

**UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA
LA MOLINA**

FACULTAD DE CIENCIAS FORESTALES



**EVALUACIÓN QUÍMICA DEL FRUTO DE
"CHARÁN" (*Caesalpinia paipai* Ruiz & Pavón),
PROVENIENTES DE MOTUPE, LAMBAYEQUE**

Presentado por:

Franco Canepa Pareja

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO DE
INGENIERO FORESTAL

Lima - Perú
2018

ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los Miembros del Jurado que suscriben, reunidos para calificar la sustentación del Trabajo de Tesis, presentado por el ex-alumno de la Facultad de Ciencias Forestales, Bach. FRANCO CANEPA PAREJA, intitulado “EVALUACIÓN QUÍMICA DEL FRUTO DE "CHARÁN" (*CAESALPINIA PAIPAI* RUIZ & PAVÓN), PROVENIENTES DE MOTUPE, LAMBAYEQUE ”.

Oídas las respuestas a las observaciones formuladas, lo declaramos:

.....

con el calificativo de

En consecuencia queda en condición de ser considerado APTO y recibir el título de INGENIERO FORESTAL.

La Molina, 21 de noviembre de 2017

.....
Mg. Sc. Florencio Trujillo Cuellar
Presidente

.....
Ing. Manuel Chavesta Custodio
Miembro

.....
Mg. Sc. Graciela Egoavil Cueva Mora
Miembro

.....
Dr. Héctor Enrique Gonzáles Mora
Asesor

.....
Lic. Deysi Guzmán Loayza
Co asesora

DEDICATORIA

A mi familia. En especial a mi mama por su esfuerzo.

A todos los que hicieron que esto sea posible.

AGRADECIMIENTOS

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento al Profesor Enrique Gonzales y a la profesora Deisy Guzmán, por su tiempo y los consejos para la realización de la tesis

Me gustaría agradecer a la Asociación de protección de los Bosques Secos del caserío el Choloque (ASPROBOS).

A mi familia, a mis padres Juan Luis y Rocío, por darme motivación y fortaleza.

A Carla por su ayuda en todo momento.

A mis amigos por su apoyo incondicional.

A todos los que me apoyaron en la realización de la tesis.

RESUMEN

El charán (*Caesalpinia paipai* Ruiz & Pavón) es una especie vegetal de porte arbustivo o arbóreo perteneciente a la familia de las Fabáceas, procedente de los bosques secos de la costa norte del Perú. La presente investigación tiene como objetivo la evaluación química del fruto de *Caesalpinia paipai* “charán”, estos frutos de tipo legumbre fueron recolectados en Abril del 2015, provenientes del distrito de Motupe, provincia de Lambayeque. Los frutos fueron separados en capas (epicarpio y mesocarpio más endocarpio), para identificar sus metabolitos y conocer su potencial aprovechamiento. El tamizaje fitoquímico pudo comprobar la existencia evidente de metabolitos primarios y secundarios como: azúcares reductores, fenoles, flavonoides, cumarinas, núcleos esteroidales y triterpénicos y saponinas. Además se detectó en la evaluación fitoquímica una mayor presencia de núcleos triterpénicos y esteroidales para el epicarpio; y una mayor existencia de cumarinas y flavonoides para el mesocarpio. Los resultados mostraron que el contenido de humedad promedio entre los frutos de cada árbol fue de 10,83 por ciento y los porcentajes de cenizas fueron de 2,9 por ciento y 3,47 por ciento para el epicarpio y mesocarpio respectivamente. Los ensayos que se realizaron en los extractos de epicarpio y mesocarpio del fruto fueron tres: solubilidad, sólidos solubles totales y sólidos totales. En la primera prueba para los extractos de epicarpio y mesocarpio se obtuvo una mayor extracción de compuestos solubles con etanol de 50°. En la segunda prueba para los extractos de epicarpio y mesocarpio se obtuvieron los mayores valores en °Brix para el etanol a 70°, con porcentajes de sólidos solubles totales de 21,97 por ciento y 23,65 por ciento respectivamente. En la tercera prueba para los extractos de epicarpio y mesocarpio los sólidos totales contenidos en los extractos fueron mayores para el etanol a 50°, con porcentajes de 23,87 por ciento y 35,29 por ciento respectivamente. Estos frutos tienen un potencial uso farmacológico por la acción antiinflamatoria, antioxidante, antidiarreica, antiséptica, antibacteriana y astringente que producen los metabolitos.

Palabras clave: Fitoquímica, Metabolitos, Extractos, Maceración, *Caesalpinia*

ÍNDICE GENERAL

	Página
I. Introducción	1
II. Revisión de Literatura	3
1. Clasificación Taxonómica:	3
2. Distribución Geográfica:	3
3. Descripción Botánica:	4
4. Usos Principales:	5
5. Proceso de Extracción	6
5.1. Maceración	7
6. Sólidos Totales	7
7. Sólidos Solubles Totales	7
8. Contenido de cenizas	8
9. Metabolitos Primarios	8
9.1. Azúcares	8
9.2. Lípidos	9
9.3. Proteínas	9
10. Metabolitos Secundarios	10
10.1. Alcaloides	11
10.2. Compuestos Fenólicos	12
10.3. Terpenoides	18
10.4. Grupos Funcionales de cadena abierta	22
11. Antecedentes de la Fitoquímica del género <i>Caesalpinia</i> :	22
III. Materiales y Métodos	24
1. Materiales	24
1.1. Materiales de campo	24
1.2. Materiales de laboratorio	24
1.3. Equipos de laboratorio	25
1.4. Reactivos e insumos de laboratorio	25
2. Lugar de colección	27
2.1. Descripción del área de Muestreo	27
3. Obtención del material botánico	29
4. Preparación de la Muestra	30
5. Rendimiento y dimensión del fruto	31
6. Ensayos que se realizaron en las capas de la vaina	31
6.1. Ensayo de Humedad	31
6.2. Ensayo de Cenizas Totales	31
6.3. Ensayo de Solubilidad	32
6.4. Ensayo de Sólidos Solubles totales	32
6.5. Ensayo de Sólidos totales	32
6.6. Preparación del extracto	33
7. Diseño Experimental	33
7.1. Análisis Fitoquímico	35
IV. Resultados y discusión	41
1. Composición y dimensiones del fruto de charán	41
2. Ensayo de Humedad	45
3. Ensayo de Cenizas	46

4. Ensayo Solubilidad.....	47
5. Ensayo de Sólidos Solubles totales.....	48
6. Ensayo de Sólidos totales	49
7. Análisis Fitoquímico.....	51
7.1. Metabolitos primarios.....	54
7.2. Metabolitos secundarios.....	55
V. Conclusiones	65
VI. Recomendaciones	67
VII. Referencias bibliográficas	69
VIII. Anexos.....	83

