia 0,2891), tiene un porcentaje de inhibición (Q%) de 17,46% (equivalente 10,53 mg de ácido gálico). En concordancia con lo descrito en la literatura (Cruzado et al., 2013), se puede afirmar que 1 g de extracto etanólico de hojas de *E. churutensis* tiene una actividad antioxidante comparable con 3,2 mg de ácido gálico.

Tabla 13: Datos de la curva de calibrado de ácido gálico (solución estándar) a 515 nm

ÁCIDO GÁLICO (PPM)	ABSORBANCIA PATRÓN	ABSORBANCIA ESTANDARIZADA DPPH	RELACIÓN ENTRE ABSORBANCIA	Q (%) AG
0	0,0353	1,6558	0,0000	0
5	0,0359	1,5063	0,1495	9,03
10	0,0364	1,3524	0,3034	18,32
15	0,0370	1,2901	0,3657	22,09
20	0,0375	1,1314	0,5244	31,67
25	0,0381	0,9454	0,7104	42,90

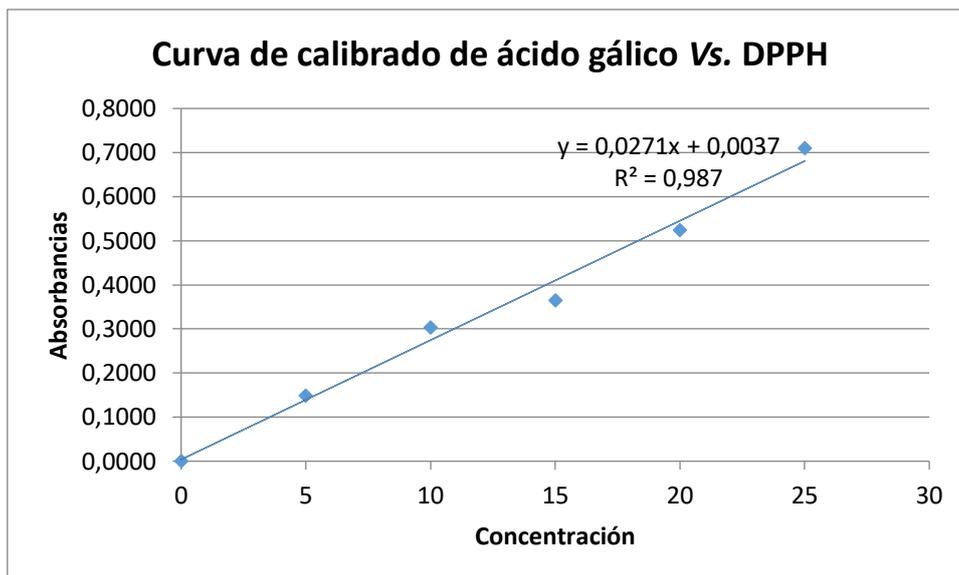


Gráfico 3: Curva de Calibrado del ácido gálico para hallar inhibición del DPPH

Según Sukmasari y colaboradores el porcentaje de inhibición de DPPH (Q) de *Eugenia jambolana* oscila entre 0,20 y 16,39% dependiendo del extracto estudiado a concentraciones de 2000 mg/L (Sukmasari et al., 2018) y Othman y colaboradores han reportado un Q de 60% para el extracto etanólico de *Eugenia polyantha* a una concentración de 2000 mg/L (Othman et al., 2014). El valor de actividad antioxidante obtenido para para las hojas de *E. churutensis*, está dentro del intervalo de valores reportados para *Eugenia jambolana*, tomando en cuenta que el experimento de la presente investigación se desarrolló con una concentración 63,5% más elevada (3270 mg/L), si se efectuará una dilución a 2000 mg/L, el porcentaje de inhibición debería disminuir a un valor de 10,68% aproximadamente.

