



UNIVERSIDAD REGIONAL AMAZÓNICA IKIAM

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA VIDA

CARRERA DE INGENIERÍA EN BIOTECNOLOGÍA

**ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y POTENCIAL INHIBITORIO DE LA
 α -AMILASA DE MORETE (*MAURITIA FLEXUOSA* L.F) Y
UNGURAHUA (*OENOCARPUS BATAUA* MART)**

Proyecto de investigación previo a la obtención del Título de:

INGENIERO EN BIOTECNOLOGÍA

AUTOR: ROBERTH VINICIO REYES SHIGUANGO

TUTORA: PhD. NOROSKA GABRIELA SALAZAR MOGOLLÓN

CO-TUTOR: PhD. PABLO ANDRÉS CISNEROS

Napo-Ecuador

2023

DECLARACIÓN DE DERECHO DE AUTOR, AUTENTICIDAD Y RESPONSABILIDAD

Yo, ROBERTH VINICIO REYES SHIGUANGO con documento de identidad 2100849682, declaro que los resultados obtenidos en la investigación que presento en este documento final, previo a la obtención del título Ingeniero en Biotecnología son absolutamente inéditos, originales, auténticos y personales.

En virtud de lo cual, el contenido, criterios, opiniones, resultados, análisis, interpretaciones, conclusiones, recomendaciones y todos los demás aspectos vertidos en el presente documento son de mi autoría y de mi absoluta responsabilidad.

Tena, 20 de septiembre de 2023



Roberth Vinicio Reyes Shiguango

2100849682

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONAL

Yo, ROBERTH VINICIO REYES SHIGUANGO con documento de identidad N° 2100849682, en calidad de autora titular de los derechos morales y patrimoniales del trabajo de titulación: ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y POTENCIAL INHIBITORIO DE LA α -AMILASA DE MORETE (*MAURITIA FLEXUOSA* L.F) Y UNGURAHUA (*OENOCARPUS BATAUA* MART), de conformidad con el Art. 114 del CÓDIGO ORGÁNICO DE LA ECONOMÍA SOCIAL DE LOS CONOCIMIENTOS, CREATIVIDAD E INNOVACIÓN, reconozco a favor de la Universidad Regional Amazónica Ikiam una licenciagratis, intransferible y no exclusiva para el uso no comercial de la obra, con fines estrictamente académicos.

Así mismo autorizo a la Universidad Regional Amazónica Ikiam para que realice la publicación de este trabajo de titulación en el Repositorio Institucional de conformidad a lo dispuesto en el Art. 144 de la Ley Orgánica de Educación superior.

Tena, 20 de septiembre de 2023



Roberth Vinicio Reyes Shiguango

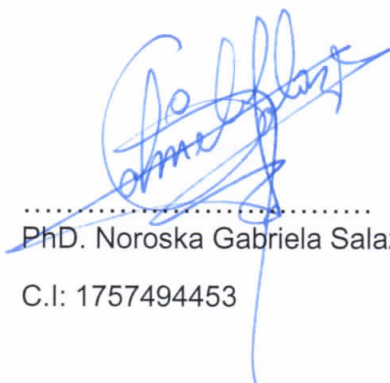
2100849682

CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR

Certifico que el trabajo de titulación: ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE Y POTENCIAL INHIBITORIO DE LA α -AMILASA DE MORETE (*MAURITIA FLEXUOSA* L.F) Y UNGURAHUA (*OENOCARPUS BATAUA* MART), en la modalidad de: Tesis, fue realizado por Roberth Vinicio Reyes Shiguango, bajo mi dirección.

El mismo ha sido revisado en su totalidad y analizado por la herramienta de verificación de similitud de contenido; por lo tanto, cumple con los requisitos teóricos, científicos, técnicos, metodológicos y legales establecidos por la Universidad Regional Amazónica Ikiam, para su entrega y defensa.

Tena, 20 de septiembre de 2023



.....
PhD. Noroska Gabriela Salazar Mogollón

C.I: 1757494453



Firmado electrónicamente por:

PABLO
ANDRES
CISNEROS
PEREZ

.....
PhD. Pablo Andrés Cisneros Pérez

C.I: 1003237177

AGRADECIMIENTO

Al Ministerio del Ambiente, Agua y Transición Ecológica por el contrato marco de acceso a los recursos genéticos del proyecto de investigación científica denominado: “Chacracéuticos de cultivo Amazónico a medicina proactiva”, con número de convenio MAAE-DBI-CM-2021-151.

A Roxana Llive y al “team nutracéutico” por el apoyo en el aprendizaje de los ensayos químicos cuantitativos y antioxidantes. A Nina Espinosa De Los Monteros y Carolina Ñacato que me han ayudado ante cualquier duda dentro de sus laboratorios a cargo.

A Jefferson Pastuña por el apoyo en los análisis de UPLC-MS/MS, así como también a Joel Medina que me ha guiado dentro del laboratorio de productos naturales donde permanecí todo el proceso de mi tesis.

A mi tutora Gabriela Salazar por el apoyo brindado en la culminación de este trabajo, y a mi cotutor Pablo Cisneros que ha estado pendiente durante todo el proceso de la elaboración de la tesis. Ambos han estado predispuestos ante cualquier duda que se me ha presentado.

DEDICATORIA

A mi padre que debe estar orgulloso de mi logro, aunque no esté aquí presente.

A mi madre querida que siempre me ha apoyado y ha estado al pendiente en todo momento.

A mis hermanos que siempre me han animado a seguir adelante.

A Karla que siempre ha estado conmigo apoyándome en ante cualquier situación.

A mis amigos, Daniel, Celia, Víctor y Edward, quienes han estado en el proceso de mi formación académica con los cuales hemos compartido muchas anécdotas, dentro y fuera de la universidad.

TABLA DE CONTENIDO

CARÁTULA

DECLARACIÓN DE DERECHO DE AUTOR, AUTENTICIDAD Y

RESPONSABILIDAD.....ii

AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO INSTITUCIONALiii

CERTIFICADO DE DIRECCIÓN DE TRABAJO DE INTEGRACIÓN CURRICULAR...iv

AGRADECIMIENTOv

DEDICATORIAvi

TABLA DE CONTENIDO.....vii

ÍNDICE DE TABLAS.....ix

ÍNDICE DE FIGURASx

ÍNDICE DE ANEXOSxi

RESUMENxii

ABSTRACTxiii

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN1

1.1 Antecedentes.....1

1.2 Planteamiento del problema.....3

1.3 Justificación de la investigación4

1.4 Objetivos de la investigación5

1.4.1 *Objetivo general*.....5

1.4.2 *Objetivos específicos*5

CAPÍTULO II: MARCO METODOLÓGICO6

2.1 Recolección de frutas6

2.2 Preparación de extractos etanólicos6

2.3 Análisis fitoquímico6

2.3.1 *Cuantificación del contenido total de polifenoles*6

2.3.2 *Cuantificación del contenido total de flavonoides*7

2.4 Actividad antioxidante7

2.4.1 *Ensayo de eliminación de radicales DPPH*.....7

2.4.2 *Ensayo de decoloración de cationes radicales ABTS*.....8

2.4.3 Ensayo de poder antioxidante reductor férrico (FRAP)	9
2.5 Actividad enzimática	10
2.5.1 Actividad inhibitoria de la enzima α -amilasa.....	10
2.6 Identificación de los principales compuestos fenólicos y flavonoides por Cromatografía Líquida de Ultra Eficiencia acoplada a Espectrometría de Masas en Tándem (UPLC-MS/MS)	11
2.6.1 Preparación de estándares y muestras	11
2.6.2 Acondicionamiento del UPLC-MS/MS.....	11
2.6.3 Tratamiento de datos	11
2.7 Análisis estadístico	12
CAPÍTULO III: PRESENTACIÓN DE DATOS Y RESULTADOS	12
3.1 Resultados de los ensayos fitoquímicos.....	12
3.2 Resultados de los ensayos antioxidantes	14
3.3 Resultados del ensayo enzimático.....	17
3.4 Resultados de la identificación de metabolitos	17
CAPÍTULO IV: INTERPRETACIÓN Y DISCUSIÓN	19
4.1 Análisis fitoquímico	19
4.2 Actividad antioxidante	21
4.3 Actividad enzimática	25
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	26
5.1 Conclusiones.....	26
5.2 Recomendaciones.....	27
REFERENCIAS.....	...
ANEXOS.....	...

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Rendimiento de extracción de los extractos etanólicos de <i>M. flexuosa</i> L. f y <i>O. bataua</i> Mart.	12
Tabla 2. Contenido de flavonoides y fenoles totales presentes en extractos etanólicos de la cáscara, pulpa y semilla de <i>M. flexuosa</i> L. f y <i>O. bataua</i> Mart.	13
Tabla 3. Parámetros analíticos de calidad de los métodos utilizados en la cuantificación de metabolitos de interés mediante espectrofotometría UV-VIS.	14
Tabla 4. Actividad antioxidante de los extractos etanólicos de la cáscara, pulpa y semilla de <i>M. flexuosa</i> L. f y <i>O. bataua</i> Mart.	16
Tabla 5. Coeficientes de correlación de Pearson entre las mediciones de capacidad antioxidante según DDPPH, FRAP y ABTS, CTP, CTF y la inhibición de la α -amilasa.	16
Tabla 6. Caracterización de los metabolitos presentes en extractos de <i>O. bataua</i> Mart y <i>M. flexuosa</i> L. f.	18
Tabla 7. Metabolitos secundarios presentes en <i>M. flexuosa</i> L. f reportados en estudios previos.	24
Tabla 8. Metabolitos secundarios presentes en <i>O. bataua</i> Mart reportados en estudios previos.	25

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Inhibición de cationes radicales ABTS. Los resultados están expresados en $IC_{50} \pm \sigma$ ($\mu\text{g/mL}$).	14
Figura 2. Inhibición de radicales DPPH. Los resultados están expresados en $IC_{50} \pm \sigma$ ($\mu\text{g/mL}$).	15
Figura 3. Inhibición de la enzima α -amilasa. Los resultados están expresados en $IC_{50} \pm \sigma$ ($\mu\text{g/mL}$).	17
Figura 4. Abundancia relativa de los metabolitos presentes en la cáscara, pulpa y semilla del fruto de <i>M. flexuosa</i> L. f.	18
Figura 5. Abundancia relativa de los metabolitos presentes en la semilla del fruto de <i>O. bataua</i> Mart.	19

ÍNDICE DE ANEXOS

- Anexo 1.** Curva de calibración de quercetina para la cuantificación del contenido total de flavonoides presentes en los extractos etanólicos de las muestras de *M. flexuosa* L. f y *O. bataua* Mart.
- Anexo 2.** Curva de calibración de ácido gálico para la cuantificación del contenido total de polifenoles presentes en los extractos etanólicos de las muestras de *M. flexuosa* L. f y *O. bataua* Mart.
- Anexo 3.** Correlación de Pearson entre los ensayos fitoquímicos, antioxidantes y enzimático.
- Anexo 4.** Cromatogramas de Iones Totales (TIC) de la cáscara, pulpa y semilla de *M. flexuosa* L. f y *O. bataua* Mart obtenidos en UPLC-MS/MS.

RESUMEN

Este estudio evaluó la actividad antioxidante, el potencial inhibitorio sobre la α -amilasa y la composición química de la cáscara, la pulpa y la semilla de frutos nativos de la región amazónica, tales como: el morete (*Mauritia flexuosa* L. f) y el ungurahua (*Oenocarpus bataua* Mart). Para evaluar la inhibición enzimática, se utilizó la α -amilasa de páncreas porcino y los resultados se reportaron en valores de IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$). La actividad antioxidante se midió a través de ensayos de eliminación del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), poder de reducción antioxidante del ion férrico (FRAP) y el método de decoloración ABTS (sal de diamonio 2,2'-azino-bis(3-etilbenztiazolina-6-ácido sulfónico), estos resultados se reportaron como capacidad la antioxidante equivalente al trolox (TEAC) e IC_{50} . El contenido total de flavonoides y de compuestos fenólicos, se cuantificó por espectrofotometría. Los resultados mostraron que los extractos de la cáscara de morete, semilla y pulpa de ungurahua tuvieron el mayor contenido total de compuestos fenólicos (2381.0 ± 24.2 , 2250.8 ± 6.2 y 967.4 ± 0.6 mg EAG/100 g DW, respectivamente); estos resultados fueron consistentes en los ensayos antioxidantes e inhibición enzimática. Mientras que los extractos de la cáscara de morete, cáscara y semilla de ungurahua tuvieron el mayor contenido total de flavonoides (16.1 ± 0.4 , 6.9 ± 0.2 y 5.35 ± 0.04 mg EQ/100 g DW, respectivamente). Además, se identificaron metabolitos secundarios a través de Cromatografía Líquida de Ultra Eficiencia acoplada a Espectrometría de Masas en Tándem (UPLC-MS/MS), revelándose la presencia de quercetina, rutina, (-)-epicatequina. (+)-catequina y ácido neoclorogénico.

Palabras claves: *Oenocarpus bataua* Mart, *Mauritia flexuosa* L. f, inhibición enzimática, actividad antioxidante, nutraceuticos.

ABSTRACT

This study evaluated the antioxidant activity, inhibitory potential on α -amylase and chemical composition of peel, pulp and seed of native fruits from the Amazon region, such as morete (*Mauritia flexuosa* L. f) and ungurahua (*Oenocarpus bataua* Mart). Porcine pancreatic α -amylase was used for enzymatic inhibition and the results were reported in IC_{50} values ($\mu\text{g/mL}$). Antioxidant activity was measured by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl free radical scavenging assays (DPPH), ferric ion antioxidant reducing power (FRAP) assay and ABTS (diammonium salt 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulfonic acid) discoloration method, these results were reported as trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) and IC_{50} . The total phenolic compounds and flavonoids content were quantified via spectrophotometry. The results showed that the morete peel, the ungurahua seed and pulp extracts had the highest total phenolic compounds content (2381.0 ± 24.2 , 2250.8 ± 6.2 and 967.4 ± 0.6 mg EAG/100 g DW, respectively). These results were consistent with antioxidant and enzyme inhibition assays. While the morete peel, the ungurahua peel and seed extracts had the highest total flavonoid content (16.1 ± 0.4 , 6.9 ± 0.2 and 5.35 ± 0.04 mg EQ/100 g DW, respectively). In addition, several secondary metabolites were identified through Ultra Performance Liquid Chromatography coupled to Tandem Mass Spectrometry (UPLC-MS/MS), including quercetin, rutin, (-)-epicatechin, (+)-catechin and neochlorogenic acid was revealed.

Keywords: *Oenocarpus bataua* Mart, *Mauritia flexuosa* L. f, antioxidant activity, enzymatic inhibition, nutraceuticals.

CAPÍTULO I: PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA DE INVESTIGACIÓN

1.1 Antecedentes

Ecuador es un país ubicado en una zona tropical de Sudamérica, y cuenta con un área de 283 791 Km² donde se puede encontrar una gran biodiversidad por unidad de área. La diversidad vegetal de Ecuador es el resultado de la combinación de factores como: el clima, topografía y orografía, los cuales hacen posible encontrar aproximadamente 17 000 especies botánicas [1]. La Amazonía ecuatoriana es la región con mayor diversidad biológica y diversidad cultural humana [2]. Los pobladores nativos de esta región poseen saberes ancestrales como el uso de especies vegetales para el tratamiento de enfermedades [3]. Por otro lado, existen frutos con mucho potencial nutricional que se cultivan en las fincas amazónicas, no solo como productos de autoconsumo sino también para su comercialización [4]. Por ejemplo, las palmas poseen una multiplicidad de usos, por lo que se consideran como referentes culturales de la población ecuatoriana [5].

