

# Experimentación para el **aprovechamiento** fitoquímico del **mangostino**

Deivis Suárez Rivero, Olga Marín Mahecha, Paula Andrea León Peraza,  
Mercedes David Úsuga, Daniel Felipe López Hernández, Jannet Ortiz Aguilar,  
Addy Esperanza Puentes, Mauricio Anibal Sierra Sarmiento



**UNIAGRARIA**  
LA U VERDE DE COLOMBIA

# **Experimentación para el aprovechamiento fitoquímico del mangostino**

Devis Suárez Rivero, Olga Marín Mahecha, Paula Andrea León Peraza,  
Mercedes David Úsuga, Daniel Felipe López Hernández, Jannet Ortiz Aguilar,  
Addy Esperanza Puentes, Mauricio Anibal Sierra Sarmiento



**UNIAGRARIA**  
LA U VERDE DE COLOMBIA

# Experimentación para el Aprovechamiento Fitoquímico del Mangostino

## Facultad de Ingeniería

© **Fundación Universitaria Agraria de Colombia – Uniagraria**

**ISBN IMPRESO: 978-958-56645-6-2**

**ISBN E-BOOK: 978-958-56645-7-9**

### **DIRECTOR**

Adriana L. Mejía Terán  
Decana Facultad de Ingeniería

### **EDITOR**

Deivis Suárez Rivero  
Coordinador de Investigación  
Facultad de Ingeniería

### **COORDINACIÓN EDITORIAL**

Vicerrectoría de Investigación  
Fundación Universitaria Agraria de  
Colombia

### **Rector**

Luis Fernando Rodríguez Naranjo

#### **Vicerrector de Formación**

Jorge Arturo Torres Escobar

#### **Vicerrector Financiero**

Fabio Arturo Fajardo García

#### **Vicerrector de Investigación**

Álvaro Mauricio Zúñiga Morales

#### **Vicerrector de Extensión**

Claudia Patricia Toro Ramírez

#### **Secretario General**

John Jairo Guarín Rivera

#### **Asamblea General**

Jorge Orlando Gaitán Arciniegas

*(Presidente)*

#### **Consejo Superior**

Álvaro Zúñiga García

*(Presidente)*

Teresa Arévalo Ramírez  
Teresa Escobar de Torres  
Jorge Orlando Gaitán Arciniegas  
Álvaro Ramírez Rubiano  
Héctor Jairo Guarín Avellaneda  
Emiro Martínez Jiménez

### **Concepto Gráfico, Diseño, Composición e impresión**

Entrelibros e-book solutions  
www.entrelibros.co

### **Diseñadora**

Gladys Carolina Chavez Caballero

### **Corrección de estilo**

Diana Carolina Sánchez

ISBN IMPRESO: 978-958-56645-6-2

ISBN E-BOOK: 978-958-56645-7-9

2018 - Fundación Universitaria Agraria de  
Colombia -UNIAGRARIA  
Bogotá D.C - Colombia

\*Los textos de los artículos de esta publicación pueden ser reproducidos citando la fuente. Los juicios emitidos por los autores son de su responsabilidad. Por tanto, no comprometen a la Fundación Universitaria Agraria de Colombia – Uniagraria, a la Facultad de Ingeniería ni al Comité Editorial.



Experimentación para el Aprovechamiento Fitoquímico del Mangostino by Universidad Agraria de Colombia –Uniagraria is licensed under a Creative Commons Reconocimiento-NoComercialCompartirIgual 4.0 Unported License.

La publicación 'Experimentación para el Aprovechamiento Fitoquímico del Mangostino' es producto de de la Universidad Agraria de Colombia -Uniagraria- impreso bajo el ISBN: 978-958-56645-6-2 e ISBN digital: 978-958-56645-7-9, en idioma español. Es un producto editorial protegido por el Copyright © y cuenta con una política de acceso abierto para su consulta, sus condiciones de uso y distribución están definidas por el licenciamiento *Creative Commons (CC)*.

# Contenido

Preludio	7
Prólogo	9
Generalidades del Mangostino	11
<b>1. Extractos Vegetales con Potencial Agroindustrial</b>	<b>17</b>
1.1 Solución tánica y taninos	19
1.2 Biosíntesis de los taninos	20
1.3 Mecanismo de acción de los taninos	23
1.4 Procesos de extracción de metabolitos	25
1.5 Técnicas cromatográficas y de espectrofotometría en la purificación y caracterización de metabolitos	28
<b>2. Antioxidantes</b>	<b>31</b>
2.1 Generalidades de los antioxidantes	33
2.2 Clasificación de los antioxidantes	34
2.3 Mecanismos de actuación	35
2.4 Tipos de antioxidantes	36
2.5 Sistemas antioxidantes endógenos no enzimáticos	38
2.6 Sistemas antioxidantes endógenos enzimáticos	41
2.7 Métodos analíticos para determinación antioxidante	45
<b>3. Comportamiento de los Microorganismos frente a la Susceptibilidad <i>In Vitro</i></b>	<b>47</b>
3.1 Mecanismos de acción del extracto	49
3.2 Generalidades fitopatológicas	54
<b>4. Comportamiento de los Microorganismos frente a la Susceptibilidad <i>In Vitro</i> Ocasionada por Extractos de Mangostino</b>	<b>61</b>
4.1 Análisis fitoquímico de los extractos de <i>Garcinia mangostana</i> L.	63
4.2 Actividad de los Microorganismos en Estudio frente a la Solución Tánica	84
Referencias	105



# Preludio

**Elaborado por:** Marín-Mahecha, Olga; Suárez-Rivero, Deivis

Esta publicación fue posible gracias a los recursos de financiación de investigaciones por parte de la Fundación Universitaria Agraria de Colombia- Uniagraria y es el producto de investigaciones realizadas sobre el fruto *Garcinia mangostana* L., ejecutadas por los autores de este libro, entre 2017 y 2018.

El propósito fundamental de este libro es presentar información actual, a partir de datos experimentales de forma clara y minuciosa, destacando conceptos y características pertinentes del potencial agroindustrial del mangostino. Los temas abordados incluyen toda la teoría de los ingredientes naturales de dicho fruto, buscando ofrecer una mirada general y una explicación adecuada para agricultores y estudiantes enfocada en el análisis de *Garcinia mangostana* L.

Los temas epistemológicos que se fundamentan en este libro hacen alusión a los extractos vegetales con potencial agroindustrial, generalidades y clasificación de antioxidantes y al comportamiento de los microorganismos frente a la susceptibilidad *in vitro*. De igual forma, pero de manera precisa, se estudia el comportamiento de los microorganismos frente a la susceptibilidad *in vitro*, ocasionada por extractos de *Garcinia mangostana* L.

El paso a paso de los temas y su tratamiento es metódico, teniendo en cuenta la pertinencia y relación entre ellos, destacando conceptos básicos para asegurar la comprensión del texto y su aplicación.

El enfoque preciso de cada capítulo y la exposición clara y concisa de los conceptos se arraigan con las aseveraciones de autores y publicaciones con bases de datos reconocidas, detallando la información importante, a nivel general y específico para construir de manera cuidadosa las fortalezas del potencial agroindustrial en el mundo real de la *Garcinia mangostana* L.



# Prólogo

**Elaborado por:** Suárez-Rivero, Deivis; Marín-Mahecha, Olga

La aparición del mangostino en Colombia fue en el municipio de San Sebastián de Mariquita, región del Tolima. Traídas en el siglo XIX, por los ingleses, las semillas diseminadas por la tierra como residuo tuvieron las condiciones climáticas necesarias para desarrollarse. Este fruto presenta excelente adaptación, producción y rentabilidad. El consumo interno del mangostino ha sido muy variable por cuenta de las debilidades en la producción, como también por la disposición de los productores. El año 2012, presentó la cantidad más alta consumida en el interior del país, con un total de 376 toneladas. Estas cifras varían año tras año, debido a que el consumo no es constante, primero por la volatilidad de la producción nacional, y en segundo lugar por los precios internacionales del fruto.

Existen muy pocas regiones de cultivo del mangostino y se han añadido muy pocas hectáreas y número de ejemplares sembrados en el país, lo que no reduce la competitividad a nivel internacional y reduce la apertura de mercados, que posibilitaría mayor demanda de la fruta. Es así como dentro de los alimentos importados que más se consumen en el territorio colombiano, está el mangostino o jobo de la india (*Garcinia mangostina* L.), un arbusto tropical originario de Indonesia, de gran exuberancia, bastante frondoso, con ramas opuestas, una a cada lado del tronco con hojas gruesas, de color verde oscuro y por el envés conserva un color amarillento. La forma del árbol es de un cono perfecto. El mangostán se comienza a producir a los siete años de plantado, pero puede demorar hasta 15, según el manejo que se le dé, es de cosecha bianual, da de 200 a 1500 frutos por año. Por esto, es una fruta bastante escasa y alcanza precios tan altos, el fruto posee los pedúnculos y sépalos de la flor que vienen adheridos a él. Hasta cuando alcanza su madurez, es una cápsula carnosa redonda, con un diámetro entre 6 y 7 cm, con epidermis lisa semileñosa, coriácea muy carnosa de color morado y unos 7 mm de espesor, con remanentes del estigma en el ápice, en forma de roseta y al otro extremo, tiene el cáliz persistente con cinco sépalos. La parte comestible es de color blanco, jugosa con un sabor exquisito. Esta fruta se consume en forma directa cuando alcanza su estado óptimo de madurez. Del mangostán solo existe una variedad en el mundo, pues tiene una característica bastante particular: su

polen es estéril, por esto, no hay variación genética y no es posible hacerle ningún tipo de mejoramiento. El mangostino ha sido incluido dentro de las llamadas 'super frutas' y es usado para preparar productos dietéticos por su gran poder antioxidante (antienvjecimiento).

# Generalidades del Mangostino

**Elaborado por:** Suárez-Rivero, Deivis;  
Marín-Mahecha, Olga



Según SIB (2016), Colombia es un país biodiverso, rico en recursos primarios y con una economía dependiente de este sector. Sin embargo, teniendo en cuenta las tendencias del mercado internacional de consumo de productos naturales, especialmente en los países desarrollados, se observa una tendencia al consumo de productos orgánicos y naturales e igualmente de productos exóticos que también representan una importante oportunidad para una potencial diversificación de las exportaciones. Es aquí donde la misma agricultura ha llegado a ser una forma de industria, a medida que la tecnología, la integración vertical, la comercialización y las preferencias de los consumidores han evolucionado, según pautas que se ajustan más al perfil de los sectores industriales comparables. A menudo con una notable complejidad, la industrialización de la agricultura y el desarrollo de agroindustrias son, en efecto, un proceso común que está generando un tipo completamente nuevo de sector industrial.

Teniendo en cuenta a Pedraza et al., (2008) la agroindustria, entendida como las cadenas integradas de procesos que generan y agregan utilidad y valor al trabajo del pequeño y mediano agricultor, nuestra economía campesina se caracteriza por la producción agropecuaria en pequeños predios, con incorporación predominante e intensiva mano de obra familiar.

En este contexto, este libro es un punto de partida para el cambio. Este sector está demandando la formulación de proyectos de conversión agroindustrial, rehabilitación crediticia y organización social de la producción con integración de procesos de postcosecha. De esta manera, se puede ver el interés que ha surgido en investigar este fruto. Existe un número de investigaciones científicas, enfocadas en identificar las propiedades del mangostino, de las cuales se ha concluido que de este fruto se pueden derivar unos principios activos, mediante diferentes análisis de sus microcomponentes. Las características y virtudes que le dan un valor agregado a esta especie, ya sea su contenido en nutrientes, oligoelementos, la extracción de ciertos fitoquímicos, componentes químicos naturales biológicamente activos de este fruto y otros compuestos, muestran su calidad como alimento o como insumo industrial. De ahí que existen variedades de las cuales se conocen y otras, de las cuales se desconocen sus propiedades nutricionales, biomédicas e industriales, que en un momento dado pueden brindar beneficios. A pesar de las bondades climáticas, edafológicas y su potencial frutícola no es suficiente ya que la falta de investigación sobre esta especie en

sí misma y su potencial de aprovechamiento agroindustrial es una limitante significativa para abordar el desarrollo del subsector, perdiéndose así opciones socioeconómicas, culturales y de conservación. Además, la tendencia y actitud de los últimos años hacia especies subutilizadas están en constante transformación, reflejando una tendencia creciente dentro de la agricultura por incorporar nuevos cultivos con visión agroindustrial.

Tiene una cáscara dura de color rojo púrpura cuando está verde y se pela con facilidad cuando madura, donde se encuentran unas moléculas: las xantonas, que incrementan la energía y protegen de los daños de los radicales libres. Además, cuentan con un gran número de beneficios que ayudan a combatir las infecciones y fortalecer el sistema inmunológico, así como aportar elasticidad a las articulaciones y favorecer la agilidad mental. Otros beneficios que aporta esta fruta son la protección del músculo del corazón, la de demencias como el Alzheimer y el Parkinson, previniendo el endurecimiento de las arterias y por tanto, la elevación de la tensión arterial. También actúa como un excelente antidepresivo. Su carne es blanda y blanca. Su composición es rica en potasio, con beneficios para la salud arterial y la hipertensión. Además, es rica en Vitamina C, lo que mejora las defensas del organismo y Vitamina B para la piel y la producción de proteínas de colágeno.

Una de las mayores dificultades que tiene esta investigación, es la ausencia de información que permita extraer los avances logrados en otras regiones de Colombia en lo relacionado con clasificación botánica, manejo agronómico, exigencias climáticas o nutricionales, así como usos y productos agroindustriales.

Para Ruiz (2012), Colombia como otros países del mundo, exhibe una cultura agroquímica bastante alta. Pero los consumidores están presionando un cambio de actitud, en la búsqueda de alternativas diferentes al control químico de plagas. Es así como las exigencias de alimentos limpios y sanos, exentos de residuos tóxicos, constituyen una poderosa razón para que los productores, reduzcan el empleo de estas sustancias químicas.

Briceño et al. (2011) y Rosslenbroich citando a Stuebler (2000), muestran que, debido a la ubicación geográfica del país y a la variedad de climas, lo hace poseedor de una gran variedad de especies de hongos y bacterias fitopatógenos, como ejemplo tenemos

enfermedades causadas por el hongo *Botrytis* sp., que son probablemente las más comunes y ampliamente distribuidas en el mundo, afectando principalmente hortalizas, frutales, plantas ornamentales y muchos productos almacenados, que afectan casi todas las plantas, ocasionando grandes pérdidas en los cultivos y económicas.

Es por lo anterior que una amplia gama de estudios trabajos se enfocan en la búsqueda de estrategias, técnicas y métodos que incrementen la productividad agrícola y mantengan el equilibrio ecológico, sin afectar los ecosistemas y sin arriesgar la salud humana solamente, constituyendo hoy en día un gran reto para la agricultura y su desarrollo (Osorio et al., 2004).

Otra alternativa para mitigar el uso de agroquímicos, como referencia Lasa et al. (2010) es que los taninos provenientes de subproductos vegetales son una alternativa para el manejo de agentes fitopatógenos. Estos taninos son sustancias presentes en casi todas las plantas, pero particularmente importantes en las leguminosas. La cantidad de estas sustancias en la planta depende de distintos factores como la genética, el grado de madurez y la estación climática, entre otros. Adicionalmente, consideran los taninos funcionan como un mecanismo de defensa frente a microorganismos y destrucción por parte de los herbívoros.

## **Sustancias Fitoquímicas del Mangostino**

D'Mello (1997) menciona que las sustancias fitoquímicas son compuestos orgánicos constituyentes de alimentos de origen vegetal, que no son nutrientes y que proporcionan al alimento unas propiedades fisiológicas que van más allá de las nutricionales propiamente dichas. Estas sustancias parecen ser responsables, al menos en parte, del papel beneficioso para la salud asociado al consumo de frutas, hortalizas y alimentos derivados de ellas. Dentro de ellas hay sustancias de diversas familias químicas que cuentan con estructuras y propiedades variadas, como son los polifenoles, entre los que se incluyen los pigmentos antocianicos, taninos, flavonoles, isoflavonas, lignanos, estilbenoides y derivados de ácidos aromáticos, entre otros. Actualmente, se está realizando un gran esfuerzo para determinar el verdadero papel de estas sustancias constituyentes de la dieta en el mantenimiento de la salud y establecer los mecanismos por los que los ejercen su acción '*in vivo*'. Estas investigaciones permitirán identificar

aqueños compuestos fitoquímicos que tienen un papel protector frente a enfermedades, su absorción y biodisponibilidad, el efecto de las prácticas agronómicas y la conservación postcosecha y procesado sobre las mismas. Estos estudios deben también conducir a la selección de nuevas variedades, en función de su bioactividad y potencial, utilización como materias primas en la preparación de alimentos funcionales. Todo ello permitirá aumentar la calidad de nuestros alimentos.

# 1

## **Extractos Vegetales con Potencial Agroindustrial**

**Elaborado por:** Marín-Mahecha, Olga; Suárez-Rivero, Deivis; León-Peraza, Paula Andrea; David-Úsuga, Mercedes; López-Hernández, Daniel Felipe; Sierra-Sarmiento, Mauricio A.



**M**ezcla de compleja de compuestos con multitud de compuestos químicos, obtenible por procesos físicos, químicos o microbiológicos, a partir de una fuente natural y utilizable en cualquier campo de la tecnología, con actividad farmacológica. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS), el 25 % de los fármacos comercializados actualmente son de origen vegetal y 25 % contiene principios vegetales modificados químicamente, compuestos por un principio activo (con la supuesta actividad) dentro de una matriz, en principio, sin actividad terapéutica. La matriz del extracto puede tener efectos técnicos inesperados: mayor estabilidad, mayor actividad, mayor tolerancia. Los productos de origen vegetal han sido en las últimas dos décadas, mayormente estudiados en su parte química, con énfasis en los metabolitos secundarios, los cuales están implicados en el control biológico contra patógenos o plagas, y en ciertos casos, activando procesos de defensa en la planta, brindando una protección preventiva (Kagele et al., 2004).

A partir de estos extractos se pueden obtener controladores del crecimiento de microorganismos a partir de estas fuentes naturales, especialmente de plantas, con las que se aprovechan los mecanismos de defensa química, mostrando como ventaja el de no introducir en el medio natural productos ajenos al mismo, y además este medio natural es capaz de degradarlo.

## **1.1 Solución tánica y taninos**

Para (Gonzalo, 2002) solución tánica y taninos se trata de un ácido compuesto de glucosa y ácidos fenólicos-taninos; tanto ácidos fenólicos como algunos azúcares, pueden dar origen a los taninos, estos son sustancias químicas de sabor astringente que generan varias especies de plantas, poseen tamaño y complejidad molecular variable, solubles en agua y con pesos moleculares entre 500 y 3000 Da; incluye los ácidos fenólicos de 7 a 9 átomos de carbono, tales como los ácidos gálico y p-cumárico, las flavonas de 15 átomos de carbono y las ligninas, también tienen la capacidad de precipitar alcaloides, gelatina y otras proteínas. Los taninos son parte integral del sistema de defensa contra los herbívoros y otros patógenos de las plantas como bacterias, hongos, insectos y virus.

Gonzalo (2002) menciona que los taninos se dividen en dos clases:

- **Taninos hidrolizables:** consisten en un núcleo central de carbohidratos, al cual se unen, mediante enlaces ésteres y ácidos fenólicos carboxílicos. Son ésteres de azúcar de ácido gálico o elálgico, estos taninos pueden ser fácilmente hidrolizados con ácidos, álcali, agua caliente o enzimas (Gonzalo, 2002).
- **Taninos condensados:** consisten en oligómeros de dos o más flavan-3-oles como la catequina, epicatequina o la galocaquetina. También se describen como proantocianidinas (Gonzalo, 2002).

Los taninos hidrolizables y condensados se encuentran, principalmente, en hojas de árboles, arbustos y leguminosas; estas características, se ven afectadas por factores ambientales, baja luz y baja temperatura lo que reduce la concentración de taninos, mientras que la sequía incrementa la concentración de los mismos (Gonzalo, 2002).

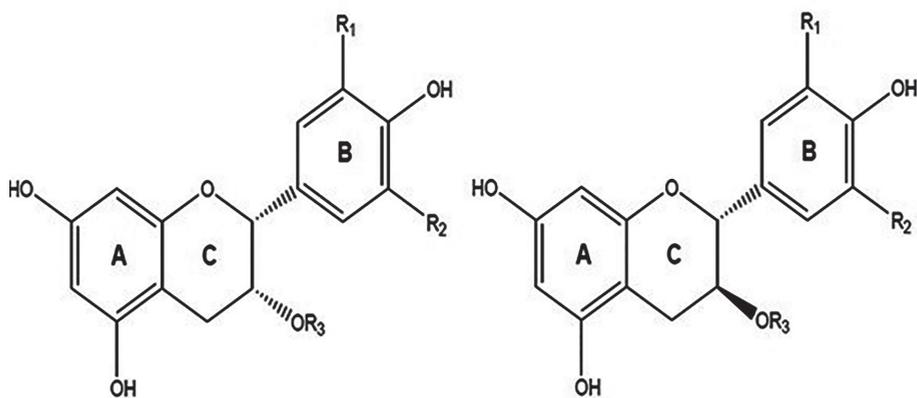
## 1.2 Biosíntesis de los taninos

Como describe Romero (2000), la síntesis de taninos ocurre en el retículo endoplasmático y se almacenan en una gran vacuola de la célula. Así mismo, los taninos son polímeros de unidades monoméricas de fenoles, que contiene un anillo aromático con uno o más grupos hidroxilos. En estos el hidrógeno puede ser sustituido con derivados funcionales como ésteres, metil ésteres y glucósidos, entre otros. En las plantas varían cualitativamente en su síntesis, como respuesta a cambios ambientales y fisiológicos.

Los flavonoides se originan de la sustitución de subunidades por el acetato en la ruta del Ácido Shikimico. El precursor de las subunidades p-coumaril es la fenilalanina, las cuales están condensadas con tres unidades de carbón para la producción de chalconas las cuales son las iniciadoras en la síntesis de flavonoles, catequinas y antocianidinas. La catequina es el componente primario de las protoantocianidinas, la polimerización de los flavonoles produce los taninos condensados. Así mismo (Unalpm, 2014) demuestran para ellos que:

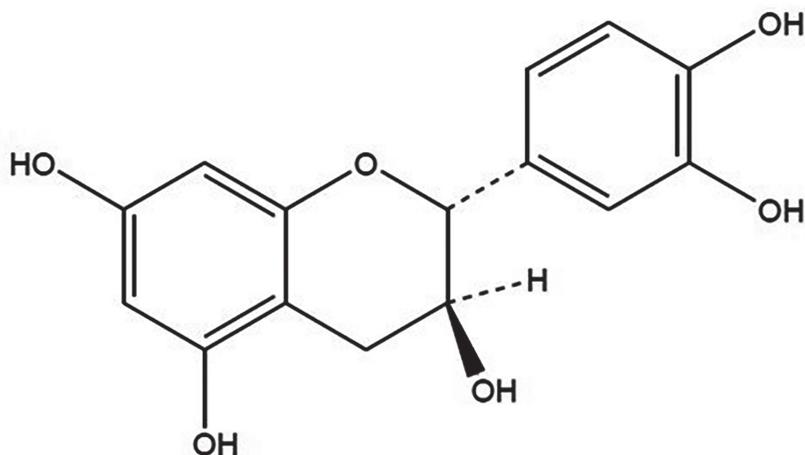
**Taninos condensados:** son complejos oligoméricos y poliméricos de unidades de flavonoides, es decir, flavan-3-oles como se observa en la figura 1, flavan-3,4-dioles y

biflavonas (Martin y Montez, 2012). Estas sustancias no son hidrolizables por ácidos y enzimas. Los ácidos fuertes y agentes de oxidación los convierten en sustancias de color rojo u oscuro, siendo al mismo tiempo insolubles. Este tipo de taninos no se derivan del ácido gálico, sino que se derivan de los protaninos. Su estructura es similar a los flavonoides, esto los hace poco solubles en agua, debido a que son no glucídicos y al ser hervidos se transforman en productos de condensación. Las catequinas como su fórmula lo indica en la figura 2 se consideran precursores de los taninos condensados (Unalpm, 2014).



**Figura 1.** Estructura química de los flavan-3-oles.

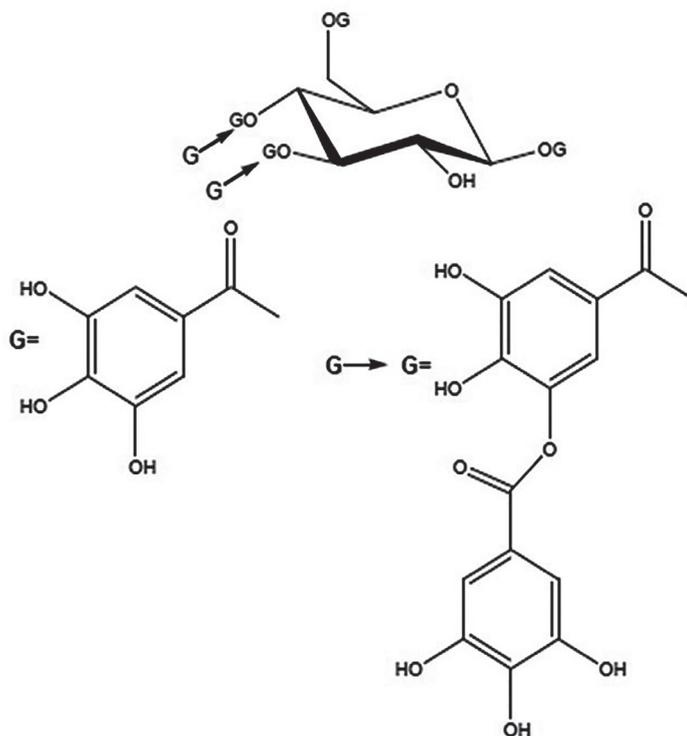
Fuente: (Martin y Montez, 2012).



**Figura 2.** Catequina derivada de los taninos condensados.

Fuente: (Martin y Montez, 2012).