CAPITULO IV: CONCLUSIONES

De acuerdo a los resultados obtenidos a lo largo de este trabajo se puede concluir lo siguiente:

- La humedad residual se encuentra dentro de los parámetros establecidos para este género el cual dio como resultado una media de 6,34 %.
- La determinación de cenizas totales y las cenizas insolubles en ácido clorhídrico sobrepasan los niveles de aceptación.
- Los extractos analizados, mostraron que el extracto acuoso fue el que presentó el mayor porcentaje de sólidos solubles con un promedio de 23,67%.
- El tamizaje fitoquímico demostró que los extractos etanólico y acuoso poseen un alto contenido de fenoles y flavonoides.
- La concentración de fenoles totales expresados como ácido gálico fue de 17,3 mg por cada gramo de material vegetal seco.
- La concentración de flavonoides expresados como quercetina fue de 7,52 mg por cada gramo de material vegetal seco.
- Un gramo de hojas secas de *E. churutensis* frente a DPPH es comparable con 0,60 mg de ácido gálico.
- Este trabajo es la línea base de la actividad antioxidante presente en la especie *E. churutensis*.

CAPITULO V: RECOMENDACIONES

- Realizar un estudio más minucioso de las cenizas de la especie *E. churutensis*.
- Realizar un estudio cromatográfico amplio que permita aislar y caracterizar los metabolitos secundarios mayoritarios de especie *E. churutensis*.
- Realizar estudios comparativos con extracto de diferente polaridad.
- Desarrollar otros ensayos para la evaluación de la actividad antioxidante (β -caroteno, ORAC, entre otros)

BIBLIOGRAFÍA

- Aguilera, L., Tacoronte, J. Navarro, A., Leyva, M., Bello, A., Cabrera, M., & Marquetti, M., (2004). Composición química y actividad biológica del aceite esencial de *Eugenia melanadenia* (Myrtales: Myrtaceae) sobre *Blattella germanica* (Dictyoptera: Blattellidae). Revista CENIC Ciencias Químicas. Vol. 35. No. 3. Habana. Cuba
- Alves, L.V., Alegrio, L. V., Castro, R. N., & Godoy, R. L. D. (2000). Essential oil of *Eugenia speciosa* Camb. (Myrtaceae) from Rio de Janeiro, Brazil. J. Essent. Oil Res., 12, 693-694
- Apel, M. A., Sobral, M., Schapoval, E. E. S., Henriques, A. T., Menut, C. & Bessiere, J. M. (2005). Volatile constituent of *Eugenia mattsii* Legr. (Myrtaceae). J. Essent. Oil Res., 17, 284-285
- Apel, M.A., Sobral, M., Schapoval, E. E.S. & Henriques, A.T. (2004). Chemical composition of the essential oils of *Eugenia beaurepaireana* and *Eugenia pyriformis*: Section Dichotomae. J. Essent. Oil Res., 16, 191-192
- Arenas Sosa, Iván & López Sánchez, José (2004). Espectrofotometría de absorción. Instituto de Biotecnología. Universidad Nacional Autónoma de México. Maestría en Ciencias Bioquímicas. Cuernavaca
- Avalos Gavilla, A., (2017) Contribución al estudio fitoquímico y farmacológico de la especie *Eugenia clarensis* Britton & P. Wilson. Tesis para optar el Título de Licenciado en Ciencias Farmacéuticas. Santa Clara, Cuba
- Baulies, G. & Torres, R. (2012). *FMC - Formación Médica Continuada en Atención Primaria. Actualización en fitoterapia y plantas*. 19(3). Barcelona. España. Elsevier. Doi: [https://doi.org/10.1016/S1134-2072\(12\)70324-9](https://doi.org/10.1016/S1134-2072(12)70324-9)
- Brieger (1970). Química Orgánica Moderna. Curso Práctico de Laboratorio. Primera Edición en Español. Harper & Row Publishers INC. España.