En Ecuador se han registrado 136 de especies de palmas, de las cuáles al menos 105 especies brindan beneficios tales como: alimento, material de construcción y subsistencia económica. La Amazonía tiene 73 especies de palmas, dentro de este grupo se encuentran *Mauritia flexuosa* L. f y *Oenocarpus bataua* Mart [5]. *Mauritia flexuosa* L. f, frecuentemente conocida como morete, moriche [6], buriti [7] y aguaje [8], es una palma neotropical perteneciente a la familia *Arecaceae*. Estas se distribuyen comúnmente en zonas cercanas a ríos y pantanos a través de la cuenca amazónica, en territorios como Brasil, Perú, Colombia, Trinidad y Tobago, Panamá, las Guyanas, Venezuela, Bolivia y Ecuador [9]. Estudios sobre *M. flexuosa* L. f muestran que la cáscara, pulpa y el endocarpio contienen fenoles, flavonoides [10][11][12] y poseen actividad antimicrobiana y antioxidante [13]. Adicionalmente, se ha reportado la presencia de compuestos bioactivos como carotenoides, tocoferoles, ácido ascórbico, fitoesteroles y ácidos grasos mono y poliinsaturados [14][15]. Debido a las propiedades nutraceuticas que poseen los frutos de morete se pueden crear varios productos, como aceites a base de la cáscara y pulpa, harinas de la pulpa y formulaciones para potenciar estas propiedades [16][17].

Oenocarpus bataua Mart, frecuentemente conocida como unguahua, shiwa [18] y patawa, es una palma perteneciente a la familia *Arecaceae*. Estas palmas crecen en zonas húmedas y en suelos arenosos, distribuyéndose en territorios como Perú, Guayana francesa, Bolivia, Brasil, Colombia, Venezuela y Ecuador [19]. La pulpa de esta fruta se utiliza como alimento, cosmética y medicina [20], debido a su alto contenido de vitamina A, vitamina E, ácidos grasos, flavonoides, antocianinas, taninos condensados, estilbenos y ácidos fenólicos [12][19][21][22].

Como se mencionó anteriormente, estos alimentos se conocen principalmente por su composición de ácidos fenólicos y flavonoides [13], los cuales se caracterizan por poseer actividad antioxidante e inhibitoria de enzimas. Por lo que, es importante incluir este tipo de alimentos en la dieta alimenticia para llevar una vida saludable, ya que son capaces de neutralizar a los radicales libres. Existen varios productos vegetales, como los arándanos [23], que presentan una excelente actividad antioxidante, la cual se refiere a la capacidad de cierta sustancia para inhibir la degradación oxidativa [24] y proteger al cuerpo humano de radicales libres, los cuales son moléculas reactivas que se producen en los seres vivos derivados de los procesos fisiológicos, y también pueden ser de origen exógeno [25][26]. Los radicales libres más importantes son las especies reactivas de oxígeno (ROS) y las especies reactivas de nitrógeno (RNS) [26][27], las cuales pueden inducir daños oxidativos a moléculas biológicas como lípidos, proteínas y ácidos nucleicos. En consecuencia, estos daños conllevan a condiciones fisiopatológicas como la hipertensión, enfermedades carcinogénicas y neurológicas, aterosclerosis y diabetes [26][27][28][29][30]. Existen agentes protectores para contrarrestar los daños oxidativos que provocan los radicales libres, como la vitamina E y C, el beta-caroteno, polifenoles y los flavonoides, presentes en los alimentos, los cuales son excelentes agentes antioxidantes [31].

La acción de los antioxidantes sobre los sistemas biológicos supone varios mecanismos de acción como la quelación de iones metálicos, donación de electrones, la regulación génica y la producción de coantioxidantes [32]. La evaluación de la actividad antioxidante se lleva a cabo mediante métodos basados en la transferencia de átomos de hidrogeno (HAT), poder reductor, quelación de metales y transferencia de electrones (ET). Dentro de este último grupo, se encuentran métodos como la captación del radical libre 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo (DPPH), poder de reducción antioxidante del ion férrico (FRAP) y el ensayo de decoloración ABTS (sal de diamonio 2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfónico) [33].

Además de la capacidad antioxidante que pueden presentar ciertos metabolitos secundarios, estos también pueden presentar una capacidad inhibidora de enzimas [34] [35] [36][37], la cual se refiere a la disminución de la actividad enzimática. La inhibición de enzimas α -amilasas, que hidroliza al almidón [38][39], ayuda a reducir la hiperglucemia postprandial. Por lo tanto, se puede establecer una vía de control en el desarrollo de la diabetes mellitus [40]. Los compuestos bioactivos como la miricetina y la quercetina son conocidos por exhibir una capacidad inhibitoria contra α -amilasas, los cuales se asocian a través de enlaces de hidrógeno e hidrofóbicos [41]. Por ello, estos compuestos son mejores frente a inhibidores comerciales, como la acarbosa el cual es un inhibidor competitivo utilizado como fármaco para controlar el nivel alto de glucosa en la sangre de personas con diabetes tipo II [42][43]. En este sentido, la presencia de compuestos bioactivos en los frutos de *M. flexuosa* L. f y *O. bataua* Mart hacen posible que se les considere como alimentos funcionales que poseen propiedades antioxidantes e inhibitorias de las enzimas α -amilasas. Por esta razón, estos frutos se podrían considerar como una alternativa interesante para la inhibición enzimática, actuando de manera similar a la acarbosa [15] [42][44].

1.2 Planteamiento del problema

Muchas de las enfermedades mencionadas anteriormente tienen una causa en común, la cual es el estrés oxidativo (EOx), que se define como el desequilibrio entre la producción de oxidantes y las defensas antioxidantes, por lo que generan daños en los sistemas biológicos [45][46]. Por ejemplo, alteración de sistemas enzimáticos, la peroxidación de lípidos, el deterioro del metabolismo del glutatión y la disminución de los niveles de vitamina C [47]. En este proceso se producen especies reactivas, las cuales contribuyen a una patología o son la principal causa de la misma. La diabetes de tipo 2 originada por factores genéticos, alimenticios e insuficiencia de insulina, es un ejemplo de una enfermedad causada por EOx [48][49][50][29]. Por ello, para reducir los efectos del estrés oxidativo, es recomendable la incorporación de alimentos funcionales o derivados de los mismos con potencial terapéutico para aumentar la defensa antioxidante [46].

De esta manera, los compuestos bioactivos como los polifenoles y flavonoides, pueden ser una alternativa paliativa frente al EOx [51][52]. Estos metabolitos están presentes en los frutos de *M. flexuosa* L. f. y *O. bataua* Mart, por lo que es importante estudiarlos, debido a su alto contenido nutricional. Además, estas palmas forman parte de las 71

especies de plantas con uso alimenticio en las chakras de la provincia de Napo [53][54]. Por ello, determinar el potencial antioxidante e inhibitorio sobre enzimas α -amilasas de estos frutos ayudaría a considerarlos como alimentos funcionales que permitan reducir el EOX y la absorción de glucosa a través de la inhibición enzimática [55]. Estos frutos pueden ser fuentes de antioxidantes e inhibidores naturales con potencial nutracéutico, por lo que se puede establecer una estrategia innovadora para el control de la hiperglucemia postprandial y otras enfermedades asociadas [50]. Un estudio en este campo sería importante, ya que hasta el momento no existen investigaciones que evalúen la actividad inhibitoria de enzimas α -amilasas utilizando los frutos de *M. flexuosa* L. f. y *O. bataua* Mart.

1.3 Justificación de la investigación

El termino nutracéutico (“alimento funcional”) fue acuñado por primera vez en 1989 por Stephen De Felice, y se define como un alimento o una parte de este que puede brindar beneficios médicos para la prevención o el tratamiento de una enfermedad [56]. Los nutracéuticos pueden ser nutrientes aislados, productos a base de hierbas, suplementos dietéticos, productos modificados genéticamente y productos procesados [56]. Los nutracéuticos son alternativas para la medicina moderna, los cuales se clasifican en función de las fuentes de alimentos (animales, plantas, microbios), el mecanismo de acción (productos con actividad antioxidante, antibacteriano, antihipertensivo, antiinflamatorio, anticancerígeno y antiagregado) y de la naturaleza química (carbohidratos y sus derivados, ácidos grasos, microorganismos, proteínas, compuestos fenólicos, derivados isoprenoides y minerales). Las fuentes de alimentos utilizadas como nutracéuticos son todas naturales y se pueden clasificar en fibras dietéticas, probióticos y prebióticos, ácidos grasos poliinsaturados, vitaminas antioxidantes, polifenoles y minerales [56].

Por ello la importancia de estudiar los frutos de *M. flexuosa* L. f. y *O. bataua* Mart, a través de ensayos antioxidantes y enzimáticos, para caracterizar cada parte del fruto y establecer cuáles de ellas poseen un potencial nutricional. De esta manera, se puede aumentar su valor agregado u obtener nuevos productos derivados de las mismas con propiedades nutricionales para tratar o prevenir enfermedades relacionadas al estrés oxidativo.

1.4 Objetivos de la investigación

1.4.1 Objetivo general

Evaluar la actividad antioxidante y potencial inhibitorio de la α -amilasa, así como la composición fitoquímica del morete y ungurahua.

1.4.2 Objetivos específicos

- Determinar la actividad antioxidante de los extractos etanólicos de la cáscara, pulpa y semilla de morete y ungurahua a través de ensayos como DPPH, ABTS y FRAP.
- Correlacionar el contenido de fenoles totales y flavonoides totales con la actividad antioxidante y la inhibición enzimática.
- Determinar el potencial inhibitorio de morete y ungurahua sobre la enzima α -amilasa.
- Identificar las principales moléculas presentes en los extractos de los frutos de interés a través de Cromatografía Líquida de Ultra Eficiencia acoplada a Espectrometría de Masas en Tándem (UPLC-MS/MS).

CAPÍTULO II: MARCO METODOLÓGICO

2.1 Recolección de frutas

Las muestras vegetales fueron recolectadas bajo el contrato marco de acceso a recursos genéticos MAAE-DBI-CM-2021-151. Las frutas fueron recolectadas en la parroquia de Puerto Napo, provincia de Napo (1°02'19.2"S 77°45'41.8"W), las cuales se llevaron hasta el laboratorio de Productos Naturales de la Universidad Regional Amazónica Ikiam. De cada fruto se obtuvieron muestras de pulpa, cáscara y semilla, las cuales fueron almacenadas a -80 °C. Posteriormente, las muestras fueron liofilizadas (Liofilizador BenchTop pro with Omnitronics), trituradas y almacenadas en refrigeración a -18 °C.

2.2 Preparación de extractos etanólicos

Se pesaron las muestras liofilizadas de morete: cáscara (14 g, CM), pulpa (14 g, PM) y semilla (19 g, SM); y de ungurahua: cáscara (20 g, UC), pulpa (19 g, UP) y semilla (25 g, US); y se sometieron a extracción en solución etanol-agua (70:30) en una relación 1:10 (m:v). Estas muestras se maceraron por 24 horas bajo oscuridad, con 20 minutos de ultrasonido a 50°C [57]. Posteriormente, los extractos fueron filtrados por gravedad con papel filtro. Finalmente, los extractos etanólicos fueron concentrados con un rotavapor (Buchi R-300) a una temperatura de 45 °C, y se almacenaron en viales a 3 °C hasta su uso en los ensayos. El rendimiento de extracción se calculó a través de la siguiente ecuación [58]:

$$\text{Rendimiento de extracción (\%)} = \frac{\text{masa de extracto concentrado}}{\text{masa de muestra liofilizado}} * 100 \quad (1)$$

2.3 Análisis fitoquímico

2.3.1 Cuantificación del contenido total de polifenoles

El contenido total de polifenoles (CTP) se determinó con el método colorimétrico de Folin-Ciocalteu con algunas modificaciones [59][60]. Para la curva de calibración, se prepararon 5 niveles de concentración de ácido gálico (27 µg/mL, 54 µg/mL, 107 µg/mL,

215 µg/mL y 429 µg/mL) y un control positivo con una concentración de 268 µg/mL. Las concentraciones de las muestras (disueltas en etanol-agua destilada en proporción 1:1) fueron las siguientes: CM (879 µg/mL), PM (2 560 µg/mL), SM (2 540 µg/mL), UC (2 530 µg/mL), UP (1 000 µg/mL) y US (1 000 µg/mL). En tubos de ensayo, se mezclaron 100 µL de la muestra con 40 µL de reactivo de Folin-Ciocalteu, seguido de 860 µL de agua destilada y se dejó en reposo durante 5 minutos. Después, se agregaron 100 µL de la solución carbonato de sodio (7%), seguido de 900 µL de agua destilada y se dejó reposar en la oscuridad durante 1 hora. Finalmente, se midió la absorbancia a una longitud de onda de 750 nm en un espectrofotómetro UV-VIS (SHIMADZU UV-1280). El contenido de polifenoles totales se expresó en mg equivalente de ácido gálico (EAG) por 100 g de muestra seca (DW).

2.3.2 Cuantificación del contenido total de flavonoides

El contenido total de flavonoides (CTF) se determinó con el método colorimétrico clásico con algunas modificaciones [61]. Para la curva de calibración, se prepararon 6 niveles de concentración de quercetina (1.8 µg/mL, 2.8 µg/mL, 4.1 µg/mL, 7.0 µg/mL, 9.4 µg/mL, 11.7 µg/mL) y un control positivo con una concentración de 5.9 µg/mL. Las concentraciones de las muestras (disueltas en etanol-agua destilada en proporción 1:1) fueron las siguientes: CM (2 160 µg/mL), PM (2 440 µg/mL), SM (2 280 µg/mL), UC (1 392 µg/mL), UP (2 250 µg/mL) y US (2 060 µg/mL). En tubos de ensayo, se mezclaron 1 mL de la muestra con 1 mL de la solución de tricloruro de aluminio (2%) y se dejó en reposo bajo oscuridad durante 10 minutos. Las soluciones blanco se prepararon mezclando 1 mL de cada muestra y 1 mL de etanol al 96%. Finalmente, se midió la absorbancia de las muestras a una longitud de onda de 429 nm en un espectrofotómetro UV-VIS. El contenido de flavonoides totales se expresó en mg equivalente de quercetina (EQ) por 100 g de muestra seca (DW).

2.4 Actividad antioxidante

2.4.1 Ensayo de eliminación de radicales DPPH

La eliminación de radicales DPPH se determinó mediante un ensayo modificado [62][63], donde se utiliza como estándar al ácido 6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-carboxílico (trolox). Con la solución trolox (disuelto en agua destilada) se prepararon 6 niveles de concentración (10 µM, 50 µM, 80 µM, 100 µM, 200 µM y 400 µM). Para la

determinación del valor de IC₅₀ de las muestras (disueltas en etanol-agua destilada en proporción 1:1), se realizaron barridos de las mismas a 100 µg/mL para establecer curvas dosis-respuesta con 6 niveles de concentración (µg/mL). Para medir la absorbancia de la muestra (A), se mezclaron 100 µL de la muestra, 100 µL de etanol al 96% y 50 µL de una solución de 2,2-difenil-1-picrilhidrazilo 0.022% (DPPH). Para medir la absorbancia de la muestra sin solución DPPH (A'), se mezclaron 100 µL de la muestra con 150 µL de etanol. Para medir la absorbancia de la solución DPPH (A°), se mezclaron 200 µL de etanol con 50 µL de la solución DPPH. Este ensayo se llevó a cabo en placas multipocillos transparentes de 96 pocillos, las cuales se incubaron durante 30 minutos bajo oscuridad en un agitador orbital (Orbit™ LS Low Speed Laboratory Shaker de Labnet) a 60 rpm. Finalmente, las absorbancias se midieron en un espectrofotómetro para microplacas (Glomax Discover de Promega) a 490 nm. La actividad antioxidante se expresó como porcentaje de inhibición (% PI), IC₅₀ (µg/mL) y como capacidad antioxidante equivalente al trolox (TEAC) [64]. Para ello se utilizaron las siguientes ecuaciones:

$$\%PI = \left(1 - \left(\frac{A-A'}{A^{\circ}} \right) \right) * 100 \quad (2)$$

Los valores de IC₅₀ se determinaron en el programa GraphPad Prism 9:

$$Y = \frac{100}{(1 + 10^{((\text{LogIC}_{50} - X) * \text{HillSlope}))}} \quad (3)$$

$$\text{TEAC} = \frac{\text{IC}_{50} \text{ del trolox} \left(\frac{\mu\text{mol}}{\text{mL}} \right)}{\text{IC}_{50} \text{ de la muestra} \left(\frac{\text{g}}{\text{mL}} \right)} \quad (4)$$

2.4.2 Ensayo de decoloración de cationes radicales ABTS

Para la decoloración del catión radical ABTS [65] se tomó como estándar al trolox (disuelto en etanol al 96%), con el cual se preparó una curva con 6 niveles de concentración (10 µM, 27 µM, 53 µM, 107 µM, 213 µM y 320 µM). Para la determinación del valor de IC₅₀ de las muestras (disueltas en etanol-agua destilada en proporción 1:1), se realizaron barridos de las mismas a 100 µg/mL para establecer curvas dosis-respuesta con 6 niveles de concentración (µg/mL). La solución del radical ABTS se

formó luego de mezclar una solución de la sal de diamonio 2,2'-azino-bis (3-etilbenztiazolina-6-ácido sulfónico) 7.07 mM con una solución de persulfato de amonio 2.45 mM y se dejó en incubación de 12-16 horas a temperatura ambiente. Posteriormente, se diluyó la solución con etanol al 96% hasta obtener una absorbancia de 0.70 a 751.5 nm. Para medir la absorbancia de la muestra (A), se mezclaron 150 μ L de la muestra y 2 850 μ L de la solución ABTS en un tubo de ensayo. Para medir la absorbancia de la muestra sin solución ABTS (A'), se mezclaron 150 μ L de la muestra y 2 850 μ L de una solución agua-etanol (1:2). Para medir la absorbancia de la solución ABTS (A°), se mezclaron 150 μ L de una solución agua-etanol y 2 850 μ L de la solución ABTS. La actividad antioxidante se expresó como porcentaje de inhibición (% PI), IC₅₀ (μ g/mL) y como capacidad antioxidante equivalente al trolox (TEAC). Para ello se utilizaron las ecuaciones 2, 3 y 4, respectivamente.