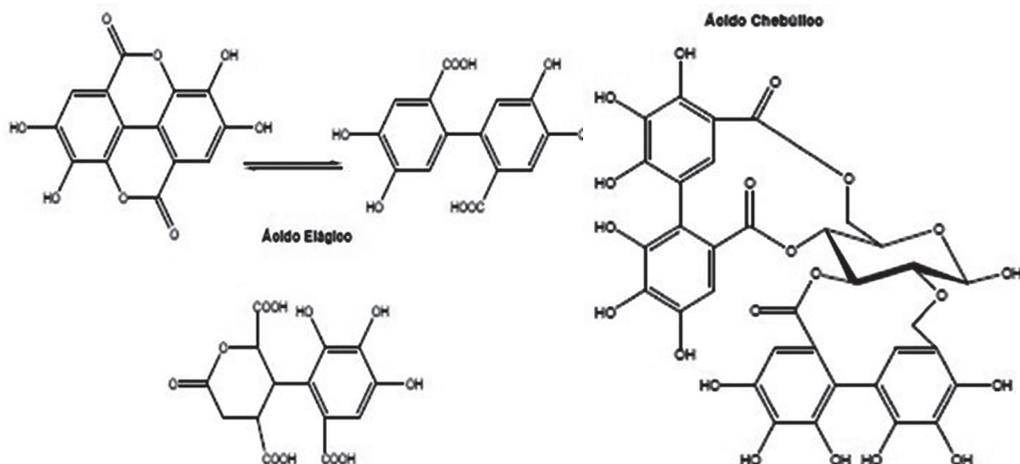
- **Taninos hidrolizables:** son ésteres de ácidos fenólicos (ácido gálico y elágico) con un azúcar que generalmente es glucosa o un polialcohol. Todos ellos derivan su parte fenólica por la vía shikímica, a partir de la forma enol del ácido 3-dehidroshikímico, el cual se transforma en el precursor, ácido gálico, por acción de la enzima dehidroshikimato deshidrogenasa (Martin y Montes, 2012).
  - **Galotaninos:** son ésteres del ácido gálico y del ácido digálico unidos entre sí por funciones ésteres entre el  $-\text{COOH}$  y el  $-\text{OH}$ , al mismo tiempo están unidos a osas como la glucosa (figura 3). La fórmula de los galotaninos, la cual se indica en la figura 6, pertenece a los compuestos, en la que predomina la glucosa en isómeros que contienen 5  $-\text{OH}$  de la glucosa esterificada por 5 moléculas de ácido galoil-gálico, así como otro isómero que posee  $-\text{OH}$  del carbono esterificado por un ácido penta-galoil-gálico y en otros  $-\text{OH}$  con molécula de ácido gálico (Unalpm, 2014).



**Figura 3.** Estructura de los Galotaninos.

Fuente: (Martin y Montez, 2012).

- **Elagitaninos:** La figura 4 demuestra que los elagitaninos son sustancias complejas que dejan depósitos insolubles durante el curtido de pieles, debido a la precipitación de ácido elálgico, esto se forma a partir de la extracción del tanino en agua hirviente. Su hidrólisis produce glucosa, ácido elálgico y ácido gálico (Unalpm, 2014).



**Figura 4.** Estructura de los elagitaninos.

Fuente: (Martin y Montez, 2012).

### 1.3 Mecanismo de acción de los taninos

Hidalgo (2003) concluye que el mecanismo de acción de los taninos podría estar relacionado con su capacidad para inactivar adhesinas microbianas, enzimas, proteínas transportadoras en la célula y formar complejos con la pared celular, etc. Además, se sabe que estos componentes vegetales están en condiciones de ligar las proteínas de la piel y de la mucosa, transformándolas en sustancias insolubles, quitando así la base de cultivo a las bacterias que han colonizado la piel y heridas de la mucosa (Barranco, 2004). El efecto bactericida de los taninos es bien conocido, posiblemente por producir una desnaturalización por coagulación de las proteínas de las paredes celulares.

Como demuestran Sepúlveda et al., (2011), los galotaninos, elagitaninos, taninos complejos y taninos condensados, tienen como función la protección contra mamíferos

y microorganismos. Los taninos en concentraciones altas son antinutricionales, pues contienen muchos grupos funcionales de tipo OH, los cuales reaccionan fácilmente con proteínas y polisacáridos, volviendo estos productos insolubles y de esta manera impiden su absorción.

Khazaal y Orkov (1994); Makkar y Singh (1991), demuestran que la concentración de taninos en las plantas varía tanto con la especie, como con la edad de la planta, ya que se ha encontrado que el contenido de taninos se incrementa consistentemente con la etapa de maduración de las plantas. Sepúlveda et al. (2011) demuestran que la distribución de los compuestos fenólicos en los tejidos y células vegetales varía considerablemente de acuerdo con el tipo de compuesto químico, situándose en el interior de las células o en la pared celular.

Lo demostrado por Lara y Londoño (2008), sobre cómo el metabolito secundario de las plantas juega un papel importante contra hongos, bacterias, virus y en general microorganismos patógenos, actuando como mecanismo de defensa efectivo también contra el estrés oxidativo y la deshidratación. Confiere además color y sabor a ciertos frutos. En los frutos inmaduros promueve la astringencia, pero al madurar se polimerizan y se elimina el sabor astringente, esto lo hace un mecanismo de defensa contra insectos nocivos y microorganismos González et al., (2009). Otra forma de inhibición de bacterias se da en el rumen de los animales, ya que los taninos se ligan a la pared celular bacteriana, anulando sus receptores que anclan la bacteria a la pared intestinal, permitiendo la disminución de la adherencia de *E. coli* en los tejidos.

Ahora bien, Lara y Londoño (2008), definen metabolismo como el conjunto de reacciones químicas que realizan las células de los seres vivos para sintetizar sustancias complejas a partir de otras más simples, o para degradar las complejas y obtener las simples. Las plantas, organismos autótrofos, además del metabolismo primario presente en todos los seres vivos, poseen un metabolismo secundario que les permite producir y acumular compuestos de naturaleza química diversa. Estos compuestos derivados del metabolismo secundario se denominan metabolitos secundarios, se distribuyen diferencialmente entre grupos taxonómicos, presentan propiedades biológicas, muchos desempeñan funciones ecológicas y se caracterizan por sus diferentes usos y aplicaciones como medicamentos, insecticidas, herbicidas, perfumes o colorantes, entre otros. Reciben también la denominación de productos naturales.

## 1.4 Procesos de extracción de metabolitos

Núñez (2008), demuestra que la extracción es un procedimiento de separación de una sustancia que puede disolverse en dos disolventes no miscibles entre sí, con distinto grado de solubilidad y que están en contacto a través de una interface. La relación de las concentraciones de dicha sustancia en cada uno de los disolventes a una temperatura determinada, es constante. Es la técnica más empleada para separar un producto orgánico de una mezcla de reacción o para aislarlo desde sus fuentes naturales. Puede definirse también como la separación de un componente de una mezcla, por medio de un disolvente.

### 1.4.1 Técnica sólida – líquido por el método Soxhlet

Caldas (2012) dice que la extracción sólido/líquido es un proceso muy común en las industrias farmacéutica, cosmética y alimentaria para obtener ingredientes naturales, tales como saborizantes y aromatizantes, a partir de materias primas naturales. La extracción puede ser realizada con disolventes fríos o calientes y por diferentes métodos. Entre ellos, el equipo Soxhlet tiene como función recircular los vapores condensados con ayuda de un sifón a la fuente de disolvente que se encuentra en evaporación continua, arrastrando consigo los principios activos de la materia prima. La velocidad de reflujo depende directamente de la eficiencia y el tamaño del condensador. La capacidad aproximada en un equipo de laboratorio es de 500 ml de volumen primario con una recirculación de 100 ml, cada cinco minutos aproximadamente en estado estable.

### 1.4.2 Características para la extracción con el equipo Soxhlet

Para la extracción con el equipo Soxhlet se deben tener en cuenta: la selección del solvente, la matriz sólida y las condiciones de operación (Caldas, 2012). Entonces:

- **Selección del solvente:** debe seleccionarse un solvente conveniente, de tal forma que ofrezca el mejor balance de varias características deseables (Caldas, 2012):

- Alto límite de saturación y selectividad respecto al soluto por extraer.
  - Capacidad para producir el material extraído con una calidad no alterada por el disolvente.
  - Estabilidad química en las condiciones del proceso.
  - Baja viscosidad, baja presión de vapor.
  - Baja toxicidad e inflamabilidad.
  - Baja densidad.
  - Baja tensión superficial.
  - Facilidad y economía de recuperación de la corriente de extracto y bajo costo.
- **Tipos de solventes:** los solventes orgánicos comúnmente tienen bajo punto de ebullición, se evaporan fácilmente y pueden ser recuperados por destilación luego de su uso. La mayoría de los solventes tienen menor densidad que el agua, excepto algunos halogenados como el cloruro de metileno o cloroformo que son más densos que el agua.
    - **Solventes polares:** son sustancias en cuyas moléculas la distribución de la nube electrónica es asimétrica, por lo tanto, la molécula presenta un polo positivo y otro negativo. Algunos solventes polares conocidos son: agua y alcoholes de baja masa molecular (Bottani et al., 2006).
    - **Solventes apolares:** En general, son sustancias de tipo orgánico en cuyas moléculas, la distribución de la nube electrónica es simétrica, por lo tanto, estas sustancias carecen de polo positivo y negativo en sus moléculas. No pueden considerarse como dipolos permanentes. Esto no implica que algunos de sus enlaces sean polares. Todo dependerá de la geometría de sus moléculas. Si los momentos dipolares individuales de sus enlaces están compensados, la molécula será, en conjunto, apolar. Los solventes que hacen parte de este grupo son: dietiléter, cloroformo, benceno, tolueno, xileno, cetonas, hexano, ciclohexano, tetracloruro de carbono, etc. (Bottani et al., 2006).

Teniendo en cuenta estudios previos realizados en este trabajo, se determinó que el solvente polar que arrojó mejores resultados fue el etanol, siendo más

eficiente en cuanto a la extracción de metabolitos secundarios. Es de resaltar que este solvente es muy afín, según su polaridad por el metabolito de interés.

### **1.4.3 Hidrodestilación**

Albarracín y Gallo (2003), describen que el principio de la destilación en agua es llevar a estado de ebullición una suspensión acuosa de un material vegetal aromático, de tal manera que los vapores generados puedan ser condensados y colectados. El aceite que es inmiscible en el agua se separa posteriormente. En la destilación con agua, el material vegetal siempre debe encontrarse en contacto con el agua, si el calentamiento del equipo es con fuego directo, el agua presente en la cámara extractora debe ser suficiente y permanente para llevar a cabo toda la destilación, a fin de evitar el sobrecalentamiento y carbonización del material vegetal, dado que este hecho provoca la formación de olores desagradables en el producto final. El material vegetal debe ser mantenido en constante agitación, a fin de evitar aglomeraciones o sedimentación de este en el fondo del recipiente, lo cual puede provocar su degradación térmica.

El tiempo total de destilación es función de los componentes presentes en el aceite esencial. Si el aceite contiene compuestos de alto punto de ebullición, el tiempo de destilación deberá ser mayor, los aceites esenciales obtenidos mediante destilación en agua normalmente presentan notas más fuertes y un color más oscuro respecto a los producidos por otros métodos.

### **1.4.4 Maceración**

La maceración es un proceso de extracción sólido-líquido donde la materia prima posee una serie de compuestos solubles en el líquido de la extracción que son los que se pretende extraer. El proceso de maceración genera dos productos que pueden ser empleados, dependiendo de las necesidades de uso, el sólido ausente de esencias o el propio extracto. La naturaleza de los compuestos extraídos depende de la materia prima empleada, así como el líquido de extracción. En este estudio se empleó la técnica de maceración en frío (López, 2008).

- a) **Maceración en frío:** esta técnica consiste en sumergir el producto a macerar en un recipiente con la cantidad suficiente de solvente para cubrir totalmente la materia prima a estudiar. El tiempo que transcurre es largo, dependiendo de la materia prima que se vaya a macerar. Las ventajas de este tipo de maceración son la utilización de equipos simples que requieren mínimas cantidades de energía y la capacidad de extraer la mayoría de las propiedades del material a estudiar, con relación al solvente a utilizar, sin obtener alteraciones por la temperatura. Sin embargo, el tiempo del macerado debe ser mucho más extenso para lograr una extracción adecuada (López, 2008).
- b) **Maceración con calor:** este proceso consiste en el contacto entre las fases, el producto a macerar y el solvente, así como la variación en la temperatura, ya que en este caso pueden variar las condiciones del proceso. El tiempo de la maceración es un poco menor debido a que el calor acelera el proceso (López, 2008).

## 1.5 Técnicas cromatográficas y de espectrofotometría en la purificación y caracterización de metabolitos

Son múltiples las técnicas que se emplean en la caracterización de las soluciones que se emplean para la purificación y caracterización de los compuestos (metabolitos) que pueden presentarse en la solución extraída. Por su nivel de utilidad e importancia en esta área de la ciencia, se pueden citar:

**Cromatografía líquida – sólido:** en la cromatografía líquido- sólido, la superficie sólida absorbe pequeñas capas de moléculas, de componente sólido de una mezcla. Pueden separarse dos solutos que difieran en coeficientes de adsorción hacia cierto sólido (Unam, 2007).

**Cromatografía líquida – líquido:** se emplea un líquido como fase móvil y un segundo líquido fijado por absorción, a manera de película fina, sobre soporte sólido. Esta película se comporta como fase líquida estacionaria y la mezcla se distribuirá entre las dos fases líquidas (Unam, 2007).

**Cromatografía gas – líquido:** en esta técnica, la fase estacionaria es una película de líquido absorbida sobre soporte sólido y la fase móvil es una muestra de mezcla vaporizada y gas transportador (Unam, 2007).

**Espectrofotometría ultravioleta visible:** la espectrofotometría UV-visible es una técnica analítica que permite determinar la concentración de un compuesto en solución. Se basa en que las moléculas absorben las radiaciones electromagnéticas y a su vez que la cantidad de luz absorbida depende de forma lineal de la concentración. Para hacer este tipo de medidas se emplea un espectrofotómetro, en el que se puede seleccionar la longitud de onda de la luz que pasa por una solución y medir la cantidad de luz absorbida por la misma (Abril, 2014).

**Espectrofotometría infrarroja:** la espectrometría infrarroja se basa en el hecho de que los enlaces químicos de las sustancias tienen frecuencias de vibración específicas, que corresponden a los niveles de energía de la molécula. Estas frecuencias dependen de la forma de la superficie de energía potencial de la molécula, la geometría molecular, las masas atómicas y posiblemente, el acoplamiento vibracional (Pérez, 2014).

**Espectrofotometría de absorción atómica:** esta técnica consiste en la medición de las especies atómicas por su absorción a una longitud de onda particular. La especie atómica se logra por atomización de la muestra, siendo los distintos procedimientos utilizados para llegar al estado fundamental del átomo lo que diferencia las técnicas y accesorios utilizados (Choussy, 2004).

**Espectrofotometría masas:** es una técnica de análisis cualitativo de amplia utilización para la determinación de estructuras orgánicas. Está basada en la obtención de iones, a partir de moléculas orgánicas en fase gaseosa. Estos se separan de acuerdo con su masa y su carga y finalmente, son detectados por el dispositivo (MNCN, 2014).



# 2

## Antioxidantes

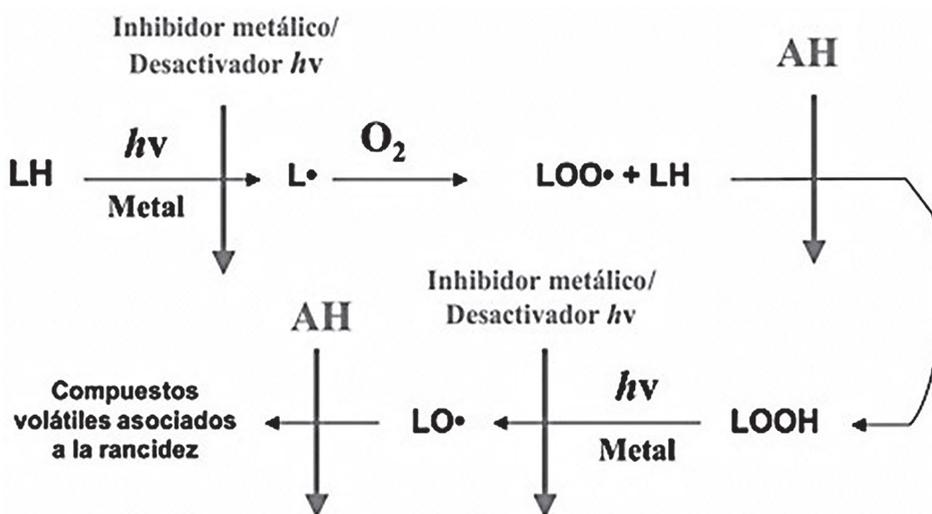
**Elaborado por:** Suárez-Rivero, Deivis; Marín-Mahecha, Olga; León-Peraza, Paula Andrea; David-Úsuga, Mercedes; López-Hernández, Daniel Felipe; Sierra-Sarmiento, Mauricio A.



## 2.1 Generalidades de los antioxidantes

Para Zamora (2007), los antioxidantes son sustancias químicas que se caracterizan por impedir o retrasar la oxidación de diversas sustancias, principalmente de los ácidos grasos, cuyas reacciones se producen tanto en los alimentos, como en el organismo humano, en el cual puede provocar alteraciones fisiológicas importantes desencadenantes de diversas enfermedades. De acuerdo con lo expuesto por la Organización Mundial de la Salud (OMS), en el 2010, la baja ingesta de frutas y verduras que contienen antioxidantes ocasiona 1,7 millones de muertes anuales.

De acuerdo con Iglesias (2009) y según trabajos presentados por Halliwell y Gutteridge (2015), una sustancia antioxidante es “aquella que, cuando está presente a bajas concentraciones en comparación con el sustrato susceptible a la oxidación sobre el que actúa, produce un retardo significativo o previene la oxidación de ese sustrato”. Los antioxidantes son moléculas de tipo orgánico, que pueden actuar mediante diversos mecanismos, inhibiendo el progreso de la oxidación lipídica en cualquiera de las etapas que constituyen esta reacción o interactuando con los diversos antioxidantes endógenos, impidiendo su consumo durante el desarrollo de la oxidación.



**Figura 5.** Lugares de actuación de los aditivos antioxidantes en el mecanismo de la oxidación lipídica.

Fuente: (Iglesias, 2009).

En varias investigaciones realizadas por López et al., (2012) durante ese año, se concluye que:

- Los antioxidantes son un conjunto de compuestos químicos o productos biológicos que contrarrestan de una manera directa o indirecta los efectos nocivos de los radicales libres u oxidantes, tales como oxidación a lípidos, proteínas, y ácidos nucleicos, alterando las funciones celulares. Se han clasificado en dos principales sistemas, el sistema enzimático y no enzimático. Cuando estos sistemas antioxidantes fracasan se produce un exceso de radicales libres.
- El sistema de antioxidantes no enzimático o exógeno está determinado por una serie de compuestos llamados depuradores de radicales libres, los cuales intervienen, logrando retrasar la producción y acción de los radicales libres. Algunos antioxidantes no enzimáticos de las células son el glutatión, ácido lipoico, la bilirrubina, las ubiquinonas, los bioflavonoides, la vitamina E (alfa tocoferol), la vitamina C (ácido ascórbico), la vitamina A, los carotenoides, acetil-L- carnitina, coenzima Q10, curcumina, N-acetil-cisteína (NAC), resveratrol, selenio, vitamina B; mientras que los minerales selenio, cobre, zinc y magnesio forman parte de la estructura molecular de algunas de las enzimas antioxidantes. La vitamina C y E, los carotenoides, el selenio y flavonoides son las moléculas químicas antioxidantes más conocidas.
- El sistema de defensa correspondiente a las enzimas antioxidantes o endógenas incluye a enzimas como superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GSH-PX), tioredoxina reductasa y glutatión reductasa. La superóxido dismutasa es una metaloenzima ampliamente encontrada en células procariontes y eucariontes, que permite la dismutación del ión superóxido en peróxido de hidrógeno y cuya acumulación se evita por el sistema de catalasa/glutatión peroxidasa, transformándolo en oxígeno no molecular, agua y glutatión oxidado.

## 2.2 Clasificación de los antioxidantes

López et. al (2012) menciona que los antioxidantes se han clasificado en dos sistemas principales: enzimático y no enzimático. Cuando estos dos sistemas fracasan se produce un exceso de radicales libres. Algunos ejemplos de estos antioxidantes, se observan en las tablas 1 y 2.

**Tabla 1.** Antioxidantes enzimáticos.

Antioxidante	Ubicación celular	Función fisiológica
Superóxido Dismutasa	Citoplasma (SOD-1) Mitocondria (SOD-2) Extracelular (SOD-3)	Dismutación de radicales superóxido
Glutación peroxidasa	Citoplasma y mitocondria	Elimina el peróxido de hidrógeno y los hidroperóxidos orgánicos
Catalasa	Citoplasma y mitocondria	Elimina el peróxido de hidrógeno

Fuente: (López et al., 2012).

**Tabla 2.** Antioxidantes no enzimáticos.

Antioxidante	Función fisiológica
Vitamina E	Capta los radicales libres en membrana, evitando la lipoperoxidación.
Vitamina C	Efecto eliminador de radicales y recicla la vitamina E. Ambas vitaminas, C y E trabajan como antioxidantes.
Glutación	Tiene varios efectos en la defensa antioxidante celular.
Ácido lipoico	Antioxidante eficaz y sustituto eficaz del glutati6n.
Carotenoides	
Ubiquinonas	Antioxidante de lípidos.
CoQ10	Efectos de gran utilidad como antioxidantes.

Fuente: (López et al., 2012).

## 2.3 Mecanismos de actuación

Conforme a Iglesias (2009):

- a. Inhibidores de las reacciones que implican la formación de radicales libres son los llamados “antioxidantes preventivos”. Entre los más importantes se destacan los

que son capaces de evitar la descomposición de los hidroperóxidos formados en la etapa de iniciación.

- b. Antioxidantes que inhiben o interrumpen el mecanismo de auto-oxidación en la etapa de propagación, también llamados “verdaderos antioxidantes”.
- c. Sustancias que inhiben la activación de la oxidación lipídica promovida por la luz, desactivando moléculas excitadas como el oxígeno *singlete*. Son las llamadas “*quencher*” y normalmente son del grupo de los carotenos.
- d. Sustancias que actúan de forma sinérgica con los “verdaderos antioxidantes”. Pueden ser sustancias que no poseen gran actividad antioxidante por sí sola, pero que potencian la actividad de otros antioxidantes, tanto aditivos como endógenos. El ejemplo más claro de este tipo de compuestos es el ácido cítrico.
- e. Agentes reductores como los tioles, que son capaces de convertir hidroperóxidos lipídicos en compuestos más estables, mediante un mecanismo no radicalario.
- f. Los agentes quelatantes convierten los metales prooxidantes como el Fe o el Cu en productos estables, evitando el efecto catalítico de los mismos. La quercetina y los taninos son ejemplos de agentes quelatantes eficientes.
- g. Inhibidores de enzimas prooxidantes como las lipoxigenasas.

## 2.4 Tipos de antioxidantes

Según Iglesias (2009), un antioxidante puede ser definido, en el sentido más amplio de la palabra, como cualquier molécula capaz de prevenir o retardar la oxidación (pérdida de uno o más electrones) de otras moléculas, generalmente sustratos biológicos como lípidos, proteínas o ácidos nucleicos. La oxidación de tales sustratos podrá ser iniciada por dos tipos de especies reactivas: los radicales libres y aquellas especies que sin ser radicales libres son suficientemente reactivas para inducir la oxidación de sustratos como los mencionados. Pueden clasificarse en:

**Sintéticos:** Los antioxidantes sintéticos más importantes o más utilizados como aditivos en alimentos son el butilhidroxianisol (BHA), butilhidroxitolueno (BHT), el propilgalato (PG) y el palmitato de ascorbilo. Otros como la terbutilhidroquinona (TBHQ) pueden utilizarse en Estados Unidos, pero no en Europa. Los antioxidantes sintéticos son ampliamente utilizados en la industria de los alimentos. BHA y BHT son muy efectivos en grasas animales y menos en las grasas y aceites vegetales.

Si bien los antioxidantes sintéticos son altamente efectivos y económicos, durante los últimos años su empleo está siendo cuestionado por sus posibles efectos adversos sobre la salud. Existen estudios que demuestran los efectos carcinogénicos de estas sustancias en animales (Botterweck et al., 2000).

**Naturales:** El término alude a aquellas sustancias, con propiedades antioxidantes, que se presentan o pueden ser extraídas de los tejidos de las plantas y los animales (Pokorny y Yanishlieva, 2005). Debido a la mala imagen adquirida y al rechazo por parte del consumidor de los antioxidantes sintéticos, la utilización de antioxidantes naturales como aditivos alimentarios ha adquirido un gran interés en los últimos años.

**Tabla 3.** Antioxidantes enzimáticos según la especie que lo contiene.

Especie/ Hierba	Nombre Científico	Compuestos antioxidantes	Modo de acción
<b>Romero</b>	<i>Rosemarinus officinalis</i>	Carnosol, ácido carnósico, rosmanol, rosmadial, diterpenos (epirosmanol, isorosmanol, rosmaridifenol, rosmariquinona, ácido rosmarínico).	Elimina los radicales superóxido, antioxidante de lípidos y quelante de metales.
<b>Salvia</b>	<i>Salvia officinalis L.</i>	Carnosol, ácido carnósico, rosmanol, rosmadial, ésteres metílicos y etílicos de carnosol, ácido rosmarínico.	Eliminador de radicales libres

**Continuación Tabla 3.** Antioxidantes enzimáticos según la especie que lo contiene.

<b>Especie/ Hierba</b>	<b>Nombre Científico</b>	<b>Compuestos antioxidantes</b>	<b>Modo de acción</b>
<b>Orégano</b>	<i>Origanum vulgare</i> L.	Ácido rosmarínico, ácido cafeico, ácido protocatéquico, 2-caffeoyloxy-3-[2-(4-hidroxibencil)-4,5-dihidroxi] ácido fenilpropanoico; flavonoides – apigen, eriodictiol, dihydroquercetin, dihydrokaemperol, carvacrol, timol.	Eliminador de radicales libres
<b>Tomillo</b>	<i>Thymus vulgaris</i> L.	Timol, carvacrol, p- Cumeno- 2,3 diol, ácidos fenólicos (ácido gálico, ácido cafeico, ácido rosmarínico) diterpenos fenólicos, flavonoides.	Eliminador de radicales libres
<b>Jengibre</b>	<i>Zingiber officinale</i> L.	Gingerol, shogaol, zingerona.	Eliminador de radicales libres
<b>Cúrcuma</b>	<i>Curcuma doméstica</i> L.	Curcuminas, (4-hidroxicinamoil) metano.	Eliminador de radicales libres
<b>Pimienta negra</b>	<i>Piper nigrum</i> L.	Kaempferol, ramnetina, quercetina.	Eliminador de radicales libres
<b>Ají picante</b>	<i>Capsicum frutescense</i> L.	Capsaicina, capsaicinol.	Eliminador de radicales libres

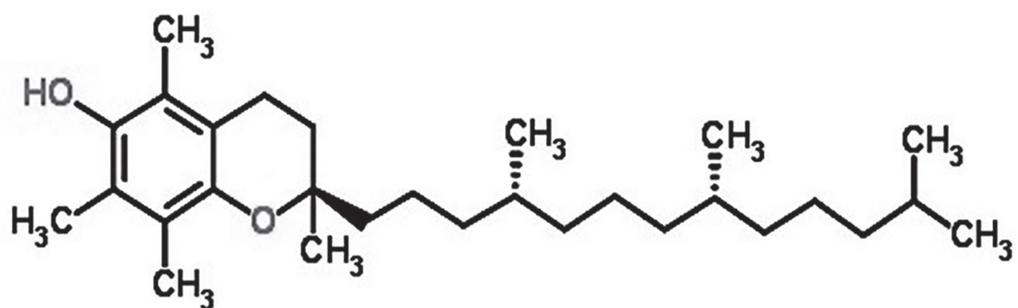
Fuente: (Embuscado, 2014).