- Catania, A., & Avagnina, S., (2007). La maceración. Los estímulos dulces del vino. In: Curso superior de degustación de vinos. EEAMendoza. INTA. (Instituto Nacional de Agropecuaria).
- Carrión, A. & García, C., (2010). Preparación de extractos vegetales: determinación de eficiencia de metódica. Tesis previa a la obtención del título de Bioquímica y Farmacéutica. Cuenca. Ecuador
- Chan R, Lok K, Woo J. (2009) Prostate cancer and vegetables consumption. *Mol Nutr Food Res.*53:201-16.
- Chávez, J. (2016). "Evaluación de la actividad cicatrizante del extracto de hojas de arrayán (*Myrcianthes hallii*), in vitro por inhibición de la hialuronidasa e in vivo en heridas inducidas en ratones (*Mus musculus*)". Trabajo de titulación presentado para optar al grado académico de Bioquímica Farmacéutica. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Riobamba. Ecuador
- Cornejo, X., (2005). *Eugenia churutensis*, a new Myrtaceae endemic of the tropical dry forests in western Ecuador.
- Costa, T.R., Fernandes, O.F.L S., Santos, C., Oliveira, C.M.A., Liao, L.M., Ferri, P.H., Paula, J.R., Ferreira, H.D. (2000). Sales and M. R. R. Silva. Antifungal activity of volatile constituents of *Eugenia dysenterica* leaf oil. *J. Ethnopharmacol.*, 72, 111-117
- Cruzado, M., Pastor, A., Castro, N. Cedrón, J. C. (2013). Determinación de compuestos fenólicos y actividad antioxidante de extractos de alcachofa (*Cynara scolymus* L.). *Rev. Soc. Quím. Perú.* 79, 57-63.
- Delgado-Roche, L., & Martínez-Sánchez, G. (2009). El estrés oxidativo en la enfermedad cardiovascular: evidencias para un tratamiento más integral. *Revista Cubana de Farmacia*, 43(1)

- Díaz, *et. al.* (2010). Espectrofometría: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas. Departamento de Bioquímica y Biología Molecular, Campus Universitario de Rabanales, Edificio SeveroOchoa, 14071-Córdoba, Facultad de Medicina, Avda. Menéndez Pidal s/n, 14004-Córdoba.
- Fernaroli's, G., (1975). Handbook of flavor ingredients, Volume 1. New York: CRC Press.
- Fischer Limberger, D. C. H., Henriques. R. P., & Moreno. (2005). Essential oils from leaves of two *Eugenia brasiliensis* specimens from south eastern Brazil. *J. Essent. Oil. Res.*, 17, 499-500
- Frauches N, Amaral T, Largueza C, Teodoro A (2016). Brazilian Myrtaceae Fruits. Review of Anticancer Proprieties. *Br J Pharm Res.* 12:1–15.
- Giovannucci E. A (2002). Review of epidemiology studies of tomatoes, lycopene, and prostate cancer. *Exp Biol Med.* 277:852-9.
- Gabino Garrido *et. al.*, (2013). Fenoles y flavonoides totales y actividad antioxidante de extractos de hojas de *Lampaya medicinalis* F. *Phil. Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research.* 1 (1), 30-38
- González-Torres, MC., Betancourt-Rule, M., Ortiz-Muñiz, R., (2000). Daño Oxidativo y Antioxidantes. *Bioquímica*, Vol. 25, núm., pp. 3-9 Sociedad Mexicana de Bioquímica. Distrito Federal. México. Doi:<<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=57611797001>> ISSN 0185-5751
- Gutiérrez L, *et al.* (2014). Efecto de una dieta hipocalórica en el estrés oxidativo en sujetos obesos sin prescripción de ejercicio y antioxidantes. *Med Clin (Barc)*. <http://dx.doi.org/10.1016/j.medcli.2013.12.015>
- Harman.2001 La teoría gerontológica de los radicales libres Nebraska's Health Science Center. University of Nebraska Medical Center. EE. UU.