Índice de tablas

	Página
Tabla 1: Calificación para el análisis fitoquímico	39
Tabla 2: Contenido de humedad de los frutos de charán (<i>Caesalpinia paipai</i> Ruiz & Pavón)	45
Tabla 3: Tamizaje Fitoquímico de los extractos de las capas de charán.....	52
Tabla 4: Color del precipitado para el ensayo de <i>Fehling</i>	54
Tabla 5: Color de la reacción para el ensayo de <i>Sudan III</i>	54
Tabla 6: Color de la reacción para el ensayo de <i>Millon</i>	55
Tabla 7: Color de la reacción para el ensayo de <i>Wagner</i>	55
Tabla 8: Color de la reacción para el ensayo de <i>Mayer</i>	56
Tabla 9: Color de la reacción para el ensayo de <i>Erdmann</i>	56
Tabla 10: Color de la reacción para el ensayo de <i>Marquis</i>	57
Tabla 11: Color de la reacción para el ensayo de Gelatina salada	57
Tabla 12: Color de la reacción para el ensayo de Cloruro férrico.....	58
Tabla 13: Color de la reacción para el ensayo de <i>Shinoda</i>	58
Tabla 14: Color de la reacción para el ensayo de <i>Baljet</i>	59
Tabla 15: Color de la reacción para el ensayo de <i>Bornträger</i> – Quinonas	59
Tabla 16: Color de la reacción para el ensayo de <i>Bornträger</i> – Antraquinonas y Naftoquinonas	60
Tabla 17: Color de la reacción para el ensayo de Ácido Tricloroacético	60
Tabla 18: Color de la reacción para el ensayo de espuma.....	61
Tabla 19: Color de la reacción para el ensayo de <i>Rosenthaler</i>	61
Tabla 20: Color de la reacción para el ensayo de $SbCl_3/HClO_4$	62
Tabla 21: Color de la reacción para el ensayo de <i>Baeyer</i>	62
Tabla 22: Color de la reacción para el ensayo de $CH_2O-H_2SO_4$	63

Índice de figuras

	Página
Figura 1: Árbol de charán (<i>Caesalpinia paipai</i> Ruiz & Pavón)	5
Figura 2: Imagen del fruto de “charán”, vistas longitudinal y transversal (Epicarpio: negro – verdusco; Mesocarpio y endocarpio: amarillo – crema).....	5
Figura 3: Elementos del metabolismo del carbono en relación con las rutas de síntesis de metabolitos.....	11
Figura 4: Estructura básica de los compuestos fenólicos.....	13
Figura 5: Estructura química de la cumarina y de la 7 – hidroxycumarina.....	14
Figura 6: Estructura general de los flavonoides	15
Figura 7: Composición de los taninos hidrolizables	17
Figura 8: Estructura de un tanino condensable	18
Figura 9: Ruta del ácido mevalónico.....	19
Figura 10: Triterpeno tetracíclico y pentacíclico	20
Figura 11: Hidrólisis de las saponinas	21
Figura 12: Formación de glicol. Reacción de <i>Baeyer</i>	22
Figura 13: Mapa Forestal de la comunidad de Tongorrape	28
Figura 14: Recolección de frutos en los árboles muestreados provenientes de la comunidad Campesina de Tongorrape, distrito de Motupe, provincia de Lambayeque	29
Figura 15: Muestras secadas al aire libre separadas por árboles	30
Figura 16: Molino de martillo <i>Thomas</i> y bolsas con las muestras de epicarpio y mesocarpio del árbol 1.	30
Figura 17: Toma de medidas de las dimensiones del fruto de charán (<i>Caesalpinia paipai</i> Ruiz & Pavón).....	31
Figura 18: Filtrado en matraces de los extractos hidroetanólicos y residuo luego de secado de la alícuota en la estufa de una repetición.	32
Figura 19: Composición promedio de los frutos de charán	41
Figura 20: Gráfica de comparación de medias del peso de epicarpio de charán (<i>Caesalpinia paipai</i> Ruiz & Pavón)	42
Figura 21: Gráfica de comparación de medias del peso de mesocarpio de charán (<i>Caesalpinia paipai</i> Ruiz & Pavón)	42
Figura 22: Gráfica de comparación de medias de la longitud de los frutos de charán (<i>Caesalpinia paipai</i> Ruiz & Pavón)	43

Figura 23:	Gráfica de comparación de medias del ancho de los frutos de charán (<i>Caesalpinia paipai</i> Ruiz & Pavón)	44
Figura 24:	Gráfica de comparación de medias del espesor de los frutos de charán (<i>Caesalpinia paipai</i> Ruiz & Pavón)	44
Figura 25:	Histograma del porcentaje promedio de cenizas de las capas del pericarpio de los frutos de charán (<i>Caesalpinia paipai</i> Ruiz & Pavón).....	46
Figura 26:	Solubilidad en etanol del Epicarpio y Mesocarpio de cada árbol.....	47
Figura 27:	Gráfico de barras de la prueba de Tukey ($p>0,05$) para los datos de solubilidad	48
Figura 28:	Sólidos Solubles Totales en etanol del Epicarpio y Mesocarpio de cada árbol ...	49
Figura 29:	Sólidos Totales en etanol del Epicarpio y Mesocarpio de cada árbol	50
Figura 30:	Gráfico de barras de la prueba de Tukey ($p>0,05$) para los datos de sólidos totales	51

Índice de anexos

	Página
Anexo 1 Ubicación y características de los árboles muestreados	83
Anexo 2 Procedimiento del ensayo de humedad gravimétrica	85
Anexo 3 Procedimiento para contenido de cenizas totales	86
Anexo 4 Procedimiento para el ensayo de solubilidad.....	87
Anexo 5 Procedimiento para el ensayo de sólidos solubles totales	88
Anexo 6 Procedimiento para el ensayo de sólidos totales.....	89
Anexo 7 Resultados de los ensayos	90
Anexo 8 Análisis estadísticos realizados a los resultados de los ensayos.....	94
Anexo 9 Imágenes de los resultados de la marcha fitoquímica	101

I. INTRODUCCIÓN

Rasal *et al.* (2011) señala que el bosque seco está considerado como una zona de importancia biológica por ser un ecosistema singular, muy amenazado y poco conocido, con la presencia de especies endémicas y un importante grado de diversidad local y regional, en una superficie relativamente reducida. La FAO (2004), menciona que a diferencia de los bosques tropicales de interés maderable, los bosques secos generan una oferta principalmente de recursos no maderables, obtenidos de hojas, flores y frutos, por lo que es necesario el manejo de las copas de los árboles para el desarrollo de las actividades productivas.

Zoroguastúa *et al.* (2011), manifiesta que los bosques secos constituyen una parte importante de la superficie forestal del Perú, presentando su mayor extensión en la región norte del país. Entre las principales especies que se encuentran en el bosque seco del norte está el “charán” (*Caesalpinia paipai* Ruiz & Pavón). El charán es considerado de porte arbóreo o arbustivo, caducifolio, de fuste irregular, presenta un fruto de tipo legumbre (vaina) de color negro – verduzco, de forma aplanada (Macbride 1943; Zevallos 1986). Su madera se usa para carbón, leña, vigas y columnas. Las hojas, flores y frutos sirven como forraje del ganado vacuno y caprino. Medicinalmente los frutos molidos han sido utilizados para cicatrizar heridas, la semilla y corteza para curar las caries y en cocción para problemas de amigdalitis (Estrella *et al.* 2007; Noboa 2010; Romero *et al.* 2016). Las legumbres secas son usadas en curtiembre y para obtener tintes que proporcionan un colorante negro (Macbride 1943; Fernández *et al.* 2007; Noboa 2010).