## 2.5 Sistemas antioxidantes endógenos no enzimáticos

En el caso de los antioxidantes endógenos no enzimáticos, se ubican principalmente en el citosol, matriz mitocondrial y nuclear y fluidos extracelulares, estos incluyen al glutatión, el ácido úrico, la bilirrubina, la albúmina y la ubiquinona.

### 2.5.1 Vitamina E

Existen distintas formas de tocoferol, todas ellas presentes en los aceites vegetales, que se diferencian por el número y posición de restos metilo en el anillo fenólico del cromano. Así mismo, la función principal de la Vitamina E es su efecto antioxidante. Su oxidación sirve de protección a otras moléculas, especialmente a los ácidos grasos poliinsaturados, protegiendo de esta forma las estructuras de las que forman parte como son las membranas celulares. La hemólisis es uno de los efectos carenciales más significativos, sobre todo en niños. Su función antioxidante provoca su destrucción y eliminación, lo que dificulta su acumulación en el organismo (Teijón, 2006).



**Figura 6.** Estructura química, Vitamina E – Tocoferol.

Fuente: Chempider (s.f).

### 2.5.2 Carotenoides

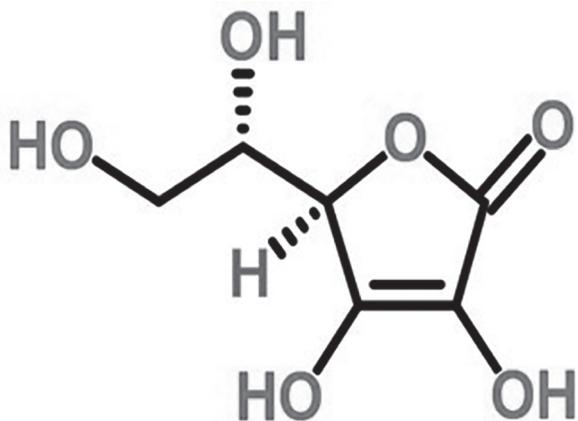
Los carotenoides son tetraterpenos, compuestos de 40 átomos de carbono, formalmente derivados del fitoeno. Pueden ser de dos clases: los carotenos, compuestos hidrocarbonados y las xantofilas, derivados oxigenados de los carotenos.

Muchas de las funciones de los carotenoides son consecuencia de su capacidad para absorber la luz, por lo que su papel natural es dar color. Sin embargo,

también está bien establecida su función como antioxidante en los organismos fotosintéticos y en muchos no fotosintéticos aerobios, participando en la desactivación de radicales libres que se producen durante el metabolismo normal de las células (Hernández, 1999).

### 2.5.3 Vitamina C

Según Latham (2002), el ácido ascórbico es una sustancia blanca cristalina, muy soluble en agua. Tiende a oxidarse con facilidad. No la afecta la luz, pero el calor excesivo la destruye, sobre todo cuando se encuentra en una solución alcalina. Como es un agente antioxidante y reductor poderoso, puede por lo tanto reducir la acción perjudicial de los radicales libres y es también importante para mejorar la absorción del hierro no-hemínico en alimentos de origen vegetal.



**Figura 7.** Estructura química de la Vitamina C.

Fuente: Chemspider (s.f).

El ácido ascórbico es necesario para la formación y mantenimiento adecuado del material intercelular, sobre todo del colágeno. En términos sencillos, es esencial para producir parte de la sustancia que une a las células, así como el cemento une

a los ladrillos. En una persona que tiene carencia de ácido ascórbico, las células endoteliales de los capilares carecen de solidez normal. Son, por lo tanto, frágiles y se presentan hemorragias. De modo semejante, la dentina de los dientes y el tejido óseo de los huesos no se forman bien. Además, esta propiedad de fijación celular explica la cicatrización pobre y la lentitud en el proceso de curación de las heridas que se ve en personas con carencia de ácido ascórbico (Latham, 2002).

## 2.6 Sistemas antioxidantes endógenos enzimáticos

Es importante señalar que no todos los antioxidantes actúan de esta manera, los llamados enzimáticos catalizan o aceleran reacciones químicas que utilizan sustratos que a su vez reaccionan con los RL. Halliwell (2011) define como antioxidante a toda sustancia que hallándose presente a bajas concentraciones con respecto a las de un sustrato oxidable (biomolécula), retarda o previene la oxidación de dicho sustrato.

Hernández et al. (2011), afirman que un antioxidante facilita el uso fisiológico del oxígeno por parte de las mitocondrias celulares, lo cual contribuye a reducir los efectos del estrés oxidativo y la falta de oxígeno, al formar complejos que reducen las reacciones productoras de RL. La función antioxidante desempeñada por estas enzimas presenta diversas ventajas frente a los no enzimáticos y exógenos, puesto que su actividad es regulada de acuerdo con los requerimientos celulares, ya que pueden ser inducidas, inhibidas, o activadas por efectos endógenos.

### 2.6.1 Superóxido dismutasa

Botello et al. (2005) concluyeron que: las SODs son un grupo de metaloenzimas que catalizan la conversión del anión superóxido reactivo ( $O_2^-$ ) para producir peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), el cual, por sí mismo es un importante compuesto con oxígeno reactivo (ROS). El  $H_2O_2$  es subsecuentemente detoxificado por dos tipos de enzima: catalasa (CAT) y glutatión peroxidasas (GPOXs). Las SOD se consideran que juegan un papel importante que radica por su presencia en todos los organismos aeróbicos estudiados. Asimismo, la tasa de SOD- catalizada por dismutación de  $O_2^-$  se aproxima al límite de difusión, haciéndola una de las enzimas más activas.

## 2.6.2 Catalasa

De acuerdo con Cavallini et al. (2005), la catalasa es una enzima hemoproteica que se caracteriza por poseer una estructura tetramérica, en la cual cada subunidad contiene un grupo Hem ( $\text{Fe}^{+3}$ ). Está presente en la mayoría de las bacterias aerobias estrictas, facultativas y anaerobias aerotolerantes.

La catalasa manifiesta actividad de peroxidasa, cataliza la oxidación de sustratos acoplada a la reducción de peróxido de hidrógeno, para formar agua y oxígeno molecular. En la prueba de catalasa la reacción se efectúa con dos moléculas de peróxido de hidrógeno, una de las cuales actúa como sustrato reducido y la otra como sustrato donador de átomos de hidrógeno; esto resulta en la formación de agua (sustrato reducido) y oxígeno (donador oxidado).

## 2.6.3 Glutación peroxidasa

Es una enzima citosólica e intramitocondrial que degrada la mayor parte del peróxido de hidrógeno transformándolo, en presencia de glutatión reducido, en agua y glutatión oxidado. La glutatión peroxidasa limita igualmente la propagación de radicales, reduciendo los peróxidos inestables en ácidos grasos hidroxilados. Junto a ello, la glutatión peroxidasa que se localiza en la membrana plasmática posee la capacidad de convertir los peróxidos lipídicos, formados a partir de los fosfolípidos, en alcoholes (Sabán, 2012).

## 2.6.4 Glutación Reductasa

La glutatión reductasa (GRd) es una flavoenzima dependiente del nicotinamín adenín dinucleótido fosfato reducido (NADPH) que cataliza la reducción del glutatión oxidado (GSSG) a glutatión reducido (GSH), el cual será utilizado por la glutatión peroxidasa (GPx) para la reducción del peróxido de hidrógeno ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) y de lipoperóxidos (L-OOH), los cuales son elementos tóxicos. Es decir, específicamente tiene una función de pivoteo en el estrés oxidativo. Esta se encuentra en todos los organismos aeróbicos, así como en algunas plantas

superiores por lo que aparenta ser una enzima cuasi universal (Cisneros, 1995).

### **2.6.5 Glutación**

Es un tripéptido (ácido glutámico-cisteína-glicina) que interviene en numerosas reacciones de óxido-reducción. En él la parte que se oxida son los grupos tiólicos (R-SH) de la cisteína. Es así como Crespo (2006) señala que el glutatión inactiva sobre todo al  $H_2O_2$  y además actúa sobre hidroperóxidos orgánicos (R-O-O-H), haciéndolos menos tóxicos y más solubles, por lo que contribuye a la "desintoxicación" con la intervención de la glutatión peroxidasa. La eliminación de  $H_2O_2$  en los diferentes tejidos se lleva a cabo tanto por el glutatión reducido como por la catalasa, aunque la contribución de cada uno de los sistemas está sometido a fluctuaciones en función del tipo de tejido y de otros factores.

### **2.6.6 Coenzima Q10 (Ubiquinona)**

Según Iglesias (2009), es un compuesto de naturaleza liposoluble que se encuentra principalmente en la membrana mitocondrial de las células. La forma reducida neutraliza radicales de peróxido, pero de una manera menos efectiva que el  $\alpha$ -tocoferol. Otro mecanismo antioxidante de este compuesto es la regeneración del  $\alpha$ -tocoferol a partir del radical tocoferoxilo.

### **2.6.7 Ácido tióctico**

Ampliamente distribuido en animales y plantas, desempeña una función elemental como coenzima en diversas reacciones, particularmente en la descarboxilación oxidativa del ácido pirúvico. Todas son reacciones muy conocidas, donde el AT se desempeña como un importante factor regulador de la formación del acetyl Co A. Sin embargo, la importancia de la participación del AT y del ADT en otras reacciones de activación enzimática no ha sido bien establecida. Interesa especialmente la función regulatoria en dos sistemas que se encuentran involucrados en la producción de radicales libres: la síntesis de

prostaglandinas y la conversión de xantina dehidrogenasa (XD) en xantina oxidasa (Roldán, 1988).

### **2.6.8 Ácido úrico**

Es el producto final del metabolismo de las mieloproteínas endógenas o de las contenidas en la dieta. La degradación de las purinas da lugar a la formación de hipoxantina que, por la acción de la enzima xantina-oxidasa pasa a xantina y posteriormente a ácido úrico (AU). La síntesis de AU se acompaña de formación de radicales libres de oxígeno (Coca et al., 2009).

### **2.6.9 Bilirrubina**

De acuerdo con el estudio realizado por García (2006), la sustancia que colorea la bilis es la bilirrubina, pigmento de color amarillo a pardo que se oxida en biliverdina, pigmento verde. La bilirrubina es un producto de degradación de la hemoglobina y por ello, se forma en sitios donde se destruyen los hematíes. Sin embargo, a diferencia de la hemosiderina, no contiene hierro y es más soluble. Por ello, no tiende a permanecer en el citoplasma de los macrófagos que destruyen los eritrocitos, sino se disuelve en la sangre, de la cual constatemente es extraída por las células del hígado para llegar a la bilis.

### **2.6.10 Tiorredoxina**

Mark et al. (2007) demostraron que es una proteína de 12 kd que contiene residuos proteícos de cisteína que oscilan entre las formas reducidas, sulfhidrilo, oxidada y disulfuro. La forma reducida de la tiorredoxina activa muchas enzimas biosintéticas, al reducir los puentes disulfuro que controlan la actividad de dichas enzimas y mediante el mismo mecanismo, inhibe algunas enzimas degradativas. En los cloroplastos, la tiorredoxina oxidada es reducida por la ferredoxina en una reacción catalizada por la ferredoxina-tiorredoxina reductasa. Esta enzima contiene una agrupación 4Fe-4S que acopla dos oxidaciones de un electrón, cada una de la ferredoxina reducida con la reducción de dos electrones de la tiorredoxina.

## **2.7 Métodos de extracción de antioxidantes**

### **2.7.1 Extracción sólido- líquido Soxhlet**

Según Canosa (s.f.), Soxhlet es la técnica más antigua para la extracción de compuestos orgánicos en matrices sólidas. Desarrollada en 1879, sigue siendo hoy en día, una técnica aceptada por la Agencia de Protección Medioambiental (EPA), como el método 3540C y usada como procedimiento de referencia respecto a otras técnicas más actuales.

La extracción exhaustiva de componentes orgánicos en un sistema Soxhlet se lleva a cabo usando un disolvente orgánico, el cual refluye a través de la muestra contenida en un dedal poroso de celulosa o vidrio. Las ventajas más importantes de la extracción Soxhlet son el contacto continuo de la muestra con una porción fresca de disolvente, simplicidad, bajo costo de adquisición y la posibilidad de procesar grandes cantidades de muestra.

### **2.7.2 Extracción por hidrodestilación**

La hidrodestilación o destilación del material vegetal por medio del arrastre del aceite esencial con vapor de agua es un procedimiento ampliamente utilizado, debido al relativamente sencillo equipo necesario y a su gran versatilidad a la hora de aplicarlo a materiales vegetales diferentes. Su principal inconveniente es la alta temperatura de operación, que lo hace inapropiado para aquellos aceites esenciales sensibles al calor (Ortuño, 2006).

### **2.7.3 Arrastre de vapor**

Se basa en el hecho de que muchas sustancias, cuyos puntos de ebullición son esencialmente superiores al del agua, se vaporizan, dependiendo su tensión de vapor, por burbujeo de vapor de agua y a continuación, se condensan por enfriamiento junto con el agua. Cuando la sustancia que se va a purificar es prácticamente insoluble en agua, las correspondientes tensiones de vapor

apenas se alteran. Sin embargo, cuando por calentamiento la suma de las presiones parciales de ambas sustancias alcanza la presión atmosférica, comienzan a hervir. Sustancias muy poco volátiles se pueden arrastrar con vapor de agua “sobrecalentado” y de esta forma se obtienen puras. (Beyer y Walter, 1987).

## **2.8 Métodos analíticos para determinación antioxidante**

La eficiencia antioxidante de especies y hierbas puede determinarse mediante el empleo de varios métodos analíticos. Las pruebas analíticas utilizadas frecuentemente son: Dpph (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), Frap (Poder antioxidante reductor del hierro), Orac (Capacidad de absorción de radicales de oxígeno), contenido de fenoles totales, Abts (2,2-bis-azino- ácido 3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico), Cuprac (Ión cúprico reductor de la capacidad antioxidante), Trap (Parámetro antioxidante total de captura de radicales), Teac (Capacidad antioxidante Trolox equivalente) y otros. (Embuscado, 2014).

# 3

## Comportamiento de los Microorganismos frente a la Susceptibilidad *In Vitro*

**Elaborado por:** Marín-Mahecha, Olga; Suárez-Rivero, Deivis; Ortiz-Aguilar, Jannet; Puentes, A. E.; León-Peraza, Paula Andrea; David-Úsuga, Mercedes; López-Hernández, Daniel Felipe.



Sánchez et al. (2011), expresaron que la resistencia de los microorganismos a los fármacos y plaguicidas existentes es un problema que tiende a incrementarse. Por esta razón, se mantiene la búsqueda de nuevos antimicrobianos para combatir las enfermedades, superar los problemas de resistencia bacteriana y los efectos secundarios de algunos agentes disponibles. Desde el punto de vista fitosanitario, la demanda creciente de nuevos antimicrobianos responde también a la poca disponibilidad y eficacia de los productos existentes para el control de algunos patógenos. Estos problemas han llevado a la búsqueda de alternativas de control y una de las opciones que está en vía de desarrollo y explotación es el uso de antimicrobianos de origen natural.

### 3.1 Mecanismos de acción del extracto

Es importante considerar los estudios hechos por Calvo y Martínez (2009) en los que afirman que los extractos antimicrobianos actúan contra los microorganismos de diversas maneras, afectando su estructura morfológica, como se describen a continuación:

- Inhiben la síntesis de la pared celular.
- Inhiben la síntesis proteica.
- Inhiben la síntesis de los ácidos nucleicos.
- Altera la permeabilidad celular.

#### 3.1.1 Método de medición de la susceptibilidad antimicrobiana

Palavecino (2014) denomina antibiótica a aquella sustancia que interfiere el crecimiento y la supervivencia de los microorganismos mediante una interacción específica (toxicidad selectiva) con alguno de sus componentes celulares. Los métodos de susceptibilidad antimicrobiana son métodos *in vitro* que determinan la susceptibilidad de los microorganismos a una variedad de agentes antimicrobianos, bajo condiciones de laboratorio específica y estandarizada.

### 3.1.2 Métodos para determinar halos de inhibición

Diferentes métodos de laboratorio pueden ser usados para determinar *in vitro* la susceptibilidad de bacterias ante agentes microbianos. Los resultados son influenciados por el método seleccionado, los microorganismos usados y el grado de solubilidad de cada compuesto evaluado. Los métodos para evaluar la actividad antibacteriana están clasificados en tres grupos principales: Métodos de difusión, métodos de dilución y bioautografía (Ramírez y Marín, 2009).

- **Métodos de difusión:** la técnica está basada en el método de Kirby-Bauer. El método se basa en la relación entre la concentración de la sustancia necesaria para inhibir una cepa bacteriana y el halo de inhibición de crecimiento en la superficie de una placa de agar con un medio de cultivo adecuado y sembrado homogéneamente con la bacteria a ensayar y sobre la cual, se ha depositado un disco de papel filtro de 6 mm de diámetro o se ha sembrado en pozo impregnado con una cantidad conocida de la sustancia (Ramírez y Marín, 2009). Es necesario señalar que el tamaño del halo de inhibición es influenciado por varios factores, entre ellos (Ramírez y Marín, 2009):
  - Medio de cultivo en que se realiza la prueba.
  - Capacidad de difusión del compuesto.
  - Cantidad de inóculo.
  - Tiempo de generación del microorganismo.
  - Sensibilidad al antibiótico.
  - Período de incubación.
- **Métodos de dilución:** el método de dilución en agar o en caldo como test de susceptibilidad microbiana es utilizado para determinar la concentración mínima bactericida (CMB) y la concentración mínima inhibitoria (CMI) (Ramírez y Marín, 2009).

**Método de dilución agar:** las cajas se siembran por profundidad con una determinada concentración de extracto vegetal, luego se inoculan con el microorganismo en estudio y se incuban por 24

horas, después se examina si el microorganismo crece o no en cada una de las cajas, la principal desventaja de este método es la cantidad necesaria de muestra a evaluar (Ramírez y Marín, 2009).

**Método de dilución en caldo:** son utilizados tubos o microplacas (microdilución) que contienen concentraciones crecientes del extracto vegetal. El organismo en estudio es inoculado en los diferentes tubos o pozos de las microplacas y la CMI es determinada después de la incubación (Ramírez y Marín, 2009).

**Bioautografía:** este ensayo puede representar una herramienta útil para la purificación de sustancias antibacterianas o como una técnica de tamizaje fotoquímico preliminar, o un fraccionamiento bioguiado. El ensayo se realiza a través de cromatogramas, que permitan la localización de los compuestos activos. El método consiste en colocar las muestras a evaluar en placas de TLC, seleccionar la fase móvil que dé mejor separación, posteriormente esta placa es llevada y colocada en forma invertida sobre una caja de petri previamente inoculada con el microorganismo a evaluar, se deja de 8 a 12 horas en la nevera para facilitar la difusión de los extractos en el medio, luego se retira la placa y se lleva la caja a incubación, luego se observa el halo de inhibición donde está el compuesto activo (Ramírez y Marín, 2009).

### 3.1.3 Determinación del porcentaje de inhibición

El porcentaje de inhibición del crecimiento fue calculado, tomando en cuenta que la inhibición es el inverso del crecimiento y los resultados fueron calculados mediante la fórmula según Márquez, et al. (2005) para la bacteria.

$$\% \text{ Efecto de inhibición} = \frac{\text{Diámetro del halo del microorganismo del extracto}}{\text{Diámetro del halo de inhibición control positivo}} * 100$$

Para el porcentaje de inhibición de los hongos se utiliza la fórmula descrita por Tequida et al., (2002).

$$\% \text{ Crecimiento} = \frac{\text{Diámetro del crecimiento del microorganismo en el extracto}}{\text{Diámetro del control negativo}} * 100$$

$$\% \text{ Inhibición} = 100 - \% \text{ crecimiento}$$

Es de resaltar que el tamaño del halo de inhibición de desarrollo variará con base en los siguientes parámetros o variables (Hudzicki, 2014):

- La concentración del extracto.
- Sensibilidad de los microorganismos.
- Tiempo y temperatura de incubación.

Por otra parte, con el fin de verificar que la inhibición sí es ocasionada por el metabolito separado, se realiza un antibiograma. El antibiograma define la actividad *in vitro* de un antibiótico frente a un microorganismo determinado, reflejando la capacidad de inhibir el crecimiento de un bacteria o población bacteriana (Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica et al., 2000).

La razón por la cual es conveniente el estudio del antibiograma de una bacteria determinada radica el hecho de la diferente sensibilidad a los antibióticos de las distintas especies bacterianas y más aún, en el hecho de que en numerosas especies existen grandes diferencias de sensibilidad a un determinado antibiótico entre unas y otras cepas (López, 2012).

La lectura interpretada del antibiograma no debe confundirse con el proceso de simple interpretación de los resultados de las pruebas de sensibilidad, por medio de los puntos de corte. Este último se realiza rutinariamente en los laboratorios de microbiología y consiste en la clasificación de los resultados, es decir, en la traducción de los halos de inhibición o valores de CMI en las categorías clínicas "sensible", "intermedia" o "resistente" que aparecen en los informes de sensibilidad (Cantón, 2010). Es entonces que,

**Susceptible:** significa que la infección causada por ese organismo puede ser apropiadamente tratada con las dosis habituales del antibiótico estudiado (Cantón, 2010).

**Sensibilidad intermedia:** esta categoría incluye organismos que son inhibidos por concentraciones del antibiótico que están muy cercanas a las alcanzadas en el plasma, por lo que pueden responder pobremente al estudio (Cantón, 2010).

**Resistente:** significa que el organismo no sería inhibido por el antibiótico en las dosis habituales o que el organismo tiene mecanismos de resistencia contra ese determinado antibiótico (Cantón, 2010).

La interpretación del antibiograma establece la probabilidad de éxito o de fracaso del estudio que se deriva de la utilización de los antimicrobianos frente a los microorganismos. El objetivo final de la lectura interpretada del antibiograma es la detección de los mecanismos de resistencia, incluidos los de bajo nivel de expresión (Cantón, 2010).

Cabe señalar que la utilización exclusiva de categorías clínicas (sensible, intermedia o resistente), puede limitar la lectura interpretada del antibiograma. Esta circunstancia se agrava cuando se consideran mecanismos de resistencia de baja expresión que implican valores de CMI o halos de inhibición que no superan los puntos de corte de sensibilidad establecidos (Cantón, 2010).

El anterior planteamiento lleva a pensar en otros elementos interpretativos referente a la capacidad inhibitoria de una sustancia determinada. Dado esto, se pueden citar dos elementos adicionales:

- **Concentración inhibitoria mínima (CMI):** Se define CMI como la mínima concentración de antibiótico en un periodo predeterminado, que es capaz de inhibir el crecimiento *in vitro* de un inóculo bacteriano (Taroco, et al., 2014).
- **Concentración bactericida mínima (CBM):** Se define como la mínima concentración de un antibiótico que en un periodo predeterminado es capaz de inducir la muerte *in vitro* del 99,9% de una población bacteriana (Taroco, et al., 2014).

## 3.2 Generalidades fitopatológicas

La fitopatología es la ciencia que estudia las enfermedades de las plantas y las combate. La importancia de las enfermedades de plantas en la agricultura moderna es un hecho ampliamente documentado y reconocido. Las enfermedades no solo tienen el potencial de destruir enteramente las cosechas; aún en los casos en que no causan pérdidas totales, por lo general reducen en forma crónica el rendimiento de la mayoría de los cultivos, obligando a tomar medidas que combaten el aumento de los costos de producción y afectan la calidad y la durabilidad de los productos cosechados. Las enfermedades de las plantas se conocen desde que el hombre comenzó a cultivar la tierra. La mayoría de las enfermedades de las plantas son causadas por microorganismos (Sandoval, 2013).

Entre un factor limitante para la agricultura figuran las enfermedades, pero lo que realmente preocupa es el desarrollo de la plaga, que, en pocas horas, puede destruir cultivos o cosechas completas. La FAO estima que las pérdidas en producción agrícola mundial causadas por diferentes plagas fluctúan entre el 20 % y 40 %. Solo las enfermedades implican pérdidas calculadas de 90 mil millones de dólares, concentrados en las frutas y legumbres, los cultivos de café, té y arroz, en términos de volumen las mayores pérdidas se encuentran en la papa, caña de azúcar y remolacha (FAO, 2014).

### 3.2.1 Bacteria *Erwinia* sp.

*Erwinia* sp. bacteria polífaga que ataca a todas las especies hortícolas. Penetra por heridas e invade tejidos medulares, ocasiona pudriciones blandas y húmedas en raíces reservantes (Pineda, 2012). Su taxonomía se describe en la tabla 4.

**Tabla 4.** Taxonomía *Erwinia* sp.

Taxonomía	
Reino	Bacteria
Filo	Proteobacteria
Clase	Gamma proteobacteria

**Continuación Tabla 4.** Taxonomía *Erwinia* sp.

Taxonomía	
Orden	Enterobacteriales
Familia	Enterobacteriaceae
Género	<i>Erwinia</i>

Fuente: (Pineda, 2012).

Esta bacteria, de forma natural se encuentra en muchos cultivos, en el suelo y en el agua de riego, provocando pudrición blanda. Son bacilos cortos Gram-negativo móvil por flagelos peritricos o periférico, anaerobios facultativos (Méndez e Inostroza, 2009).

Los síntomas se presentan en cualquier estado de desarrollo de la planta. Los tallos afectados muestran una pudrición típica que tiene la apariencia de tinta negra, razón por la cual recibe el nombre de "pie negro". Lo más frecuente es que una las lesiones negras y mucilaginosas las cuales van ascendiendo por el tallo hasta el resto de planta, tubérculo o fruto (Méndez e Inostroza, 2009).

Externamente en el tallo aparecen manchas negruzcas y húmedas. En general la planta suele morir. En frutos también puede producir podredumbres acuosas. Tiene gran capacidad saprofítica, por lo que puede sobrevivir en el suelo, agua de riego y raíces de malas hierbas. Las condiciones favorables para el desarrollo de la enfermedad son altas humedades relativas y temperaturas entre 25 °C y 35°C (Pineda, 2012).

**Lesiones y daños:** El ataque se puede producir en el suelo antes de la cosecha o en el almacenamiento. La bacteria penetra por heridas; al comienzo las lesiones son en forma de heridas circulares húmedas, ligeramente hundidas de color canela o castaño. Se presenta una clara marcación del tejido sano y el enfermo. Al comienzo de la infección el tejido sano es inoloro, como se muestra en la figura 8, pero a medida que esta avanza adquiere olor desagradable y se torna pegajoso, debido a la presencia de otros microorganismos secundarios (Pineda, 2012).



**Figura 8.** Enfermedad de pudrición blanda y pies negros, ocasionada por *Pectobacterium carotoborum* (*Erwinia* sp.).

Fuente: (Ávila, 2004).