- Hemalatha, R., Nivetha. P., Mohanapriya, C., Sharmila, G., Muthukumar, C., & Gopinath, M., (2015). Phytochemical composition, GC-MS analysis, in vitro antioxidant and antibacterial potential of clove flower bud (*Eugenia caryophyllus*) methanolic extract. Association of Food Scientists & Technologists (India). Doi. 10.1007/s13197-015-2108-5.
- LouZhi-cen. 1980. General control methods for vegetable drugs. Comparative study of methods included in thirteen pharmacopeias and proposals on their international unification. WHO/PHARM/80.502. 8-39.
- Johnson JJ. (2011). Carnosol: a promising anti-cancer and antiinflammatory agent. *Cancer Letters*. 305:1-7.
- Jørgensen, P. M., & León, EDS. 1999. Catalogue of the vascular plants of Ecuador. *Mon.Syst. Bot. Missouri Bot. Gard.* 75: 1–1181.
- Kanazawa, A., Patin, A. & Greene, A. E. (2000). Efficient, highly enantioselective synthesis of selina-1,3,7(11)-trien-8-one, a major component of the essential oil of *Eugenia uniflora*. *J. Nat. Prod.* 63, 1292-1294
- Kappelle, M. (1995). C.; Ulloa Ulloa & P. M. Jørgensen (1993). Árboles y arbustos de los Andes del Ecuador. AUU Reports 30. Aarhus University (in association with the Pontificia Universidad Católica, Quito, Ecuador). Aarhus, Denmark, 264 pages. ISSN 0904-6453; ISBN 87-87600-39-9. Price: 80 DKK (paperback). *Journal of Tropical Ecology*, 11(1), 140-140. doi:10.1017/S026646740000849X
- Key TJ, Appleby PN, Allen NE, Travis RC, Roddam AW, Jenab M, et al. (2007). Plasma carotenoids, retinol, and tocopherols and the risk of prostate cancer in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition Study. *Am J Clin Nutr.* 86:672-81.
- Kim HS, Bowen PE, Chen L, Duncan C, Gosh L, Sharifi R, et al. (2003). Effects of tomato sauce consumption on apoptotic cell death in prostate benign hyperplasia and carcinoma. *Nutr Cancer.* 47:40-7.

- Mabberley, D. J. (1990). The Plant-Book. 2nd edition, Cambridge University Press, Cambridge.
- Matsumura, T., Kasai, M., Hayashi, T., Arisawa, M., Momose, Y., Arai, I., Amagaya, S. & Komatsu, Y. (2000). α -Glucosidase inhibitors from Paraguayan natural medicine, Nangapiry, the leaves of *Eugenia uniflora*. Pharm Biol., 38, 302-307
- Mcvaugh, R. (1963). Myrtaceae. In *Flora of Guatemala*. Fieldiana, Bot. 24: 283–405.
- Méndez-Bolaina, E., (2010). Radicales libres y su papel en las enfermedades crónico-degenerativas. Rev Med UV.
- Martins, R.C.C., Alegrio, L. V., Castro, R. N. & Godoy, R. L.O. (1999). Constituents of the essential oil of *Eugenia nitida* Camb. (Myrtaceae). J. Essent. Oil Res., 11, 724-726.
- Morel Analía, Uliana Roberto F., Yajía Marta., Lloret María A. (2017). Cuantificación de flavonoides totales presentes en hojas de *Eugenia uniflora* L. de la ciudad de Posadas, Misiones. Argentina, Dominguezia - Vol. 33(1)
- Musthafa KS, Sianglum W, Saising J, Lethongkam S, Voravuthikunchai SP. (2017). Evaluation of phytochemicals from medicinal plants of Myrtaceae family on virulence factor production by *Pseudomonas aeruginosa*. *Apmis*. 125:482–490.
- Nguyen et al. (2016). Tamizaje fitoquímico y evaluación de la actividad sobre el sistema nervioso central del extracto etanólico de *Eugenia clarensis* Britton & P.Wilson. *Journal of Pharmacy & Pharmacognosy Research*, 4 (1), 39-48. ISSN 0719-4250. <http://jppres.com/jppres>
- Núñez, Carlos Eduardo. (2008) Solventes y solubilidades. cenunez.com.ar
- Ogunwande, I. A., Olawore, N. O., Ekundayo, O., Walker, T. M., Schmidt J. M., & Setzer, W. N. (2005). Studies on the essential oils composition, antibacterial and cytotoxicity of *Eugenia uniflora* L. *Int. J. Aromather.*, 15, 147-152.