2.4.3 Ensayo de poder antioxidante reductor férrico (FRAP)

Para la reducción férrica [66] se tomó como estándar al sulfato ferroso heptahidratado ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, disuelta en agua destilada), con el cual se prepararon 6 niveles de concentración para la curva de calibración (0.09 mM, 0.20 mM, 0.39 mM, 0.59 mM, 0.78 mM y 0.98 mM). Las muestras se prepararon con una solución buffer de acetato de sodio (20mM, pH 3.6, con ácido acético glacial), y las concentraciones de las muestras fueron las siguientes: CM (50 μ g/mL), PM (307 μ g/mL), SM (305 μ g/mL), UC (304 μ g/mL), UP (53 μ g/mL) y US (50 μ g/mL). Para preparar la solución FRAP, se mezcló el buffer de acetato de sodio, una solución 2,4,6-tri (2-piridil)- s-triazina (TPTZ) (10 mM, disuelta en HCl 40 mM) y una solución de cloruro férrico hexahidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 20 mM, disuelta en agua destilada) en una proporción 10:1:1 (v:v:v) respectivamente. Para medir la absorbancia de la solución FRAP, en una placa multipocillos transparentes de 96 pocillos se colocaron 300 μ L de la solución FRAP y 40 μ L de agua destilada. Para medir la absorbancia de la muestra, se mezclaron 300 μ L de la solución FRAP, 30 μ L de agua destilada y 10 μ L de muestra. Luego, se dejó incubación en la oscuridad a 37 °C durante 4 minutos. Finalmente, se midieron las absorbancias en un espectrofotómetro para microplacas (Glomax Discover de Promega) a 600 nm. La actividad antioxidante se expresó como μ mol equivalentes de Fe^{2+} por g de muestra seca (DW).

2.5 Actividad enzimática

2.5.1 Actividad inhibitoria de la enzima α -amilasa

Para el ensayo de inhibición de la enzima α -amilasa se utilizó una solución de la enzima α -amilasa de páncreas porcino [63][67]. La acarbosa fue utilizada como estándar, con el cual se prepararon 6 niveles de concentración (1.6 $\mu\text{g/mL}$, 24 $\mu\text{g/mL}$, 49 $\mu\text{g/mL}$, 98 $\mu\text{g/mL}$, 294 $\mu\text{g/mL}$ y 490 $\mu\text{g/mL}$). Para la determinación del valor de IC_{50} de las muestras, se realizaron barridos de las mismas a 100 $\mu\text{g/mL}$ para establecer curvas dosis-respuesta con 6 niveles de concentración ($\mu\text{g/mL}$). En tubos de ensayo, se mezclaron 200 μL de muestra con 200 μL de una solución de la enzima α -amilasa (2U/mL) que fue disuelta en un buffer fosfato salino ($\text{Na}_2\text{HPO}_4/\text{KH}_2\text{PO}_4$ (0.02 M), con NaCl 0.006 M y pH 6.9), esta mezcla se dejó incubar durante 10 minutos a temperatura ambiente. Luego, se añadieron 200 μL de una solución de almidón 1% (w/v) en agua destilada y se dejó incubar durante 5 minutos a temperatura ambiente. La reacción se detuvo añadiendo 200 μL de ácido dinitrosalicílico (1 % 3,5-ácido dinitrosalicílico, 30% tartrato de sodio y potasio tetrahidratado, 10 mL NaOH 2N en solución acuosa). Los tubos se colocaron en un baño maría a 90 °C durante 10 minutos y se enfriaron a temperatura ambiente. Posteriormente, se añadieron 5 mL de agua destilada y se midieron las absorbancias a 540 nm utilizando un espectrofotómetro UV-VIS (SHIMADZU UV-3600 Plus). Los resultados se expresaron como IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) y porcentaje de inhibición de α -amilasa (% αPI), para lo cual se utilizó la siguiente ecuación:

$$\% \alpha\text{PI} = \left(\frac{\text{B1}-\text{B2}}{\text{B1}} \right) * 100 \quad (5)$$

B1: Abs control – Blanco reactivo

- ✓ Abs control: buffer fosfato salino (PBS) + enzima + almidón + ácido dinitrosalicílico (DNS) + agua destilada.
- ✓ Blanco reactivo: PBS + almidón + DNS + agua destilada.

B2: Abs muestra – Blanco

- ✓ Abs muestra: muestra + enzima + almidón + ácido dinitrosalicílico (DNS) + agua destilada.

- ✓ Blanco: muestra +PBS + almidón + ácido dinitrosalicílico (DNS) + agua destilada.

2.6 Identificación de los principales compuestos fenólicos y flavonoides por Cromatografía Líquida de Ultra Eficiencia acoplada a Espectrometría de Masas en Tándem (UPLC-MS/MS)

2.6.1 Preparación de estándares y muestras

Se prepararon soluciones madre de ácido gálico, catequina, quercetina, epicatequina, rutina, trans-cinamaldehído, ácido 2-tiobarbitúrico, isorhamnetina, Kaempferol, eugenol, ácido neoclorogénico y ácido málico a una concentración de 100 000 ng/mL. Después, se prepararon 20 mL de solución estándar de polifenoles (mezcla de los 12 estándares) a 500 ng/mL. Esta solución estándar de polifenoles se testeó igual que las muestras, las cuales se prepararon disolviendo 5 mg de los extractos en 1 mL de agua-etanol [1:1]. Finalmente, fueron centrifugados a 10 000 rpm durante 3 minutos.

2.6.2 Acondicionamiento del UPLC-MS/MS

La fase móvil consistió en ácido fórmico al 0.1% en agua como disolvente A y ácido fórmico al 0.1% en acetonitrilo como disolvente B. El perfil de gradiente fue de 1% B (0 min), 1% B (0.5 min), 100% B (8 min), 100% B (9 min), 1% B (9.01 min) y 1% B (10 min), a un caudal de 0.5 mL/min. El volumen de inyección fue de 10 µL. La ionización por electro pulverización (ESI) se realizó en modo negativo para análisis de masas. Las condiciones de identificación usadas fueron: voltaje de AT 3,5 kV; capilar 7 µA; voltaje de la boquilla 500 V; delta EMV 300 V; flujo de gas 5 ml/min; temperatura del gas 350 °C; presión del nebulizador 45 psi; temperatura del gas envolvente 350 °C; flujo de gas envolvente 11 ml/min; rango de escaneo 100–1200 m/z unidades.

2.6.3 Tratamiento de datos

En este estudio se realizó una identificación de nivel 1 en mzMine, en la cual se verificó el ion molecular, la distribución isotópica y el tiempo de retención (RT) de los 12 estándares con las muestras. Finalmente, se graficó la abundancia relativa con base en la intensidad de los picos cromatográficos de los metabolitos presentes en las muestras analizadas.

2.7 Análisis estadístico

Para el tratamiento de los datos se utilizó Microsoft Excel 2016 y GraphPad Prism 9. Todos los ensayos se realizaron por triplicado y los datos se expresaron en promedio $\pm$ desviación estándar ($\bar{X} \pm \sigma$). Para los ensayos por espectrofotometría se determinaron: el límite de detección (LD), límite de cuantificación (LQ) y porcentaje de recuperación (%R) como parámetros analíticos de calidad para la validación de los métodos.

CAPÍTULO III: PRESENTACIÓN DE DATOS Y RESULTADOS

3.1 Resultados de los ensayos fitoquímicos

En la obtención de los extractos etanólicos de la cáscara, pulpa y semilla de *M. flexuosa* L. f se obtuvieron los rendimientos de las extracciones de 13.0 %, 6.1 %, 4.2 %, respectivamente (**Tabla 1**). Por otro lado, los rendimientos de extracción de la cáscara, pulpa y semilla de *O. bataua* Mart fueron 3.7 %, 5.8 %, 6.3 %, respectivamente. Con estos extractos etanólicos se realizaron: la determinación del contenido total de polifenoles y flavonoides, la actividad antioxidante y la inhibición enzimática.

Tabla 1. Rendimiento de extracción de los extractos etanólicos de *M. flexuosa* L. f y *O. bataua* Mart.

Especie	Muestra	Rendimiento (%)
<i>Mauritia flexuosa</i> L. f	Cáscara	13.0
	Pulpa	6.1
	Semilla	4.2
<i>Oenocarpus bataua</i> Mart	Cáscara	3.7
	Pulpa	5.8
	Semilla	6.3

Realizado por: Reyes, Roberth, 2023.

En la cáscara de *M. flexuosa* L. f se determinó la mayor cantidad de flavonoides totales con 16.1 ± 0.4 mg EQ/100 g DW, seguido de la cáscara de *O. bataua* Mart con 6.9 ± 0.2 mg EQ/100 g DW, semilla de *O. bataua* Mart con 5.35 ± 0.04 mg EQ/100 g DW, pulpa de *M. flexuosa* L. f con 5.1 ± 0.2 mg EQ/100 g DW, pulpa de *O. bataua* Mart con 4.42 ± 0.02 mg EQ/100 g DW y semilla de *M. flexuosa* L. f con 4.02 ± 0.19 mg EQ/100 g DW

(**Tabla 2**). Estos resultados fueron obtenidos mediante la curva de calibración de quercetina, donde la ecuación de la recta fue $Y = 0.0401X - 0.0088$ y el $R^2 = 0.9957$ (**Anexo 1**). El límite de detección del método fue de $0.267 \mu\text{g/mL}$, el límite de cuantificación del método fue $0.337 \mu\text{g/mL}$ y el porcentaje de recuperación del control positivo fue 100.02% (**Tabla 3**).

Tabla 2. Contenido de flavonoides y fenoles totales presentes en extractos etanólicos de la cáscara, pulpa y semilla de *M. flexuosa* L. f y *O. bataua* Mart.

Especie	Muestra	Flavonoides ^a	Polifenoles ^b
<i>Mauritia flexuosa</i> L. f	Cáscara	16.1 ± 0.4	$2\ 381.0 \pm 24.2$
	Pulpa	5.1 ± 0.2	219.8 ± 6.9
	Semilla	4.02 ± 0.19	92.7 ± 2.0
<i>Oenocarpus bataua</i> Mart	Cáscara	6.9 ± 0.2	199.2 ± 0.7
	Pulpa	4.42 ± 0.02	967.4 ± 0.6
	Semilla	5.35 ± 0.04	$2\ 250.8 \pm 6.2$

Realizado por: Reyes, Roberth, 2023.

Los resultados se expresan como $\bar{X} \pm \sigma$. ^a Contenido de flavonoides totales expresados en mg equivalentes de quercetina por 100 g de muestra seca (mg EQ/100 g DW). ^b Contenido de polifenoles totales expresados en mg equivalentes de ácido gálico por 100 g de muestra seca (mg EAG/100 g DW).

En la cáscara de *M. flexuosa* L. f se determinó la mayor cantidad de polifenoles totales con $2\ 381.0 \pm 24.2$ mg EAG/100 g DW, seguido de la semilla de *O. bataua* Mart con $2\ 250.8 \pm 6.2$ mg EAG/100 g DW, pulpa de *O. bataua* Mart con 967.4 ± 0.6 mg EAG/100 g DW, cáscara de *O. bataua* Mart con 199.2 ± 0.7 mg EAG/100 g DW, pulpa de *M. flexuosa* L. f con 219.8 ± 6.9 mg EAG/100 g DW y semilla de *M. flexuosa* L. f con 92.7 ± 2.0 mg EAG/100 g DW (**Tabla 2**). Estos resultados fueron obtenidos mediante la curva de calibración de ácido gálico, donde la ecuación de la recta fue $Y = 0.0038X - 0.0557$ y el $R^2 = 0.9949$ (**Anexo 2**). El límite de detección del método fue de $0.858 \mu\text{g/mL}$, el límite de cuantificación del método fue $1.099 \mu\text{g/mL}$ y el porcentaje de recuperación del control positivo fue $99,1 \%$ (**Tabla 3**).

Tabla 3. Parámetros analíticos de calidad de los métodos utilizados en la cuantificación de metabolitos de interés mediante espectrofotometría UV-VIS.

Parámetros	Flavonoides	Polifenoles
LD ^a (µg/mL)	0.267	0.858
LQ ^b (µg/mL)	0.337	1.099
%R ^c (%)	100.02	99.1

^a Límite de detección, ^b Límite de cuantificación y ^c Porcentaje de recuperación.

Realizado por: Reyes, Roberth, 2023.

3.2 Resultados de los ensayos antioxidantes

En el ensayo de inhibición de cationes radicales ABTS (**Figura 1**), el trolox como control positivo mostró un IC₅₀ de 34.3 µg/mL y el extracto con mayor actividad inhibidora fue la semilla de *O. bataua* Mart con 20.1 ± 0.2 µg/mL, seguido de la cáscara de *M. flexuosa* L. f con 35.2 ± 0.5 µg/mL, pulpa de *O. bataua* Mart con 40.8 ± 0.4 µg/mL, cáscara de *O. bataua* Mart con 222.4 ± 1.6 µg/mL, pulpa de *M. flexuosa* L. f con 380.1 ± 1.8 µg/mL y semilla de *M. flexuosa* L. f con 975.5 ± 5.3 µg/mL. Por otro lado, los resultados de la capacidad antioxidante equivalente al trolox (TEAC) fueron los siguientes (**Tabla 4**), donde la cáscara de *M. flexuosa* L. f tuvo 507.8 ± 7.1 µmol TE/g DW, seguido de la semilla de *O. bataua* Mart con 410.0 ± 3.4 µmol TE/g DW, pulpa de *O. bataua* Mart con 128.4 ± 1.1 µmol TE/g DW, cáscara de *O. bataua* Mart con 23.6 ± 0.2 µmol TE/g DW, pulpa de *M. flexuosa* L. f con 22.2 ± 0.3 µmol TE/g DW y semilla de *M. flexuosa* L. f con 6.63 ± 0.03 µmol TE/g DW.

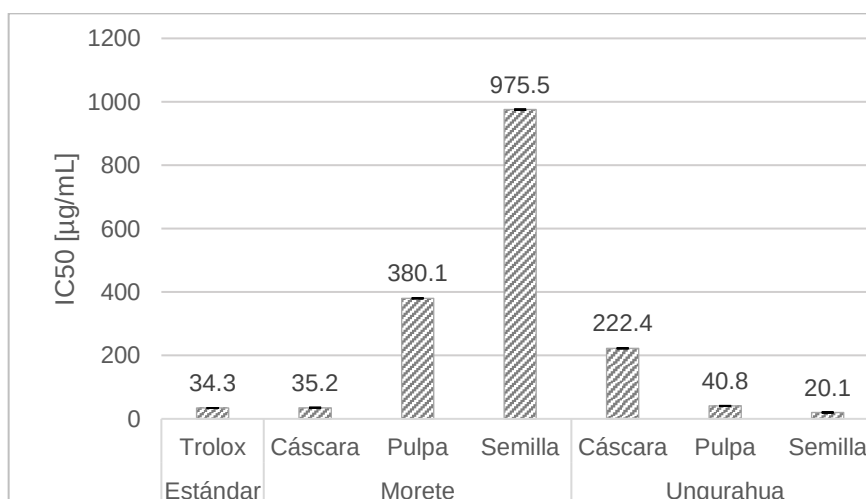


Figura 1. Inhibición de cationes radicales ABTS. Los resultados están expresados en IC₅₀ ± σ (µg/mL).