### 3.2.2 Hongo *Botrytis* sp.

La enfermedad conocida como “moho gris” causada por *Botrytis* sp., es una de las enfermedades más comunes de muchos cultivos como el clavel, el crisantemo, el estaticé y la rosa, entre otras. También se hospeda en cultivos de tomate, lulo, uchuva, plátano, alcachofa, col, zanahoria, pepino y frutos de postcosecha, entre otros (Romero, 2010). Su taxonomía se puede observar en la tabla 5.

**Tabla 5.** Taxonomía *Botrytis* sp.

Taxonomía	
Reino	Fungi
Filo	Moniliales
Clase	Deuteromycota
Orden	Moniliaceae
Género	<i>Botrytis</i>

Fuente: (Memenza, 2009)

Las enfermedades causadas por *Botrytis* sp. son probablemente las más comunes y las más ampliamente distribuidas en hortalizas, plantas ornamentales y frutas. Es un fitopatógeno que se presenta con frecuencia en cultivos de invernadero. Las plantas pueden ser atacadas en el campo, en el transporte o en el almacenamiento. La penetración del patógeno se realiza directamente a través de heridas causadas por insectos o por medios mecánicos. El hongo es endémico y las esporas están en el aire durante el periodo de desarrollo. Puede atacar cualquier parte de la planta, pero los tejidos viejos o dañados son los más susceptibles (Romero, 2010).

Los síntomas que se presentan por *Botrytis* sp., son manchas foliares pequeñas y de color amarillo al principio, pero posteriormente se extienden, adquiriendo un color canela o gris claro. Las lesiones aparecen en tallos suculentos y pueden ser lesiones hundidas, alargadas y de color oscuro, con un contorno bien definido. Causan marchitamiento y pudrición de pétalos de flores y frutas (Romero, 2010).

**Lesiones y daños:** la *Botrytis* sp. produce lesiones pardas en hojas y flores, en los frutos tiene lugar una podredumbre blanda, siendo acuosa según el tejido, donde se observa el micelio gris del hongo. Las lesiones pueden ser causadas de manera directa, por medio de heridas o indirecta, por el contacto con el agua o los micelios del hongo (Agrios, 2005).

### 3.2.3 Hongo *Penicillium* sp.

Es un hongo de crecimiento rápido que da colonias blancas aterciopeladas inicialmente, las cuales cubren con las esporas y van tomando diferentes colores según la especie, al final quedan cubiertas de esporas con aspecto pulverulento, las colonias se constituyen por micelios de hifas delgadas septadas (Arias y Piñeros, 2008). Su taxonomía puede observarse en la tabla 6.

**Tabla 6.** Taxonomía *Penicillium* sp.

Taxonomía	
Reino	Fungi
Filo	Ascomycota
Clase	Eucomycetes
Orden	Eurotiales
Familia	Trichomaceae
Género	<i>Penicillium</i>

Fuente: (Fundación Bioquímica Argentina, 2011)

Su difusión y multiplicación se lleva a cabo por medio de sus esporas que se encuentran dispersas en el aire. Las esporas no se desarrollan en frutas sanas, penetran en la fruta, a través de los golpes y heridas ocasionados durante la recolección, transporte y manejo de la fruta (Fomesa, 2014).

Su sintomatología se manifiesta como una podredumbre blanda, acuosa y en general, de color marrón claro. Si bien los tonos marrones pueden variar de una fruta a otra, el elemento principal que distingue a esta enfermedad es la consistencia acuosa de la podredumbre. En general, comienza a desarrollarse a partir de una herida. Sobre esta herida aparece el hongo, primero de color blanco y luego se recubre de la esporulación azul característica que le da el nombre de podredumbre blanda o moho azul (Fomesa, 2014).

Las lesiones y daños del hongo (*Penicillium* sp.) lleva a la pérdida total del fruto, debido a que se recubre de una esporulación azul de donde viene su nombre. Este hongo no solamente es responsable de la podredumbre de los frutos, sino que también produce una micotoxina cancerígena llamada patulina, la que puede alcanzar niveles tales que descalifiquen la fruta para procesado, llega a perder su consistencia, desprendiendo un olor característico, perdiendo por completo su aptitud para el consumo humano (FAO, 2014).

### 3.2.4 Hongo *Fusarium* sp.

Crece inicialmente dando una colonia blanca, la cual produce un pigmento de color vino. La colonia está constituida por micelio de hifas septadas y conidiófonos. Es la causante de la marchitez en algodón, podredumbre basal en frijol y pudrición radicular en tubérculos (Arias y Piñeros, 2008). Su taxonomía puede observarse en la tabla 7.

**Tabla 7.** Taxonomía *Fusarium* sp.

Taxonomía	
Reino	Mycetae
División	Eumycota
Subdivisión	Deuteromycotina
Clase	Hyphomycetes
Orden	Moniliales
Familia	Tuberculariceae
Género	<i>Fusarium</i>

Fuente: (Arias y Jerez, 2008)

Las plantas son atacadas a través de heridas causadas directamente o en forma mecánica o por insectos. El *Fusarium* sp., penetra la epidermis de las raíces, la corteza y endodermis, entrando a los vasos del xilema, colonizando el sistema vascular, ocasionando la degradación de tejidos y la muerte (Arias y Jerez, 2008).

Los síntomas aparecen de forma unilateral; estos aparecen acompañados de un color amarillento parcial en las hojas, se puede observar una mitad clorótica y la otra verde normal, los síntomas avanzan de manera lenta por la planta de abajo hacia arriba, hasta causar marchitamiento general y la muerte de la planta (Arias y Jerez, 2008).

Las lesiones que forma *Fusarium* sp. son diversas, dependiendo del área afectada de la planta, en las hojas se da un color amarillento durante la enfermedad, afectando los brotes, debido a que se doblan hacia el lado de la planta enferma, el enanismo en la planta es otro daño de *Fusarium* sp. Las hifas del hongo penetran directamente o a través de heridas en forma mecánica o por insectos (Arias y Jerez, 2008).

# 4

## **Comportamiento de los Microorganismos frente a la Susceptibilidad *In Vitro* Ocasionada por Extractos de Mangostino**

**Elaborado por:** Suárez-Rivero, Deivis; Marín-Mahecha, Olga; Ortiz-Aguilar, Jannet; Puentes, A. E.; León-Peraza, Paula Andrea; David-Úsuga, Mercedes; López-Hernández, Daniel Felipe.



## 4.1 Análisis fitoquímico de los extractos de *Garcinia mangostana* L.

Como se evidencia en la metodología propuesta para este trabajo, se realizaron tres pruebas para determinar la presencia de taninos en el extracto. Para la prueba cloruro férrico se obtuvo coloración verde azul, lo cual indica que en el extracto del pericarpio de *G. mangostana* L. predominan los taninos hidrolizables y condensados, el primero derivado del ácido gálico y el segundo, derivado del ácido protocatéuico (tabla 8). Resultados similares obtuvieron Cardona y Salazar (2012), en la prueba con cloruro férrico, obteniendo una coloración verde, confirmando la presencia de taninos protocaqueticos.

En el estudio realizado por Plazas (2011), se demuestra que el cloruro férrico permite evidenciar la presencia de grupos fenólicos por el desarrollo de coloraciones verdes o azules. El grupo funcional fenol es característico de los taninos, pero también está presente en diferentes tipos de metabolitos secundarios como flavonoides, cumarinas, quinonas y lignanos entre otros. Las coloraciones azules y verdes obtenidas indican presencia de compuestos fenólicos.

En la prueba con acetato de plomo, como se evidencia en la tabla 8, se obtuvo coloración verde con presencia de turbidez, indicando la existencia de taninos en el extracto. Se conoce que los taninos son derivados de los flavonoides y estos forman parte de las sustancias fenólicas. Por lo tanto, en diversos estudios se encuentran que los flavonoides forman complejos y precipitan los taninos, formando turbidez.

En el proyecto "Phytochemical analysis of *Aesculus indica* Colebr. *Seeds extracts*" realizado por Harpreet y Arvind (2013), se determinó por medio de la prueba de acetato de plomo, la presencia de flavonoides en el extracto etanólico.

**Tabla 8.** Resultados de las pruebas químicas cualitativas para la identificación de taninos en extracto etanólico como solvente obtenido por la técnica Soxhlet.

Prueba	Resultados	Coloración	Observación	Fuente
Cloruro Férrico	+	Verde-Azul	Taninos derivados del ácido gálico por su coloración azul y taninos derivados del ácido protocatéquico por su coloración verde.	Cardona, N. y Sálazar, M. Actividad alelopática y antibacteriana de fracciones polares f1-c, f1-d y f1-f, obtenidas de
Acetato de Plomo	+	Verde - Turbidez	Por medio de la turbidez se determina la presencia de taninos en el extracto etanólico. La reacción del extracto etanólico se comparó con ácido tánico al 10% como patrón.	henriette <trachyphylla (<i="" triana="">Melastomataceae.) 2012. 98 h. Pereira. (trabajo de grado (tecnólogo químico). Universidad Tecnológica de Pereira. Facultad de Tecnología. Escuela de Química.</trachyphylla>

Nota: (+) Presencia de taninos; (-) Ausencia de taninos.

En la prueba gelatina-sal, la presencia de taninos se evidenció por la coloración azul oscuro del extracto y a su vez, por la comparación con el patrón de ácido tánico al 10%. Lo anterior propicia que esta prueba permita identificar los taninos presentes, ya que estos precipitan las proteínas de las soluciones, reaccionando por medio de su coloración azul oscuro. Con las pruebas preliminares realizadas por Carvajal et al. (2009) se evidenció que al obtener precipitación por medio de la prueba del reactivo gelatina - sal, se concluyó que hay presencia de taninos producidos por el pericarpio de mangostino, y dado que el precipitado obtenido es soluble en urea y produce coloración verde, tras la adición de cloruro férrico, se infiere que estos taninos son del tipo catéquico o condensados.

Por su parte, las tablas 9 y 10 demuestran la ausencia de taninos en los extractos obtenidos, mediante la técnica de maceración en frío y la hidrodestilación, al utilizar como solvente agua destilada. Todo parece indicar que debido a la utilización de agua destilada como solvente se presentó un arrastre nulo de taninos y por ende, ausencia de estos en los extractos. Lo anterior evidencia que el etanol, usado como solvente presenta mayor eficiencia en la extracción en relación con el agua. La técnica de hidrodestilación es utilizada para la extracción de aceites esenciales (los que a su vez forma parte de los compuestos alifáticos), por ese motivo se muestra la ausencia de taninos que son parte de los compuestos fenólicos, ya que la temperatura que maneja el hidrodestilador es alta, obteniendo la degradación de taninos. Adicionalmente, el aceite extraído de este procedimiento es poco para realizar las pruebas sobre los microorganismos en estudio.

**Tabla 9.** Pruebas químicas cualitativas para la identificación de taninos en agua como solvente obtenido por la técnica de maceración en frío.

Prueba	Resultado	Coloración
Cloruro férrico	-	Rojo
Acetato de plomo	-	Naranja
Gelatina sal	-	Naranja

Nota: (+) Presencia de taninos; (-) Ausencia de taninos

**Tabla 10.** Pruebas químicas cualitativas para la identificación de taninos en agua como solvente obtenido por la técnica de hidrodestilación.

Prueba	Resultado	Coloración
Cloruro férrico	-	Sin cambio
Acetato de plomo	-	Blanco
Gelatina sal	-	Sin cambio

Nota: (+) Presencia de taninos; (-) Ausencia de taninos

Es importante resaltar que se obtuvieron resultados similares para la prueba de cloruro férrico en la técnica de hidrodestilación. Farfán (2008), en experimentación obtuvo resultado negativo (ausencia) en la identificación de taninos, presumiéndose la presencia de otros metabolitos secundarios que no pertenezcan a la familia de los flavonoides.

En otros estudios como los realizados por Orantes (2008) se realizan pruebas de identificación de taninos, obteniendo resultados negativos en la prueba de gelatina – sal y cloruro férrico. Esto se debe a que los taninos poseen la capacidad de formar complejos con macromoléculas, en especial proteínas. Por lo tanto, se presume la presencia de compuestos fenólicos más no polifenoles.

Por todo lo anterior, se presume que en estas dos técnicas de extracción (maceración en frío e hidrodestilación - teniendo en cuenta el agua destilada como solvente), se extrajeron otro tipo de metabolitos secundarios, diferentes a los taninos y al mismo tiempo, esto justifica el bajo rendimiento de las extracciones en ambas técnicas. Puede ser una consecuencia de la polaridad de los taninos y su afinidad con el agua o el etanol. Cabe resaltar que por su carácter polar, los taninos se extraen generalmente con mezclas de alcoholes a diferentes proporciones o agua, dependiendo si son taninos condensados o taninos hidrolizables.

Numerosos estudios han identificado la reactividad química de varios compuestos fenólicos, como la principal causa de estas alteraciones (Sioumis et al., 2006).

Los polifenoles constan de un anillo bencénico que contiene uno o diversos grupos hidroxilo, estos compuestos pueden dividirse en flavonoides y no flavonoides, según sean o no derivados de la estructura básica del fluoroglucinol.

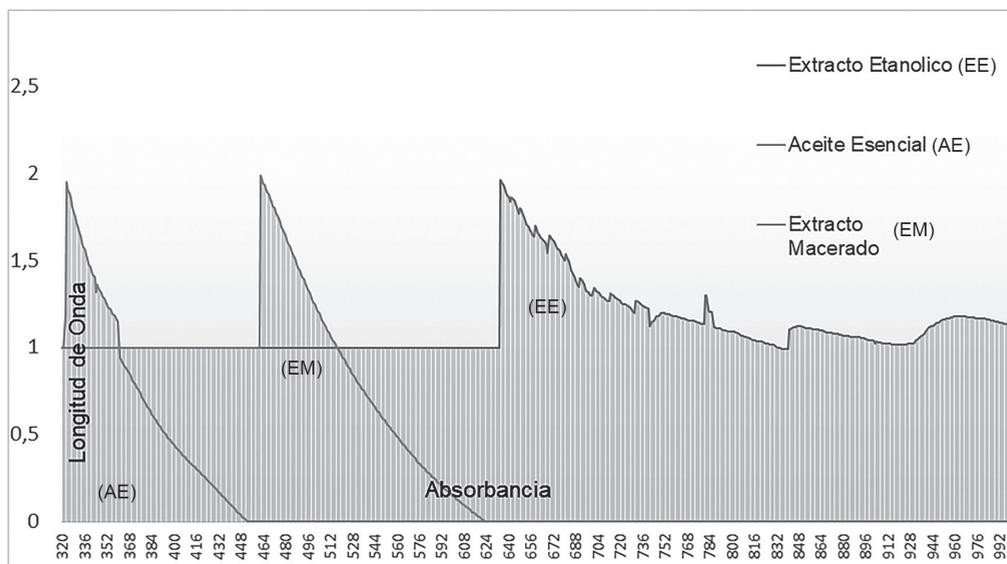
Dentro de los compuestos flavonoides se encuentran las catequinas y epicatequinas, los taninos, y las antocianinas. Dentro de los compuestos no flavonoides se encuentran los estibenos, los hidroxicinamatos y los hidroxibenzoatos (Razmkhab et al., 2002).

#### **4.1.1 Análisis de espectrofotometría de los extractos obtenidos *Garcinia mangostana* L.**

El análisis espectrofotométrico con U.V. – Visible se realizó con los tres extractos obtenidos, con el objetivo de identificar los compuestos fenólicos y a su vez,

los compuestos tánicos por medio de los rangos de absorbancia (nm). Al realizar un perfil espectrofotométrico de los tres extractos, como se evidencia en la figura 9, se pueden apreciar picos de absorbancia en las tres soluciones. Presumiblemente por las características de los compuestos que pueden estar presentes en la solución y tomando como referentes, los resultados que se presentaron en el apartado 3.1. de este documento, para el aceite esencial (línea roja), el punto máximo se encuentra en un rango de 321 nm – 323 nm. El extracto macerado (línea verde), presentó su punto máximo entre 461 nm – 463 nm y para el extracto etanólico (línea azul), el punto máximo de absorbancia se obtuvo entre 630 nm – 680 nm, al mismo tiempo, presentando picos de absorbancia en un rango de 633 nm – 1000 nm irregulares.

Si se realiza un análisis detallado de los puntos máximos de longitud de onda para el extracto macerado y el aceite esencial se puede presumir que la concentración y el color, así como el solvente utilizado, influyen de manera directa en las longitudes de onda máximas (nm), obtenidas por medio del espectrofotómetro U.V. – Vis, pudiendo encontrarse otros metabolitos secundarios.



**Figura 9.** Espectrofotometría U.V. – Visible para los extractos etanólico, macerado y aceite esencial.

Fuente: Los autores.

Según la figura 9, el extracto etanólico (línea azul) presenta un punto máximo de longitud de onda, pero al mismo tiempo presenta picos menores, sin caer hasta la absorbancia cero, llegando hasta 1000 nm. Se puede deducir que la concentración, coloración del extracto y debido a que el etanol usado como solvente extrae con mayor eficiencia los compuestos fitoquímicos de interés del material a estudiar.

La tabla 11 evidencia de forma teórica, los compuestos que presumiblemente pueden encontrarse en cada una de las soluciones, según autores citados; estos compuestos son extraídos por diversos solventes (cloroformo, etanol, agua, etc.). Adicionalmente, en dicha tabla se dan elementos para ratificar la presencia de taninos en la solución etanólica para los rangos de mayor longitud de onda expresados por la muestra estudiada.

De acuerdo con los estudios encontrados (tabla 11), en un rango de 465 nm – 550 nm se presentan principalmente las antocianinas. Según Santacruz (2011) y para otro estudio similar las antocianinas están entre 520 nm – 700 nm, Noriega et al. (2011).

Otro estudio evidenció un rango similar a los anteriores, entre 510 nm – 540 nm, reportado por Oancea y Oprean (2011); es evidente que a pesar de que son resultados diferentes poseen zonas de solapamiento.

Para Del Río (2013), entre 236 nm – 550 nm, se pueden distinguir entre otros, flavonas, flavonoles, antocianidinas, isoflavonas, auronas y cumarinas.

El estudio de Plazas (2011) indica que los fenoles se encuentran dentro de la absorbancia de 740 nm, dentro de ese rango se encuentra lo obtenido por Yapuchura (2010). En su estudio, los fenoles y polifenoles se leen dentro de un rango de 414 nm – 873 nm y a su vez, los compuestos fenólicos están entre 200 nm – 700 nm de absorbancia.

**Tabla 11.** Rangos de absorbancia de análisis espectrofotométrico de metabolitos secundarios en estudios similares.

Rango absorbancia (nm)	Metabolitos secundarios	Fuente
465 - 550	Antocianinas	Santacruz, 2011
300 - 380	Flavonas y flavonoles	
465 - 550	Antocianidinas	
320 - 370	Flavonas y flavonoles	
240 - 290		
270 - 295	Flavonononas y flavonoles	Del Río, 2013
236		
300 - 330	Isoflavonas	
240 - 270		
370 - 430	Auronas	
274 - 311	Cumarinas	
520 - 700	Antocianinas	Noriega et al. 2011
740	Fenoles	Plazas, 2011
414 - 730 - 873	Fenoles y polifenoles	
415	Flavonoles y flavonas	Yapuchura, 2010
200 - 700	Compuestos Fenólicos	
765	Fenoles	Ramón, 2009
231 - 274 - 282	Anillo aromático	Núñez, 2004
400 - 900	Polifenoles	
691 - 760	Fenoles	Diciaula, 2014
765	Fenoles	Perera, 2013
517	Alcaloides Flavonoides Esteroles Resinas Taninos Glicósidos Saponinas	Alamgir et al. 2014
765	Fenoles	Lallianrawna, 2013
510 - 540	Antocianinas	Oancea y Oprean, 2011
400 - 700	Fenoles	Skogerson, 2007

Para Ramón (2009), los fenoles se pueden leer en una absorbancia de 765 nm, si se ha procesado efectivamente una muestra.

Es de tener en cuenta el estudio realizado acerca de los compuestos fenoles, en que el autor demostró que estos se leían en un rango de longitud de onda de 400 nm – 700 nm, según Skogerson (2007).

En otro estudio similar realizado por Walker et al. (1999) que trata sobre un extracto preparado especialmente de plantas del género *Vaccinium* que es enriquecido para una actividad que inhibe la adhesión bacteriana a superficies, el extracto está disuelto en agua y por medio de un análisis espectrofotométrico, presentó picos de absorbancia de 278 nm y 368 nm, obteniendo compuestos que contienen flavonoides y polifenoles. Generalmente, una absorbancia en 280 nm y 360-370 nm es indicativa de la presencia de flavonoides, mientras que los polifenoles tienen la absorbancia mayor en el 200 nm a gama de 280 nm y muestran poca o ninguna absorbancia en 360-370 nm.

En el estudio realizado por Diciaula (2014), se encontró que los fenoles tenían un rango de lectura de 691 – 760 nm, así como también los polifenoles encontrados en un rango de 400 nm – 900 nm.

En estudios de Lallianrawna (2013) y Perera (2013), los fenoles estaban en un rango de longitud de onda de 765 nm, siendo idéntica la longitud de onda en ambos estudios de dichos autores. Por otra parte, Alamgir et al. (2014) realizaron un estudio para alcaloides, flavonoides, esteroides, resinas, taninos, glicósidos y saponinas en este mismo producto, evidenciando que estos metabolitos secundarios se leyeron en un rango de longitud de onda de 517 nm. Con los rangos encontrados en las referencias bibliográficas de la tabla 11, se puede decir que las antocianinas se encuentran entre 465 nm – 700 nm. Según los rangos de la tabla 15, para flavonas y flavonoles la longitud de onda está entre 240 nm - 415 nm, para cumarinas 274 nm – 311 nm, los rangos de isoflavonas están entre 240 nm – 330 nm, polifenoles entre 400 nm – 900 nm. Respecto a las referencias bibliográficas encontradas, las auronas se encuentran en un rango de 370 – 430 nm y las cumarinas entre 274 nm – 311 nm. Para los fenoles se evidenció un rango entre 414 nm – 873 nm.

Por lo anterior y comparando los resultados con la figura 9, se determinó que en el extracto etanólico de mangostino, se obtienen componentes fenólicos, debido a que los taninos son derivados de estos componentes y se logró obtener un extracto con presencia de este metabolito a estudiar. Mientras que los extractos obtenidos por maceración en frío e hidrodestilación, presentaron otros metabolitos secundarios con ausencia o poca presencia de fenoles. Es evidente que los taninos se clasifican en taninos hidrolizables que son formados por ácidos fenólicos y fenoles, así como en taninos condensados que son flavonoides formados por las antocianinas. Esto deja como evidencia que en los extractos había presencia de dichos metabolitos, estando más presentes en la solución etanólica, según los rangos de longitud de onda.

#### 4.1.2 Estudio y análisis de cromatografía en papel del extracto etanólico de *Garcinia mangostana* L.

Los resultados de la cromatografía de capa delgada (CCD) para el extracto etanólico obtenido a partir de la extracción sólido - líquido y tomando el etanol al 99.8% como el mejor solvente, en la que se realizaron 3 fracciones como se muestra en la tabla 12, para el extracto etanólico de mangostino.

Entonces se presume que los resultados obtenidos de Rf, tienen una relación con la especie de mangostino utilizado en este estudio y la etapa de maduración del fruto, así como el tipo de solvente empleado. Al obtenerse los resultados en el papel filtro, se evidenció que la línea recorrida de la muestra contenía color morado. Esto se debe a que la materia prima se encontraba en su etapa de maduración final, resultando un color concentrado durante la extracción.

**Tabla 12.** Rf correspondiente al extracto etanólico obtenido de la extracción sólido – líquido.

	Rf. Extracto etanólico
<b>Etanol 99.8% (1:1)</b>	0,95
	0,93
	0,96

Nota: Rf (Relación de frentes o factor de retención)

Debido a que en el extracto hay presencia de metabolitos secundarios y comparando los valores de la tabla 12 con el estudio realizado por Narayanasamy y Ragavan (2012), estos valores indican la presencia de alcaloides, flavonoles, esteroides y saponinas, componentes que son parte dentro de la familia de los metabolitos secundarios. En los metabolitos secundarios anteriormente citados, se evidenció que tenían los siguiente valores para Rf: alcaloides (0,90), flavonoides (0,94), esteroides (0,98) y saponinas (0,98).

Con lo dicho por los autores anteriormente referenciados, los fenoles no se encuentran entre los rangos dados por el factor de retención (Rf) de cada fracción, llegando a la conclusión que debido a la presencia de flavonoles dentro del extracto, hay una existencia de los taninos condensados, ya que teóricamente los taninos condensados derivan de unidades de flavonoides como antocianinas.

Se puede presumir que el tipo de solvente para realizar la técnica de cromatografía líquida – líquida (cromatografía en papel) influye en los componentes separados y la distancia recorrida entre el extracto a estudiar y el solvente, así como otros factores como la coloración del extracto, la polaridad del solvente y los componentes fitoquímicos del extracto.

### **4.1.3 Flavonoides**

De acuerdo con lo evidenciado en la metodología planteada para el desarrollo de este trabajo, se aplicaron diversas pruebas fitoquímicas preliminares en los extractos obtenidos a partir del pericarpio y la semilla de mangostino para evaluar la presencia de flavonoides.

Los resultados de las pruebas aplicadas para determinar la presencia de flavonoides se presentan a continuación en la tabla 13.

**Tabla 13.** Resultados de las pruebas químicas cualitativas para la identificación de flavonoides presentes en el pericarpio y semilla.

Tratamiento	Prueba	Pericarpio		Semilla	
		Resultado	Coloración	Resultado	Coloración
<b>Soxhlet</b>	Shinoda	+	Rojo	+	Naranja
	Rosenhein	-	Café	+	Carmesí
	Antocianinas	+	Rojo oscuro	+	Café-amarillo
<b>Arrastre de vapor</b>	Shinoda	-	Transparente	+	Naranja
	Rosenhein	-	Transparente	+	Carmesí
	Antocianinas	-	Transparente	+	Café-amarillo
<b>Hidrodestilación</b>	Shinoda	-	Transparente		
	Rosenhein	-	Transparente		
	Antocianinas	-	Transparente		

Para la prueba de Shinoda se obtuvo coloración roja, con el método de extracción Soxhlet, lo que indica que en el extracto del pericarpio de *G. mangostana* L. hay presencia de flavonoides.

En la prueba de Shinoda se obtuvieron resultados positivos con coloraciones naranjas en los métodos de extracción Soxhlet y arrastre de vapor, como resultado, señalando la presencia de flavonoides en la semilla de *G. mangostana* L.

En el estudio realizado por Wittenauer et. al. (2012), se determinó la presencia de xantonas: 1,7-dihidroxi-3-metoxi-2-(3-metilbut-2-enil) xantona,  $\gamma$ -mangostin., 8-deoxigartanin., 1,3,7-trihidroxi-2,8-di-(3-metilbut-2-enil)xantona., gartanin.,  $\alpha$ -mangostin., *Garcinon E*. La xantona es un compuesto carbonílico que consta de un heterociclo de xanteno oxidado en la novena posición.

En la prueba de Rosenhein, los resultados para los tres diferentes métodos de extracción, indicaron una respuesta negativa. Así pues, no existe presencia de compuestos con dobles enlaces conjugados en los extractos del pericarpio de *G. mangostana* L.