- Othman, A., Mukhtar, N. J., Ismail, N. S., Chang, S. K.(2014). Phenolics, flavonoids content and antioxidant activities of 4 Malaysian herbal plants. *Int. Food Res. J.*, 21, 759-766.
- Platz EA, & Giovannucci E. (2006), Prostate Cancer. *Cáncer Epidemiology and Prevention*.3rd ed Oxford: Oxford University Press. p. 1128-50.
- Pino, J. A., Marbel, R., Payo, A., Chao, D., Herrera, P. & Marti, M.P. (2005). Aromatic plants from Western Cuba Composition of leaf oil of *Gymnanthes lucida* Sw. and *Eugenia rhombea* (Berg) Krug et Urban.*J. Essent. Oil Res.*, 17, 278-280
- Puerto, Rogelio. (2014). Evaluación farmacognóstica y fitoquímica de las hojas de *Eugenia Clarensis* (Britton & P.Wilson). Tesis para optar por el Título de Licenciado en Ciencias Farmacéuticas. Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas Facultad de Química – Farmacia. Departamento de Farmacia. Santa Clara
- Ramos Ibarra, ML., Batista González, CM., Gómez Meda, BC., Zamora Pérez, AL., (2018). Diabetes, estrés oxidativo y antioxidantes. *Investigación en Salud*. Disponible en:<<http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=14280102>> ISSN 1405-7980
- Raj, G., George, V., Pradeep, N. S. & Sethuraman, M. G. (2007). Volatile constituents and antibacterial activity of *Eugenia rottleriana* Wight et Arn. *Leaf Oil*,*J. Essent. Oil Res.*, 19, 588-590
- Reynertson KA, Yang H, Jiang B, Basile MJ, Kennelly EJ. (2008). Quantitative analysis of antiradical phenolic constituents from fourteen edible Myrtaceae fruits. *Food Chem.* 109:883–890.
- Samaniego, C., 2006. Estudio y evaluación de la capacidad antioxidante del aceites de oliva extra virgen. Implicacion en la salud. Tesis doctoral. Universidad de Granada. Granada. España.
- Sanchez, PE., (1990). Myrtaceae in a Gomezpompa, ED., *Flora de Veracruz* 62:1–146.

- Sharapin, N. et al., (2000) Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos. *Volumen 78 de Ciencia y Tecnología*. Editor.Roberto Pinzon. Santa Fe. Colombia.pp 198-199.
- Sornoza, M. & Morales, Y. (2018). Estudio fitoquímico y evaluación de la actividad antibacteriana de las hojas de *Eugenia churutensis* X. Cornejo. Tesis para optar por el grado de Químico Farmacéutico. Guayaquil. Ecuador.
- Suhendi, A. & Hanwar, I. D. (2011). Determination of flavonoid and phenolics compounds in Dewandaru (*Eugenia uniflora* L.) by colorimetric method. Proceedings of the 2nd International Seminar on Chemistry, 231-233.
- Sukmasari, S., Mohd, F. N., Doolaanea, A. A., Qader, O. A. J. A., Rahman, M. N. A. (2018). Total phenolic content, flavonoid content, and antioxidant capacity of *Syzygium cumini* (L.) Skeels leaves grown in Wonosobo, Java, Indonesia and comparison against current findings of *Syzygium cumini* leaves and *Syzygium polyanthum* (Wight) Walp leaves. J. Pharm. Sci. & Res.,10, 31-35.
- Suksamrarn, A. & Brophy, J. J. (1987). The volatile leaf oil of *Eugenia javanica* Lamk.Flav. Frag. J., 2, 37-40.
- Valenzuela Bustamante, Paula (2015). Evaluación de la actividad antioxidante y determinación del contenido de fenoles totales y flavonoides de hojas de diferentes genotipos de *Ugni molinae* Turcz. Memoria para optar el título de Químico Farmacéutico. Santiago, Chile
- Vila, R., Glesias, L., Canigueral, S., Santana, A.I., Solis, P.N., & Gupta, M. P. (2004). Constituents and biological activity of the essential oil of *Eugenia acapulcensis* Steud.J. Essent. Oil Res., 16, 384-386.
- WHO. World Health Organization (2011). Quality Control Methods for Medicinal plant Material. WHO/PHARM/92.559. Ginebra.
- Zacarías-Flores M, et al. (2018) Relación entre el estrés oxidativo y la pérdida de masa muscular en la posmenopausia temprana: estudio exploratorio. Endocrinol Diabetes Nutr. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.endinu.2018.01.009>