Por otro lado, las células de las plantas producen metabolitos secundarios importantes resultado de la interacción de la planta con el medio ambiente (protección frente a depredadores, patógenos y estrés ambiental) o con factores relacionados a la función reproductiva de la planta (atracción de insectos para la promoción de la polinización) (Jaramillo 2014). Para el estudio de los metabolitos extraídos de las plantas se aplica la fitoquímica, rama de la química que enseña cómo aislar e identificar los principios activos de numerosos vegetales con importante actividad biológica (Espinal 2009).

La presente investigación tuvo como finalidad evaluar mediante la marcha fitoquímica la presencia de metabolitos primarios y secundarios en el epicarpio y el mesocarpio del fruto de charán, con el fin de conocer la presencia de los compuestos químicos y conocer su potencial de aprovechamiento. De esta manera se busca contribuir con la información existente sobre el charán y su importancia dentro de los bosques secos del Perú.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

1. CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA:

Según Groom (2012):

Reino: Vegetal

División: Tracheophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Fabales

Familia: Leguminosae o Fabaceae

Género: *Caesalpinia*

Nombre Científico: *Caesalpinia paipai* Ruiz & Pavón

Nombre Común: “Charán”

Sinónimos: *Caesalpinia corymbosa* Benth

Caesalpinia glabrata H.B.K.

Libidibia corymbosa (Benth) Britton & Killip

2. DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA:

En Sudamérica se distribuye en países como Venezuela, Colombia, Ecuador, Perú y Bolivia (Grandtner *et al.* 2014). En Perú se le puede encontrar en los departamentos de Amazonas, Ancash, Cajamarca, Lambayeque, Lima, La Libertad, Loreto, Piura y Tumbes (Macbride 1943; Noboa 2010). Es una especie perteneciente a los bosques secos. El hábitat en el que se encuentra es en las montañas bajas y medias, con altitudes entre 0 a 500 msnm. Es una

especie pionera, que se desarrolla mejor y más rápidamente en zonas áridas y en otras tropicales (Estrella al. 2007; Noboa 2010; Romero *et al.* 2016).

3. DESCRIPCIÓN BOTÁNICA:

Según Zevallos (1986):

ÁRBOL: o arbusto caducifolia, de fuste irregular, conspicuamente nudosa, 2.5 a 5.5 m de altura y 15 – 25 cm de diámetro, copa aparasolada. (Figura 1).

HOJAS: bipinnadas y alternas, con estípulas; pinnas cortas de 3 a 8 pares por hoja; pinnas 4 a 10 pares de foliolos; foliolos oblongos elípticos; ápice obtuso, entero; alrededor 8 mm longitud por 3 – 4 mm de ancho; ramitas terminales ligeramente pubescentes.

INFLORESCENCIA: en corimbo; flores amarillo encendido, bisexuales, ligeramente irregular de 10 a 15 mm de longitud; sépalos, soldados en la base, 5 lóbulos; pétalos libres; amarillos, espatuladas – semi-oblingas, base irregular, consistencia coriácea con vellosoidad en la base del envés mayormente, 6 – 8 mm de longitud, conspicuos; 9 estambres perigíneos, base ancha, antera digitada, dorsifija, dehiscencia longitudinal, filamento con pelos oscuros denso la base; ovario súpero, 1 carpelar, 1 locular, placentación parietal, 2 – 3 o más óvulos.

FRUTO: es una vaina negro – verduzco aplanadas, ásperas, 3 – 7,5 cm de longitud, por 3 – 4 mm grosor, glabro. Fernández *et al.* (2007), indica que el fruto es una vaina indehiscente, recta, curvada, aguda, comprimida, gruesa o algo irregular, oscura, lisa y opaca; pericarpio con tejido esponjoso y macizo (Figura 2).

SEMILLAS: son de color verde oscuro con endosperma duro.



Figura 1: **Árbol de charán** (*Caesalpinia paipai* Ruiz & Pavón)

FUENTE: Elaboración propia

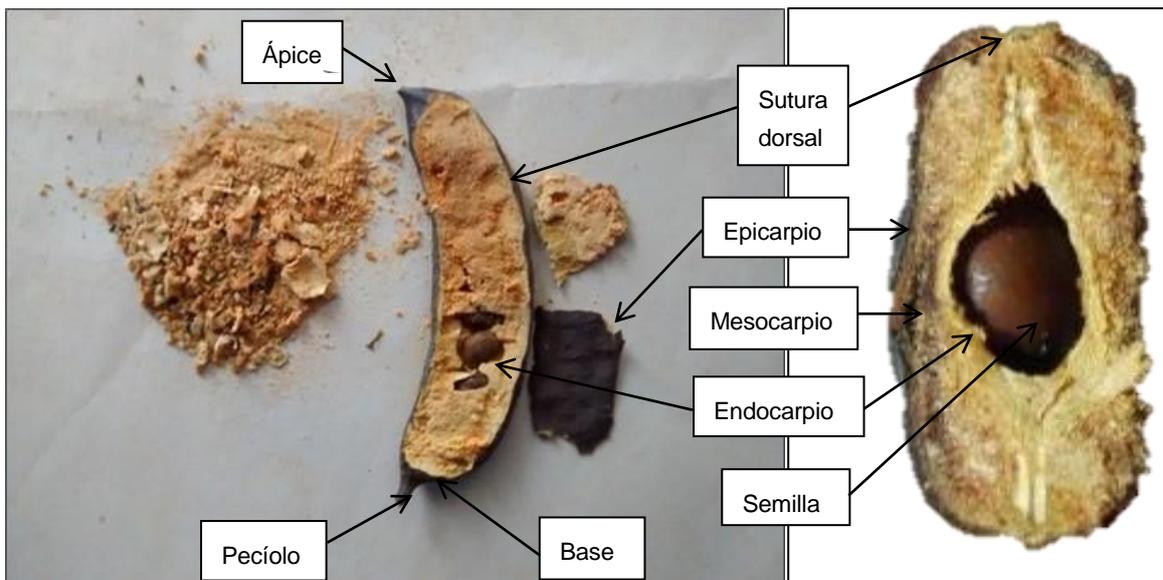


Figura 2: **Imagen del fruto de “charán”, vistas longitudinal y transversal**
(Epicarpio: negro – verdusco; Mesocarpio y endocarpio: amarillo – crema)

FUENTE: Gunn (1991); Elaboración propia.

4. USOS PRINCIPALES:

Su madera se usa para carbón, leña, vigas y columnas. Las hojas, flores y frutos sirven como forraje del ganado vacuno y caprino. Medicinalmente los frutos molidos han sido utilizados para cicatrizar heridas, la semilla y corteza para curar las caries y en cocción para problemas

de amigdalitis (Estrella *et al.* 2007; Noboa 2010; Romero *et al.* 2016). Las legumbres secas son usadas en curtiembre y proporcionan un colorante negro a los tejidos (Macbride 1943; Fernández *et al.* 2007; Noboa 2010).

5. PROCESO DE EXTRACCIÓN

Según Guerra (2005), mediante la extracción se separan sustancias por disolución de cada componente; sirviéndose de uno o varios disolventes, donde siempre se obtienen dos componentes: la solución extraída en su disolvente (extracto) y el residuo.

La muestra vegetal entera o dividida en fragmentos gruesos sería incompleta, debido a la pobre penetración del disolvente en el tejido vegetal, esta sería muy lenta debido a que las membranas celulares actúan como barreras que dificultan el proceso de extracción. La molienda tiene como objetivo la disminución del tamaño de las partículas de la muestra vegetal, favoreciendo a la disolución de los constituyentes celulares en el líquido disolvente. (Sharapin *et al.* 2000; Guerra 2005).