Estudios fitoquímicos realizados por Osorio (2008) de plantas pertenecientes al género *Garcinia* han revelado la presencia de xantonas, benzofenonas y biflavonoides. Los biflavonoides dentro del estudio fueron clasificados en cuatro grupos: tipo morelloflavona (flavanona- (3→8") – flavona); Tipo GB1 (flavanona - (3→8") – flavononol); tipo GB-1a (flavanona - (3→8") – flavanona) y tipo amentoflavona (flavona - (3'→8") – flavona).

En la prueba de Rosenhein, se obtuvieron resultados positivos en los métodos de extracción Soxhlet y arrastre de vapor en la semilla de *G. mangostana* L.

Ferreira et al. (2012), expone que el estudio de los biflavonoides han atraído el interés, debido a la frecuencia y abundancia en que se encuentran en las especies de la familia Clusiaceae; 36 de este tipo de metabolitos se han registrado en 32 especies del género *Garcinia*, aislando biflavonoides, entre las más comunes se encuentran: morelloflavona, amentoflavona, piranoamentoflavona y otros dímeros como 3,6"-binaringenina, rhusflavanona, lateriflavona, garcinianina, 3,8"-biapigenina, agathisflavona y 2',2"-biflavonol.

En la prueba para Leucoantocianinas, se alcanzó una coloración roja oscura, con el método de extracción Soxhlet, afirmando la presencia de antocianinas en el extracto del pericarpio de *G. mangostana* L.

De acuerdo con los estudios realizados por Cheek et al. (2013), se extrajeron antocianidinas del pericarpio de mangostino, logrando su mayor rendimiento, utilizando un disolvente acuoso (metanol) con la técnica de ultrasonido, y además se infiere que estos compuestos químicos aislados tienen un gran potencial industrial.

En la prueba para leucoantocianinas, se visualizaron tonalidades café y amarillo en los métodos de extracción Soxhlet y arrastre de vapor; es decir que en la semilla de *G. mangostana* L., los polímeros de color obtenidos fueron causados por la presencia de catequinas.

#### 4.1.4 Taninos

Según estudios realizados por Martínez et. al. (2008), los taninos son productos de excreción de muchas plantas, involucrados en mecanismos de defensa de las mismas contra organismos parásitos. Se encuentran más comúnmente en hojas, ramas y debajo de la corteza.

Los resultados arrojados al determinar la presencia de taninos en el pericarpio y semilla de mangostino se presentan en la tabla 14.

**Tabla 14.** Resultados de las pruebas químicas cualitativas para la identificación de taninos presente en el pericarpio y semilla.

Tratamiento	Prueba	Pericarpio		Semilla	
		Resultado	Coloración	Resultado	Coloración
<b>Soxhlet</b>	Cloruro Férrico	+	Verde	-	Amarillo
	Acetato de plomo	+	Verde - Precipitado	+	Naranja – Precipitado
<b>Arrastre de vapor</b>	Cloruro Férrico	-	Transparente	-	Amarillo
	Acetato de plomo	-	Transparente	+	Naranja – Precipitado
<b>Hidrodestilación</b>	Cloruro Férrico	-	Transparente		
	Acetato de plomo	-	Transparente		

En la prueba de cloruro férrico, como se evidencia en la tabla 14, se obtuvo una tonalidad verde con el método de extracción Soxhlet, es decir que en el pericarpio de *G. mangostana* L. hay presencia de taninos derivados del ácido protocatéquico.

Resultados similares obtuvo Marín (2009) en los extractos obtenidos de *Vismia cayennensis* J., observando un precipitado blanco y confirmando la efectividad de la prueba para determinar presencia de taninos.

Una coloración verde con tendencia a la formación de precipitado blanco, se originó al realizar la prueba de acetato de plomo, en el extracto de pericarpio de *G. mangostana* L., reiterando la presencia de taninos en la fuente de análisis.

Como resultado para los métodos de extracción Soxhlet y arrastre de vapor, el análisis en el extracto de semilla de *G. mangostana* L., efectuando la prueba de acetato de plomo, resultó positiva con una coloración naranja propensa a la formación de precipitado, indicando así la presencia de taninos en el extracto.

Análisis fitoquímicos preliminares realizados por Kuete et. al. (2007), indicaron la presencia de compuestos tales como: alcaloides, fenoles, polifenoles, saponinas, triterpenos, antraquinonas, flavonoides, esteroides y taninos en la corteza de los tallos de *G. Smeathmannii*, indicando la presencia de estos metabolitos y resaltando a los taninos concurrentes que actúan como agentes inhibidores de crecimiento microbiano y afirman el uso tradicional que se le ha dado a esta especie en la medicina tradicional, en el tratamiento de enfermedades infecciosas.

#### **4.1.5 Carotenoides**

Los carotenoides son una clase de pigmentos que se encuentran principalmente en partes aéreas de las plantas, especialmente en hojas, tallos y flores, en frutos, y en menor proporción en raíces (Martínez, 2003).

Los resultados arrojados al determinar la presencia de carotenoides en el pericarpio y semilla de mangostino se presentan en la tabla 15.

**Tabla 15.** Resultados de las pruebas químicas cualitativas para la identificación de carotenoides presente en el pericarpio y semilla.

Tratamiento	Prueba	Pericarpio		Semilla	
		Resultado	Coloración	Resultado	Coloración
<b>Soxhlet</b>	Carotenoides	-	Rojo oscuro	-	Rojo oscuro
<b>Arrastre de vapor</b>	Carotenoides	-	Naranja	-	Ámbar
<b>Hidrodestilación</b>	Carotenoides	-	Amarillo		

Al aplicar la prueba de la reacción de reconocimiento, los resultados para los métodos de extracción y los extractos provenientes de pericarpio y semilla de *G. mangostana* L., ultimaron la ausencia de carotenoides.

El color del fruto se encuentra fuertemente relacionado con su estructura; la cantidad de enlaces conjugados es directamente proporcional a la longitud de onda de la luz absorbida. La presencia de carotenoides varía en tonalidades desde amarillo a rojo, por lo cual estaría relacionada su ausencia con la coloración púrpura del pericarpio y café de la semilla de *G. mangostana* L.

Además, al ser una reacción que permite distinguir pigmentos naturales, exactamente carotenoides de antocianinas, se relaciona con los resultados positivos obtenidos en la prueba de antocianinas en la tabla 15, por lo tanto la prueba para carotenoides afirma su negatividad.

#### 4.1.6 Antraquinonas

Estudios de Vélez y Villa (2012) corroboran que las familias más ricas en compuestos antracénicos son las rubiáceas, las 33 ramnáceas y las poligonáceas y en una menor proporción, las liliáceas, leguminosas, bignoniáceas, melastomatáceas, droseráceas y vismiáceas.

Los resultados obtenidos en la determinación de antraquinonas en el pericarpio y semilla de *G. mangostana* L., se expresan en la tabla 16.

**Tabla 16.** Resultados de las pruebas químicas cualitativas para la identificación de antraquinonas presente en el pericarpio y semilla.

Tratamiento	Prueba	Pericarpio		Semilla	
		Resultado	Coloración	Resultado	Coloración
<b>Soxhlet</b>	Antraquinonas	+	Amarillo	-	Original
<b>Arrastre de vapor</b>	Antraquinonas	-	Original	-	Original
<b>Hidrodestilación</b>	Antraquinonas	-	Original		

En el análisis del extracto de pericarpio de *G. mangostana* L., existe mínima presencia de antraquinonas, empleando el método de extracción Soxhlet.

De acuerdo con los estudios realizados por Karthiga et. al. (2012), se identificaron algunos metabolitos secundarios, entre ellos quinonas presentes en *G. mangostana* L. y se refiere a su importante participación en la biosíntesis.

Generalmente, es posible hallar antraquinonas en diversas partes de las plantas como hojas, tallos, madera y algunos frutos. Lo que correlaciona los resultados obtenidos en la tabla 16, ya que en su mayoría demuestran la ausencia de estos metabolitos y se justifica en que las partes empleadas (pericarpio y semilla) de *G. mangostana* L., no son en las que comúnmente se encuentran antraquinonas.

#### 4.1.7 Chalconas y auronas

Al realizar la prueba del ácido sulfúrico concentrado y analizar los diferentes métodos de extracción, se determina la presencia de chalconas y auronas en el

método por Soxhlet en el extracto de pericarpio de *G. mangostana* L., al suscitar una tonalidad rojo guinda (tabla 17).

**Tabla 17.** Resultados de las pruebas químicas cualitativas para la identificación de chalconas y auronas presente en el pericarpio y semilla.

Tratamiento	Prueba	Pericarpio		Semilla	
		Resultado	Coloración	Resultado	Coloración
<b>Soxhlet</b>	Chalconas y auronas	+	Rojo guinda	+	Rojo guinda
<b>Arrastre de vapor</b>	Chalconas y auronas	-	Transparente	+	Rojo guinda
<b>Hidrodestilación</b>	Chalconas y auronas	-	Transparente		

Dentro de la prueba de ácido sulfúrico concentrado en el extracto de semilla de *G. mangostana* L. se comprueba la presencia de chalconas y auronas que se manifiestan con un color rojo guinda en los métodos de extracción Soxhlet y arrastre de vapor.

Nualkaew et. al. (2012) revelan en su estudio, la presencia de una cetona aromática en el pericarpio de frutos jóvenes de *G. mangostana* L., donde existe presencia de un látex de color amarillo. Este enzima se denomina benzofenona sintasa, perteneciente a la familia de policétidos sintasas tipo III, quién ya se ha caracterizado en la especie *Hipericum androsaemum* L.

#### 4.1.8 Saponinas y cardiotónicos

En los extractos de pericarpio y semilla de *G. mangostana* L., por los métodos de extracción Soxhlet, arrastre de vapor e hidrodestilación, no se registra la presencia de saponinas y cardiotónicos al no producir espuma en la reacción (tabla 18).

**Tabla 18.** Resultados de las pruebas químicas cualitativas para la identificación de saponinas y cardiotónicos presente en el pericarpio y semilla.

Tratamiento	Prueba	Pericarpio		Semilla	
		Resultado	Coloración	Resultado	Coloración
<b>Soxhlet</b>	Saponinas y cardiotónicos	-	Original	-	Original
<b>Arrastre de vapor</b>	Saponinas y cardiotónicos	-	Original	-	Original
<b>Hidrodestilación</b>	Saponinas y cardiotónicos	-	Original		

Aunque estudios realizados por Olusola (2015), demostraron el efecto de disminución de glucosa en los niveles de sangre que producen las saponinas empleadas en tratamientos antidiabéticos, estos metabolitos se aislaron a partir de la raíz de *Garcinia kola* H., una fuente vegetal que confirma la presencia de saponinas en la familia *Clusiaceae*.

Bilanda et al. (2009) evidencia mediante un análisis de cromatografía HPLC que en la especie *Allanblackia floribunda* O., perteneciente a la familia *Clusiaceae*, se pueden identificar metabolitos secundarios como: antraquinonas, fenoles flavonoides, alcaloides, glucósidos cardíacos, glicósidos y saponinas.

Estudios realizados por Fusco et al. (2006) han demostrado que la especie *Hypericum connatum* Lam., perteneciente a la familia *Clusiaceae*, tiene un potencial uso como carditónico, validando la utilidad otorgada a esta especie en la medicina tradicional Argentina.

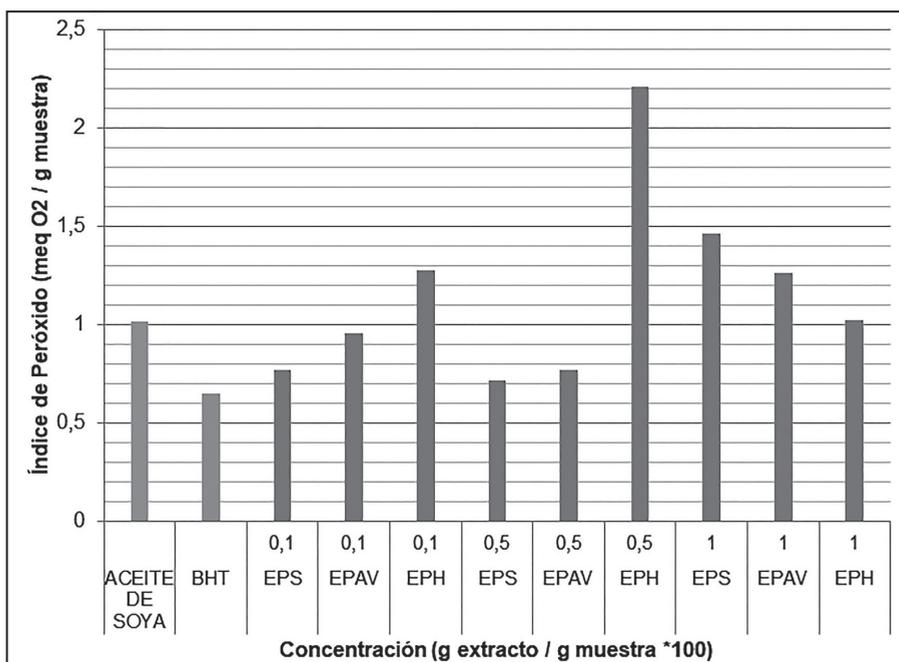
#### **4.1.9 Evaluación del índice de peróxido de extractos del pericarpio y la semilla del fruto de *Garcinia mangostana* L. según el método de extracción**

El índice de peróxido mide el estado de oxidación inicial de un aceite, determinando la cantidad de peróxidos, en función de la capacidad de liberar

yodo de una disolución de yoduro potásico en ácido acético (Bolaños et, al. 2003).

Para el presente estudio se emplearon como patrones una matriz oleosa (aceite comercial de soya) y una de antioxidante comercial, butilhidroxitolueno (BHT), un antioxidante de origen sintético. Se les sometió al procedimiento para hallar su índice de peróxido inicialmente y 48 horas después de ser sometidos al efecto de los extractos, fueron usados como patrón comparativo para las demás muestras obtenidas del pericarpio y semilla de *Garcinia mangostana* L.

La variación en la muestra problema del pericarpio de *G. mangostana* L. sometida al análisis del índice de peróxido, tuvo un promedio de peso de la muestra de 2,8 g, es decir que se supone que el índice de peróxido oscilará en valores de 0 a 12 expresado en miliequivalentes (meq) de oxígeno activo por kilogramo de grasa (figura 10).



**Figura 10.** Actividad del índice de peróxido en pericarpio de *G. mangostana* L., por método de extracción Soxhlet.

Los resultados obtenidos demuestran que a mayor valor en el índice de peróxido, menor será su capacidad antioxidante en el aceite de soya. Es decir que si comparan los resultados de los diferentes tratamientos con el del antioxidante sintético (BHT), el efecto antioxidante de los extractos de los métodos Soxhlet y arrastre de vapor en las concentraciones 0,1, 0,5 y 1% arrojan diferencias en su índice de peróxido de 0,07 a 0,8 meq de O<sub>2</sub>/ kg, respectivamente, contrastado con el de BHT. Igualmente, en el método de extracción hidrodestilación en las concentraciones 0,1 y 1 % se valora su índice de peróxido entre 0,6 y 0,3 respectivamente, en comparación con el antioxidante sintético BHT.

Se infiere que los valores anteriormente mencionados tuvieron un efecto antioxidante valioso en las muestras de aceite de soya tratadas con los extractos de pericarpio obtenidos anteriormente, retrasando su oxidación por agentes externos como luz y altas temperaturas. En el pericarpio de *G. mangostana* L., los métodos de extracción Soxhlet y arrastre de vapor mostraron valores relevantes en sus diferentes concentraciones, denotando un efecto antioxidante en el aceite de soya.

De acuerdo con los estudios realizados por Wittenauer et al. (2011) y Yodhnu et al. (2009), se caracterizaron diferentes xantonas presentes en el pericarpio de *G. mangostana* L., entre ellas y en orden de mayor a menor concentración:  $\alpha$ -mangostin,  $\Upsilon$ -mangostin, 7-dihidroxi-3-metoxi- 2-(3-metilbut-2- enil) xantona, 8-deoxigartanin, 1, 3, 7- trihidroxi-2, 8-di- (3-metilbut-2- enil) xantona, gartanin y garcinon E.

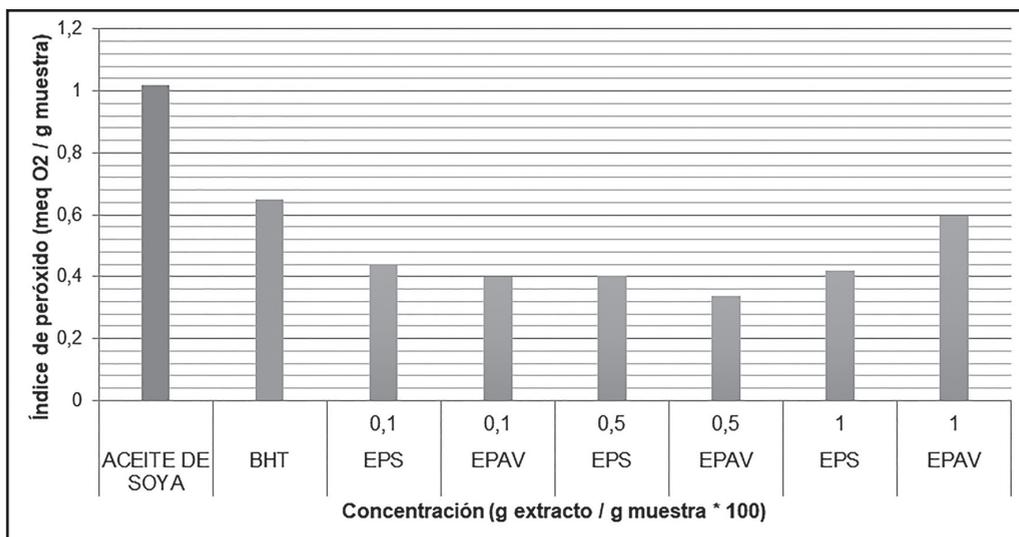
Así mismo,  $\alpha$ -mangostin representa la mayoría de los beneficios clínicos de la medicina natural, es usado tradicionalmente como antibacteriano, antiinflamatorio, anticancerígeno y actualmente en la industria cosmética y farmacéutica. Por lo tanto, su presencia y la de demás xantonas, caracterizadas en el pericarpio de *G. mangostana* L., demuestran la presencia de actividad antioxidante que definen su potencial uso como inhibidores de oxidación y como herramienta de aplicación medicinal.

Mohamed et. al. (2014), adicionalmente reseñaron el aislamiento de dos nuevas xantonas a partir del pericarpio de *G. mangostana* L, la mangostanxantona (I)

y (III). Junto a Tjahjani et al. (2014), afirman que la totalidad de las xantonas aisladas se presentan con una actividad antioxidante promisoriosa para futuras investigaciones y aplicaciones.

Estudios sobre xantonas menores, permitieron aislar compuestos como: 1, 3, 6, 7-tetraoxigenada xantona, 1, 3, 5- y 1, 3, 7-trioxigenada xantona y se sugiere que estas últimas son derivadas del mismo precursor benzofenona por ciclación alternativa en dos posiciones alternativas (Sen et al., 1980).

La gráfica representada a continuación permite inferir que el comportamiento del índice de peróxido en el método de extracción Soxhlet fue constante, mientras que el método arrastre de vapor se muestra de manera creciente, junto a la concentración (figura 11).



**Figura 11.** Actividad del índice de peróxido en semilla de *G. mangostana* L., por método de extracción Soxhlet.

En los tratamientos Soxhlet y arrastre de vapor en las concentraciones 0,1, 0,5 y 1 % se obtuvieron valores entre 0,3 y 0,5 para el índice de peróxido, en comparación con el valor del antioxidante sintético BHT.

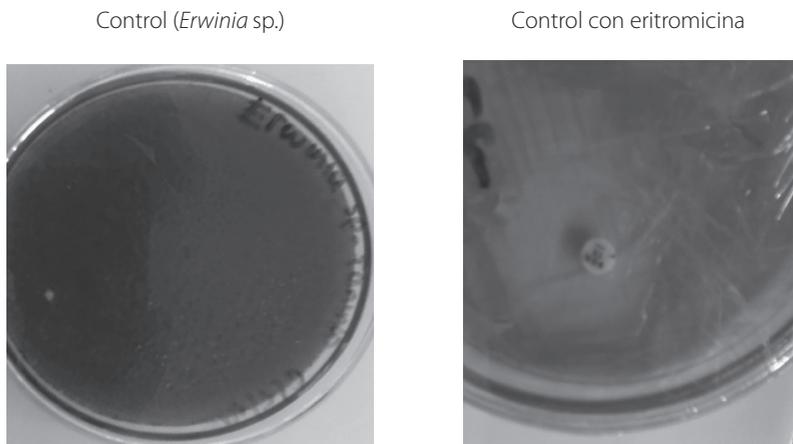
Un resultado relevante se obtuvo en la concentración 0,1% en el método arrastre de vapor, en el que se alcanzó un valor en el índice de peróxido menor al del antioxidante sintético BHT, lo que permite confirmar la eficiencia del extracto de semilla de *G. mangostana* L., en la inhibición de la oxidación de la muestra de aceite de soya.

De *G. mangostana* L. se han aislado 49 xantonas del pericarpio, 16 xantonas de la fruta completa, 21 xantonas del tronco y 3 xantonas de las hojas (Pedraza, 2008).

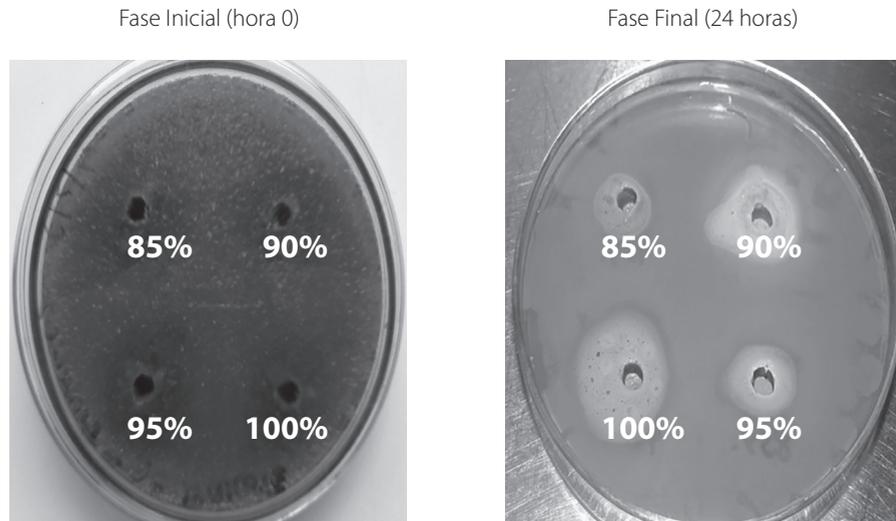
## 4.2 Actividad de los microorganismos en estudio frente a la solución tánica

### 4.2.1 Actividad de *Erwinia* sp. frente a la solución tánica

Con el fin de evaluar el efecto inhibitorio del extracto de *Garcinia mangostana* L. se realizaron réplicas de *Erwinia* sp. con los cuatro tratamientos (concentraciones de la solución tánica madre), teniendo una cepa de *Erwinia* sp. como control y eritromicina como control positivo (figura 12). Se puede observar en la figura 24, el estado inicial del experimento (0 horas), donde *Erwinia* sp. está en crecimiento normal y sometido a las cuatro concentraciones. En la fase final, se muestra un halo de resistencia (24 horas) que corrobora la inhibición que genera la solución tánica sobre *Erwinia* sp.



**Figura 12.** Control *Erwinia* sp.  
fuente: Los autores



**Figura 13.** Resultado inicial y final *in vitro* de *Erwinia* sp.

El extracto de *Garcinia mangostana* L. presentó actividad inhibitoria frente a la bacteria *Erwinia* sp. (figura 14), denotando el área de influencia del extracto sobre el microorganismo. A menor concentración (v/v) de extracto, mayor es el efecto de inhibición frente a la bacteria *Erwinia* sp. Los halos que presentan mayor diámetro de inhibición se encuentran en un rango de 85% – 90% del extracto de *Garcinia mangostana* L..

En la figura 14 se evidencia un efecto inhibitorio marcado por parte del tratamiento C5Ba (concentración al 85% en peso), presentando en promedio un 93% de efecto inhibitorio al desarrollo de la bacteria. Este no mostró diferencias significativas respecto al tratamiento C4Ba (concentración al 90% en peso), pero sí respecto a los tratamientos C3Ba (concentración al 95% en peso) y C2Ba (concentración al 100% en peso) respectivamente, según nivel de significancia.

Es importante resaltar (analizando la figura 14) que aunque hay manifestación de diferencias significativas entre los tratamiento en cuanto a la acción inhibitoria sobre el crecimiento de las colonias de la bacteria, en todos los casos el nivel de efectividad superó el 60%. Lo anterior, permite presumir que concentraciones

entre 85% y 100% de la solución tánica, ejercen acción positiva (inhibitoria) sobre el crecimiento y desarrollo de las colonias de la bacteria *Erwinia* sp. Al respecto Stauffer et al. (2000).

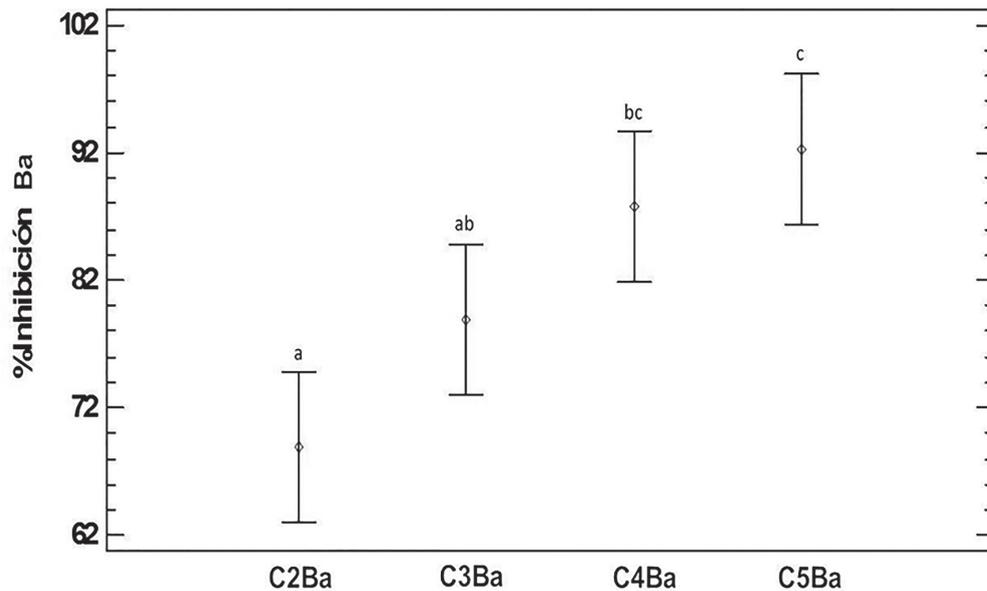
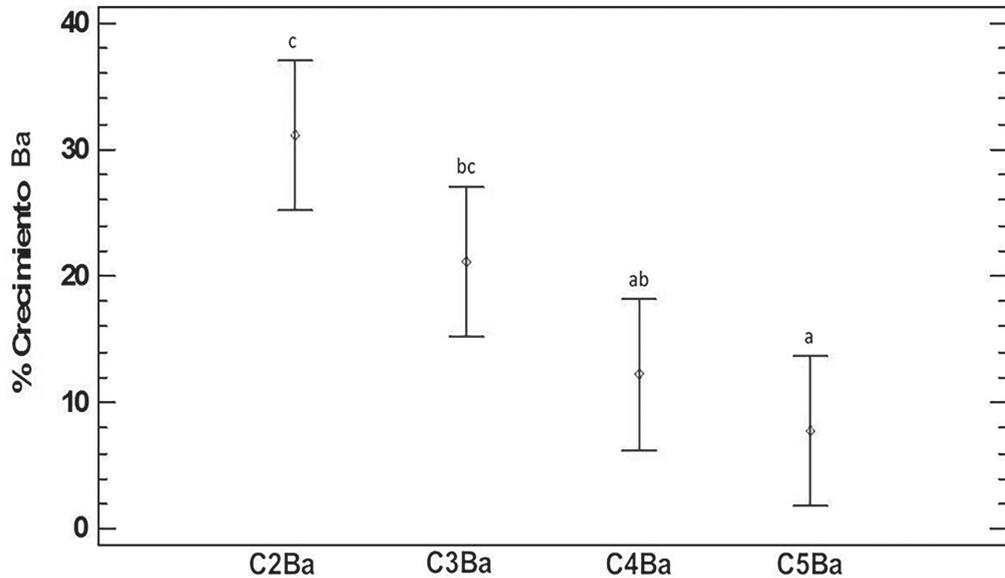


Figura 14. Porcentaje de inhibición por microorganismo *Erwinia* sp.