Glosario de términos utilizados

Ácido gálico: es un polifenol y pertenece precisamente al grupo de taninos hidrolizables.

Antifúngico: que evita el desarrollo de hongos, los destruye o detiene su crecimiento.

Antiinflamatorio: que reduce o combate los síntomas y los signos de la inflamación

Antioxidante: Sustancia que impide la formación de óxidos los antioxidantes más frecuentes son aminos y fenoles convenientemente tratados; los antioxidantes impiden las reacciones de oxidación que alteran los alimentos

Antipirético: sustancia que sirve para reducir la fiebre

Diurético: sustancia, medicamento que facilita o aumenta la eliminación de orina

DPPH: compuesto químico orgánico 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo. Es un polvo cristalino de color oscuro compuesto de moléculas estables de radicales libres.

Endémica: que se repite frecuentemente o que está muy localizado en un lugar.

Estrés oxidativo: es el proceso de deterioro celular dependiente de la producción de radicales libres.

Farmacología: ciencia que estudia la composición, las propiedades y la acción terapéutica de los medicamentos.

Fitoterapia: tratamiento médico de algunas enfermedades basado en el empleo de plantas y sustancias vegetales.

Fenoles: son compuestos químicos llamados aromáticos. Las sustancias provienen de los alcoholes aromáticos. Existen varios tipos de fenoles: los ácidos fenoles, las flavonas, los taninos y las antocianinas.

Flavonoides: los flavonoides son pigmentos vegetales con un marcado poder antioxidante, que previenen el envejecimiento celular y los procesos de oxidación

Maceración: proceso de extracción, el cual los metabolitos se encuentran en la materia sólida y la parte líquida se realiza la extracción.

Metabolitos: son compuestos, generalmente orgánicos, que participan en las reacciones químicas que tienen lugar a nivel celular.

Prevalencia: es la proporción de individuos de una población que presentan el evento en un momento, o periodo de tiempo, determinado.

Radicales libres: es un átomo o molécula que contiene un electrón desapareado

Tamizaje fitoquímico: proceso cualitativo de reacciones sencillas por el cual se determina los principales grupos químicos presentes en una planta.

Quercetina: Flavonol que se encuentra presente en altas concentraciones tanto en frutas como en verduras, en especial en la cebolla.

Somáticas: son las que conforman el crecimiento de los tejidos y órganos de un ser vivo pluricelular, las cuales proceden de células madre originadas durante el desarrollo embrionario.

ANEXOS

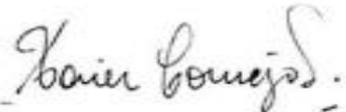
ANEXO I: IDENTIFICACIÓN Y DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE-HERBARIO GUAY

Herbario GUAY
Facultad de Ciencias Naturales
Universidad de Guayaquil

De: MSc. Xavier Cornejo, curador asociado
Para: Dra. Carmen Bonifaz, Decana Fact. CCNN y Directora Herbario GUAY
Fecha: Viernes, 8 de Diciembre de 2017
Asunto: Identificación de 1 espécimen y descripción.
Registro GUAY de identificación: 52

Saludos cordiales. Por medio de la presente se entrega la identificación y descripción de un espécimen de planta vascular proveniente de la reserva Andrade, entregados por Carolina Santiago Dugarte en la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad de Guayaquil el 6 de Diciembre de 2017.