Dentro de las operaciones de extracción se encuentra el sistema de extracción sólido – líquido, que consiste en una operación básica cuya finalidad es la separación de uno o más componentes contenidos en una fase sólida, mediante la utilización de una fase líquida o disolvente. El componente o los componentes que se transfieren de la fase sólida a la líquida reciben el nombre de soluto, mientras que el sólido insoluble se denomina inerte. Algunos ejemplos de esta operación se dan en la maceración del proceso de extracción de sacarosa de la caña de azúcar o la extracción de aceites esenciales de cítricos, entre otros (Zapata 2014).

Dependiente de la finalidad deseada, el solvente utilizado extrae, selectivamente o no, cierta clase de compuestos. Entre los solventes más utilizados están los alcoholes alifáticos de hasta 3 carbonos (metanol y etanol) o mezclas de éstos con el agua. Éstos solventes logran extraer la gran mayoría de las sustancias naturales de interés como los alcaloides, los flavonoides, los glicósidos cardiotónicos y los terpenos. El etanol y sus mezclas con agua son los solventes por excelencia para la obtención de extractos y tinturas (Jaramillo 2014). Los procesos que dan como resultado un equilibrio de la concentración entre el soluto y el residuo son la maceración y la maceración dinámica (Estrada 2011).

5.1. MACERACIÓN

Guerra (2005), señala que el principio de maceración consiste en que la muestra vegetal, con un grado de finura prescrito, se pone en contacto duradero con el solvente, se deben realizar agitaciones frecuentes a lo largo de varios días, tratando de influenciar el gradiente de concentración. Al principio de la extracción esta gradiente está en el punto máximo, con el correr de los días, a pesar de la agitación, éste disminuye. Se separa el extracto del residuo por medio de un colado. El tiempo de maceración en esta extracción se acorta muchísimo debido al tipo de movimiento de agitación que se utiliza, así como trabajar a temperaturas hasta de 20 °C. El procedimiento está recomendado por diferentes farmacopeas para la preparación de tinturas (preparados líquidos obtenidos por extracción del material vegetal o por disolución de extractos secos, los líquidos de extracción son mezclas de etanol-agua con un contenido en etanol menor al 62 por ciento en volumen). Las tinturas son preparaciones en donde el proceso de extracción de principios activos se ha llevado a cabo mediante una maceración, pero no con agua, sino con alcohol-agua, con un grado alcohólico determinado, dependiendo de los principios activos de cada planta y durante un tiempo, en función de la parte de la planta utilizada (hojas, flores, etc.).

6. SÓLIDOS TOTALES

La determinación de la variación de la masa, debido a la pérdida o eliminación de sustancias volátiles por acción del calor, mediante un proceso de evaporación de la porción de ensayo y secado del residuo en estufa, hasta masa constante, se le asigna como sólidos totales (Paca 2013), los sólidos totales sirven para conocer las propiedades físico-químicas que poseen los extractos (Guerra 2005).

7. SÓLIDOS SOLUBLES TOTALES

Los sólidos solubles están compuestos por los azúcares, ácidos, sales y demás compuestos solubles en agua presentes en los jugos de las células de una fruta (Espinoza *et al.* 2007). El contenido de sólidos solubles es un buen estimador del contenido azúcar en los jugos de frutas, ya que ésta representa más del 90 por ciento de la materia soluble en la mayoría de ellos. Frecuentemente se consideran los grados Brix como equivalentes de los sólidos solubles totales (Martínez 2011).

8. CONTENIDO DE CENIZAS

Las cenizas representan el contenido en sales minerales o materia inorgánica de la muestra. Las cenizas dan una idea del contenido mineral de la planta, que suele ser alrededor del 5 por ciento. Su determinación es importante porque la materia mineral puede ser responsable de alguna acción farmacológica (Moyano 2013).

Los resultados que se obtienen por incineración son indicativos de la calidad de la muestra con que se trabaja y constituye una base para juzgar la identidad y pureza de la muestra, así como del contenido de sales inorgánicas presentes (Vicet 2009).

9. METABOLITOS PRIMARIOS

Los metabolitos primarios se consideran esenciales y son moléculas nutricionales o estructurales; dentro de este grupo se encuentran los azúcares (carbohidratos), los lípidos y las proteínas (Paca 2013).

9.1. AZÚCARES

Los azúcares reductores son aquellos que poseen un grupo carbonilo (grupo funcional) y que a través de este pueden reaccionar con otras moléculas; los azúcares no reductores al contrario no poseen su grupo carbonilo libre, entre estos tenemos a la sacarosa y trehalosa (Moreano 2015).

Los azúcares se clasifican en “osas” azúcares simples y “ósidos” en la que el grupo reductor se encuentra combinado, formando holósidos y heterósidos. Los azúcares simples (osas) son las pentosas y las hexosas, abundan en las frutas y son responsables de su sabor dulce. A partir de estas moléculas se forman otras más complejas por ramificación. Los holósidos son sustancias compuestas enteramente por azúcares, también existen en cadenas largas de más de diez azúcares simples (polisacáridos), como gomas, mucílago y pectinas, presentes en las plantas. Los heterósidos se obtienen por la combinación de un azúcar reductor (glicon) y una molécula no azucarada (genina) con la formación de una unión glicosídica, estas son las sustancias más importantes entre las farmacológicamente activas de origen vegetal (López-Casamayor 2007).

Los azúcares reductores son susceptibles de ser oxidados por agentes oxidantes suaves, tales como el reactivo de *Tollens* (Ag^+ en NH_3 acuoso), el reactivo de *Fehling* (Cu^{2+} en tartrato de sodio acuoso) o el reactivo de *Benedict* (Cu^{2+} en citrato de sodio acuoso) (Jeréz 2008).

Según Martínez (2011), cuando un azúcar reductor se calienta en condiciones básicas se degrada, luego el grupo carbonilo se oxida y se reducen los iones cúpricos del reactivo de *Fehling* para formar óxido cuproso de color rojo.

La cantidad de azúcares en el fruto depende principalmente de la variedad, del rendimiento asimilatorio de las hojas, de la relación hoja/fruto, de las condiciones climáticas durante el desarrollo del fruto, del estado de desarrollo y de la madurez (Pinzón *et al.* 2007).

9.2. LÍPIDOS

Los lípidos son ésteres entre un ácido graso de cadena larga y un alcohol (López-Casamayor 2007). El glicerol es un alcohol con tres átomos de carbono, cada uno lleva un grupo hidroxilo. Un ácido graso tiene un esqueleto largo de carbono, generalmente de 16 o 18 átomos de carbono. En un extremo del ácido graso hay un grupo carboxilo y unido a él hay una larga cadena hidrocarbonada. Los enlaces C-H en las cadenas hidrocarbonadas de los ácidos grasos son la razón por la cual las grasas son hidrófobas. Las grasas se separan del agua porque las moléculas de agua establecen enlaces de hidrógeno entre sí y excluyen a las grasas (Herrera 2013).