Rodríguez y Sanabria (2005), Maselli et al. (2006), Pino et al. (2008) señalan que los extractos vegetales pueden ser utilizados exitosamente en el control o inhibición de bacterias y hongos fitopatógenos, además pueden constituirse en una herramienta para integrar un manejo agroecológico del cultivo.

La inhibición se debe a la interacción con las adhesinas, proteínas de la pared celular y a su capacidad de unirse a polisacáridos (Cowan, 1999). Aguilar et al. (2013), utilizaron extracto de nuez y granada, obteniendo resultados positivos, observaron que a mayor concentración mayor inhibición frente a *Pectobacterium carotovora* sub sp., *Carotovora*, *Xanthomonas axonopodis* pv. *Phaseoli*, *Xanthomonas axonopodis* pv. *Vesicatoria* y *Pseudomonas cichorii*.

Extractos de plantas con alto contenido de taninos como la corteza de mimosa han reportado tener una gran actividad antibactericida.



**Figura 15.** Porcentaje de crecimiento por microorganismo *Erwinia* sp

En la figura 15, se observa el porcentaje de crecimiento del microorganismo (*Erwinia* sp.), frente a la solución tánica proveniente del mangostino. Se evidencia que C2Ba (concentración al 100% en peso) presenta mayor crecimiento microbiano, en promedio 31%, no presentando diferencias significativas respecto a C3Ba (concentración al 95% en peso), el cual muestra un crecimiento promedio del 21%. Por otra parte, el tratamiento C4Ba (concentración al 90% en peso) posee un porcentaje de 12%, difiriendo significativamente del tratamiento C2Ba, pero no de los tratamientos C3Ba y C5Ba. Es el tratamiento C5Ba (concentración al 85% en peso) el que presenta los menores valores de crecimiento, presentando un crecimiento en colonia promedio de 6%.

Al contrastar las figuras 15 y 16 se evidencia una relación estrecha entre el poder inhibitorio de las soluciones tánicas (concentraciones por tratamiento de la

solución madre) y el crecimiento de las colonias. Aquella fue la colonia que más creció y por ende demostró un menor porcentaje de inhibición. Todo parece indicar que las concentraciones tienen un efecto marcado en el crecimiento de las colonias de *Erwinia* sp. Por ello, se presume que cuanto más diluida esté la solución, podrán ejercer un mayor efecto los fenoles simples. Estos (los fenoles simples) interfieren en el crecimiento microbiano por privación del sustrato o por destrucción de la membrana celular (la membrana del microorganismo), efectos comprobados por acción de taninos.

La resina de la planta gobernadora (*Larrea tridentata*) a dosis bajas tiene efectos bactericidas contra las bacterias fitopatógenas *Erwinia amylovora*, *Erwinia atroseptica* y *Pseudomonas solanacearum* (Lira, 2003). En trabajos similares realizados por Briceño et al. (2012), se evaluó el efecto de extractos etanólicos, provenientes de las plantas de Nim, utilizadas para el control de bacterias fitopatógenas del género *Erwinia* sp., logrando un control efectivo frente a *Erwinia* sp., aislada del cultivo de berenjena. Los autores constataron la inhibición del microorganismo con una concentración del 30% del extracto.

Gupta (2007), en su estudio "El efecto de los taninos en la salud y la productividad animal", hace constar que los taninos se ligan a la pared bacteriana, anulando sus receptores (ligandos) que anclan la bacteria a la pared intestinal de los rumiantes. Añaden que estos forman una cubierta en las vellosidades intestinales para evitar la adherencia de otras bacterias como *Escherichia coli*.

Acero et al. (2001), encontraron que las bacterias saprófitas como *Erwinia carotovora* son inhibidas por los extractos de Chile (*Capsicum* sp). Chirinos et al. (2007) aseguran que el poder de inhibición de cada extracto está relacionado con la especie de bacteria que afecta un determinado cultivo. Otro estudio realizado al respecto por Viveros y Castaño (2006) señala que la acción de los extractos sobre los patógenos a estudiar, depende directamente de la cantidad y tipo de metabolitos secundarios que pueda poseer el extracto etanólico.

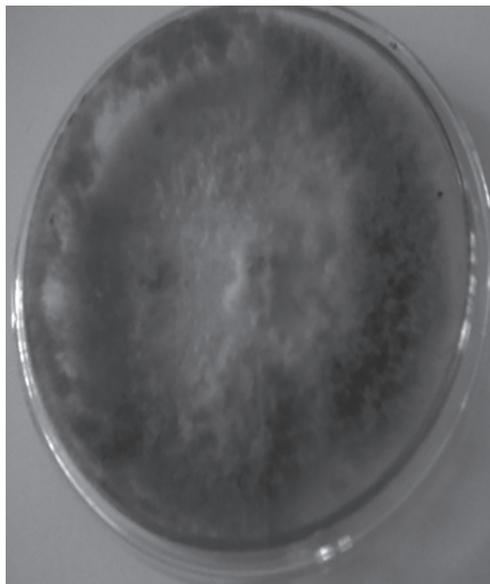
Ramírez y Marín (2009), evalúan la actividad bacteriana, realizando estudios donde se someten varias cepas bacterianas frente a diferentes extractos

etanólicos y aceites esenciales provenientes de diferentes plantas utilizando el método de dilución en pozo.

#### 4.2.2 Actividad de *Botrytis* sp. frente a la solución tánica

Para determinar el efecto inhibitorio de la solución tánica, se realizaron réplicas *in vitro* de *Botrytis* sp., con los cuatro tratamientos (concentraciones obtenidas a partir de la solución madre), teniendo como control una cepa de *Botrytis* sp., evidenciando el crecimiento normal del hongo (figura 16). Se puede observar en la figura 17, el estado inicial del experimento (día 1), donde *Botrytis* sp. está en crecimiento normal y sometido a las cuatro concentraciones y en el estado final, se observa que no hay crecimiento de micelio por parte del hongo *Botrytis* sp. (día 15), mostrando la efectividad de la solución tánica frente al patógeno.

Control (*Botrytis* sp.)



**Figura 16.** Control hongo *Botrytis* sp.

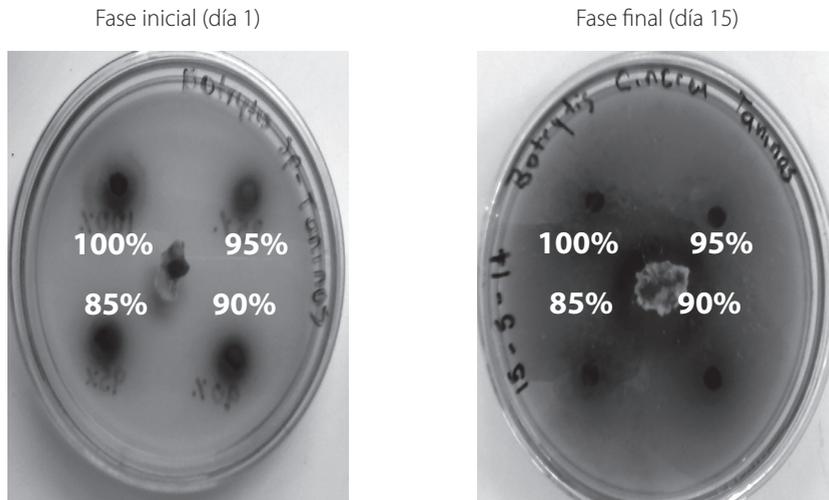


Figura 17. Resultado inicial y final *in vitro* de *Botrytis* sp.

El hongo *Botrytis* sp., presentó actividad inhibitoria de su desarrollo frente a la solución tánica (figura 17), a mayor concentración (v/v) del extracto tánico, menor es el porcentaje de inhibición frente al hongo *Botrytis* sp. Las concentraciones que mejor porcentaje de inhibición evidenciaron fueron de 85%, 90% y 95% del extracto tánico.

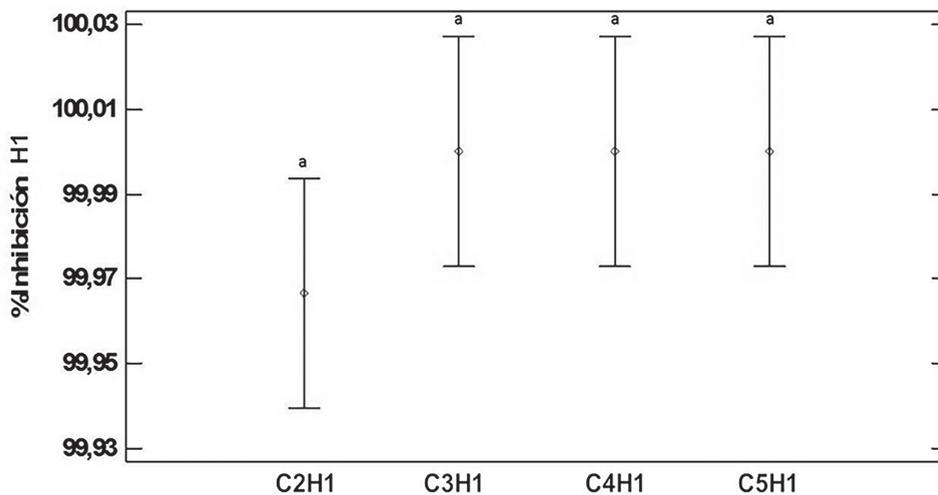


Figura 18. Porcentaje de inhibición por microorganismo *Botrytis* sp.

Como se evidencia en la figura 18, el extracto etanólico del pericarpio del mangostino inhibió en tres de los cuatro tratamientos, siendo C5H1 (concentración al 85% en peso), C4H1 (concentración al 90% en peso) y C3H1 (concentración al 95% en peso). En estos tres tratamientos se presentó un promedio de 100% de inhibición del hongo.

Aunque ninguno de los cuatro tratamientos manifestó diferencias significativas, sí se evidenciaron diferencias matemáticas muy pequeñas entre las medias de los resultados del C2H1 (concentración al 100% en peso), obteniendo un promedio de 99,96%.

En este caso, el nivel de efectividad está por encima del 99%. Se presume según lo anteriormente mencionado que las concentraciones entre 85% y 100% del extracto tánico ejerce acción inhibitoria efectiva sobre el desarrollo de las colonias del hongo *Botrytis* sp.

Ramírez et al. (2007), estudiaron la actividad antimicrobiana de plantas de la región de Boyacá. En las pruebas realizadas para determinar la actividad biológica para el control de *Botrytis cinería*, la fracción metabólica del epicarpio de toronja, presentó actividad total en la inhibición del crecimiento y la esporulación, siendo recomendada para tratar enfermedades postcosecha ocasionadas por el hongo. Se determinó la presencia de metabolitos secundarios como flavonoides, taninos y alcaloides fenólicos, a los cuales se les atribuye como directos responsables de diversas actividades biológicas.

En el estudio realizado por Natesh et al. (2014), se utilizaron concentraciones de 10%, 25%, 50%, 75% y 100% de los extractos empleados. Los autores determinaron que a una concentración de 50% generaba una inhibición efectiva frente hongo *Botrytis* sp., presentando a su vez, resistencia frente a varios extractos provenientes de especies de cebolla en la India. Por otro lado, el extracto de hojas de cúrcuma, evidenció actividad inhibitoria en concentraciones de 50%, 75% y 100%.

Aguirre et al. (2012), evaluaron la actividad antifúngica de extractos con principios activos, determinando que los extractos vegetales evaluados

sobre *Botrytis cinerea* mostraron un efecto fungicida. El extracto alcohólico de eucalipto fue evaluado al 100%, el extracto alcohólico de ajo al 100% y el extracto alcohólico de crisantemo al 25% diluido en glicerina. Al cuarto día de incubación evidenciaron un halo de inhibición de 7,94, 10,40 y 6,94 mm, presentando diferencias significativas en estos tratamientos, los cuales a su vez presentaron medias del diámetro del halo de inhibición de 11,67 mm, 14,74 mm y 10,18 mm, respectivamente.

Por otra parte, al referenciar la figura 19, en relación al porcentaje de crecimiento del hongo *Botrytis* sp. frente a la solución tánica extraída del mangostino, se evidenció que los tratamientos C2H1 (concentración al 100% en peso) y C3H1 (concentración al 95% en peso) presentan mayor crecimiento de micelio, con un promedio de crecimiento de 3%.

Para los tratamientos C4H1 (concentración al 90% en peso) y C5H1 (concentración al 85% en peso) se evidenció un crecimiento nulo del hongo *Botrytis* sp. Cabe resaltar que a pesar de que se presentaron vestigios de crecimiento en los tratamientos C2H1 y C3H1, no se mostraron diferencias significativas entre ninguno de los cuatro tratamientos. Al observar las figuras 18 y 19 se evidencia que a mayor efecto inhibitorio de la solución tánica frente al hongo *Botrytis* sp., menor es el crecimiento de este microorganismo. Se puede presumir que el extracto puede generar un ambiente de inhibición sobre el desarrollo micelial de *Botrytis* sp. y por ello se puede manejar el crecimiento poblacional del hongo.

Chaves y Wang (2004), también especifican en el trabajo "Combate del moho gris (*Botrytis cinerea*) de la fresa mediante *Gliocladium roseum*", el tiempo que tarda *Botrytis* sp. en crecer, en condiciones aptas para su desarrollo, creando factores a tener en cuenta para su erradicación. Al respecto Shimada (2006) señala que los flavonoides son un grupo de compuestos con amplio rango de actividad biológica, que incluye la actividad antimicrobiana. Como ya se había mencionado anteriormente, los taninos inhiben la síntesis de proteínas en las células miceliales.

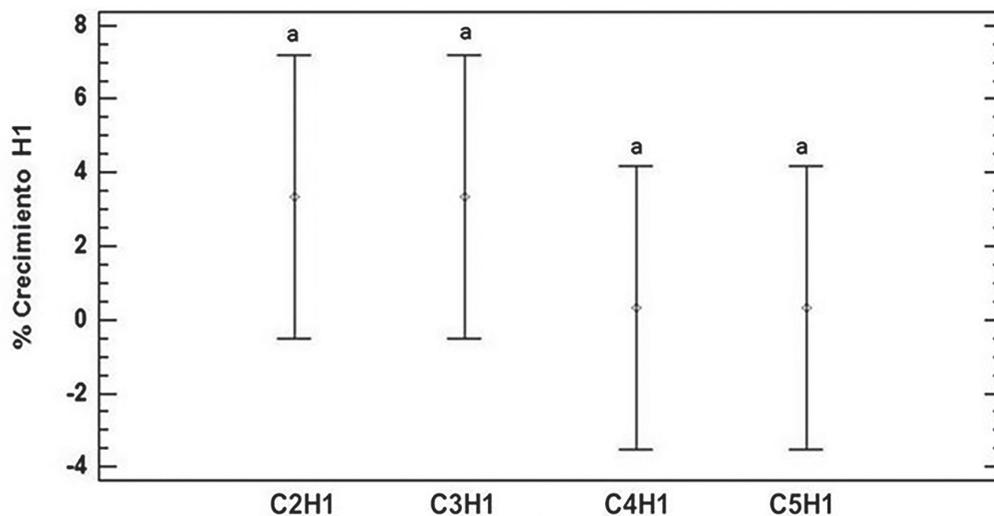


Figura 19. Porcentaje de crecimiento por microorganismo *Botrytis* sp.

Otros estudios realizados por Onyango et al. (2012), enfrentan a *Botrytis* sp. con extractos crudos, mostrando actividad significativa con 22 cepas de 400 estudiadas, evidenciando un promedio de diferencias significativas de 5%, resaltando la presencia de metabolitos secundarios en los extractos utilizados. De las 22 cepas activas, 15 de ellas mostraron actividad antifúngica representando 65% de crecimiento, los autores presumen que las condiciones de los tratamientos y el laboratorio estimulan los factores bióticos y abióticos de los extractos, logrando un desempeño activo en la producción de metabolitos.

#### 4.2.3 Actividad de *Penicillium* sp. frente a la solución tánica.

Se realizaron pruebas microbiológicas *in vitro* de *Penicillium* sp. con cuatro tratamientos (concentraciones de la solución, obtenidas a partir de la solución madre), teniendo una cepa de *Penicillium* sp., como control (figura 19). Al observar el efecto inhibitorio de la solución tánica.

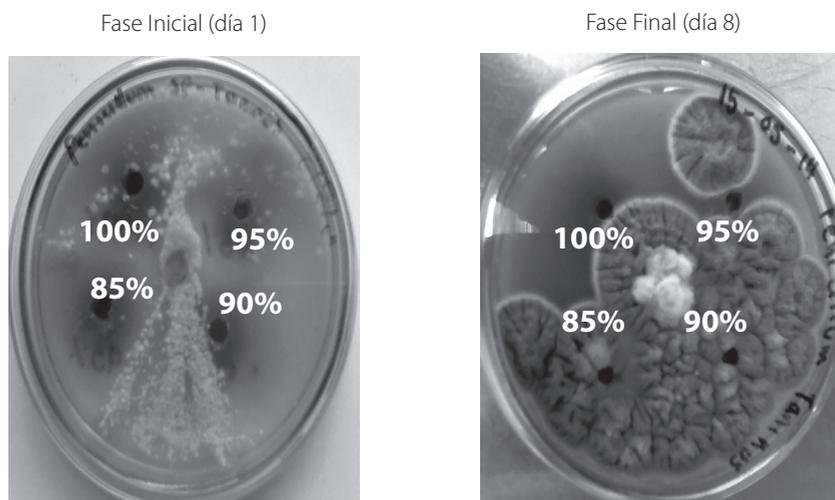
Se puede observar en la figura 20, el estado inicial (día 1) del experimento, donde *Penicillium* sp., está en crecimiento normal y sometido a las cuatro

concentraciones. Así mismo, se observa el potencial de crecimiento del hongo (día 8) y los halos que se generan en las mayores concentraciones. Cabe resaltar que el halo se sitúa a uno de los extremos de *Penicillium* sp.

Control negativo *Penicillium* sp.



**Figura 20.** Control hongo *Penicillium* sp.



**Figura 21.** Resultado inicial y final *in vitro* de *Penicillium* sp.

La actividad inhibitoria de la solución tánica frente al hongo *Penicillium* sp. (figura 22) refleja que a mayor porcentaje de concentración (v/v) de la solución, menor es el porcentaje de inhibición frente al *Penicillium* sp. Los tratamientos que mayor efecto inhibitorio presentaron resultaron ser el C4H2 (concentración al 90% en peso) y C4H2 (concentración al 85% en peso).

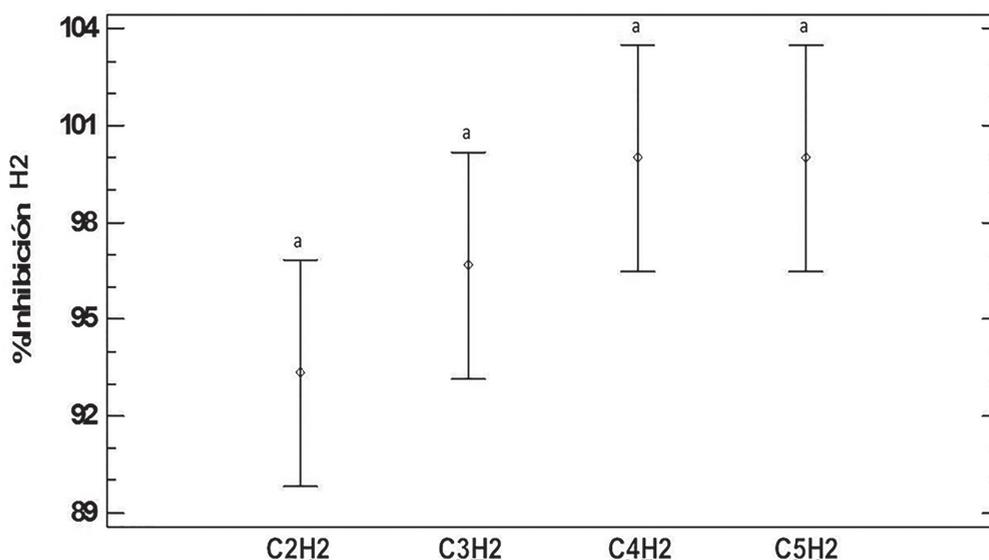


Figura 22. Porcentaje de inhibición por microorganismo *Penicillium* sp.

De acuerdo con la figura 22, el nivel de efectividad inhibitorio es de 11%. Lo anterior permite presumir que las concentraciones entre 95% (C3H2) y 85% (C4H2) de la solución tánica ejercen acción inhibitoria sobre el desarrollo de las colonias *Penicillium* sp. con un valor matemático más marcado. Cabe resaltar que no se presentaron diferencias significativas entre ninguna de las medias de los tratamientos antes señalados.

Al respecto, Flores et al. (2007), realiza un estudio donde observa el comportamiento del extracto etanólico de *Fluorensi cernuda* sobre la inhibición del micelio del hongo *Penicillium digitatum*. Se obtuvieron resultados positivos con un promedio de inhibición de 95,8% en dosis de 500 mg/L.

Por otra parte, un estudio similar realizado por Ramírez et al. (2007), evalúa la actividad antimicrobiana de plantas de la región de Boyacá, revelando que las fracciones de epicarpio de toronja, no inhiben el crecimiento del micelio de *Penicillium* sp., pero sí probablemente solo retrasa su esporulación. En un estudio similar realizado por Cárdenas et al. (2011), se observó mayor inhibición del hongo *Penicillium* sp, frente a los extractos acetónicos y etanólicos, siendo el extracto metanólico el que representó resultados de menor inhibición.

Alvear et al. (2009), determinaron que el extracto etanólico de resina provocó una disminución significativa ( $p < 0,05$ ) del crecimiento de todos los hongos patógenos evaluados. En el caso de *Penicillium restrictum*, el porcentaje de inhibición en el crecimiento del hongo fue de un 86% respecto al control con etanol de 70%.

Para Tequida et al. (2002), el extracto alcohólico de plantas silvestres inhibió el crecimiento del hongo hasta 59.3%.

En la figura 23, se observa el porcentaje de crecimiento del microorganismo (*Penicillium* sp.) frente al extracto tánico proveniente del mangostino. Se evidencia que el tratamiento C2H2 (concentración al 100% en peso) presenta mayor crecimiento microbiano con un promedio del 6%, respecto al tratamiento C3H2 (concentración al 95% en peso), este último con un crecimiento promedio del 3%. Por su parte, los tratamientos C4H2 (concentración al 90% en peso) y C5H2 (concentración al 85% en peso) posee un porcentaje de 0%, es decir, un crecimiento nulo de los micelios. Es de señalar que aunque no se presentaron diferencias significativas entre las medias de los cuatro tratamientos sí se evidenciaron diferencias matemáticas muy pequeñas entre las medias de los resultados.

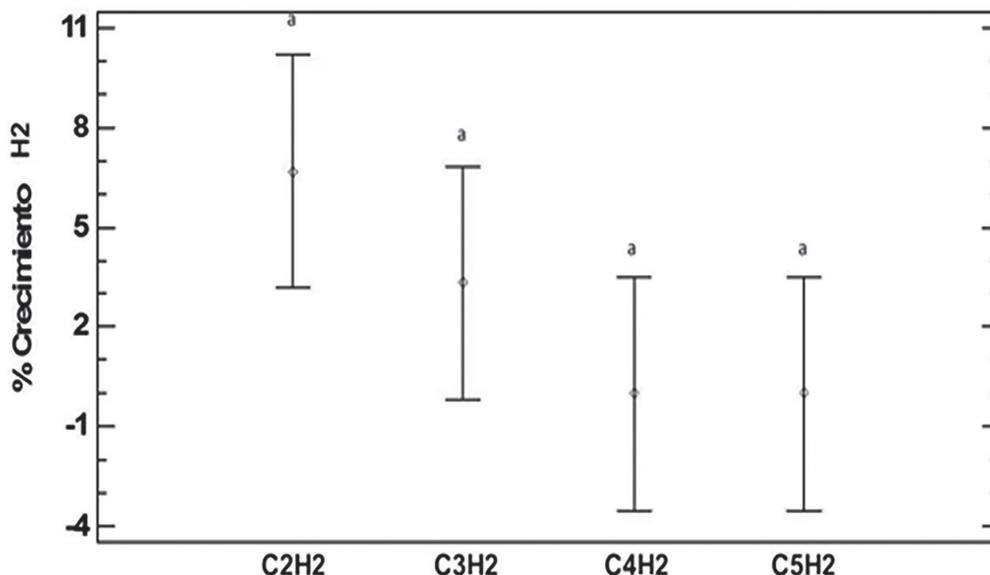


Figura 23. Porcentaje de crecimiento por microorganismo *Penicillium* sp.

Al comparar las figuras 22 y 23, se evidencia que entre menor concentración (v/v) del extracto tánico, mayor es el porcentaje de inhibición y menor es el porcentaje de crecimiento del microorganismo *Penicillium* sp., por lo que se presume que debido a que el hongo *Penicillium* sp., tiene un crecimiento diferente al de otros hongos, este puede tener resistencia en cuanto a la inhibición. El hongo *Penicillium* sp., muestra crecimiento en un lapso más corto, ya que no necesita de tantos requerimientos para su desarrollo, llegando a poblar la totalidad de la caja.