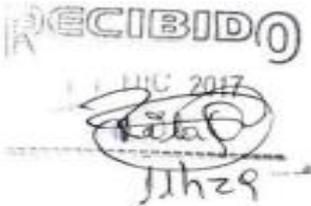
Atentamente,



MSc. Xavier Cornejo
Curador
Herbario GUAY

Adj.: Identificación
cc. Herbario GUAY





Av. Juan Tanca Marengo y Av. Gómez Lince s.n.
P.O. Box 09-01-10634
Guayaquil-Ecuador

1

Herbario GUAY
Facultad de Ciencias Naturales
Universidad de Guayaquil

Clase: Equisetopsida C. Agardh

Subclase: Magnoliidae Novák ex. Takht.

Superorden: Rosanae Takht.

Orden: Myrtales Juss. ex Bercht. & J. Presl

Familia: Myrtaceae Juss.

Género: *Eugenia* L.

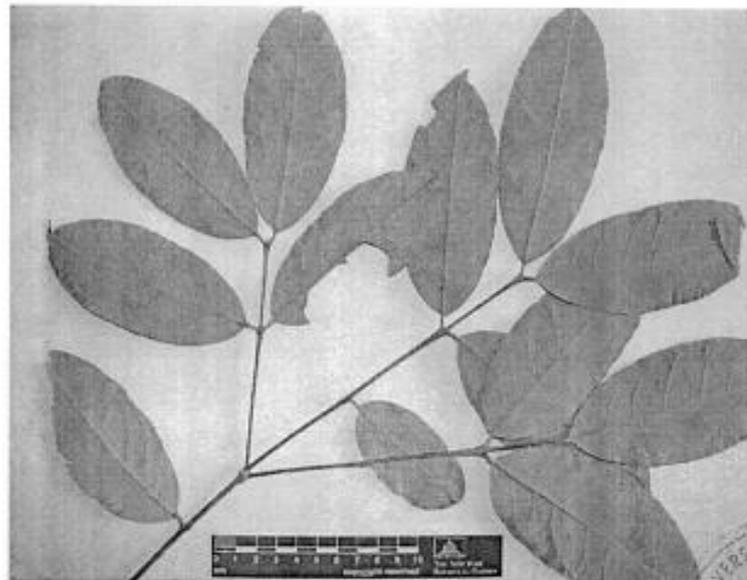
Nombre científico: *Eugenia churutensis* Cornejo

Nombre vernáculo: No registrado

Estatus de conservación: En Peligro, EN B2ab(iii)

Descripción taxonómica:

Árbol de talla baja. Hojas simples, opuestas; lámina cartácea, elíptica hasta corto-lanceolada, 13-18 x 5-8 cm, base cuneada hasta redondeada, ápice obtuso a corto-acuminado, glabra. Flores y frutos no vistos.



Av. Juan Tanca Marengo y Av. Gómez Lince s.n.
P.O. Box 09-01-10634
Guayaquil-Ecuador



ANEXO II: DETERMINACIÓN DE PARAMETROS FISICOQUIMICOS DE *Eugenia churutensis* X.Cornejo