Algunos lípidos, como las grasas, se utilizan para el almacenamiento de energía, pero la mayoría se utiliza para formar las membranas celulares. Hay más de un centenar de diferentes tipos de ácidos grasos, aunque la más común en las plantas son ácido oleico y ácido palmítico. La cadena hidrocarbonada puede ser saturada, como en el ácido palmítico, o insaturado, como en el ácido oleico. Los ácidos grasos difieren entre sí principalmente en la longitud de la cadena y los lugares de enlaces múltiples (Jaramillo 2014).

Las grasas que se acumulan en las semillas desempeñan una función esencial en la germinación, mientras que las que se localizan en el pericarpio de los frutos, se pierde cuando este madura (López-Casamayor 2007).

9.3. PROTEÍNAS

Las proteínas son una de las clases de biomacromoléculas, junto a los polisacáridos, que forman parte de los componentes principales de los seres vivos y de las plantas (Jaramillo 2014). Las proteínas son cadenas largas de aminoácidos unidas entre sí por un enlace amida, también llamado enlace peptídico, entre el grupo carboxilo de un aminoácido y el grupo amino de otro. Estas cadenas se denominan polipéptidos y suelen contener entre 50 y 300

unidades de aminoácidos. Las proteínas se encuentran presentes en las partes que son responsables del crecimiento y la reproducción de las plantas (Ege 2000).

La prueba de *Millon* es específica para la tirosina, el único aminoácido que contiene un grupo fenólico. Un grupo hidroxilo unido a un anillo de benceno. En la prueba de *Millon* primero se logra la nitración del anillo fenólico de la tirosina en la solución de ensayo. Luego, la tirosina nitrada forma complejos con los iones de Mercurio (I) y Mercurio (II) del reactivo para formar un precipitado rojo o una solución roja, ambos resultados positivos. Por lo tanto, las proteínas que contienen tirosina como aminoácido darán un resultado positivo. Sin embargo, algunas proteínas que contienen tirosina inicialmente residen en un precipitado blanco que se vuelve rosado o rojo cuando se calienta, mientras que otros forman una solución roja inmediatamente. Ambos resultados se consideran positivos (Millo *et al.* 1995).

10. METABOLITOS SECUNDARIOS

Se describen como “compuestos químicos de estructura relativamente compleja; de distribución más restringida y característica de cada planta”. No son indispensables para el funcionamiento celular de las plantas, se sintetizan en pequeñas cantidades y su producción está restringida a un determinado género de plantas, a una familia o incluso pueden presentarse en especies afines. Generalmente los metabolitos secundarios son los responsables de la acción terapéutica de las mismas (Lock 1994; Paca 2013). Sepúlveda *et al.* (2003), señala que los metabolitos secundarios son compuestos de bajo peso molecular que tienen una gran importancia ecológica porque participan en los procesos de adaptación de las plantas a su ambiente, así como en la atracción de insectos polinizadores y dispersores de las semillas y frutos. Además, las plantas mantienen una síntesis activa de metabolitos secundarios, que se induce cuando las plantas son expuestas a condiciones adversas tales como: a) el consumo por herbívoros (artrópodos y vertebrados), b) el ataque por microorganismos: virus, bacterias y hongos, c) la competencia por el espacio de suelo, la luz y los nutrientes entre las diferentes especies de plantas y d) la exposición a la luz solar u otros tipos de estrés abiótico.

Algunos de estos metabolitos, con reconocida acción terapéutica son: alcaloides, terpenos, saponinas, quinonas, compuestos fenólicos, etc. (Paca 2013). La biosíntesis de alcaloides (sintetizados a partir de aminoácidos) se genera a partir de la ruta de síntesis del ácido

shikímico. Mientras que los compuestos fenólicos (derivados de los fenilpropanoides) producen lignanos, cumarinas, taninos y flavonoides mediante la vía del ácido shikímico o la vía malonato/acetato (Leyva *et al.* 2011). Por último los terpenoides se sintetizan por la vía del ácido mevalónico (López-Casamayor 2007) (Figura 3).

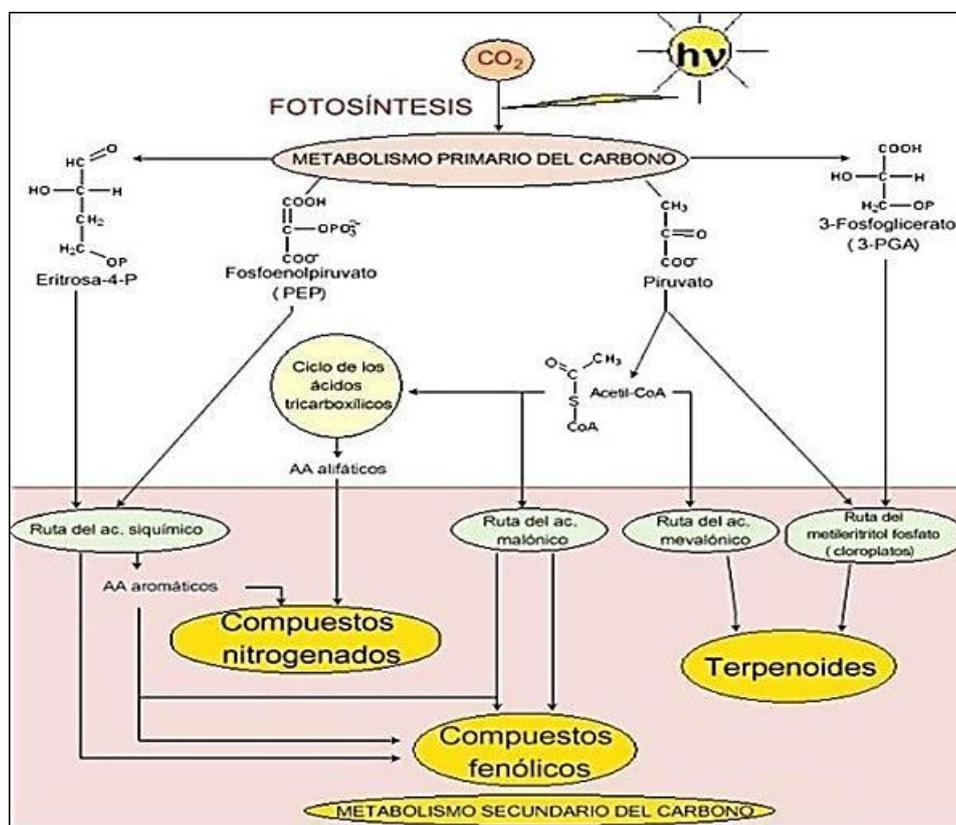


Figura 3: Elementos del metabolismo del carbono en relación con las rutas de síntesis de metabolitos

FUENTE: Ávalos *et al.* (2009)

10.1. ALCALOIDES

Aunque su definición no es precisa, los alcaloides son sustancias básicas que contienen uno o más átomos de nitrógeno como parte de un sistema cíclico, que manifiesta significativa actividad farmacológica y han sido biosintetizados de aminoácidos como precursores (Lock 1994). Precursores tales como triptófano, tirosina, fenilalanina, lisina, arginina y ornitina, solos o combinados con terpenoides (Sepúlveda *et al.* 2003).