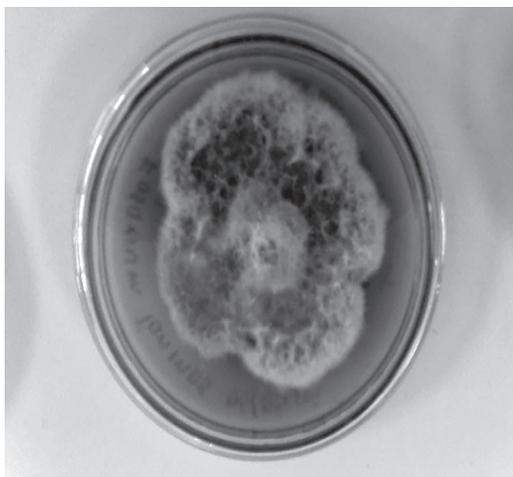
En el estudio realizado por Kanan y Al-Najar (2008) se realizaron pruebas in vitro con fracciones de metanol, hexano y acuoso, determinando que estos extractos inhiben completamente el crecimiento de las cepas *Penicillium digitatum*. Cárdenas et al. (2011), obtuvieron porcentajes de inhibición del crecimiento de *Penicillium* sp., mostrando una alta variabilidad al registrarse un 31,74% en los extractos acetónicos y 67,85% en los extractos metanólicos. Así mismo, los resultados que obtuvieron Cerón et al. (2014) del efecto inhibitorio de los

extractos de chile en *E. coli*, *Penicillium* sp. y *L. casei*, demuestran inhibición en el crecimiento para *Penicillium* sólo en los extractos etanólicos de chile habanero, posiblemente debido a una saponina presente en el extracto y que es responsable de la actividad fungicida. El autor observó adicionalmente que existe una relación entre el estado de madurez (combinación de capsaicinoides y compuestos fenólicos totales) de las especies estudiadas de chile y la actividad antimicrobiana de estos.

#### 4.2.4 Actividad de *Fusarium* sp. frente a la solución tánica

Se realizaron pruebas *in vitro* sobre el microorganismo *Fusarium* sp., teniendo cuatro tratamientos (concentraciones obtenidas a partir de la solución madre). En la figura 24, se evidencia el crecimiento normal de *Fusarium* sp. como control. Se puede observar en la figura 25, el estado inicial del experimento, donde *Fusarium* sp. está en crecimiento normal y sometido a las cuatro concentraciones. En la figura 26 se genera un halo de resistencia que evidencia el efecto de inhibición de la solución tánica sobre *Fusarium* sp. y posteriormente, la muerte de la totalidad del micelio del hongo.

Control negativo de *Fusarium* sp.



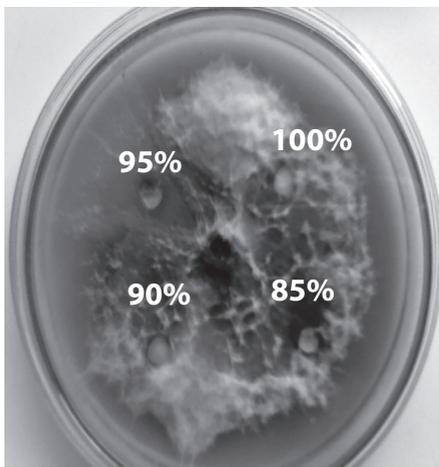
**Figura 24.** Control hongo *Fusarium* sp.

Fase Inicial (día 1)

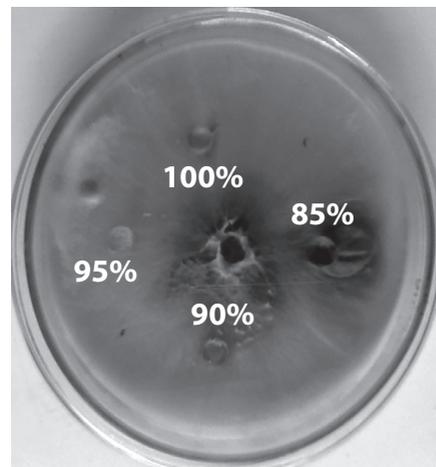


**Figura 25.** Inicio prueba *in vitro* de *Fusarium* sp.

Fase final (día 15)



Fase final (día 20)



**Figura 26.** Resultado inicial y final *in vitro* de *Fusarium* sp.

La solución tánica frente al hongo *Fusarium* sp. evidenció actividad inhibitoria según la figura 27, como se demuestra, a mayor concentración (v/v) del extracto tánico siendo el tratamiento C2H3 (concentración al 100% en peso) de mayor concentración, menor es el efecto de inhibición frente a *Fusarium* sp.. Los tratamientos que presentan mayor inhibición son los que están en un rango de concentración 85% - 95% en peso (C5H3, C4H3 y C3H3), respectivamente.

La figura 27 muestra el efecto de inhibición por parte de C5H3 (concentración al 85% en peso) con un promedio de inhibición de 100% frente al desarrollo del hongo. Mientras que los tratamientos C4H3 (concentración al 90% en peso) presentaron un promedio de 96%, aproximadamente y C3H3 (concentración al 95% en peso), teniendo un promedio de 88%, el tratamiento C2H3 (concentración al 100% en peso) fue el que menor porcentaje de inhibición presentó frente al hongo *Fusarium* sp. con un promedio de 65%.

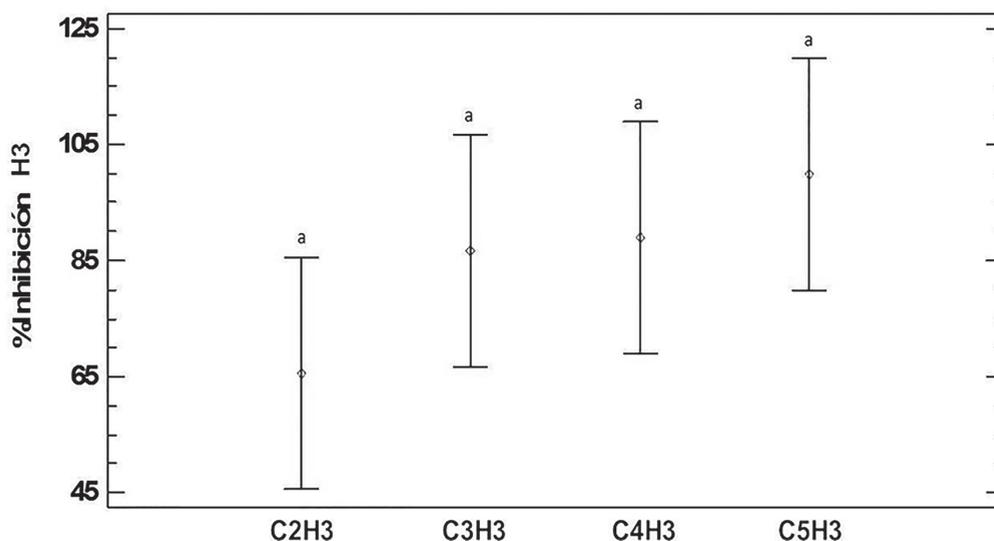


Figura 27. Porcentaje de inhibición por microorganismo *Fusarium* sp.

Los tratamientos C5H3 (concentración al 85% en peso), C4H3 (concentración al 90% en peso), C3H3 (concentración al 95% en peso) y C2H3 (concentración al 100% en peso) no mostraron diferencias significativas, aunque entre el tratamiento C2H3 (concentración al 100% en peso) y C3H3 (concentración al 95% en peso) evidencia diferencias matemáticas muy pequeñas entre las medias obtenidas.

Analizando la figura 27, el nivel de efectividad superó el 45% en cuanto a la acción inhibitoria sobre el crecimiento de las colonias de *Fusarium* sp. Lo anterior permite presumir que a concentraciones entre 85% y 100% de la solución tánica se ejerce acción positiva (inhibitoria) sobre el crecimiento y desarrollo de las colonias del hongo *Fusarium* sp.

Se señala que los compuestos fenólicos inhiben el crecimiento y desarrollo de hongos fitopatógenos cultivados *in vitro* (Pernía et al., 2001). Los taninos tienen como función la protección contra el ataque de enfermedades por fitopatógenos (Marcano y Hasegawa, 2002). Igualmente se evidencia que los taninos en altas concentraciones estimulan la resistencia de los tejidos jóvenes, como defensa a los ataques de microorganismos patógenos, siendo considerados fuertes inhibidores.

Ochoa (2012) utilizó extractos de chirimoya y canela para determinar el efecto inhibitorio sobre el crecimiento micelial de los hongos fitopatógenos. El extracto de canela inhibió el crecimiento micelial de *F. oxysporum*, *F. culmorum* y *F. solani*, teniendo un porcentaje de inhibición de 89% para *F. oxysporum* y *F. culmorum*. Para *F. solani* el porcentaje de inhibición fue de 62,5%.

Además, Rodríguez y Montilla (2002), realizaron pruebas *in vitro* a *Fusarium Oxysporum*, obteniendo una reducción entre 24% y 67%, en el crecimiento del hongo anteriormente mencionado. Por medio de gráficas estadísticas, los autores evidenciaron una reducción del 50% en el avance del crecimiento diametral del micelio del hongo, en comparación con la muestra testigo, presumiendo que la reducción del crecimiento micelial del hongo pudo ser por ruptura de la membrana celular del hongo y la desactivación de las enzimas por efecto de las catequinas presentes en el extracto estudiado.

Sin embargo, muchos hongos pueden tener resistencia innata a compuestos antifúngicos de la planta hospedera y se ha observado que tiene una mayor tolerancia *in vitro* a los compuestos antimicrobianos producidos por su hospedero, que aquellos microorganismos que son patógenos de esas plantas (Osbourn, 1999). Se ha reportado que este tipo de compuestos son importantes en las respuestas de defensa pasiva y activa de la planta (Nicholson y Hammerschmidt, 1992).

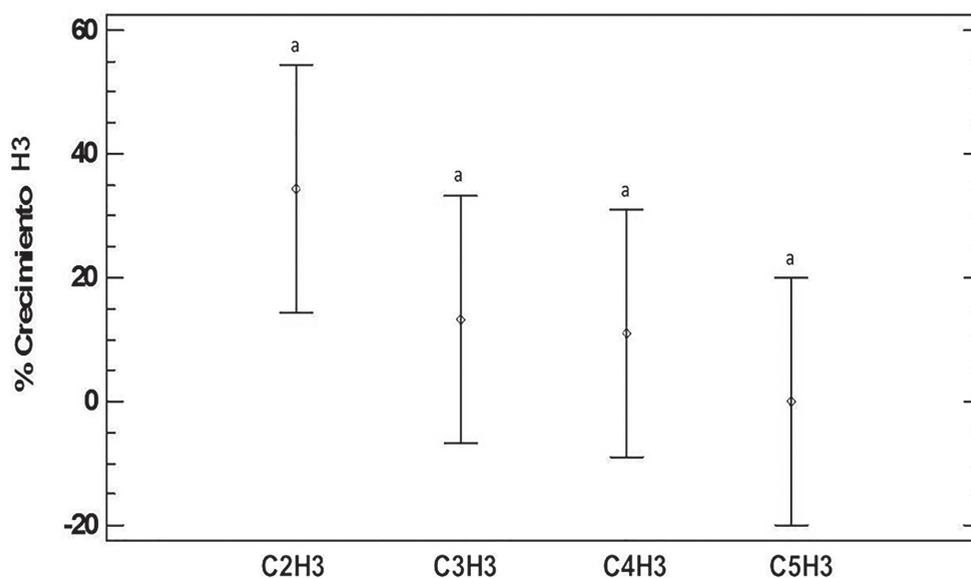


Figura 28. Porcentaje de crecimiento por microorganismo *Fusarium sp.*

En la figura 28, se observa el porcentaje de crecimiento del microorganismo *Fusarium sp.*, frente al extracto tánico. Como se evidencia, el tratamiento C2H3 (concentración al 100% en peso) presenta el mayor valor con un promedio de 39%, para el tratamiento C3H3 (concentración al 95% en peso) se muestra un promedio de crecimiento 18%, mientras que el tratamiento C4H3 (concentración al 90% en peso) posee un porcentaje de crecimiento promedio de 10%, siendo C5H3, el tratamiento que menor valor presenta en el crecimiento del hongo *Fusarium sp.*, con un promedio porcentual de 0%.

Al observar las figuras 27 y 28 se determina que entre mayor es la concentración del extracto, menor es el porcentaje de inhibición y mayor es el crecimiento de las colonias, teniendo una relación entre lo anterior y las soluciones tánicas.

Teóricamente *Fusarium* sp. es un hongo que se desarrolla según su estructura, no tiene tantos requerimientos para crecer en un medio. A menudo, se presenta en todas las fases del cultivo, poblando rápidamente la planta o el fruto y provocando marchitamiento y la muerte.

Recientes avances han mostrado que *Fusarium* sp. es un hongo que ha dado resultados positivos a controles donde se han aplicado productos de origen botánico. Extractos acuosos crudos de diferentes plantas han exhibido algunos niveles de actividad antifúngico (Ogechi y Agbenin, 2006). Añaden los autores que *Fusarium* sp. en su estudio presentó un crecimiento normal, tanto en el control como en las pruebas, aclarando que pobló todas las diluciones, pero al paso de 2 o 3 días comenzó a notarse la muerte del hongo por pérdida de micelio.

Los metabolitos secundarios, generalmente están presentes como mezclas de compuestos y los patógenos pueden ser afectados diferencialmente por los compuestos individuales o por las mezclas de determinadas concentraciones y proporciones (Espinosa, 2001). Por otra parte, cabe resaltar que los taninos pertenecen a la familia de los fenoles, estos tienen la propiedad de atacar las paredes celulares y las membranas de los hongos fitopatógenos, afectando la permeabilidad y liberando los constituyentes intracelulares (Al-Reza et al., 2010).

En estudios realizados por Rodríguez y Ramírez (2012), se hacen pruebas de la actividad antifúngica del extracto de *Acacia farnesiana*, sobre el crecimiento *in vitro* de *Fusarium oxysporum*. Entre las pruebas realizadas se plantea un tamizaje fitoquímico, en el que se observan los diferentes metabolitos secundarios presentes en los extractos. Los taninos se encontraron en estos resultados, demostrando su fuerte presencia en los dos extractos.



# Referencias

- Abril, N. (S.F.). Espectrofotometría: espectros de absorción y cuantificación colorimétrica de biomoléculas. Recuperado de [http://www.uco.es/organiza/departamentos/bioquimicabiolmol/pdfs/08\\_ESPECTROFOTOMETR%C3%8DA.pdf](http://www.uco.es/organiza/departamentos/bioquimicabiolmol/pdfs/08_ESPECTROFOTOMETR%C3%8DA.pdf))
- Acero, C., Dorantes, L., Hernández H. & Jaramillo M. E. (2001). Efecto de un extracto isopropanólico de chile (*Capsicum* sp.) sobre diversos microorganismos de importancia en alimentos. En *IX Congreso Nacional de Biotecnología y Bioingeniería. XIII Congreso Nacional de Ingeniería Bioquímica. II Congreso Internacional de Ingeniería Bioquímica*. (pp 1-120). Veracruz, México.
- Agrios, G. N. (2005). *Plant Pathology*. Fifth Edition. Elsevier, Academic Press, 922 p.
- Aguilar, C., Osorio - Hernández, E., Ventura - Sobrevilla, J. M., Flores - Dávila, M., Lara, F., Rodríguez - Herrera, R. & Hernández - Castillo, F. D. (2013). Efectividad biológica de extractos polifenólicos contra bacterias fitopatógenas. *Polibotánica*, 200-298. Coahuila, México.
- Aguirre, V., Delgado, V., Arango, M. J. & Díaz, N. (2012). Obtención y evaluación in vitro de la eficiencia de extractos con principios activos de eucalipto (*Eucalyptus globulus*), ajo (*Allium sativum*) y crisantemo (*Chrysanthemum cinerariaefolium*) como fungicidas naturales para el control de *Botrytis cinerea*, *Phragmidium mucronatum* y *Sphaerotheca pannosa* presentes en el cultivo de rosas orgánicas. Ecuador. 16 p.
- Albarracín, C. & Gallo, S. (2003). Comparación de dos métodos de extracción de aceite esencial utilizando *Piper aduncum* (cordoncillo) procedente de la zona cafetera. Manizales: Universidad Nacional de Colombia, Facultad de ingeniería. 103 p.
- Al-Reza, S. M., Rahman, A., Sattar, M.A., Rahman M. O. & Fida, H. M. (2010). Essential oil composition and antioxidant activities of Curcuma aromatic Salish, Corea. *Food and Chemical Toxicology*, 48(6), 1757-1760.
- Alvear, M.; Vidal, J.; González, J.; Padilla, L.; Contreras, A. (2009). Evaluación de actividad fungicida de extracto etanólico de propóleos comercial en suelo de la región de la Araucanía con certificación orgánica, frutos y hortalizas. En *XI Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo*, Memorias. Ecuador, 1-45.
- Arias, E. & Piñeros, P. (2008). Aislamiento e identificación de hongos filamentosos de muestra de suelos de los páramos de Guasca y Cruz Verde. Bogotá D.C.: Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias, Carrera de Microbiología Industrial. 204 p.
- Arias, J. & Jeréz, A. (2008). Elaboración de un atlas para la descripción macroscópica y microscópica de hongos fitopatógenos de interés en especies de flores de corte cultivadas en la sabana de Bogotá. Bogotá D.C.: Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias, Carrera de Microbiología Industrial. 156 p.
- Bailey, L. (1946). *Manual of cultivated plants*. New York: MacMillan Co. 1116 p.

- Barranco, S. (2004). Búsqueda de compuestos antimicrobianos en *Heterotheca inuloides*, *Gnaphalium oxyphyllum*, *Passiflora incarnata*, *Rosmarinus officinalis* y *Ruta graveolens*. Cholula, Puebla, México: Universidad de las Américas Puebla, Escuela de Ciencias, Departamento de Química y Biología. 97 p.
- Benavides, A. H.; Ramírez, V.; Robledo - Torres, L.; Fuentes, L. (2009). Antioxidantes en las plantas: algunos factores edáficos y ambientales que los modifican. *Temas Modernos de Nutrición Vegetal*, 13-26.
- Beyer, W.; Walter, L. M. (1987). *Manual de química orgánica*. Editorial Reverté.
- Bilanda, D., Dimo, T., Dzeufiet, P., Thierry, N., Farouck, O., Benoit, T., Tan, P. & Kamtchouing, P. (2009). Antihypertensive and antioxidant effects of *Allanblackia floribunda* Oliv. (*Clusiaceae*) aqueous extract in alcohol-and sucrose-induced hypertensive rats. *Journal of Ethnopharmacology* 128(3), 634-640. Doi: 10.1016/j.jep.2010.02.025.
- Bilbao, M. (1997). Análisis fitoquímico preliminar. Publicaciones Universidad del Quindío.
- Bligoo. (s.f). Árbol de mangostán. Recuperado de <http://mamberry.bligoo.es/tag/mangostan>
- Bolaños, N., Lutz, G. & Herrera, C. (2003). *Química de alimentos: manual de laboratorio*. Editorial Universidad de Costa Rica. Ed. 1, 27 p.
- Botello A., Rendón, J., Gold – Bouchot, G. & Agraz, C. (2005). *Golfo de México, contaminación e impacto ambiental: diagnóstico y tendencias*. Volumen 2.
- Bottani, E., Odetti, H., Pliego, O. & Villarreal, E. (2006.) *Química general*. Segunda edición. Argentina: Universidad Nacional del Litoral. 633 p.
- Botterweck, M., Verhagen, H., Goldbohm, R., Kleinjans, J. & Van den Brandt, P. (2000). Intake of butylated hydroxyanisole and butylated hydroxytoluene and stomach cancer risk: results from analyses in the Netherlands Cohort Study. *Food Chem.* 38(7), 599-605.
- Briceño, G., García, J., Maselli, A. & Rosales, L. (2011). Efecto de extractos etanólicos de ruda y neem sobre el control de bacterias fitopatógenas del género *Erwinia*. *Agronomía Trop.*, 61(2), 141-148. Maracay.
- Brunner, B. & Morales - Payan, P. (2011). *Mangosteen and rambutan*. Recuperado de <http://www.e-books-pdf.org/view/aHR0cDovL3d3dy5lb2xzcy5uZXQvU2FtcGxILUNoYXB0ZXJzL0MxMC-9FMS0wNUEtNTItMDAucGRm/TWFuZ29zdGVlbiBBbmQgUmFtYnV0YW4gLzBFb2xzczw==>
- Bundeasomchok K., Filly, N., Rakotomanoman, P. & Panichayupakaranant, F. (2015). Chemat. Extraction of a-mangostin from *Garcinia mangostana* L. using alternative solvents: computational predictive and experimental studies. *LWT- Food Science and Technology*, 65, 297-303. Doi: 10.1016/j.lwt.2015.08.036.
- Caldas, A. (2012). *Optimización, escalamiento y diseño de una planta piloto de extracción sólido líquido*. Cuenca, Ecuador: Universidad de Cuenca, Facultad de Ciencias Químicas, Escuela de Ingeniería Química. 45 p.
- Calvo, J. & Martínez, L. (2009). Mecanismos de acción de los antimicrobianos. Recuperado de <http://www.sld.cu/galerias/doc/sitios/apua->
- Canosa, M. (s. f.). *Desarrollo de metodología analítica para la determinación de triclosán y parabenes. Aplicación al estudio de su distribución y transformación en muestras ambientales*. Editorial Universidad Santiago de Compostela.

## Referencias

- Cantón, R. (Junio - julio 2010). Lectura interpretada del antibiograma: ¿Ejercicio intelectual o necesidad clínica? *Revista de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 28(06), 112-116.
- Cárdenas - Ávila, M. L., Moreno - Limón, S., González - Solís, L. N., Salcedo - Martínez, S. M. & Perales, A. (2011). Efecto antifúngico de extractos de gobernadora (*Larrea tridentata* L.) sobre la inhición *in vitro* de *Aspergillus flavus* y *penicillium* sp. *Polibotanica*. México. D. F., 193-205. ISSN 1405-2768.
- Cardona, N. & Salazar, M. (2012). Actividad alelopática y antibacteriana de fracciones polares f1-c, f1-d y f1-f obtenidas de *Henriettella trachyphylla triana* (melastomataceae). Pereira: Universidad Tecnológica de Pereira, Facultad de Tecnología, Escuela de Química. 98 p.
- Carvajal, L., Hata, Y., Sierra, N. & Rueda, D. (Enero - febrero de 2009). Análisis fitoquímico preliminar de hojas, tallos y semillas de cupatá (*Strychnos schultesiana* Krukoff). *Colombia Forestal*, 12(1), 75-80.
- Cavallini, E., Gamboa, M., Hernández, F. & García, J. (2005). *Bacteriología general: principios y prácticas de laboratorio*. Editorial Universidad de Costa Rica. 217 p.
- Cerón - Carrillo, T., Munguía - Pérez, R., García, S. & Santisteban - López, A. (2014). Actividad antimicrobiana de extractos de diferentes especies de chile (*Capsicum*). *Revista Iberoamericana de Ciencia*, 1(2), 213-221. Puebla.
- Chaves, N. & Wang, A. (2004). Combate del moho gris (*Botrytis cinerea*) de la fresa mediante *Gliocladium roseum*. *Agronomía Costarricense*, 73-85. Costa Rica.
- ChemSpider. (s.f). Estructura química vitamina E. Recuperado de <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.14265.html?rid=920d0c1f-d988-4db5-aa97-580b9851e18f>
- Cheok, C., Chin, N., Yusof, Y., Talib, R. & Law, C. (2013). Optimization of total monomeric anthocyanin (TMA) and total phenolic content (TPC) extractions from mangosteen (*Garcinia mangostana* Linn.) hull using ultrasonic treatments. *Journal of Industrial Crops and Products* 50, 1-7. Doi: 10.1016/j.indcrop.2013.07.024.
- Chirinos, J., León, Y. & Vallenilla, Y. (2007). Evaluación de malojillo, verdolaga, nim, manzanilla y orégano como extractos acuosos en el control de *Xanthomonas axonopodis* pv. *manihotis*, *Erwinia carotovora* pv. *carotovora*, *Pseudomonas* sp. y *Xanthomonas* spp. que ocasionan daños en yuca, pimentón, perejil y frijol. En *XX Congreso Venezolano de Fitopatología, Memorias*. San Felipe, Venezuela: Universidad de Yaracuy. 130 p.
- Choussy, D. (2004). Estudio de una tecnología para el reciclaje de los componentes de baterías de Ni-Cd. Puebla, México: Universidad de las Américas Puebla, Escuela de Ingeniería, Departamento de Ingeniería Química y Alimentos. 97 p.
- Cisneros, E. (1995). La glutatión reductasa y su importancia biomédica. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 14(1).
- Coca, A., Aranda, P. & Rendón, J. (2009). *Manejo del paciente hipertenso en la práctica clínica*. Editorial Médica Panamericana.
- Corner, E. (1988). Wayside trees of Malaya. *Malayan Nature Society*, Vol 1. Ed. 3. Kuala Lumpur.
- Cowan, M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiological Reviews*, 12(4), 564-582. Ohio.

- Crespo, D. (2006). *Biogerontología*. Ediciones Universidad de Cantabria.
- Del Río, J. (2013). Determinación de la actividad antioxidante por dpb y abts de 30 plantas recolectadas en la Ecorregión Cafetera. Pereira: Universidad Tecnológica de Pereira, Facultad de Tecnología, Escuela de Tecnología Química. 95 p.
- Diciaula, M. C., Lopesa, G., Scarminiob, L. & De Melloa, J. (2014). Optimization of solvent mixtures for extraction from bark of *Schinus terebinthifolius* by a statistical mixture-design technique and development of a uv-vis spectrophotometric method for analysis of total polyphenols in the extract. *Quim. Nova*, 37(1), 158-163. Brasil.
- Embuscado, M. (2014). Spices and herbs: natural sources of antioxidants – a mini review. *Journal of Functional Foods*, 18, 811-819. Doi: 10.1016/j.jff.2015.03.005.
- Espinosa - García, F. J. (2001). La diversidad de los metabolitos secundarios y la teoría de la defensa vegetal. En: Anaya, AL, FJ Espinosa-García y R. Cruz-Ortega (Eds.) Relaciones químicas entre organismos. Aspectos básicos y perspectivas de su aplicación. pp. 231-249. Universidad Nacional Autónoma de México y Plaza y Valdés. México DF,
- Farfán, C. (2008). Estudio del aceite esencial y metabolitos secundarios de diferentes poblaciones de *Lippia chiapasensis* loes. (*Verbenaceae*). Fase II. Guatemala: Universidad San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. 75 p.
- Ferreira R., Geraldo, M. & Sarmiento, T. (2012). Occurrence of biflavonoids in *Clusiaceae*: chemical and pharmacological aspects. *Química Nova*, 35(11), 2271-2277.
- Flores - Olivas, A. & Sandoval - López, V. (2007). Actividad biológica in vitro de extractos de *Flourensia cernua* d.c. en patógenos de postcosecha: alternaría alternata (fr.:fr.) keissl., *Colletotrichum gloeosporioides* (penz.) penz. y sacc. y *Penicillium digitatum* (pers.:fr.) *Revista mexicana de fitopatología*. vol. 25, No.1. 48-53.
- Flórez, L. M., Guerrero, G. E. & Salazar, V. M. (2007). Pruebas de actividad biológica con dos organismos modelos en acetogeninas de *Annonaceae* con actividad biopesticida. Pereira: Universidad Tecnológica de Pereira, Facultad de Tecnologías, Escuela de Química. 28 p.
- Fomesa. (s.f) Factores de calidad. Recuperado de [http://www.fomesa.net/Calidad/Factores/F\\_03\\_11\\_2.htm](http://www.fomesa.net/Calidad/Factores/F_03_11_2.htm)
- Fundación Bioquímica Argentina. *Penicillium*. (2011). Recuperado de <http://www.fba.org.ar/panel-gestion/InformeResultado/MI/mi31.pdf>
- Fusco, M., Sosa, A., Petenatti, M., Juárez, A., Del Vitto, L. & Petenatti, E. (2006). Medicamentos herbarios en el centro-oeste argentino. VII. Caracterización farmacognóstica y actividad cardiotónica de *Hypericum connatum* (*Clusiaceae*). *Latin American Journal of Pharmacy*, 26(2), 209-214.
- García, M. (2006). *Técnico especialista en anatomía patológica del servicio gallego de salud*. Editorial MAD.
- González, E., Rodríguez, R. & Aguilar, C. (Enero de 2009). Biodegradación de taninos. *Cienciacierta* 1(17), 21-28.
- Gonzalo, R., Ramírez, R. & López, F. (Abril - junio 2002). Factores estructurales de la pared celular del forraje que afectan su digestibilidad. *Revista Ciencia UANL*, 2(2), 180-189.