Realizado por: Reyes, Roberth, 2023.

En el ensayo de inhibición de radicales DPPH (**Figura 2**), el trolox como control positivo mostró un IC₅₀ de 14.9 µg/mL y el extracto con mayor actividad inhibidora fue la semilla de *O. bataua* Mart con 17.0 ± 0.3 µg/mL, seguido de la pulpa de *O. bataua* Mart con 29.8 ± 0.3 µg/mL, cáscara de *M. flexuosa* L. f con 31.2 ± 0.7 µg/mL, cáscara de *O. bataua* Mart con 246.6 ± 6.7 µg/mL, pulpa de *M. flexuosa* L. f con 329.7 ± 4.9 µg/mL y semilla de *M. flexuosa* L. f con 626.9 ± 4.4 µg/mL. De la misma manera, los resultados de capacidad antioxidante equivalente al trolox (TEAC) fueron los siguientes (**Tabla 4**), donde la cáscara de *M. flexuosa* L. f tuvo 248.3 ± 5.3 µmol TE/g DW, seguido de la semilla de *O. bataua* Mart con 202.3 ± 3.3 µmol TE/g DW, pulpa de *O. bataua* Mart con 73.3 ± 0.7 µmol TE/g DW, pulpa de *M. flexuosa* L. f con 11.1 ± 0.2 µmol TE/g DW, cáscara de *O. bataua* Mart con 8.9 ± 0.2 µmol TE/g DW y semilla de *M. flexuosa* L. f con 3.96 ± 0.03 µmol TE/g DW.

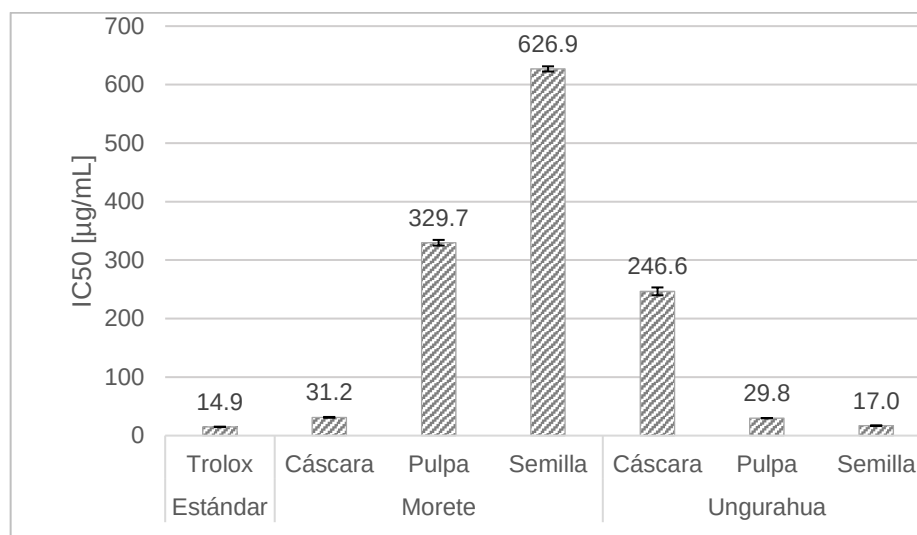


Figura 2. Inhibición de radicales DPPH. Los resultados están expresados en IC₅₀ ± σ (µg/mL).

Realizado por: Reyes, Roberth, 2023.

En el ensayo de poder antioxidante reductor férrico (FRAP) la cáscara de *M. flexuosa* L. f mostró 566.8 ± 20.0 µmol EFe²⁺/g DW, seguido de la semilla de *O. bataua* Mart con 485.5 ± 14.4 µmol EFe²⁺/g DW, pulpa de *O. bataua* Mart con 316.2 ± 13.2 µmol EFe²⁺/g DW, cáscara de *O. bataua* Mart con 37.3 ± 0.7 µmol EFe²⁺/g DW, pulpa de *M. flexuosa* L. f con 36.1 ± 1.1 µmol EFe²⁺/g DW y semilla de *M. flexuosa* L. f con 17.5 ± 0.7 µmol EFe²⁺/g DW.

Tabla 4. Actividad antioxidante de los extractos etanólicos de la cáscara, pulpa y semilla de *M. flexuosa* L. f y *O. bataua* Mart.

Especie	Muestra	FRAP ^a	DPPH ^b	ABTS ^b
<i>Mauritia flexuosa</i> L. f	Cáscara	566.8 ± 20.0	248.3 ± 5.3	507.8 ± 7.1
	Pulpa	36.1 ± 1.1	11.1 ± 0.2	22.2 ± 0.3
	Semilla	17.5 ± 0.7	3.96 ± 0.03	6.63 ± 0.03
<i>Oenocarpus bataua</i> Mart	Cáscara	37.3 ± 0.7	8.9 ± 0.2	23.6 ± 0.2
	Pulpa	316.2 ± 13.2	73.3 ± 0.7	128.4 ± 1.1
	Semilla	485.5 ± 14.4	202.3 ± 3.3	410.0 ± 3.4

Realizado por: Reyes, Roberth, 2023.

Los resultados se expresan como $\bar{X} \pm \sigma$. ^a Los resultados se expresaron como μmol equivalentes de Fe^{2+} por g de muestra seca ($\mu\text{mol EFe}^{2+}/\text{g DW}$). ^b Los resultados se expresaron como capacidad antioxidante equivalente al trolox (TEAC) por g de muestra seca ($\mu\text{mol TE/g DW}$).

En la **Tabla 5**, se presenta el análisis de correlación de Pearson entre los ensayos de capacidad antioxidante, el ensayo enzimático, el contenido total de fenoles y flavonoides. Se evidencia que existe un coeficiente de correlación superior a 0.9 entre el contenido total de polifenoles y la actividad antioxidante. Por otro lado, existe un coeficiente de correlación de 0.62 entre el contenido total de polifenoles y el contenido total de flavonoides. Los coeficientes de correlación entre el contenido total de flavonoides y la actividad antioxidante están entre 0.6 y 0.7. Por otra parte, existe un coeficiente de correlación de -0.42 entre el contenido total de flavonoides y el IC_{50} de la inhibición de α -amilasa. Y finalmente, existen coeficientes de correlación de -0.74 a -0.85 entre el IC_{50} de la inhibición de α -amilasa con la actividad antioxidante y el contenido total de polifenoles.

Tabla 5. Coeficientes de correlación de Pearson entre las mediciones de capacidad antioxidante según DPPH, FRAP y ABTS, CTP, CTF y la inhibición de la α -amilasa.

	CTP	CTF	FRAP	DPPH	ABTS	% αPI
CTP	1.00	0.62	0.98	0.99	0.99	-0.79
CTF	0.62	1.00	0.61	0.69	0.71	-0.42
FRAP	0.98	0.61	1.00	0.97	0.96	-0.85
DPPH	0.99	0.69	0.97	1.00	0.999	-0.75
ABTS	0.99	0.71	0.96	0.999	1.00	-0.74
% αPI	-0.79	-0.42	-0.85	-0.75	-0.74	1.00

Realizado por: Reyes, Roberth, 2023.

3.3 Resultados del ensayo enzimático

En el ensayo de inhibición de la enzima α -amilasa (**Figura 3**), la acarbosa como control positivo mostró un IC_{50} de $16.8 \pm 1.5 \mu\text{g/mL}$ y el extracto con mayor actividad inhibidora fue la semilla de *O. batava* Mart con $3.47 \pm 0.03 \mu\text{g/mL}$, seguido de la pulpa de *O. batava* Mart con $3.9 \pm 0.1 \mu\text{g/mL}$, cáscara de *M. flexuosa* L. f con $4.0 \pm 0.1 \mu\text{g/mL}$, cáscara de *O. batava* Mart con $398.1 \pm 11.1 \mu\text{g/mL}$, semilla de *M. flexuosa* L. f con $800.7 \pm 9.7 \mu\text{g/mL}$ y pulpa de *M. flexuosa* L. f con $1036.7 \pm 2.1 \mu\text{g/mL}$.

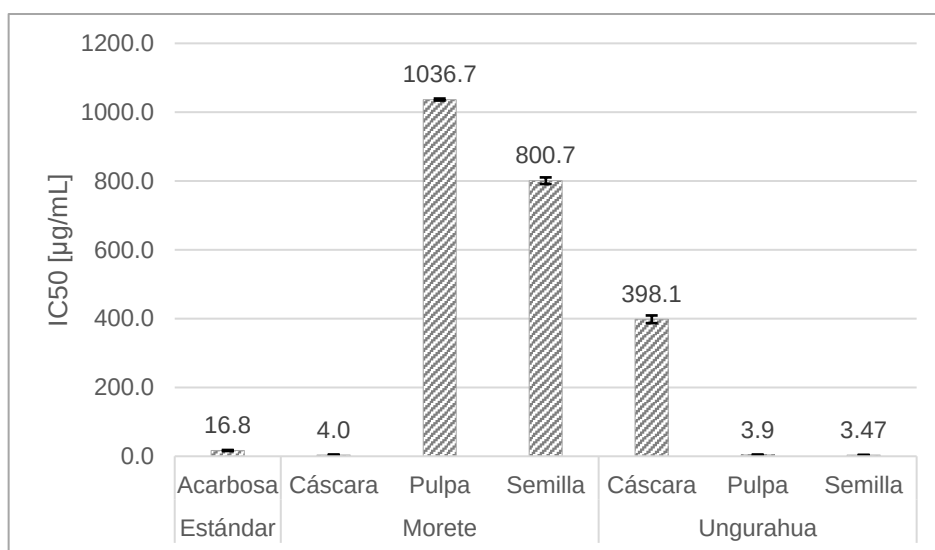


Figura 3. Inhibición de la enzima α -amilasa. Los resultados están expresados en $IC_{50} \pm \sigma$ ($\mu\text{g/mL}$).

Realizado por: Reyes, Roberth, 2023.

3.4 Resultados de la identificación de metabolitos

Tras realizar la identificación de nivel 1 utilizando los cromatogramas de Iones Totales (TIC) de las muestras (**Anexo 4**), así como también los tiempos de retención y los iones moleculares de los estándares de referencia, se pudo identificar 5 metabolitos (**Tabla 6**). En la cáscara (CM), pulpa (PM) y semilla (SM) de *M. flexuosa* L. f y en la semilla (SU) de *O. batava* Mart se determinó la presencia de quercetina. La rutina se determinó en CM, PM y SU. Mientras que la (-)-epicatequina y la (+)-catequina se determinó en CM y SU. CM tuvo la presencia de ácido neoclorogénico.

Tabla 6. Caracterización de los metabolitos presentes en extractos de *O. bataua* Mart y *M. flexuosa* L. f.

Compuesto	RT (min)	[M-H] ⁻ (m/z)	Fórmula molecular	Error (ppm)	Detectado en ^a
Quercetina	2.987	301.03	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	7.6	CM, PM, SM, SU
Rutina	2.250	609.15	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	0.2	CM, PM, SM
(-)-Epicatequina	1.946	289.07	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	5.0	CM, SU
(+)-Catequina	1.721	289.07	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	4.6	CM, SU
Ácido neoclorogénico	1.531	353.09	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	5.4	CM

^a CM, PM y SM: Cáscara, pulpa y semilla de *M. flexuosa* L. f, respectivamente. SU: Semilla de *O. bataua* Mart.

Realizado por: Reyes, Roberth, 2023.

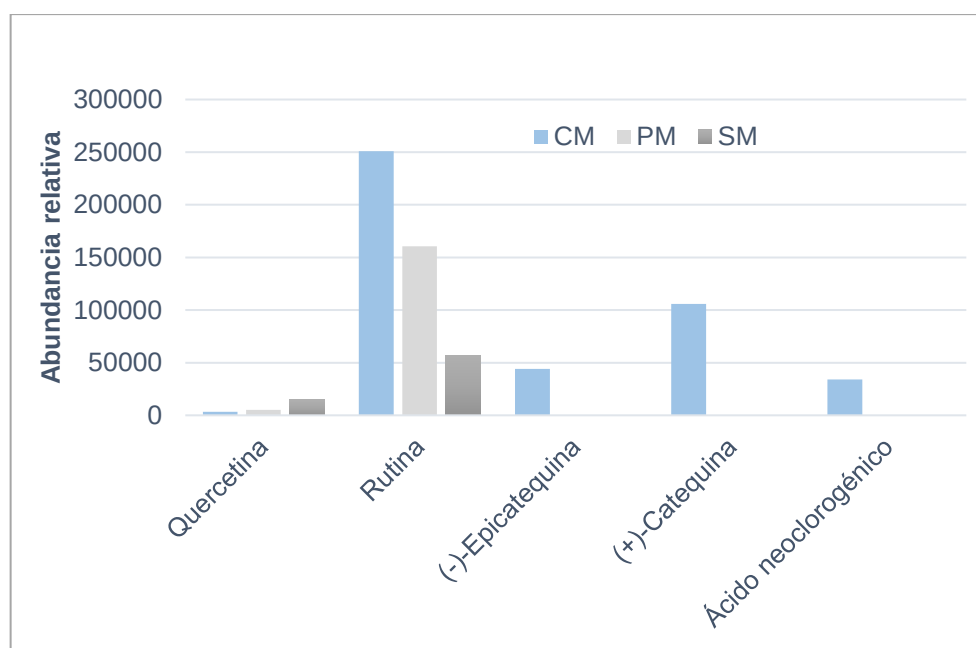


Figura 4. Abundancia relativa de los metabolitos presentes en la cáscara, pulpa y semilla del fruto de *M. flexuosa* L. f.

Realizado por: Reyes, Roberth, 2023.

En la **Figura 4**, se observa la abundancia relativa de los metabolitos secundarios, donde los valores más altos en *M. flexuosa* L. f corresponden a la rutina, seguido de la (-)-epicatequina y la (+)-catequina. Por otro lado, la mayor abundancia relativa de los metabolitos secundarios presentes en la semilla de *O. bataua* Mart (**Figura 5**) son de la (-)-epicatequina y la (+)-catequina. La quercetina tuvo la menor abundancia relativa en todas las muestras.

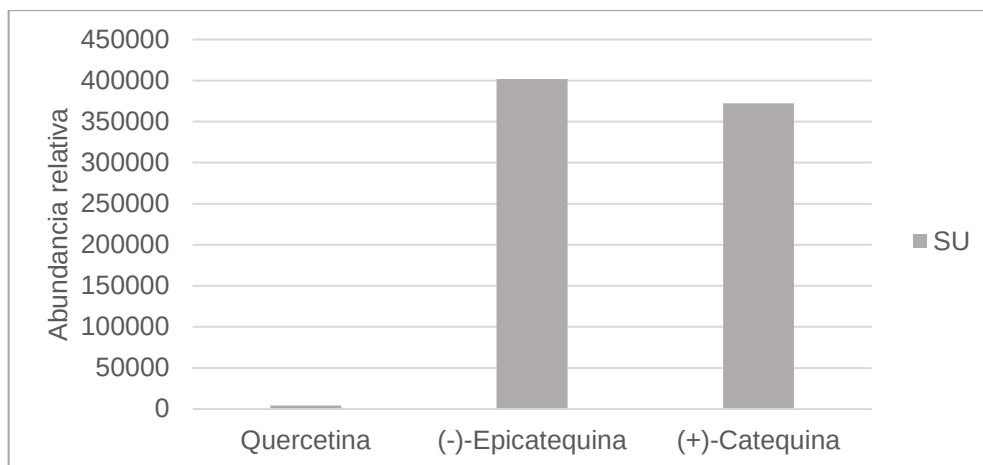


Figura 5. Abundancia relativa de los metabolitos presentes en la semilla del fruto de *O. batava* Mart.