Humedad residual



1. Peso de la muestra



2. Determinación de humedad método gravimétrico

Cenizas



3. Mufla para cenizas



4. Muestra en la mufla



5. Muestra en el desecador

Sustancias solubles



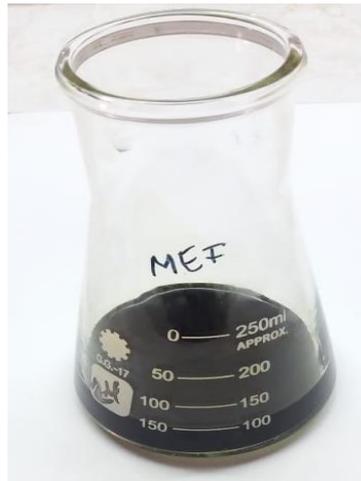
6. Maceración acuosa en frío



7. Extracto acuoso en frío

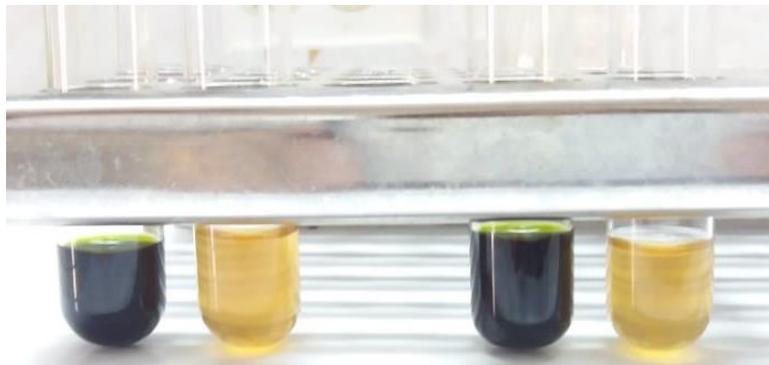


8. Maceración etanólica en frío



9. Extracto etanólica en frío

ANEXO III. RESULTADOS DEL TAMIZAJE FITOQUIMICO, ENSAYOS DE CLORURO FERRICO Y SHINODA

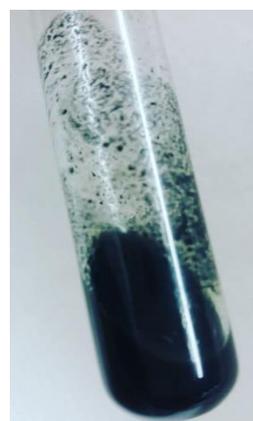


10. Extractos etanólico y acuoso

Cloruro Férrico



11. Ensayo de Cloruro Férrico (Extracto acuoso)



12. Ensayo de Cloruro Férrico (Extracto etanólico)

Shinoda

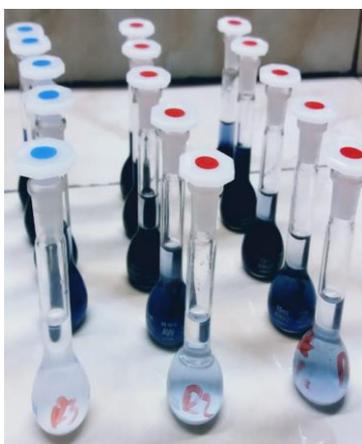


13. Ensayo de Shinoda
(Extracto acuoso)



14. Ensayo de Shinoda
(Extracto etanólico)

ANEXO IV. DETERMINACIÓN DE FENOLES TOTALES



15. Soluciones de Ácido gálico para curva de calibrado



16. Diluciones de la muestra a diferentes concentraciones

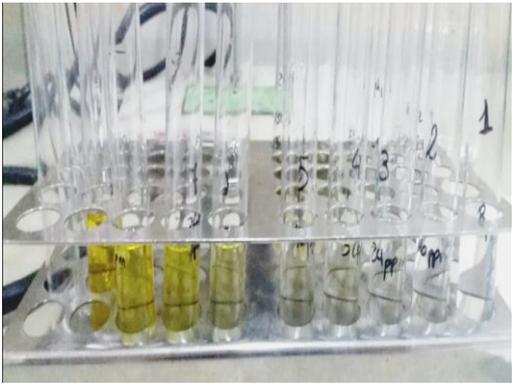


17. Muestra preparada para determinar fenoles totales

ANEXO V: DETERMINACIÓN DE FLAVONOIDES TOTALES



18. Soluciones de Quercetina para curva de calibrado



19. Curva de calibrado y muestras para determinación de flavonoides



20. Espectrofotómetro usado para la determinación de flavonoides

ANEXO VI: DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE IN VITRO



21. Soluciones de Ácido Gálico para la curva de calibrado



22. Solución de DPPH



23. Preparación de la curva y muestra para evaluar actividad antioxidante