Los alcaloides abundan en los tejidos de intensa actividad celular, hojas, raíces, semillas, pero hay variaciones en cuanto a su concentración en la naturaleza, de acuerdo a factores como madurez, suelo, método de cultivo, variaciones estacionales, etc. Las especies de una familia generalmente producen alcaloides estructuralmente similares, por ello el

conocimiento botánico de la planta es de utilidad para predecir los posibles tipos presentes (Marcano y Hasegawa 2002). La función de los alcaloides en las plantas aún no es muy conocida, como ocurre con la mayoría de los productos naturales, aunque se reporta que algunos intervienen como reguladores del crecimiento, o como repelente o atractores de insectos (Lock 1994).

Existen reactivos que detectan alcaloides en general, otros que detectan grupos de alcaloides con una estructura determinada común y otros que son específicos para un alcaloide concreto. Las reacciones para la detección se pueden clasificar en reacciones de precipitación, de cristalización y coloración. La detección de los alcaloides mediante las reacciones de precipitación como en la reacción de *Mayer* puede dar falsos positivos y falsos negativos, por lo que conviene realizar varias reacciones de detección para confirmar los resultados (López-Casamayor 2007).

En el ensayo de *Wagner* y *Mayer* detectan alcaloides en general (Arango 2008). Con el ensayo de *Erdmann* se puede identificar alcaloides específicos como codeína, morfina, narceína, narcotina y tebaína (Paech *et al.* 1980). En el ensayo de *Marquis* podemos identificar alcaloides como heroína, morfina, codeína (color violeta – purpura) y anfetaminas y metanfetaminas (color naranja a pardo) (Servera 2001).

10.2. COMPUESTOS FENÓLICOS

Los compuestos fenólicos son un grupo muy diverso de metabolitos secundarios que se caracterizan por poseer uno o más grupos hidroxilo (-OH), unidos a un anillo aromático (grupo fenol) (Figura 4). En los fenoles el oxígeno (-O) del grupo hidroxilo está fuertemente unido al anillo fenilo, mientras que el enlace relativamente débil entre el oxígeno (-O) y el hidrógeno (-H) permite la disociación de un protón (H⁺) que puede ser liberado al medio, originando un ión fenolato cargado negativamente (Ringuelet *et al.* 2013).

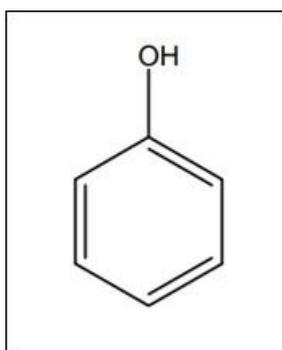


Figura 4: Estructura básica de los compuestos fenólicos

FUENTE: Ringuelet et al. (2013)

Los polifenoles son esenciales para el crecimiento y reproducción de las plantas, actúan como agentes protectores frente al ataque bacteriano y de hongos patógenos, siendo secretados como mecanismo de defensa a condiciones de estrés, tales como infecciones, radiaciones UV, entre otros. Cumplen funciones odoríferas y forman pigmentos que atraen a los agentes polinizadores. Juegan un rol vital como reguladores del metabolismo en la síntesis de lignina y como inhibidores de la germinación (Ringuelet *et al.* 2013). Se presentan en las plantas en forma conjugada, pueden estar unidos a moléculas de azúcar, encontrándolos en la naturaleza más comúnmente en forma de glicósidos, son solubles en agua y solventes orgánicos. Gran parte de ellas se almacenan en las vacuolas celulares (Espinal 2009; Ringuelet *et al.* 2013).

Existen varias clases de compuestos fenólicos que se han clasificado según su estructura básica, como: C6 (fenoles simples y benzoquinonas), C6-C1 (ácidos fenólicos), C6-C2 (ácidos fenilacéticos y acetofenonas), C6-C3 (ácidos cinámicos, fenilpropenos, cumarinas, isocumarinas y cromonas), C6-C4 (naftoquinonas), C6-C1-C6 (xantonas y benzofenonas), C6-C2-C6 (estilbenos y antraquinonas), C6-C3-C6 (flavonoides, isoflavonoides y chalconas), (C6-C3)₂ (lignanós), (C6-C3-C6)₂ (biflavonoides), (C6)_n (catecol melaninas), (C6-C3)_n (ligninas), (C6-C1)_n (taninos hidrolizables) y (C6-C3-C6)_n (taninos condensados) (Harborne, citado por Teresinha 2008).

10.2.1. CUMARINAS

Las cumarinas son benzo- α -pironas, son compuestos ampliamente distribuidos en las plantas, se encuentran en todas las partes de la planta como en la raíz, flores y frutos siendo principalmente más abundantes en estos últimos (Torres 2014).

Las cumarinas se clasifican, según la genina, en hidroxycumarinas, furanocumarinas y piranocumarinas, pudiendo encontrarse en el vegetal en forma de heterósidos (Figura 5). Las hidroxycumarinas son solubles en disolventes orgánicos (éter, cloroformo y alcoholes), las furanocumarinas y piranocumarinas sólo son solubles en disolventes orgánicos apolares (éter etílico, cloroformo) y los heterósidos son solubles en agua y mezclas hidroalcohólicas. Estas cumarinas presentan fluorescencia a la luz ultravioleta (azul, amarilla, verde, púrpura), lo cual permite su reconocimiento (Palacios 2013). Estos componentes se presentan a menudo como mezclas, en forma libre o como glucósidos. Muchas de estas presentan un amplio rango de actividad biológica, por ejemplo, se ha demostrado la acción anticoagulante y antibacteriana del dicumarol, la acción antibiótica de la novobiocina, entre otros; cabe destacar también las aplicaciones de las cumarinas como saborizantes y en perfumería (Lock 2001). Las cumarinas, furanocumarinas y estilbenos protegen a la planta frente al ataque bacteriano y de hongos patógenos, repelen herbívoros e inhiben la germinación de las semillas (Jaramillo 2014).

Las cumarinas se hallan ampliamente distribuidas en el reino vegetal, aunque son especialmente frecuentes en Fabaceae, Rubiaceae, Rutaceae, Asteraceae, Umbeliferae, Apocinaceae, Compositae, Orquidaceae, Rutaceae y Labiatae (Palacios 2013).

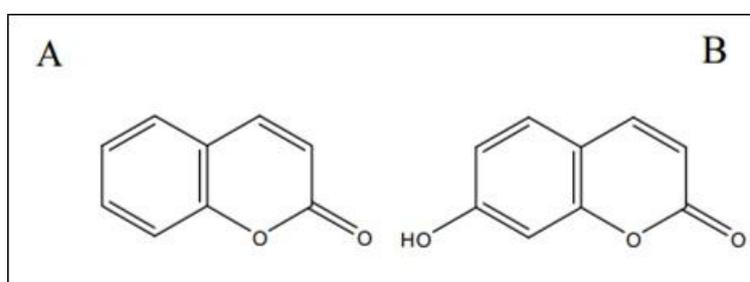


Figura 5: Estructura química de la cumarina y de la 7 – hidroxycumarina

FUENTE: Ringuet et al. (2013)

La prueba de *Baljet* es una reacción indirecta porque identifica el núcleo esteroidal presente de la genina de estos compuestos, el cual reacciona con el ácido pícrico y produce una coloración roja (Covarrubias 2009).

10.2.2. FLAVONOIDES

Los flavonoides son un grupo químico muy diverso de compuestos fenólicos, de los cuales se conocen más de 6000 estructuras diferentes. El esqueleto común a todos los integrantes

del grupo consta de dos anillos de seis átomos de carbono (designados con las letras A y B) unidos mediante un puente de tres átomos de carbono que por lo común forma un tercer ciclo (anillo C) (Figura 6) (Ringuelet *et al.* 2013).