Realizado por: Reyes, Roberth, 2023.

CAPÍTULO IV: INTERPRETACIÓN Y DISCUSIÓN

4.1 Análisis fitoquímico

Debido a la importancia de los metabolitos secundarios presentes en las plantas, se ha optado por estudiar frutos de *M. flexuosa* L. f y *O. batava* Mart a través de varios ensayos bioquímicos. La actividad farmacológica de las mismas se debe a la acción de ciertos compuestos como terpenoides, alcaloides, glucósidos, flavonoides y fenoles [68]. En este estudio, se ha enfocado principalmente en el contenido de flavonoides y fenoles con la finalidad de correlacionarlos con la actividad antioxidante y enzimática.

En **Tabla 1**, se observa que los rendimientos de extracción varían en *M. flexuosa* L. f y *O. batava* Mart. Cada parte (cáscara, pulpa y semilla) del morete y ungurahua, el rendimiento de extracción va en forma descendente y ascendente, respectivamente. Factores como: temperatura, pH, el tiempo de extracción, la proporción muestra-solvente, la solubilidad de los compuestos bioactivos y el solvente (metanol, etanol, acetona, agua); juegan un rol importante en el proceso de extracción de los metabolitos secundarios [11][57][69][70][71]. Además, la reducción de la concentración del etanol, como se hizo en este estudio, mejora la extracción de polifenoles y flavonoides [72].

Según Abreu et al. (2020) y Candido et al. (2015), quienes estudiaron los frutos de *M. flexuosa* L. f, y Vargas et al. (2022), quien estudió a los frutos de *O. batava* Mart,

mencionan que la zona geográfica y el estado de madurez influye en el contenido de metabolitos presentes en los frutos [14][73][74]. Por lo tanto, las frutas en un estado avanzado de maduración poseen una alta concentración de los compuestos bioactivos [75]. Además, en el trabajo de Milanez et al. (2018) se reportó que el tiempo de almacenamiento de los frutos de *M. flexuosa* L. f también afecta el contenido de metabolitos secundarios [76].

Las cáscaras de los frutos de *M. flexuosa* L. f presentaron los valores más altos del contenido total de polifenoles (CTP) y flavonoides (CTF), como se muestra en la **Tabla 2**. El CTP de las cáscaras del fruto de morete fue superior a lo que se ha reportado en estudios previos (785.1 ± 21.4 mg GAE/100 g DW y $1\,288 \pm 10.4$ mg GAE/100 g DW), en dichos estudios se han trabajado con extractos metanólicos [11][69]. La semilla del fruto de *O. bataua* Mart posee el segundo valor más alto de CTP, y en comparación con la literatura se ha encontrado valores inferiores de 758.25 ± 3.22 mg GAE/100 g DW y 356.12 ± 0.12 mg GAE/100 g DW [77][78]. Por otro lado, la pulpa de *O. bataua* Mart posee un valor de CTP mayor a lo que se ha reportado previamente, con valores de 217.27 ± 4.79 mg GAE/100 g DW, 622.97 ± 4.84 mg GAE/100 g DW y 321.03 ± 0.43 mg GAE/100 g DW [19][74][77]. En cuanto a la pulpa del fruto de *M. flexuosa* L. f, existen varios estudios [13][11][69][14][73][79] donde se han reportado valores superiores a 219.8 ± 6.9 mg EAG/100 g DW. Además, en el trabajo de Carmona et al. (2021), se obtuvo un valor de 204.76 ± 3.43 mg EAG/100 g DW [10]. Para la cáscara de *O. bataua* Mart se reportó previamente un valor inferior de 122.98 ± 0.6 mg GAE/100 g DW y un valor superior de $1\,009.38 \pm 1.80$ mg GAE/100 g DW [19][77] Y finalmente, la semilla de los frutos de *M. flexuosa* L. f mostraron la menor cantidad de CTP y CTF. En la literatura se ha encontrado un valor similar del CTP al obtenido en este estudio, el cual fue de 93.2 ± 5.1 mg EAG/100 g DW [69], mientras que en otros estudios se han reportado valores de 67.5 ± 4.7 y 597.1 ± 6.5 mg EAG/100 g DW [11][79].

El CTF de la cáscara de los frutos de *M. flexuosa* L. f obtenido por Pereira et al. (2018), fue mayor (339.4 ± 3.9 mg EQ/100 g DW) [11] en comparación con el que se determinó en este estudio. Por otro lado, Cotos et al. (2020) obtuvo valores de 41.94 ± 0.52 mg CE/100 g DW y 69.51 ± 1.42 mg CE/100 g DW [19] para la cáscara y pulpa de frutos de *O. bataua* Mart, respectivamente. En dicho estudio se utilizó a la catequina como estándar, por lo que esta información limitó el contraste de los resultados. Para la pulpa de los frutos de *M. flexuosa* L. f, se han reportado valores de superiores de CTF [13][10][11] en comparación con el resultado de este estudio (5.1 ± 0.2 mg EQ/100 g

DW). Finalmente, en un estudio previo se obtuvo un valor de 145.4 ± 10.2 mg EQ/100 g DW [11] para la semilla de *M. flexuosa* L. f, el cual es superior al valor determinado en el presente trabajo. Cabe mencionar que esta muestra posee el menor CTP y CTF en comparación con el resto de las muestras analizadas.

4.2 Actividad antioxidante

El consumo de alimentos ricos en compuestos antioxidantes puede ser una alternativa para la prevención y protección contra las enfermedades que se relacionan con el estrés oxidativo [80]. El EOX es causado por los radicales libres originados en reacciones metabólicas [81], por ello la importancia del estudio de alimentos funcionales y compuestos bioactivos para combatirlo. Dentro de los compuestos bioactivos de interés, se encuentran los flavonoides y polifenoles, los cuales mantienen una correlación muy fuerte ($r > 0.9$) (**Anexo 3**) con la actividad antioxidante [82]. Por ello, los compuestos bioactivos presentes en estos alimentos tienen la capacidad de donar electrones e hidrógenos para estabilizar a los radicales libres, principalmente especies reactivas de oxígeno (ROS) [11].

Además, los ensayos antioxidantes utilizados en este estudio sirven para ilustrar los posibles mecanismos de acción de los compuestos bioactivos presentes en los frutos de *M. flexuosa* L. f y *O. batava* Mart. Las muestras estudiadas son mezclas complejas que tienen un efecto combinado para la inhibición de los radicales libres [71], por ello estos métodos miden la acción de los grupos fenólicos libres de los compuestos bioactivos [83]. Para comprender los resultados que arrojan los ensayos antioxidantes, hay que tener en cuenta sus limitaciones y su mecanismo de acción [84]. En cuanto al ensayo de poder antioxidante reductor férrico (FRAP), este limita la determinación de antioxidantes lipofílicos debido a la mayor afinidad hacia la fase acuosa que hacia los solventes orgánicos [85]. Por otro lado, la reducción del radical ABTS permite la determinación de antioxidantes hidrofílicos y lipofílicos, pero su relevancia es menor frente a otros ensayos, ya que se utiliza un radical no fisiológico [86]. Finalmente, la inhibición del radical DPPH permite determinar antioxidantes lipofílicos excluyendo a los antioxidantes hidrofílicos [86].

La cáscara de los frutos de *M. flexuosa* L. f presentó la mayor actividad antioxidante, que resultó ser capaz de reducir una gran cantidad de iones férricos al estado ferroso (Fe^{2+}) [87], obteniéndose un valor superior al reportado previamente por Resende et al.

(2019) ($88.9 \pm 2.3 \mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g DW}$) [69]. La siguiente muestra con mayor poder antioxidante es la semilla de *O. bataua* Mart, pero Saravia et al. (2020) ha reportado un valor superior de $2123.12 \pm 21.23 \mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g DW}$ [78]. De la misma manera, para la pulpa de *O. bataua* Mart se ha reportado un valor superior de $1856.21 \pm 11.23 \mu\text{mol Fe}^{2+}/\text{g DW}$ [78]. Por otro lado, en estudios de Resende et al. (2019) y Koolen et al. (2013) la pulpa de *M. flexuosa* L. f ha tenido valores superiores al que se encontró en este estudio ($36.1 \pm 1.1 \mu\text{mol EFe}^{2+}/\text{g DW}$) [69][13]. Y finalmente, la semilla de la fruta de *M. flexuosa* L. f resultó ser la parte que menos reduce al ion férrico. De la misma manera, Contreras et al. (2011) ha reportado que la semilla de *M. flexuosa* L. f ($9.29 \pm 0.50 \mu\text{mol TE/g}$ fruta fresca) tiene menor actividad antioxidante que la pulpa ($27.8 \pm 0.64 \mu\text{mol TE/g}$ fruta fresca). En el estudio anterior, se utilizaron muestras frescas y el trolox como estándar [79], lo que ha limitado el contraste con los resultados encontrados.

En cuanto a la inhibición de los radicales DPPH, la cáscara del fruto de *M. flexuosa* L. f tuvo una gran capacidad inhibidora. El valor que mostró esta muestra fue superior a $190.43 \pm 1.55 \mu\text{mol TE/g DW}$ reportado por Cardoso et al. (2020), en dicho estudio los extractos se obtuvieron con etanol al 100% [16]. La semilla de *O. bataua* Mart también ha mostrado un alto potencial antioxidante, pero el valor obtenido ha sido menor a $2632.21 \pm 21.25 \mu\text{mol TE/g DW}$ determinado en un estudio previo [78]. Por otro lado, Rezaire et al. (2014) reportó para la pulpa de *O. bataua* Mart un valor de $2292.5 \pm 122.77 \mu\text{mol TE/g}$ extracto seco [22], el cual es mayor al obtenido en este estudio. Además, en el trabajo de Cotos et al. (2020) se ha obtenido un valor de IC_{50} de $62.68 \pm 2.00 \mu\text{g/mL}$ [19], lo que significa una menor actividad antioxidante con respecto al presente estudio (**Figura 2**). Por otra parte, para la pulpa del fruto de *M. flexuosa* L. f se ha determinado un valor menor de actividad antioxidante en comparación con estudios previos, los cuales han reportado valores de $160.11 \pm 0.76 \mu\text{mol TE/g DW}$, $18.03 \pm 0.07 \mu\text{mol TE/g DW}$, $17.98 \pm 0.05 \mu\text{mol TE/g DW}$ y $14.76 \pm 0.09 \mu\text{mol TE/g DW}$ [73][16]. Además, en el estudio de Nobre et al. (2018) se determinó un valor de IC_{50} de $704.21 \pm 25.14 \mu\text{g/mL}$ [88], siendo este mayor en comparación a este trabajo (**Figura 2**). En el presente estudio, la cáscara de *O. bataua* Mart ha presentado la menor capacidad inhibidora de radicales DPPH con respecto a la pulpa y semilla de esta fruta, pero Cotos et al. (2020) menciona que la cáscara ($634.01 \pm 14.56 \mu\text{mol}/100 \text{ g}$ de fruta fresca) tiene mayor actividad antioxidante que la pulpa ($557.54 \pm 14.56 \mu\text{mol}/100 \text{ g}$ de fruta fresca) [19]. Se evidencian estas diferencias, ya que en dicho estudio las muestras son desengrasadas con n-hexano-isopropanol. Por último, la semilla de *M. flexuosa* L. f ha mostrado una menor capacidad inhibidora de radicales libres. En un estudio previo se

reportó un valor de $150.10 \pm 0.35 \mu\text{mol TE/g DW}$ [16], el cual es menor en comparación con el resultado de este trabajo.

En cuanto a la decoloración de cationes radicales ABTS, la cáscara del fruto de *M. flexuosa* L. f y la semilla de *O. bataua* Mart mostraron una gran capacidad inhibidora, pero la falta de información ha limitado el contraste con los resultados obtenidos. Por otro lado, para la pulpa de *O. bataua* Mart se reportó un valor de $2\,471.5 \pm 22.0 \mu\text{mol TE/g extracto seco}$ [22], el cual es mayor al valor determinado en este estudio. Además, en un estudio previo se obtuvo un IC_{50} de $45.82 \pm 1.23 \mu\text{g/mL}$ [19], el cual es un valor cercano al obtenido en este estudio (**Figura 1**). Para la pulpa de *M. flexuosa* L. f, en un estudio previo se obtuvo un valor de $70.2 \pm 3.62 \mu\text{mol TE/g fruta fresca}$ [79], dicho valor es superior al reportado en este trabajo. Para la cáscara de *O. bataua* Mart, en la literatura se han encontrado valores de $713.86 \pm 16.24 \mu\text{mol/100 g de fruta fresca}$ e IC_{50} de $29.64 \pm 0.68 \mu\text{g/mL}$ [19] dichos valores representan una mayor actividad antioxidante en comparación con el presente estudio. En el estudio de Contreras et al. (2011), se reportó un valor de $20.00 \pm 0.53 \mu\text{mol TE/g fruta fresca}$ con respecto a la semilla del fruto de *M. flexuosa* L. f [79]. El resultado anterior es mayor al obtenido en este estudio, por lo que se evidencia la baja capacidad antioxidante frente a las demás partes de los frutos de *M. flexuosa* L. f y *O. bataua* Mart.

En estudios previos sobre *M. flexuosa* L. f y *O. bataua* Mart, se han reportado varios compuestos que pertenecen a grupos de los fitoesteroles, carotenoides, antocianinas, tocoferoles, ácidos grasos, vitamina E y C, ácidos fenólicos y flavonoides [13][12][89][90][91]. De estos grupos se ha podido identificar 5 metabolitos (**Tabla 6**) presentes en la cáscara, pulpa y semilla de los frutos *M. flexuosa* L. f y *O. bataua* Mart. En el mesocarpio (pulpa) y exocarpio (cáscara) de estos frutos se han reportado con mayor predominancia estos metabolitos secundarios que en el endocarpio (semilla). En las **Tablas 7 y 8**, se describen los metabolitos secundarios presentes *M. flexuosa* L. f y *O. bataua* Mart, reportados en estudios previos. Se destaca la presencia de flavonoides como la quercetina, el cual fue identificado en las muestras analizadas. Este compuesto bioactivo posee propiedades antidiabéticas, antioxidantes, anticancerígenas, entre otras [41][92]. La rutina, que se identificó en las muestras de *M. flexuosa* L. f posee propiedades anticancerígenas, antioxidantes, antidiabéticas, antiinflamatorias, antibacterianas, antifúngicas, neuroprotectoras, cardioprotectoras, hepatoprotectoras, nefroprotectoras y hematoprotectoras [93]. La (-)-epicatequina y (+)-catequina poseen

propiedades antioxidantes, antimicrobianas, antiinflamatorias, antitumorales, cardioprotectoras y como antidiabético [94][95].

Tabla 7. Metabolitos secundarios presentes en *M. flexuosa* L. f reportados en estudios previos.

Compuesto	Tipo	Parte	Bibliografía
Ácido quínico	Fenol	Pulpa	[96]
Ácido cafeico	Fenol	Pulpa, cáscara	[12][96]
Ácido clorogénico	Fenol	Pulpa, cáscara	[12][13][96]
Ácido ferúlico	Fenol	Pulpa, cáscara	[12][96]
P-Cumárico	Fenol	Pulpa, cáscara	[12][96]
Ácido protocatéquico	Fenol	Pulpa	[96]
Ácido gálico	Fenol	Pulpa, cáscara	[12]
Ácido salicílico	Fenol	Pulpa, cáscara	[12]
Ácido sinápico	Fenol	Pulpa, cáscara	[12]
Ácido siríngico	Fenol	Pulpa, cáscara	[12]
Ácido vanílico	Fenol	Pulpa, cáscara	[12]
		Pulpa, cáscara,	
(+) catequina	Flavonoide	endocarpio	[13][96]
(-) epicatequina	Flavonoide	Pulpa, cáscara	[12][96]
Luteolina	Flavonoide	Pulpa, cáscara	[12][96]
		Pulpa, cáscara,	
Apigenina	Flavonoide	endocarpio	[12][96]
Miricetina	Flavonoide	Pulpa, cáscara	[12][13][96]
Kaempferol	Flavonoide	Pulpa, cáscara	[12][13][96]
Quercetina	Flavonoide	Pulpa, cáscara	[12][13] [73][96]
Vitexina	Flavonoide	Pulpa	[13]
Escoparina	Flavonoide	Pulpa	[13]
Rutina	Flavonoide	Pulpa, cáscara	[12][13]
Naringenina	Flavonoide	Pulpa, cáscara	[12][73]
Hesperetina	Flavonoide	Cáscara	[12]
Morin	Flavonoide	Cáscara	[12]
Naringina	Flavonoide	Cáscara	[12]
Resveratrol	Flavonoide	Pulpa, cáscara	[12]
Pterostilbeno	Flavonoide	Pulpa, cáscara	[12]
Isoquercetina	Flavonoide	Pulpa, cáscara	[12]
Vitamina E	Vitamina E	Pulpa	[97][98][99]
Ácido ascórbico	Vitamina C	Pulpa	[100]

Realizado por: Reyes, Roberth, 2023.