## Referencias

- Gupta, H., Chou, M., Howell, A., Wobbe, C., Grady, R. & Stapleton, A. (2007). Cranberry products inhibit adherence of p-fimbriated *Escherichia coli* to primary cultured bladder and vaginal epithelial cells. *Journal of Urology*, 177(6), 2357-60. Bethesda, USA.
- Haliwell, B. & Gutteridge, H. (2015). *Radicales libres en biología y medicina*. Ed. 5. Editor OUP Oxford.
- Harpreet, S. & Arvind, K. (Junio de 2013). Phytochemical analysis of *Aesculus indica* seeds extracts. Vol 1, Issue 1. India. ISSN: 2321-6824.
- Hidalgo, J. (2003). *Tratado de enología*. Madrid. 752 p.
- Hudzicki, J. (2014). *Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol*. Recuperado de <http://www.microbelibrary.org/component/resource/laboratory-test/3189-kirby-bauer-disk-diffusion-susceptibility-test-protocol>
- Iglesias, J. (2009). *Diseño de ingredientes antioxidantes de origen natural y su aplicación en la estabilización de productos derivados de la pesca*. Ediciones Universidad Santiago de Compostela.
- Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales (IDEAM). (2016). *Boletín diario de características climatológicas de ciudades principales y municipios turísticos*. Recuperado de <http://www.ideam.gov.co/documents/21021/21789/1Sitios+turisticos2.pdf/cd4106e9-d608-4c29-91cc-16bee9151ddd>
- Kanan, J. & Al-Najar, A. (2008). In vitro antifungal activities of various plant crude extracts and fractions against citrus post-harvest disease agent *Penicillium digitatum*. *karah-jordan*, 1 (3). En: Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety. ISSN: 1995-6673.
- Karthiga P., Soranam, R. & Annadurai, G. (2012). Alfa-Mangostin el mayor compuesto de *Garcinia mangostana* Linn. Responsable de la síntesis de nanopartículas de plata: Estudios de caracterización y evaluación. *Diario de Nanociencia y Nanotecnología*.
- Kuete, V., Komguem J., Penlap Beng, V., Meli, A., Tangmouo, J., Etoa, F. & Lontsi, D. (2007). *Antimicrobial components of the methanolic extract from the stem bark of Garcinia smeathmannii Oliver (Clusiaceae)*. *South African Journal of Botany*, 73(3), 347-354. Doi: 10.1016 / j.sajb.2007.01.004.
- Lallianrawna, S., Muthukumaran, R., Ralte, V., Gurusubramanian, G. & Senthil, N. (Octubre de 2013). Determination of total phenolic content, total flavonoid content and total antioxidant capacity of *Ageratina adenophora* (Spreng). India, King & H. Rob. 13(4). ISSN: 0975-6175.
- Lara, D. & Londoño, Á. (Julio - diciembre de 2008). El uso de taninos condensados como alternativa nutricional y sanitaria en rumiantes. *Revista de Medicina Veterinaria*, 16, 87-109.
- Lasa, J., Mantecón, C. & Gómez, M. Á. (2010). Utilización de taninos en la dieta de rumiantes. Sitio Argentino de Producción Animal
- Latham, M. (2002). Nutrición humana en el mundo en desarrollo. En: Alimentación y enfermedad en tiempos de hambre: España. Colección de textos de la FAO.
- León J. & Poveda, L. (2000). Nombres comunes de las plantas en Costa Rica. *Revista Biología*, 49(3).
- Lira - Saldivar, H. (2003). Estado actual del conocimiento sobre las propiedades biocidas de la gobernadora. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 214-221. México D.F. ISSN: 0185-3309.

- López, A. (2012). Antibiograma. Recuperado de [http://alejandragodinalopez.blogspot.com/2012\\_06\\_01\\_archive.html](http://alejandragodinalopez.blogspot.com/2012_06_01_archive.html)
- López, A., Fernando, C., Lazarova, Z., Bañuelos, R. & Sánchez, S. (2012). Antioxidantes, un paradigma en el tratamiento de enfermedades. *Revista ANACEM*, 6(1), 48-49.
- López, D. & Úsuga, M. (2014). Evaluación del efecto de taninos obtenidos de la *Garcinia mangostana* L. sobre microorganismos de interés agrícola *Erwinia* sp, *Fusarium* sp, *Penicillium* sp y *Botrytis* sp. Trabajo de Grado.
- López, E. (2008). Producción de bebida alcohólica de alta calidad. Cholula, Puebla, México: Universidad de las Américas Puebla, Escuela de Ingeniería y Ciencias, Departamento de Ingeniería Química y Alimentos. 85 p.
- Lozano, F. & Moya, A. (s.f). Determinación del índice de peróxidos. Universidad de Jaén. Recuperado de <http://www.ujaen.es/huesped/aceite/articulos/analisis.htm#peroxi>
- Marcano, D. & Hasegawa, M. (2002). *Fotoquímica orgánica*. Universidad Central de Venezuela: Ed. Caracas. 518 p.
- Marín, K. (2009). Estudio fitoquímico de *Vismia cayennensis* y su posible actividad biológica. Universidad de Oriente, Núcleo de Sucre.
- Mark J., Stryer, L. & Tymoczko, J. (2007). *Bioquímica*. Editorial Reverté.
- Martínez, A. (2003). Carotenoides. Universidad de Antioquia.
- Martínez A., Valencia, G., Jiménez, N., Mesa, M. & Galeano, E. (2008). *Manual de prácticas de laboratorio de farmacognosia y fitoquímica*. Medellín: Universidad de Antioquia.
- Martin, J. & Montes, A. (2012). Evaluación de las actividades antibacteriana y alelopática del extracto en acetato de etilo y de algunas fracciones de *Miconia caudata* (bonpl.) Pereira: Universidad Tecnológica de Pereira, Facultad de Tecnología, Escuela de Química. 107 p.
- Maselli, A., Méndez, R., García, J., Briceño, G., Solano, A., Alemán, L., Rosales, L. & Velasquez, L. (2008). Evaluación de extractos vegetales para el control de bacterias fitopatógenas de los géneros *Xanthomonas* y *Erwinia*. Venezuela. *Fitosanidad*, 12(3), 164.
- Memenza, M. (2009). Control biológico in vitro de *Botrytis cinerea* (Pers) mediante el uso de hongos antagonistas, en vid (*Vitis vinifera*). Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Ciencias Biológicas, Ciencias Biológicas. 74 p.
- Méndez, P. & Inostroza, J. (2009). *Manual de papa para la Araucanía: manuales de cultivo, enfermedades y almacenaje*. Carrillanca, Chile: Imprenta Fénix. 116 p.
- MNCN. (s.f). Espectrofotometría de masas. Recuperado de [http://www.mncn.csic.es/docs/repositorio/es\\_ES/investigacion/cromatografia/espectrometria\\_de\\_masas.pdf](http://www.mncn.csic.es/docs/repositorio/es_ES/investigacion/cromatografia/espectrometria_de_masas.pdf)
- Mohamed, G., Ibrahim, S., Shaaban, M. & Ross, S. (2014). *Mangostanaxanthones I and II*, new xanthones from the pericarp of *Garcinia mangostana*. *Journal of Phytotherapy*, 98, 215-221. Doi: 10.1016/j.ftote.2014.08.014.
- Narayanasamy, K. & Ragavan, B. (Junio - agosto 2012). Phytochemical and mineral screening of *Zanthoxylum Tetraspermum* (W & A). *E-Journal of Chemistry*, 9(1), 121-130. Tamilnadu, India. ISSN: 0973-4945.

## Referencias

- Natesh, N., Roopa, V. M. & Suvarna, V. C. (2014). Antimicrobial activity of plant extracts against post-harvest spoilage of onions. *International Journal Curr.Microbiol.App.Sci.*, Vol. 3 No. 5, pp. 388-394.
- Nicholson, R. L. & Hammerschmidt, R. (1992). Phenolic compounds and their role in disease resistance. *Rev. Phytopathol*, 30, 369-389. Annu. Bethesda, USA.
- Noriega, P., Coba, P., Naikiai, J. & Abad, J. (Marzo - octubre de 2011). Extracción, pruebas de estabilidad y análisis químico preliminar de la fracción colorante obtenido a partir del exocarpo del fruto de *Renalmia alpinia*. *Revista La Granja*, 13(1), 13-20. Ciudad de México.
- Nualkaew, N., Morita, H., Shimokawa, Y., Kinjo, K., Kushiro, T., De-Eknamkul, W., Ebizuka, Y. & Abe, I. (2012). Benzophenone synthase from *Garcinia mangostana* L. pericarps. *Journal of Phytochemistry*, 77, 60-69. Doi: 10.1016/j.phytochem.2012.02.002.
- Núñez, C. (2008). Extracciones con equipo soxhlet. Recuperado de <http://www.cenunez.com.ar/archivos/39-extraccinconequiposoxhlet.pdf>
- Núñez, M. (2004). Metabolitos secundarios bioactivos aislados de *Maytenus chiapensis* y *Crossopetalum uragoga* (Celastraceae). Recuperado de <ftp://tesis.bbt.ull.es/ccppytec/cp255.pdf>
- Oancea, S. & Oprean, L. (2011). Anthocyanins, from biosynthesis in plants to human health benefits. *Food Technology*, 15(1), p. 20. Indiana.
- Ochoa, Y. M. (2012). Evaluación in vitro de la actividad antifúngica de cuatro extractos vegetales metanólicos para el control de tres especies de *Fusarium* spp. *Revista Internacional de Botánica Experimental*, 81(1), 69-73. Buenos Aires.
- Ogechi, H. & Agbenin, M. (2006). Análisis de extractos etanólicos frente a varias cepas de *Fusarium* sp. *Científica UDO Agrícola*, 25(4), 23-45. Madrid.
- Olusola, E. (2015). Anti-diabetic principles from medicinal plants- A review. *Journal of Pathophysiology*, 22 (2), 95-103. Doi: 10.1016 / j.pathophys.2015.02.001.
- Onyango, J., Njue, A., Omolo, J., Cheplogoi, P. & Otaye, D. (2012). In vitro inhibition of botrytis cinerea - causative agent for grey mold by crude extracts of basidiomycetes fungi. *Science Journal of Biotechnology*, 175(3). Kenya. ISSN: 2276-6375.
- Orantes, E. (2008). Tamizaje fitoquímico de la especie vegetal guatemalteca *Quararibea yunckeri* Standley Subsp. *izabalensis* W.S. Alverson ex Véliz (Bombacaceae). Guatemala: Universidad San Carlos de Guatemala, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. 64 p.
- Orduz J. & Rangel, J. (2002). *Frutas tropicales potenciales para el piedemonte llanero*, No. 8. Colombia.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). Estado Mundial de la Agricultura y la Alimentación. Recuperado de <http://www.fao.org/docrep/018/i3301s/i3301s.pdf>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). Manual de manejo postcosecha de frutas tropicales (papaya, piña, plátano, cítricos). Recuperado de [http://www.fao.org/inpho\\_archive/content/documents/vlibrary/ac304s/ac304s00.htm#toc](http://www.fao.org/inpho_archive/content/documents/vlibrary/ac304s/ac304s00.htm#toc)

- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2010). Estrategia mundial sobre régimen alimentario, actividad física y salud. Recuperado de <http://www.who.int/dietphysicalactivity/fruit/es/>
- Ortuño, M. (2006). *Manual práctico de aceites esenciales, aromas y perfumes*. Ediciones Ayana.
- Osbourn, A. (1999). Antimicrobial phytoprotectants and fungal pathogens: a commentary. Review. *Fungal Genetics and Biology*, 26(3), 163–168. Bethesda, USA.
- Osman, M. & Milan, A. (2006). Mangosteen. *Garcinia mangostana* L. Southampton Centre for Underutilised Crops. United Kingdom.
- Osorio - Hernández, E., Ventura - Sobrevilla, J. M., Flores - Davila, M., Lara, F., Rodríguez - Herrera, R., Hernández - Castillo, F. D. & Aguilar, C. (2013). Efectividad biológica de extractos polifenólicos contra bacterias fitopatógenas. México: Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro y Universidad Autónoma de Coahuila. 97 p.
- Osorio, J. (2008). Búsqueda de sustancias bioactivas a partir de dos especies de la flora colombiana: alcaloides de *Phaedranassa dubia* (Amaryllidaceae) y biflavonoides de *Garcinia madruno* (Clusiaceae). Universidad de Barcelona.
- Palavecino, E. (s.f). Interpretación de los estudios de susceptibilidad antimicrobiana. Recuperado de <http://escuela.med.puc.cl/paginas/publicaciones/boletin/html/laboratorio/laboratorio06.html>
- Pedraza J., Cárdenas, N., Orozco, M. & Pérez, J. (2008). Propiedades medicinales del mangostán (*Garcinia mangostana* L). Pp. 107.
- Perera, P. R. D., Ekanayake, S. & Ranaweera, K. K. D. S. (2013). In vitro study on antiglycation activity, antioxidant activity and phenolic content of *Osbeckia octandra* L. leaf decoction. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2(4). ISSN: 2278-4136. Ohio.
- Pérez, G. (s.f). Espectrofotometría Infrarroja. Recuperado de [http://www.espectrometria.com/espectrometra\\_infrarroja](http://www.espectrometria.com/espectrometra_infrarroja)
- Pernía, E., Tosta, M., García, E., Compagnone, S. & Suárez, A. (2001). Compuestos fenólicos como posibles responsables de mecanismos de resistencia de musáceas a la sigatoca negra y amarilla (*Mycosphaerella fijensi* y *M. munisiota*). En *V Congreso Venezolano de Química, Memorias*, 1-218. Zulia.
- Pineda, A. (2013). Fitopatología, bacteria erwinia. Recuperado de (<http://angfitomapologia.blogspot.com/2012/06/hongo-erwinia.html>)
- Pino, O., Lazo, F. J., Sánchez, Y., Iglesias, A., García L. & Khambag, B. P. (2008). La flora cubana como fuente de bioplaguicidas. *Revista Fitosanidad*, 12(3), 163. La Habana.
- Plazas, E. (2011). *Realizar el estudio fitoquímico y de actividad biológica de dos especies altoandinas priorizadas dentro del proyecto 318*. Bogotá: Jardín Botánico José Celestino Mutis, Centro de Investigación y Desarrollo Científico.
- Pokorny J. & Yanishlieva, N. (2005). *Antioxidantes de los alimentos. Aplicaciones prácticas*. Editorial Acribia.
- Procolombia. (2010). Frutas exóticas. Recuperado de <http://www.procolombia.co/node/1256>
- Radha, T. & Mathew, L. (2007). Los cultivos frutales. *New India Publishing*, 3, 72-78.

## Referencias

- Ramírez, L. S. & Marin, D. (Agosto 2009). Metodologías para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. *Scientia et Technica Vol. 15*, No. 42. Pereira. ISSN 0122-1701
- Ramírez, M., González, A. & Correa, L. (2007). Actividad antimicrobiana, conservante y obtención de un colorante natural a partir de plantas de la región de Boyacá, Pereira. *Scientia et Technica*, 13(33), 415-417.
- Ramón, F. (2009). *Variaciones en la anatomía de la corteza y en la producción de metabolitos secundarios, de dos poblaciones de croton draco schltl. & cham. en el estado de Veracruz, Méx.* Irapuato, México: Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, Unidad Irapuato Biotecnología y Bioquímica. 91 p.
- Razmkhab, S., López, A., Ortega, J., Mayen, M., Mérida, J. & Medina, M. (2002). Adsorption of phenolic compounds in white wines by yeasts and their cell walls. *Food Chemical*, 50, 7432-7437. USA.
- Rebelo, P. (2011). Origen y distribución. Recuperado de <http://www.frutomangostan.es/origen.html>
- Restrepo, J. (2015). La reina de las frutas. Recuperado de <https://agronegocios.uniandes.edu.co/2015/08/11/la-reina-de-las-frutas/>
- Richards, J. (1990). Studies in Garcinia, dioecious tropical forest trees, the origin of mangosteen (*Garcinia mangostana* L.). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 301-308.
- Rodríguez, A. & Ramírez, M. (2012). Actividad antifúngica de extractos de acacia farnesiana sobre el crecimiento in vitro de *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici*. Científica UDO Agrícola, 12(1), 91-96.
- Rodríguez, D. & Montilla, J. (2002). Disminución de la marchitez causada por *Fusarium* en tomate con extracto de *Citrus paradisi*. *Manejo integrado de plagas*, 63, 46-50. Costa Rica.
- Rodríguez, D. & Sanabria, M. (2005). Efecto del extracto de tres plantas silvestres sobre la rizoctoniosis, la manchasureña del maíz y los patógenos que las causan. *INCI*, 30(12), 739-744. México.
- Rodríguez, L. & Chaux, M. (2014). *El biocomercio en Colombia no es un cuento*. Corporación Biocomercio Colombia. Bogotá.
- Roldán, E. (1988). *Fundamentos y aplicaciones de las propiedades antioxidativas del ácido tióctico*. Departamento de Investigaciones Farmacológicas, Dr. Gador y Cia. Buenos Aires.
- Romero, C. (2000). *Efecto del pastoreo con ovinos sobre la concentración de taninos condensados en Gliricida sepium (Jaq) Walp en el trópico seco*. Colima, Col. Universidad de Colima, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia. 105 p.
- Romero, M. (2010). *Producción ecológica certificada de hortalizas de clima frío*. Bogotá: Editorial U. Jorge Tadeo Lozano.
- Rosslénbroich, H. J. & Stuebler, D. (12 de septiembre del 2000). *Botrytis cinerea* – history of chemical control and novel fungicides for its management. En Rosslénbroich, H. J. & Stuebler, D. *Crop Protection, Germany*, 42(4), 557- 561. Reims, France.
- Ruiz, R. (2013). Manejo integrado de plagas en cultivos de Colombia. Recuperado de [http://www.cornare.gov.co/CRP/memorias/Seminario\\_internacional\\_plaguicidas/M\\_I\\_P\\_EN\\_CULTIVOS\\_DE\\_COLOMBIA.R\\_Vergara.pdf](http://www.cornare.gov.co/CRP/memorias/Seminario_internacional_plaguicidas/M_I_P_EN_CULTIVOS_DE_COLOMBIA.R_Vergara.pdf)

- Sabán, J. (2012). *Control global del riesgo cardiometabólico: la disfunción endotelial como diana preferencial*. Ediciones Díaz de Santos.
- Sánchez Urquín, A. (2006). *Respuesta del mangostán (Garcinia mangostana L.) a seis prácticas de poda en la región atlántica de Costa Rica*. Guácimo, Costa Rica: Universidad Earth, Facultad de Ingeniería, Ingeniería Agrónoma. 56 p.
- Sánchez, Y., Correa, T., Abreu, Y., Martínez, B., Duarte, Y. & Pino, O. (Septiembre, 2011). Caracterización química y actividad antimicrobiana del aceite esencial de *Piper marginatum Jacq.* *Revista de Protección Vegetal*, Vol. 26, No. 3. La Habana. ISSN: 1010-2752.
- Sandoval, M. (s.f). Introducción a la fitopatología. Recuperado de <http://www.slideshare.net/manuelsandovalb/fitopatologia-agrios>
- Santacruz, L. (2011). *Análisis químico de antocianinas en frutos silvestres colombianos*. Bogotá D.C.: Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Departamento de Química. 97 p.
- Semwal R., Kumar, D., Vermaak, I. & Viljoen, A. (2015). A comprehensive scientific overview of *Garcinia cambogia*. *Journal of Phytotherapy*, 102, 134-148.
- Sen, A., Sarkar, K. Majumder, P. & Banerji, N. (1980). Minor xanthenes of *Garcinia mangostana*. *Journal of Phytochemistry*, 20, 183-185. Doi: 10.1016/0031-9422(81)85250-8.
- Sepúlveda, L., Ascacio, A., Rodríguez, R., Aguilera - Carbó, A. & Aguilar, C. (30 de mayo de 2011). Ellagic acid: biological properties and biotechnological development for production processes. *African Journal of Biotechnology*, 10(22), 4518-4523. Coahuila, México.
- Shimada, T. (2006). Salivary proteins as a defense against dietary tannins. *Journal Chemical Ecology*, 32(6), 1149-1163. Tokio.
- Sioumis, N., Kallithraka, S., Makris, D. & Kefalas, P. (2006). Kinetics of browning onset in white wines: influence of principal redox-active polyphenols and impact on the reducing capacity. *Food Chemistry*, 94, 98-104. USA.
- Stauffer, B. A., Orrego, A. & Aquino, A. (2000). Selección de extractos vegetales con efecto fungicida y/o bactericida. *Revista de Ciencia y Tecnología*, 1(2), 29-33. México.
- Taroco, R., Seija, V. & Vignoli, R. Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica. Recuperado de <http://www.higiene.edu.uy/cefa/2008/BacteCEFA36.pdf>
- Teijón, J. (2006). *Fundamentos de bioquímica estructural*. Editorial Tebar.
- Tequida - Meneses, M., Cortez - Rocha, M., Rosas - Burgos, E. C., López - Sandoval, S. & Corrales - Maldonado, C. (2002). Efecto de extractos alcohólicos de plantas silvestres sobre la inhibición de crecimiento de *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium expansum*, *Fusarium moniliforme* y *Fusarium poae*. *Rev Iberoam Micol*, 19(2), 84-88. Madrid.
- Tjahjania S., Widowati, W., Khiong, K., Suhendraa, A. & Tjokropranotoa, R. (2014). Antioxidant Properties of *Garcinia mangostana L (Mangosteen)* Rind. *Diario Procedia Química*, 13, 198-203. Doi: 10.1016/j.proche.2014.12.027.
- Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). (2007). Técnicas cromatográficas. Recuperado de [http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/M.Cromatograficos\\_6700.pdf](http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/M.Cromatograficos_6700.pdf)

## Referencias

- Vélez M. & Villa, N. (2012). *Identificación y cuantificación de antraquinonas y cromonas en plantas de aloe vera cultivadas en municipios de Risaralda por cromatografía líquida de alta eficiencia*. Universidad Tecnológica de Pereira.
- Viveros, J. & Castaño, J. (Agosto de 2006). Evaluación in vitro de extractos vegetales sobre *Mycosphaerella fijiensis* morelet. *Agronomía*, 14(1), 37-50. Caldas.
- Walker, E., Mikelsen, R., Mikelsen, J. & Roth, B. (1999). Identification and characterization of bacterial antiadherence factor in cranberry. *American Association of Pharmacognosy*, 32(2), 113-121. Ohio.
- Wittenauer J., Falk, S., Schweiggert -Weisz, U. & Carle, R. (2011). Characterisation and quantification of xanthenes from the aril and pericarp of mangosteens (*Garcinia mangostana* L.) and a mangosteen containing functional beverage by HPLC–DAD–MSn. *Journal of Food Chemistry*, 134(1), 445-452. Doi: 10.1016 / j.foodchem.2012.02.094.
- Xango. (2015). Xango.com. Recuperado de <http://www.xango.com.co/science/mangosteen>
- Yaacob O. & Tindall, H. (1995). *El cultivo del mangostán*. Editado por la Organización para la Alimentación y la Agricultura.
- Yapuchura, R. (2010). Estudio de los componentes antioxidantes de las hojas de muña (*Minthostachys mollis* (kunth) griseb.) e inca muña (*Clinopodium bolivianum* (benth.) kuntze) Lima, Perú: Universidad Nacional Agraria la Molina, Escuela de Postgrado, Maestría en Tecnología de Alimentos. 84 p.
- Yodhnu S., Sirikatitham, A. & Wattanapiromsakul, C. (2009). Validation of LC for the determination of  $\alpha$ -mangostin in mangosteen peel extract: a tool for quality assessment of *Garcinia mangostana* l. *Journal of Chromatographic Science*, 47, 185-189.
- Youdim, K. & Joseph, J. (2001). A possible emerging role of phytochemicals in improving age-related neurological dysfunctions: a multiplicity of effects. *Free Radical Biol. Med.* 30, 583-594.
- Zamora, J. (2007). Antioxidantes: micronutrientes en lucha por la salud. *Revista Chilena de Nutrición*, 34(1).

**Experimentación para el Aprovechamiento  
Fitoquímico del Mangostino**

Publicación de la Fundación Universitaria  
Agraria de Colombia, UNIAGRARIA.  
Editado en la ciudad de Bogotá por  
Entrelibros e-book solutions  
Bogotá - 2018

El propósito fundamental de este libro es presentar información actual, a partir de datos experimentales de forma clara y minuciosa, destacando conceptos y características pertinentes del potencial agroindustrial del mangostino. Los temas abordados incluyen toda la teoría de los ingredientes naturales de dicho fruto, buscando ofrecer una mirada general y una explicación adecuada para agricultores y estudiantes enfocada en el análisis de *Garcinia mangostana* L.

Los temas epistemológicos que se fundamentan en este libro hacen alusión a los extractos vegetales con potencial agroindustrial, generalidades y clasificación de antioxidantes y al comportamiento de los microorganismos frente a la susceptibilidad in vitro. De igual forma, pero de manera precisa, se estudia el comportamiento de los microorganismos frente a la susceptibilidad in vitro, ocasionada por extractos de *Garcinia mangostana* L.

El paso a paso de los temas y su tratamiento es metódico, teniendo en cuenta la pertinencia y relación entre ellos, destacando conceptos básicos para asegurar la comprensión del texto y su aplicación.



Sede Principal: Calle 170 No. 54A-10  
Bogotá - Colombia  
PBX: 667 1515  
informes@uniagraria.edu.co