Los flavonoides pueden extraerse satisfactoriamente con disolventes en frío o en caliente, tanto de muestras frescas como secas. Los disolventes de elección para la extracción son generalmente combinaciones de agua con metanol, etanol o acetona (Vicet 2009). Estas sustancias se encuentran con frecuencia en forma de agliconas y/o glicósidos, las más comunes son las flavonas y flavonoles. La acción farmacológica de los flavonoides es amplia por ejemplo: Inhibidores de enzimas, antioxidante, antiinflamatorias, anticancerígena, antibacterial, antiviral, actividades contra la fragilidad capilar, dilatadores de coronarias, espasmolítica, antihepatóxica y actividad estrogénica (Lock 1994; Santizo 2004). Los flavonoides participan en las interacciones planta – animal, por ejemplo, dándole colores a las flores y frutos, los cuales normalmente funcionan para atraer a los polinizadores y dispersadores de las semillas, suelen proporcionarlos antocianinas presentes en las vacuolas celulares (Jaramillo 2014).

Son abundantes en las familias Polygonaceae, Rutaceae, Fabaceae, Umbelliferae y Compositae (Ringuelet *et al.* 2013).

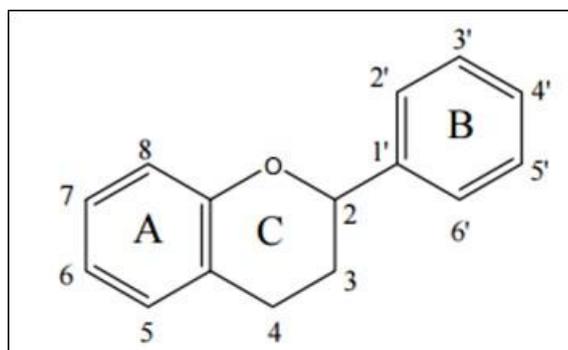


Figura 6: Estructura general de los flavonoides

FUENTE: Ringuelet et al. (2013)

El ensayo de *Shinoda* permite reconocer la presencia de flavonoides en un extracto vegetal. El ensayo se considera positivo, cuando el alcohol amílico se colorea de amarillo, naranja, carmelita o rojo; intenso en todos los casos (Paca 2013).

10.2.3. TANINOS

Según Bruneton (2001), define a los taninos como “compuestos fenólicos hidrosolubles con un peso molecular entre 500 y 3000”. Los taninos son sólidos amorfos solubles en agua (forman soluciones coloidales) y en disolventes orgánicos polares (acetona, alcohol, glicerina), siendo insolubles en disolventes orgánicos apolares (éter etílico, cloroformo). Están constituidos por un amplio grupo de compuestos de origen vegetal, sin nitrógeno, capaces de precipitar las macromoléculas (proteínas, celulosa, gelatina), alcaloides y metales pesados (López-Casamayor 2007; Ringuélet *et al.* 2013).

Las aplicaciones de los taninos son limitadas y derivan de sus propiedades astringentes. Por vía interna ejercen un efecto antidiarreico y antiséptico, por vía externa impermeabilizan las capas más externas de la piel (curten la piel) y mucosas, protegiendo así las capas subyacentes; a esto hay que añadir un efecto vasoconstrictor sobre los pequeños vasos superficiales. Al precipitar las proteínas, los taninos originan un efecto antimicrobiano, antifúngico y antioxidante, además los taninos son hemostáticos y como precipitan los alcaloides pueden servir de antídoto en caso de intoxicación (Goycochea 2010).

La clasificación más acertada es la propuesta por Freudenberg en 1920 y que considera dos grupos (Estrada 2011).

a) Taninos Hidrolizables

Los extractos tánicos hidrolizables o pirogálicos son aquellos que por hidrólisis en medio ácido y a ebullición forman productos solubles en agua (Estrada 2011). Caracterizados por presentar estructura de glicósidos, ésteres de la glucosa (o de compuestos semejantes) y de ácidos fenólicos: ácido gálico o ácido elágico (Figura 7) (Torres 2014).

Con sales de hierro dan coloración negro-azulada. Estos taninos como su denominación indica se hidrolizan con facilidad tanto por ácidos y álcalis como por vía enzimática (tanasa) (Estrada 2011). Éstos son encontrados en hojas, frutas, vainas y espinas de dicotiledóneas leñosas, aún no han sido identificados taninos hidrolizables en monocotiledóneas (Marcano y Hasegawa 2002).

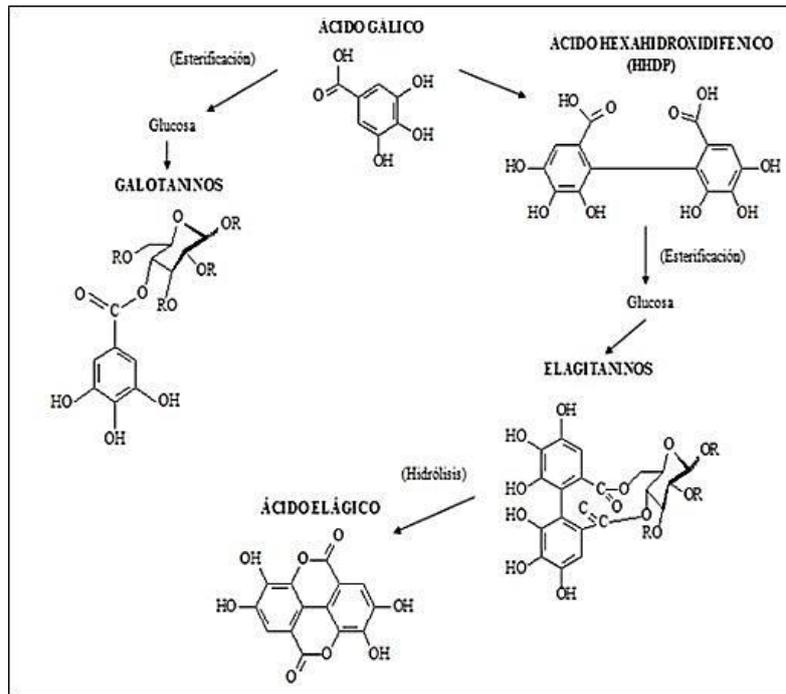


Figura 7: Composición de los taninos hidrolizables

FUENTE: Játiva (2011)

b) Taninos Condensados

Los taninos condensados (proantocianidinas) son polímeros de componentes fenólicos, menos solubles en agua que los hidrolizables y se oxidan en medio ácido a ebullición formando unos polímeros insolubles de color rojo conocidos como “flobafenos”. Sus moléculas son más resistentes a la ruptura que los hidrolizables (no son hidrolizados por ácidos ni por la tanasa) y parecen ser intermediarios en su biosíntesis las catequinas y los flavan – 3, 4 – dioles, por tanto, están relacionados con los flavonoides (López-Casamayor 2007).

Derivan de una biosíntesis mixta: la vía del ácido shikímico y la del acetato, en la que produce los flavan-3,4-dioles que luego se polimerizan por condensación en catequina y la leucocianidina, quienes cumplen con el rol de especies precursoras (Figura 8) (Nuñez *et al.* 2015). En las plantas cumplen la función de repelente de herbívoros y protectores de la madera (Jaramillo 2014).