Entre de los ácidos fenólicos se encuentran el ácido gálico, ácido clorogénico y ácido neoclorogénico. Estos compuestos poseen propiedades antioxidantes, hipoglucemiantes, antivirales, antimicrobianas, antiinflamatorias y anticancerígenas [101][102][103]. Adicionalmente, la pulpa de estas frutas contiene vitamina E y C, que poseen propiedades antivirales y antioxidantes [104][105][106].

Tabla 8. Metabolitos secundarios presentes en *O. bataua* Mart reportados en estudios previos.

Compuesto	Tipo	Parte	Bibliografía
Ácido cafeico	Fenol	Pulpa, cáscara	[12]
Ácido quínico	Fenol	Pulpa	[74]
Ácido clorogénico	Fenol	Pulpa, cáscara	[12] [74]
Ácido ferúlico	Fenol	Pulpa, cáscara	[12]
P-Cumárico	Fenol	Pulpa, cáscara	[12]
Ácido gálico	Fenol	Pulpa, cáscara	[12]
Ácido salicílico	Fenol	Pulpa, cáscara	[12]
Ácido sinápico	Fenol	Pulpa, cáscara	[12]
Ácido siríngico	Fenol	Pulpa, cáscara	[12]
Ácido vanílico	Fenol	Pulpa, cáscara	[12]
Rutina	Flavonoide	Pulpa, cáscara	[12]
Resveratrol	Flavonoide	Pulpa, cáscara	[12][74][77]
Pterostilbeno	Flavonoide	Pulpa, cáscara	[12]
Isoquercetina	Flavonoide	Pulpa, cáscara	[12]
Vitamina E	Vitamina E	Pulpa	[97][98]
Ácido ascórbico	Vitamina C	Pulpa	[77]

Realizado por: Reyes, Roberth, 2023.

4.3 Actividad enzimática

En este estudio se proporciona la primera evidencia de la capacidad inhibitoria sobre la α -amilasa que poseen los extractos de las frutas de *M. flexuosa* L. f y *O. bataua* Mart. Como se observa en la **Figura 3**, la semilla y pulpa de *O. bataua* Mart, y la cáscara de *M. flexuosa* L. f mostraron una mayor capacidad inhibidora que la acarbosa ($IC_{50} = 16.8 \mu\text{g/mL}$). Resultados similares se han reportado en estudios sobre los flavonoides presentes en *Taraxacum officinale*, estos compuestos bioactivos inhiben reversiblemente a la α -amilasa de manera no competitiva [52]. Debido al método de extracción utilizado en este estudio, se sugiere que la inhibición de la α -amilasa de páncreas porcino se da por acción de compuestos bioactivos polares [107], por ejemplo, los flavonoides y fenoles que poseen un potencial antidiabético [49]. En el **Anexo 3**, se puede observar que el coeficiente de correlación de Pearson entre el CTP y la inhibición enzimática (IC_{50}) es de -0.79 (correlación fuerte), es decir, estas dos variables se asocian inversamente [82]. Para comprender el tipo de inhibidor (competitivo y no

competitivo) presente en las frutas de *M. flexuosa* L. f y *O. bataua* Mart, es necesario realizar gráficos de Lineweaver-Burk, ya que los inhibidores enzimáticos obedecen a una cinética de Michaelis Menten. De esta manera, se podría realizar comparaciones con la acarbosa, el cual es un inhibidor competitivo [55].

Los resultados de la correlación de Pearson sugieren que los compuestos fenólicos son los principales responsables del efecto antioxidante e inhibitorio de la enzima α -amilasa. Dichos resultados concuerdan con lo que se ha reportado previamente [22][78][69]. Se destaca el alto potencial antioxidante e inhibitorio sobre la α -amilasa presentado por la cáscara de *M. flexuosa* L. f, la pulpa y semilla de *O. bataua* Mart. Estas muestras pueden ser considerados como alimentos funcionales o fuentes vegetales para crear posibles derivados a partir de estos, con altas propiedades nutricionales.

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

5.1 Conclusiones

Los análisis sobre los extractos etanólicos de la cáscara, pulpa y semilla de los frutos estudiados han demostrado que la cáscara de *M. flexuosa* L. f, la pulpa y semilla de *O. bataua* Mart presentan un alto potencial antioxidante y de inhibición de la enzima α -amilasa. Se ha demostrado que existe una correlación muy fuerte ($r > 0.9$) entre el contenido total de compuestos fenólicos y la actividad antioxidante. Además, los resultados sugieren que los compuestos fenólicos son los responsables de la inhibición de la enzima α -amilasa, ya que ambas variables se relacionan de manera inversa. Asimismo, con una identificación de nivel 1 a través de UPLC-MS/MS, se ha confirmado la presencia de metabolitos secundarios como la quercetina, rutina, (-)-epicatequina, (+)-catequina y ácido neoclorogénico en muestras de cáscara, pulpa y semilla de *M. flexuosa* L. f, y en la semilla de *O. bataua* Mart.

En general, la cáscara de *M. flexuosa* L. f, y la pulpa y semilla de *O. bataua* Mart han demostrado tener un alto potencial nutracéutico. Por lo que, se pueden considerar como alimentos funcionales o como inspiración para la creación de alternativas alimenticias. Para que de esta manera se pueda prevenir patologías relacionadas al estrés oxidativo, como por ejemplo de la diabetes tipo II.

5.2 Recomendaciones

Con base en los resultados de la identificación de nivel 1 de los metabolitos presentes en las frutas estudiadas, se recomienda realizar una identificación de nivel 2 y el uso de bibliotecas con bases de datos como MassBank, ReSpect, RIKEN, entre otras. Además, se sugiere realizar un estudio de metabolómica no dirigida para estos frutos, debido a que han presentado un potencial antioxidante e inhibitorio de enzimas. Con respecto a este último tema, se recomienda realizar ensayos de inhibición de α -glucosidasa. Finalmente, se recomienda elaborar prototipos de productos con estas frutas, para incentivar el consumo de las mismas debido a su potencial nutracéutico.

REFERENCIAS

1. Muriel P. La diversidad de ecosistemas en el Ecuador. Herbario QCA & Herbario AAU. Quito & Aarhus. 2008; 28-38.
2. Chamba C. Recursos minerales no renovables en la Amazonia Ecuatoriana. Artículos de investigación Acuicultura. 2010;1, 42-46.
3. Lalama J, Montes S, Zaldumbide M. Etnobotánica de plantas medicinales en el cantón Tena, para contribuir al conocimiento, conservación y valoración de la diversidad vegetal de la región amazónica. Rev Dominio las Ciencias. 2016;2, 26-48.
4. Ruiz L. Situación de la cadena productiva de las frutas amazónicas ecuatorianas. Quito, Ecuador: Corporación Alemana para la Cooperación Internacional (GIZ). 2003; 1-59.
5. Valencia R, Montúfar R, Navarrete H, Balslev H. Palmas Ecuatorianas: biología y uso sostenible. Herbario QCA de la PUCE. 2013; 136.
6. Quintero M, Martínez J, Orjuela S. Agroindustrial valorization of the pulp and peel, seed, flour, and oil of moriche (*Mauritia flexuosa*) from the Bita River, Colombia: a potential source of essential fatty acids. Biomass Conv. Bioref. 2022.
7. Cruz MB, da Silva W, Araújo RL, França AC, Pertuzatti PB. Buriti (*Mauritia flexuosa* L.) pulp oil as an immunomodulator against enteropathogenic *Escherichia coli*. Industrial Crops and Products. 2020;149: 112330.
8. Vásquez P, Freitas A, Sotero S. Chemical characterization and oxidative stability of the oils from three morphotypes of *Mauritia flexuosa* L.f, from the Peruvian Amazon. Grasas Aceites. 2010;61: 390–397.
9. Montiel K, Detlefsen G, Ureña C. Árboles y palmas emblemáticos de las Américas. 2020.
10. Carmona JC, Le M, Idárraga AM, González CH. Flavonoid/polyphenol ratio in *Mauritia flexuosa* and *Theobroma grandiflorum* as an indicator of effective antioxidant action. Molecules. 2021;26(21): 6431.
11. Pereira JA, Oliveira LDS, Lima KF, Ramos LS, Arcanjo SR, Lima CSD, Ferreira MP. In vitro and ex vivo chemopreventive action of *Mauritia flexuosa* products. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2018.
12. Tauchen J, Bortl L, Huml L, Miksatkova P, Doskocil I, Marsik P, Kokoska L. Phenolic composition, antioxidant and anti-proliferative activities of edible and medicinal plants from the Peruvian Amazon. Revista Brasileira de Farmacognosia. 2016;26(6): 728-737.
13. Koolen H, da Silva F, Gozzo F, de Souza A, de Souza A. Antioxidant, antimicrobial activities and characterization of phenolic compounds from buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) by UPLC–ESI-MS/MS. Food Research International. 2013; 51, 467-473.
14. Cândido TLN, Silva MR, Agostini TS. Bioactive compounds and antioxidant capacity of buriti (*Mauritia flexuosa* L.f.) from the Cerrado and Amazon biomes. Food Chem. 2015; 177: 313–319.
15. Pereira Freire JA, Barros KBNT, Lima LKF, Martins JM, Araújo C, da Silva GL, et al. Phytochemistry profile, nutritional properties and pharmacological activities of *Mauritia flexuosa*. Journal of Food Science. 2016;81(11): R2611-R2622.
16. Cardoso FC, Costa AP, Crispino ACS, Rocha AP, Oliveira JAR. Physicochemical characterization, bioactive compounds and antioxidant activity of pulp, peel, endocarp and food paste developed with buriti pulp and waste (*Mauritia flexuosa* L.). Scientia Plena. 2020;16(11).
17. Rivera M, Ramos M, Silva M, Briceño J, Álvarez M. Efecto de la temperatura previa a la extracción en el rendimiento y perfil de ácidos grasos del aceite de morete (*Mauritia flexuosa* LF). La granja. Revista de Ciencias de la Vida. 2022;35(1): 98-111.
18. Peñuela MC, Schwarz A, Monteros A, Zurita MG, Cayapa R, Romero N. Guía de la agrobiodiversidad: Tres comunidades. Kichwa, Atacapi, Alto Tena y Pumayacu. 2016.

19. Cotos MRC, Hameed IH, Escajadillo SBE, Llica ER, Figueroa MGR, Garcia JEO. Macronutrients, Polyphenols and Antioxidant capacity of the Peel and Pulp of the 13 fruit *Oenocarpus bataua* Mart." Ungurahui". Research Journal of Pharmacy and Technology. 2020;13(5): 2192-2198.
20. Montúfar R, Laffargue A, Pintaud JC, Hamon S, Avallone S, Dussert S. *Oenocarpus bataua* Mart.(*Arecaceae*): rediscovering a source of high oleic vegetable oil from Amazonia. Journal of the American Oil Chemists' Society. 2010;87: 167-172.
21. Burlando B, Cornara L. Revisiting Amazonian plants for skin care and disease. *Cosmetics*. 2017;4(3): 25.
22. Rezaire A, Robinson J, Bereau D, Verbaere A, Sommerer N, Khan M, Durand P, Prost E, Fils B. Amazonian palm *Oenocarpus bataua* ("patawa"): Chemical and biological antioxidant activity – Phytochemical composition. Food Chemistry. 2014;149: 62-70.
23. Bhatt DS, Debnath SC. Genetic diversity of blueberry genotypes estimated by antioxidant properties and molecular markers. *Antioxidants*, 2021; 10(3), 458.
24. Londoño JL. Antioxidantes: importancia biológica y métodos para medir su actividad. In Desarrollo y transversalidad serie Lasallista Investigación y Ciencia. Corporación Universitaria Lasallista. 2012; 129-162.
25. Lobo V, Patil A, Phatak A, Chandra N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacogn Rev*. 2010;4(8): 118–126.
26. Zaric BL, Macvanin MT, Isenovic ER. Free radicals: Relationship to Human Diseases and Potential Therapeutic applications. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 2023;154: 106346.
27. Phaniendra A, Jestadi DB, Periyasamy L. Free radicals: properties, sources, targets, and their implication in various diseases. *Indian journal of clinical biochemistry*. 2015;30: 11-26.
28. Liguori I, Russo G, Curcio F, Bulli G, Aran L, Della-Morte D, Abete P. Oxidative stress, aging, and diseases. *Clinical interventions in aging*. 2018;13: 757-772.
29. Leitner DR, Frühbeck G, Yumuk V, Schindler K, Micic D, Woodward E, Toplak H. Obesity and type 2 diabetes: two diseases with a need for combined treatment strategies-EASO can lead the way. *Obesity facts*. 2017;10(5): 483-492.
30. Poprac P, Jomova K, Simunkova M, Kollar V, Rhodes CJ, Valko M. Targeting free radicals in oxidative stress-related human diseases. *Trends in pharmacological sciences*. 2017;38(7): 592-607.
31. Criado C, Moya M. Vitaminas y antioxidantes. *Dep Med La Univ Auton Madrid*. 2009; 5-33.
32. Krinsky NI. Mechanism of Action of Biological Antioxidants. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1992;200: 248–254.
33. Shahidi F, Zhong Y. Measurement of antioxidant activity. *Journal of functional foods*. 2015;18: 757–781.
34. Lawal U, Leong SW, Shaari K, Ismail IS, Khatib A, Abas F. α -glucosidase inhibitory and antioxidant activities of Different *Ipomoea aquatica* cultivars and LC–MS/MS profiling of the active cultivar. *Journal of Food Biochemistry*. 2017;41(2).
35. Muccilli V, Cardullo N, Spatafora C, Cunsolo V, Tringali C. α -Glucosidase inhibition and antioxidant activity of an oenological commercial tannin. Extraction, fractionation and analysis by HPLC/ESI-MS/MS and ¹H NMR. *Food chemistry*. 2017;215: 50-60.
36. Hemalatha P, Bomzan DP, Rao BS, Sreerama YN. Distribution of phenolic antioxidants in whole and milled fractions of quinoa and their inhibitory effects on α -amylase and α -glucosidase activities. *Food chemistry*. 2016;199: 330-338.
37. Podsedek A, Majewska I, Kucharska AZ. Inhibitory potential of red cabbage against digestive enzymes linked to obesity and type 2 diabetes. *Journal of agricultural and food chemistry*. 2017;65(33): 7192-7199.
38. Zheng Y, Tian J, Yang W, Chen S, Liu D, Fang H, Ye X. Inhibition mechanism of ferulic acid against α -amylase and α -glucosidase. *Food Chemistry*. 2020; 317: 126346.

39. Jaiswal N, Srivastava SP, Bhatia V, Mishra A, Sonkar AK, Narender T, Srivastava AK, Tamrakar AK. Inhibition of α -glucosidase by *Acacia nilotica* prevents hyperglycemia along with improvement of diabetic complications via aldose reductase inhibition. *J Diabetes Metab*. 2013;6: 1–7.
40. Ali H, Houghton PJ, Soumyanath A. α -Amylase inhibitory activity of some Malaysian plants used to treat diabetes; with particular reference to *Phyllanthus amarus*. *Journal of ethnopharmacology*. 2006;107(3): 449-455.
41. Martínez AI, Díaz ÁG, De La Rosa LA, Bustos I, Alvarez EJ. Inhibition of α -amylase by flavonoids: Structure activity relationship (SAR). *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2019;206: 437-447.
42. Vargas JSA, Silva JDR, Rincon SNG. Inhibición de la α -glucosidasa mediante flavonoides de origen natural como vía de control en el desarrollo de diabetes mellitus. *Biociencias*. 2019;14(2): 161-181.
43. Tan Y, Chang SK. Digestive enzyme inhibition activity of the phenolic substances in selected fruits, vegetables and tea as compared to black legumes. *Journal of functional foods*. 2017; 38: 644-655.
44. Mendoza DL, Loza SA. Actividad inhibitoria alfa-amilasa y fenoles totales en extractos etanólicos de hojas de *Smallanthus sonchifolius* (yacón). *Revista Cubana de Plantas Medicinales*. 2014;19(4): 310-318.
45. Flohé L. Looking back at the early stages of redox biology. *Antioxidants*. 2020; 9(12): 1254.
46. Forman HJ, Zhang H. (2021). Targeting oxidative stress in disease: Promise and limitations of antioxidant therapy. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2021;20(9): 689-709.
47. Asmat U, Abad K, Ismail K. (2016). Diabetes mellitus and oxidative stress—A concise review. *Saudi pharmaceutical journal*. 2016;24(5): 547-553.
48. Sevilla O, Dublán O, Gómez L, López L. Actividad inhibitoria sobre α -glucosidasa y α -amilasa de extractos acuosos de algunas especias utilizados en la cocina mexicana. *CienciaUAT*. 2013;8(1): 42-47.
49. Jung M, Park M, Lee HC, Kang YH, Kang ES, Kim SK. Antidiabetic agents from medicinal plants. *Current medicinal chemistry*. 2006;13(10): 1203-1218.
50. Kwon YII, Vatter DA, Shetty K. Evaluation of clonal herbs of *Lamiaceae* species for management of diabetes and hypertension. *Asia pacific journal of clinical nutrition*. 2006; 15(1): 107-118.
51. Soto GM. Extractos polifenólicos de subproductos agroforestales: Actividad antioxidante e inhibitoria de la enzima α -glucosidasa. *Instituto de Ciencias Biomédicas*. 2019; 108.
52. Huang Y, Wu P, Ying J, Dong Z, Chen XD. Mechanistic study on inhibition of porcine pancreatic α -amylase using the flavonoids from dandelion. *Food Chemistry*. 2021;344: 128610.
53. Guachamin M, Ponce J, Bustillos M, Zurita MG, Cajas A, Peñuela MC. Plato amazónico. *ResearchGate*. 2020.
54. Guachamin M, Ponce J, Rueda V, Peñuela MC, Bustillos M, Cajas A, et al. ¡Alimentos amazónicos que fortalecen tu sistema inmune! *ResearchGate*. 2020.
55. Hashim A, Khan MS, Khan M, Baig M, Ahmad S. Antioxidant and α -amylase inhibitory property of *Phyllanthus virgatus* L.: an in vitro and molecular interaction study. *BioMed Research International*. 2013.
56. Bagchi D, Preuss HG, Swaroop A. (Eds.). *Nutraceuticals and functional foods in human health and disease prevention*. CRC Press. 2015.
57. Tomaz I, Huzanić N, Preiner D, Stupić D, Andabaka Ž, Maletić E, Ašperger D. Extraction methods of polyphenol from grapes: extractions of grape polyphenols. *In Polyphenols in plants*. 2019; 151-167.
58. Truong DH, Nguyen DH, Ta NTA, Bui AV, Do TH, Nguyen HC. Evaluation of the use of different solvents for phytochemical constituents, antioxidants, and in vitro anti-inflammatory activities of

severinia buxifolia. Journal of food quality. 2019.

59. Kupina S, Fields C, Roman MC, Brunelle SL. Determination of total phenolic content using the Folin-C assay: single-laboratory validation, first action 2017.13. Journal of AOAC International. 2018;101(5): 1466-1472.
60. Medina MB. Simple and rapid method for the analysis of phenolic compounds in beverages and grains. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 2011;59(5): 1565-1571.
61. Wang W, Li J, Zhang H, Wang X, Fan J, Zhang X. Phenolic compounds and bioactivity evaluation of aqueous and methanol extracts of *Allium mongolicum* Regel. Food Science & Nutrition. 2019;7(2): 779-787.
62. Sánchez MC, Larrauri JA, Saura CF. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. Journal of the Science of Food and Agriculture. 1998;76(2): 270-276.
63. Gulati V, Harding IH, Palombo EA. Enzyme inhibitory and antioxidant activities of traditional medicinal plants: potential application in the management of hyperglycemia. BMC complementary and alternative medicine. 2012;12(1): 1-9.
64. Aguado MI, Nuñez MB, Bela AJ, Okulik NB, & Bregni C. Caracterización fisicoquímica y actividad antioxidante de un extracto etanólico de *Aloysia polystachya* (Griseb.) Mold.(*Verbenaceae*). Revista mexicana de ciencias farmacéuticas. 2013;44(3): 46-51.
65. Re R, Pellegrini N, Proteggente A, Pannala A, Yang M, Rice EC. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free radical biology and medicine. 1999;26: 1231-1237.
66. Benzie IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. Analytical biochemistry. 1996;239(1): 70-76.
67. Wickramaratne MN, Punchihewa JC, Wickramaratne DBM. In-vitro alpha amylase inhibitory activity of the leaf extracts of *Adenantha pavonina*. BMC complementary and alternative medicine. 2016;16: 1-5.
68. Velu G, Palanichamy V, Rajan AP. Phytochemical and pharmacological importance of plant secondary metabolites in modern medicine. Bioorganic phase in natural food: an overview. 2018;135-156.
69. Resende LM, Franca AS, Oliveira LS. Buriti (*Mauritia flexuosa* L. f.) fruit by-products flours: Evaluation as source of dietary fibers and natural antioxidants. Food chemistry. 2019;270: 53-60.
70. Oreopoulou A, Tsimogiannis D, Oreopoulou V. Extraction of polyphenols from aromatic and medicinal plants: an overview of the methods and the effect of extraction parameters. Polyphenols in plants. 2019; 243-259.
71. Bensaada H, Soto MF, Carmona JC. Antioxidant activity of polyphenols, from *Mauritia flexuosa* (Aguaje), based on controlled dehydration. Molecules. 2022;27(10): 3065.
72. Bensaada H, Soto MF, Carmona JC. Antioxidant activity of polyphenols, from *Mauritia flexuosa* (Aguaje), based on controlled dehydration. Molecules. 2022;27(10): 3065.
73. Abreu R, Paredes JG, Granda G, Iturralde G, González AM, Alvarez JM. Bioactive compounds, phenolic profile, antioxidant capacity and effectiveness against lipid peroxidation of cell membranes of *Mauritia flexuosa* L. fruit extracts from three biomes in the Ecuadorian Amazon. Heliyon. 2020;6(10).
74. Vargas G, Merino C, Del Castillo ÁM, Quispe C, Viveros E, Simirgiotis MJ. Antioxidant, Antiproliferative and Anti-Enzymatic Capacities, Nutritional Analysis and UHPLC-PDA-MS Characterization of Ungurahui Palm Fruits (*Oenocarpus bataua* Mart) from the Peruvian Amazon. Antioxidants. 2022;11(8): 1598.
75. Repo de Carrasco R, Encina CR. Determinación de la capacidad antioxidante y compuestos bioactivos de frutas nativas peruanas. Revista de la sociedad química del Perú. 2008;74(2): 108-124.
76. Milanez JT, Neves LC, Colombo RC, Shahab M, Roberto SR. Bioactive compounds and antioxidant activity of buriti fruits, during the postharvest, harvested at different ripening stages. Scientia

Horticulturae. 2018;227: 10-21.

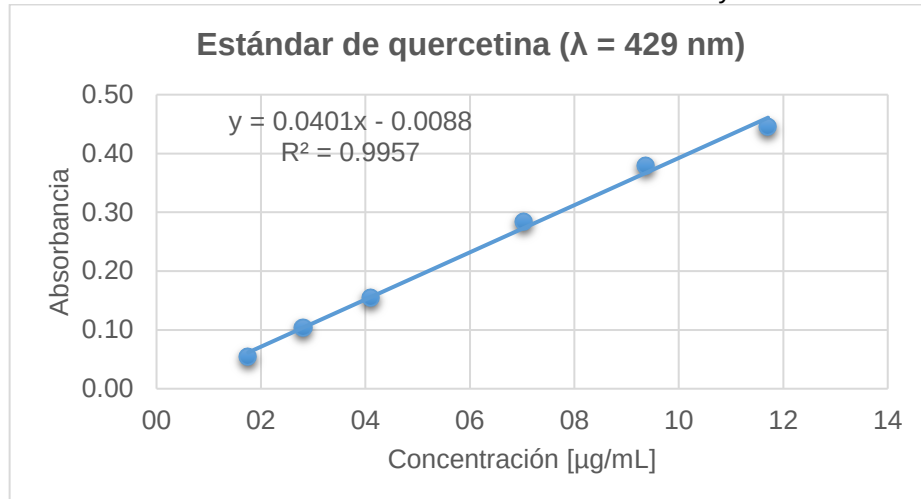
77. Méndez C, Cisneros PA, Loja BA, Monge R, Romero D, Fernández L, Espinoza PJ. Antioxidant Capacity through Electrochemical Methods and Chemical Composition of *Oenocarpus bataua* and *Gustavia macarenensis* from the Ecuadorian Amazon. *Antioxidants*. 2023;12(2): 318.
78. Saravia S, Montero I, Linhares B, Santos R, Marcia J. Mineralogical Composition and Bioactive Molecules in the Pulp and Seed of Pataúá (*Oenocarpus bataua* Mart.): A Palm from the Amazon. *International Journal of Plant & Soil Science*. 2020;31(6): 1-7.
79. Contreras J, Calderón L, Guerra E, García B. Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. *Food research international*. 2011;44(7): 2047-2053.
80. Nardini M, Garaguso I. Effect of sulfites on antioxidant activity, total polyphenols, and flavonoid measurements in white wine. *Foods*. 2018;7(3): 35.
81. Chaves N, Santiago A, Alías JC. Quantification of the antioxidant activity of plant extracts: Analysis of sensitivity and hierarchization based on the method used. *Antioxidants*. 2020;9(1): 76.
82. Schober P, Boer C, Schwarte LA. Correlation coefficients: appropriate use and interpretation. *Anesthesia & analgesia*. 2018;126(5): 1763-1768.
83. Vasco C, Ruales J, Kamal A. Total phenolic compounds and antioxidant capacities of major fruits from Ecuador. *Food chemistry*. 2008;111(4): 816-823.
84. Sadowska I, Bartosz G. Evaluation of the antioxidant capacity of food products: Methods, applications and limitations. *Processes*. 2022;10(10): 2031.
85. Apak R, Güçlü K, Özyürek M, Karademi r SEN, Altun M. Total antioxidant capacity assay of human serum using copper (II)-neocuproine as chromogenic oxidant: the CUPRAC method. *Free radical Research*. 2005;39(9): 949-961.
86. Schaich KM, Tian X, Xie J. Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: A critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays. *Journal of functional foods*. 2015;14: 111-125.
87. Mercado G, Carrillo R, Wall A, López JA, Álvarez E. Compuestos polifenólicos y capacidad antioxidante de especias típicas consumidas en México. *Nutrición hospitalaria*. 2013;28(1): 36-46.
88. Nobre CB, Sousa EO, Camilo CJ, Machado JF, Silva JM, Filho JR, Costa JG. Antioxidative effect and phytochemical profile of natural products from the fruits of "babaçu" (*Orbignia speciosa*) and "buriti" (*Mauritia flexuosa*). *Food and Chemical Toxicology*. 2018;121: 423-429.
89. Forero O, Gallego J, Valdes O, Pinzon C, Santos LS, Guzmán L. Relationship between oxidative stability and antioxidant activity of oil extracted from the peel of *Mauritia flexuosa* fruits. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. 2016;123: 2173-2178.
90. Santos MFG, Alves RE, Ruíz MV. Minor components in oils obtained from Amazonian palm fruits. *Grasas y aceites*. 2013;64: 531-536.
91. Santos MF, Alves RR, Roca M. Carotenoid composition in oils obtained from palm fruits from the Brazilian Amazon. *Grasas Aceites*. 2015;66: 1-8.
92. Zhang M, Swarts SG, Yin L, Liu C, Tian Y, Cao Y, Okunieff P. (2011). Antioxidant properties of quercetin. In *Oxygen transport to tissue XXXII* (pp. 283-289). Springer US. 2011.
93. Prasad R, Prasad SB. A review on the chemistry and biological properties of Rutin, a promising nutraceutical agent. *Asian J. Pharm. Pharmacol*. 2019;5(S1): 1-20.
94. Prakash M, Basavaraj BV, Murthy KC. Biological functions of epicatechin: Plant cell to human cell health. *Journal of functional foods*. 2019;52: 14-24.
95. Musial C, Kuban A, Gorska M. Beneficial properties of green tea catechins. *International journal of molecular sciences*. 2020;21(5): 1744.
96. Bataglion GA, Silva FMA, Eberlin MN, Koolen HHF. Simultaneous quantification of phenolic compounds in buriti fruit (*Mauritia flexuosa* L. f.) by ultra-high performance liquid chromatography

coupled to tandem mass spectrometry. Food Res Intl. 2014;66: 396–400.

97. Rodrigues AM, Darnet BS, Silva LH. Fatty acid profiles and tocopherol contents of Buriti (*Mauritia flexuosa*), Patawa (*Oenocarpus bataua*), Tucuma (*Astrocaryum vulgare*), Mari (*Poraqueiba paraensis*) and Inaja (*Maximiliana maripa*) fruits. J Braz Chem Soc. 2010;21: 2000–4.
98. Darnet SH, Silva LHM, Rodrigues AMC, Lins RT. Nutritional composition, fatty acid and tocopherol contents of buriti (*Mauritia flexuosa* L.) and patawa (*Oenocarpus bataua*) fruit pulp from the Amazon region. Ciênc Tecnol Aliment. 2011;3: 488–91.
99. Aquino JS, Soares JKB, Magnani M, Stamford TCM, Mascarenhas RJ, Tavares RL, Stamford TLM. Effects of dietary brazilian palm oil (*Mauritia flexuosa* L.) on cholesterol profile and vitamin A and E status of rats. Molecules. 2015;20: 9054–70.
100. Lima AL, Lima KS, Coelho MJ, Silva JM, Godoy RL, Pacheco S. Evaluation of gamma irradiation effects on carotenoids, ascorbic acid and sugar contents of buriti fruit (*Mauritia flexuosa* L.). Acta Amaz. 2009;39: 649–654.
101. Kim YJ. Antimelanogenic and antioxidant properties of gallic acid. Biological and Pharmaceutical Bulletin. 2007;30(6): 1052-1055.
102. Wianowska D, Olszowy M. A concise profile of gallic acid—From its natural sources through biological properties and chemical methods of determination. Molecules. 2023;28(3): 1186.
103. Gil M, Wianowska D. Chlorogenic acids—their properties, occurrence and analysis. Annales Universitatis Mariae Curie-Skłodowska, sectio AA—Chemia. 2017; 72(1).
104. Colunga R L, Berrill M, Marik PE. The antiviral properties of vitamin C. Expert review of anti-infective therapy. 2020;18(2): 99-101.
105. Niki E, Abe K. Vitamin E: Structure, properties and functions. 2019.
106. Thurow T. Effect of chlorogenic acid and neochlorogenic acid on human colon cancer cells. J Neurol Sci. 2012.
107. Bhandari MR, Jong N, Hong G, Kawabata J. α -Glucosidase and α -amylase inhibitory activities of Nepalese medicinal herb Pakhanbhed (*Bergenia ciliata*, Haw.). Food Chemistry. 2008;106(1): 247-2.

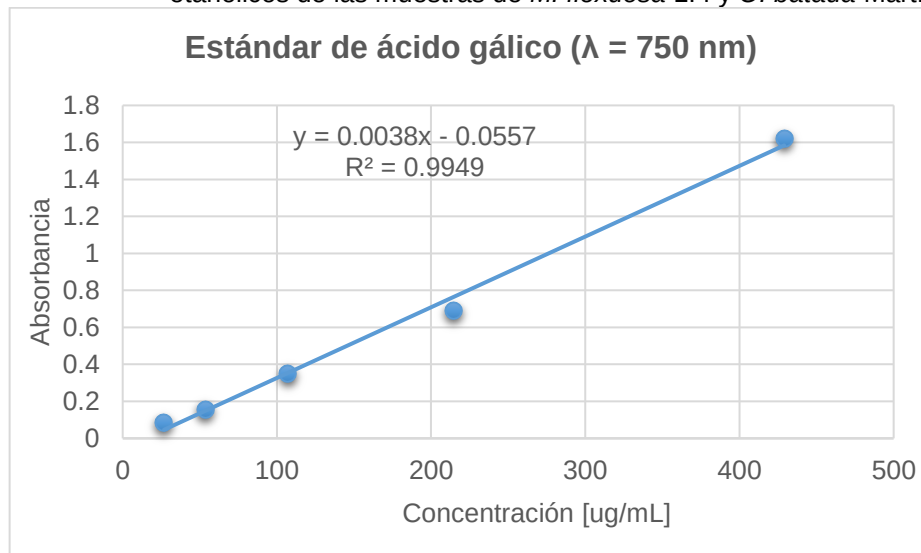
ANEXOS

Anexo 1. Curva de calibración de quercetina para la cuantificación del contenido total de flavonoides presentes en los extractos etanólicos de las muestras de *M. flexuosa* L. f y *O. bataua* Mart.



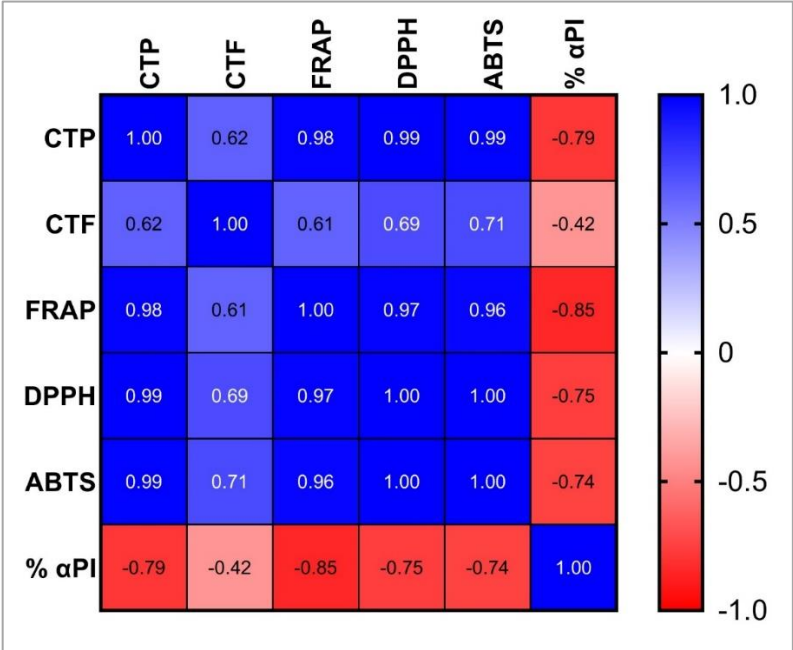
Realizado por: Reyes, Roberth, 2023.

Anexo 2. Curva de calibración de ácido gálico para la cuantificación del contenido total de polifenoles presentes en los extractos etanólicos de las muestras de *M. flexuosa* L. f y *O. bataua* Mart.



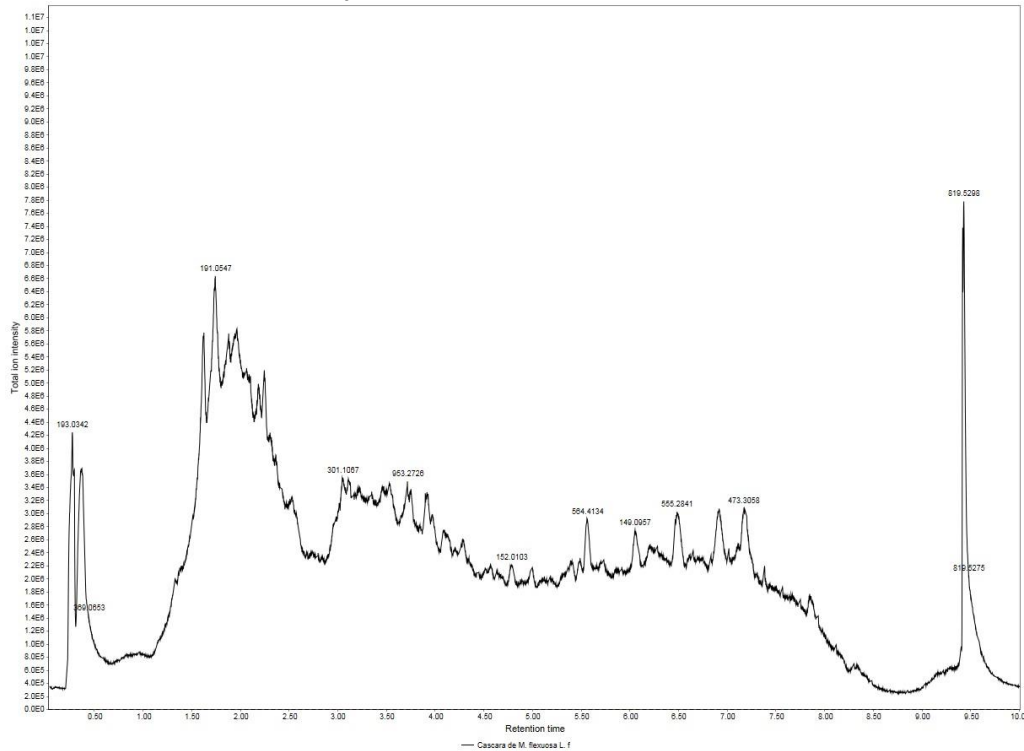
Realizado por: Reyes, Roberth, 2023.

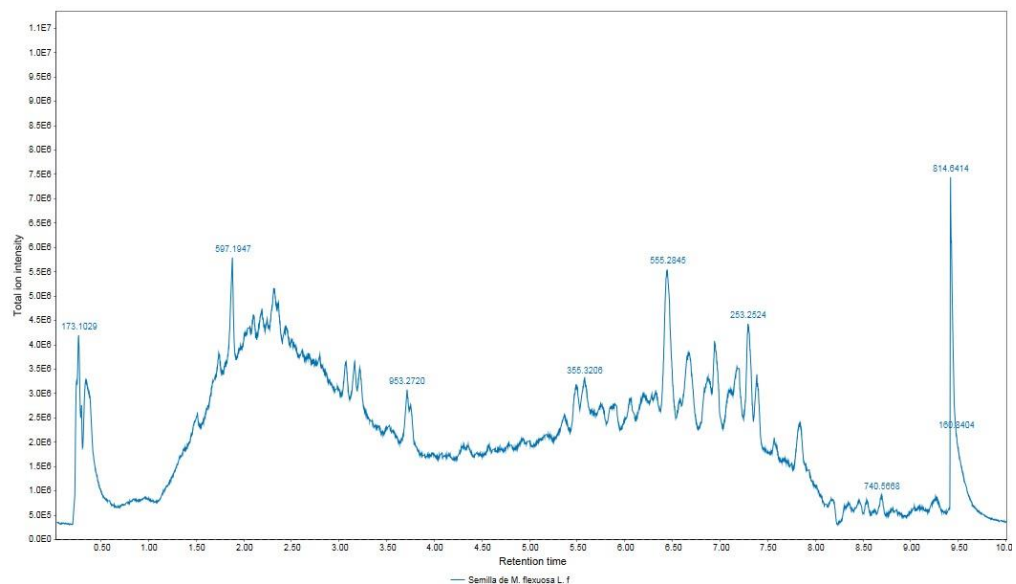
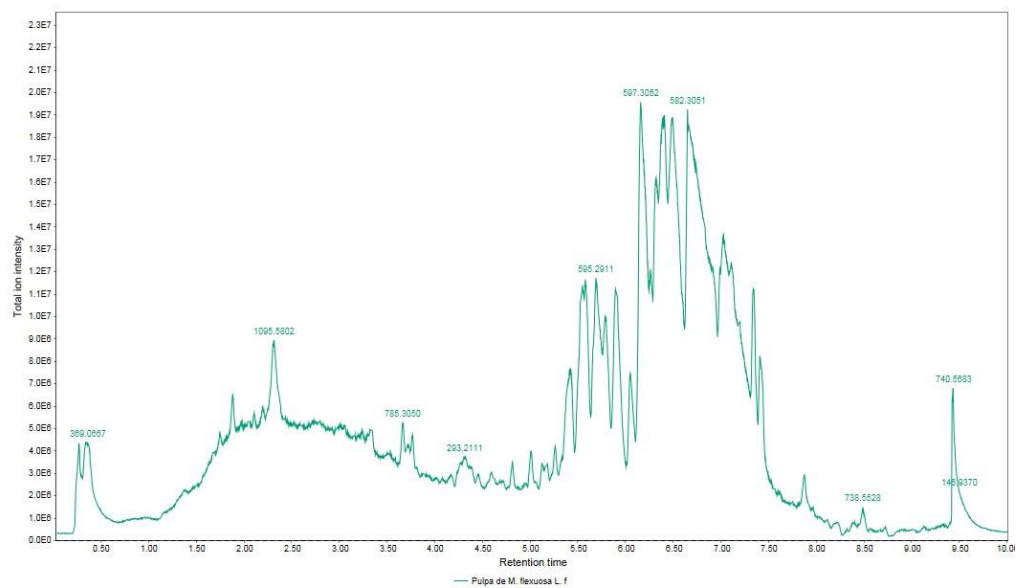
Anexo 3. Correlación de Pearson entre los ensayos fitoquímicos, antioxidantes y enzimático.

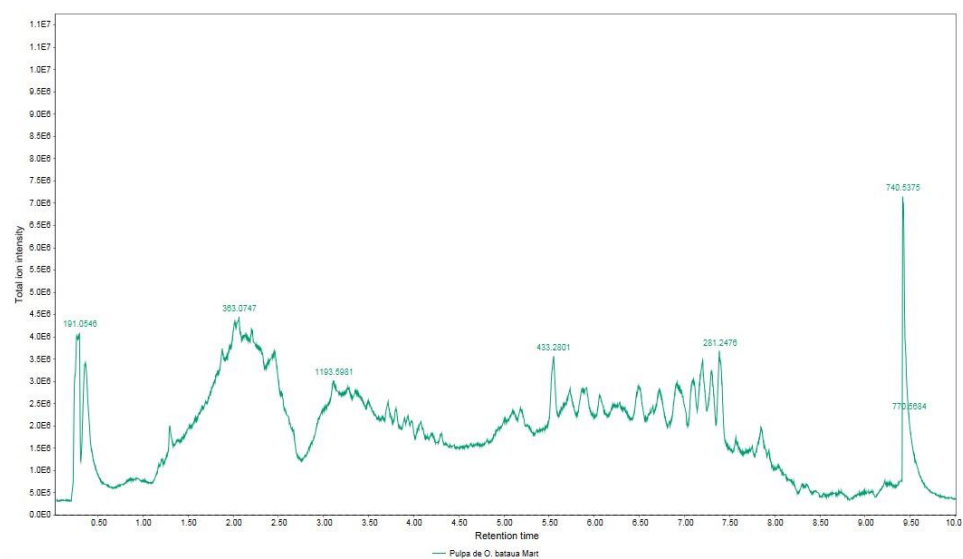
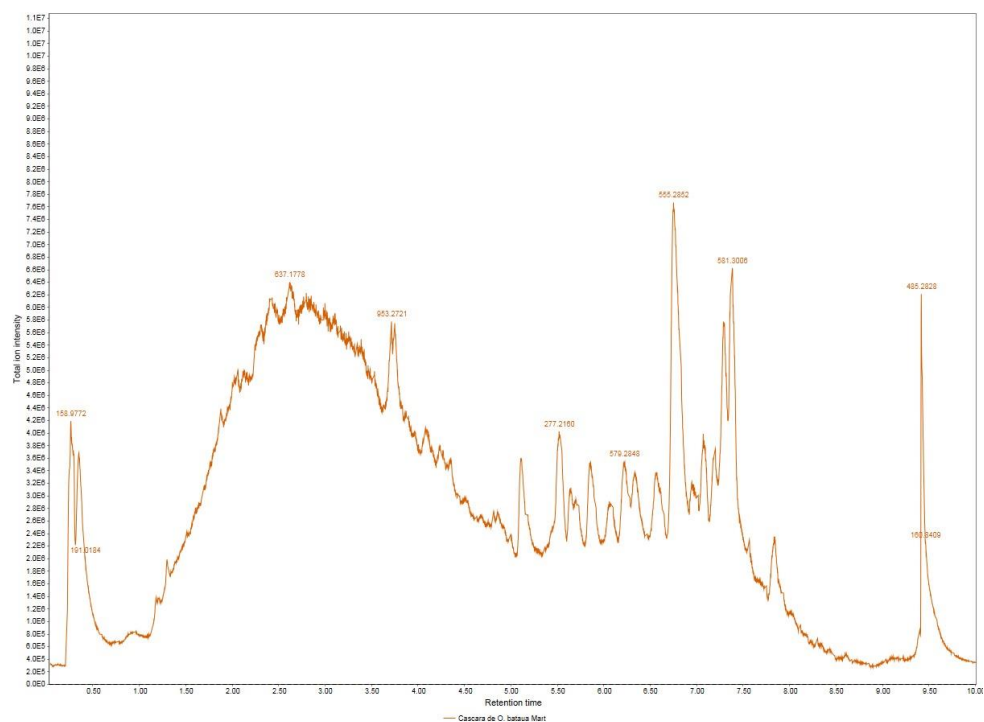


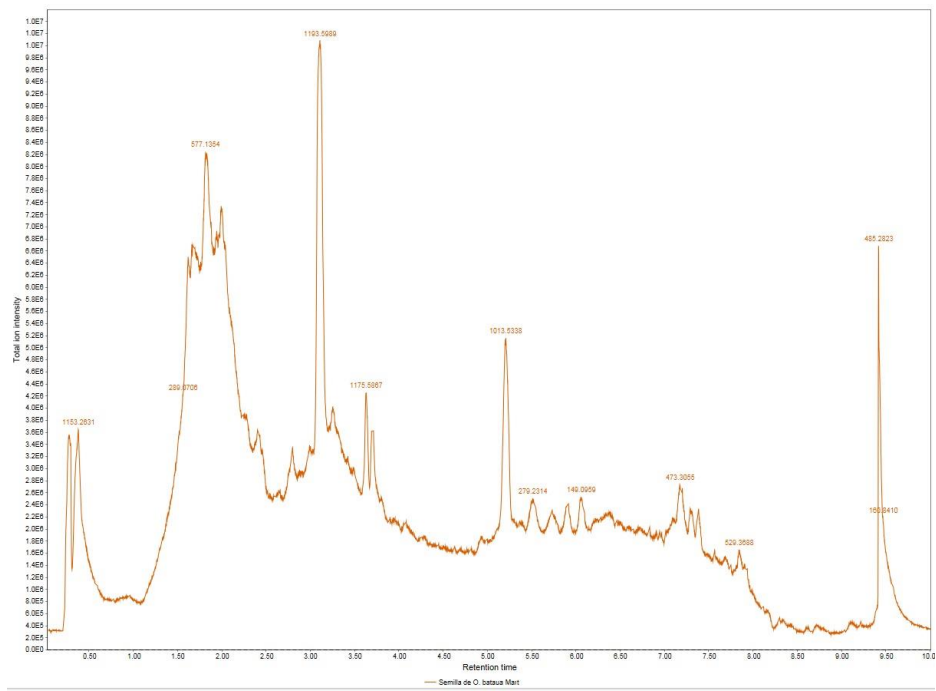
Realizado por: Reyes, Roberth, 2023.

Anexo 4. Cromatogramas de Iones Totales (TIC) de la cáscara, pulpa y semilla de *M. flexuosa* L. f y *O. bataua* Mart obtenidos en UPLC-MS/MS.









Realizado por: Reyes, Roberth, 2023.