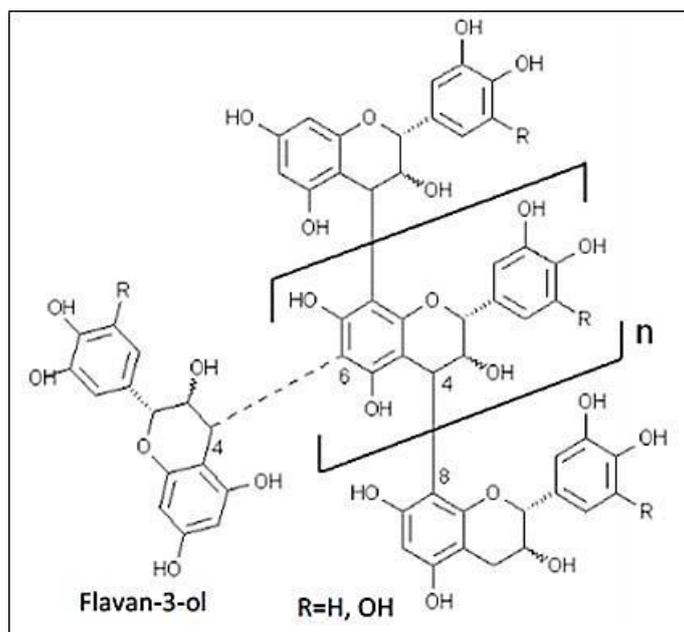


Figura 8: Estructura de un tanino condensable

FUENTE: Nuñez et al. (2015)

Con sales de hierro dan coloración verde parduzco. Solo los taninos condensados dan positiva la reacción de *Stiasny* (López-Casamayor 2007).

10.3. TERPENOIDES

Los terpenoides o isoprenoides son compuestos a menudo no saturados formados por carbono, hidrógeno y oxígeno de estructura no aromática, que se encuentran sobre todo en los aceites esenciales y en las resinas (Lizcano et al. 2008).

Son metabolitos secundarios formados mediante de la ruta del ácido mevalónico (Figura 9). En su estructura la cadena de carbono está constituida por la unión de dos moléculas o más de isopreno (C_5H_8), que es considerado como un hemiterpeno. Son muy numerosos y de estructura diversa, se pueden encontrar en formas sencillas o estructuras más complejas (saponinas y aceites esenciales). Según el número de C_5 , se pueden clasificar en: hemiterpenos (C_5), monoterpenos (C_{10}), sesquiterpenos (C_{15}), diterpenos (C_{20}), triterpenos (C_{30}), tetraterpenos (C_{40}) y poliisoprenoides ($(C_5)_n$) (López-Casamayor 2007).

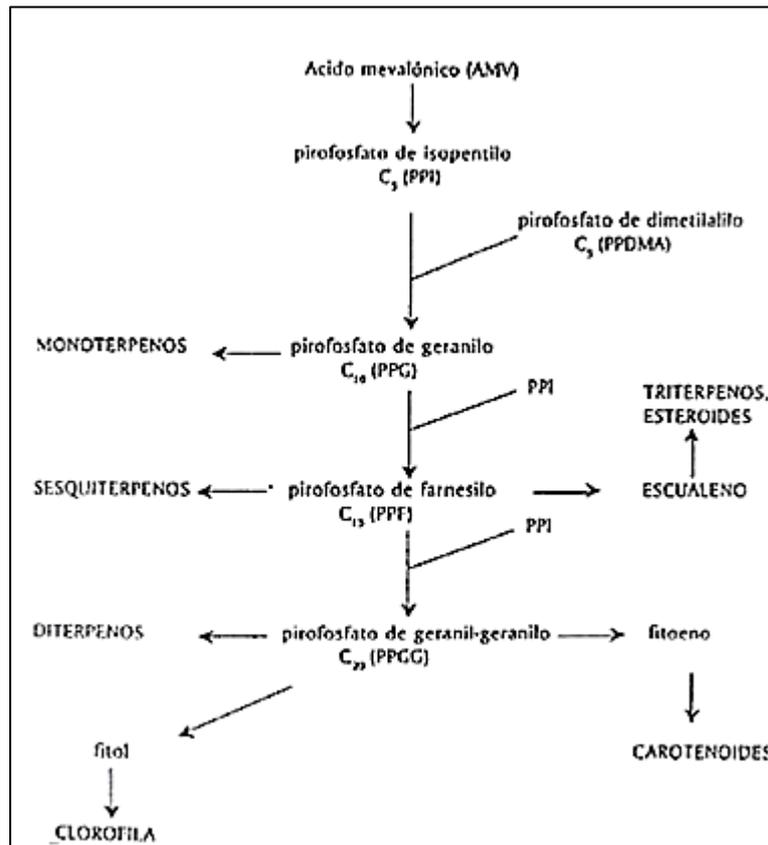


Figura 9: Ruta del ácido mevalónico

FUENTE: Cuadrado (2004)

Son liposolubles o solubles en solventes orgánicos, aunque algunos se encuentran solubles en el contenido celular por formar parte de glicósidos. Los terpenoides en los vegetales fundamentalmente cumplen funciones de protección, pueden actuar como repelente de insectos, microorganismos, herbívoros, etc. (Cuadrado 2004; Ringuet *et al.* 2013). Además en el ser humano los terpenoides cumplen diferentes usos como antioxidantes, protegiendo a los lípidos, a la sangre y a otros fluidos corporales contra el ataque de radicales libres, también previene la ocurrencia del cáncer (Cuadrado 2004).

10.3.1. NÚCLEOS TRITERPÉNICOS Y ESTEROIDALES

Los triterpenos están ampliamente distribuidos en el reino vegetal como glicósidos, ésteres o libres. Por definición se consideran productos naturales que tienen un esqueleto de 30 átomos de carbono ($C_{30}H_{48}$) (Rodríguez 2011).

Los triterpenos poseen una estructura policíclica, normalmente tetra o pentacíclica (Figura 10). Los triterpenos pentacíclicos en general son compuestos cristalinos. La distribución de

los triterpenos es relativamente amplia, generalmente se encuentra en órganos cerosos de hojas y frutos, así como en algunas resinas de los árboles (Cuadrado 2004).

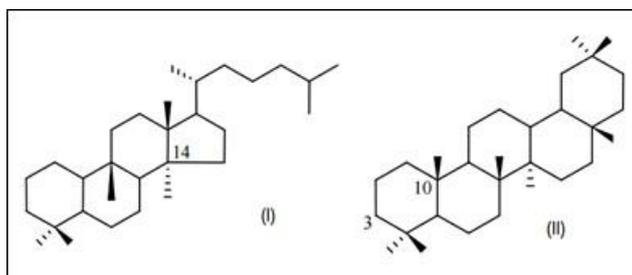


Figura 10: Triterpeno tetracíclico y pentacíclico

FUENTE: López-Casamayor (2007)

Los esteroides derivan de los triterpenos tetracíclicos, son un grupo de compuestos cíclicos cuya estructura fundamental está basada en el sistema anular del ciclopentanoperhidrofenantreno que biosintéticamente se origina del escualeno (Cuadrado 2004).

Los esteroides se encuentran distribuidos en los reinos animal y vegetal, en forma libre, como ésteres o como glicósidos (Cuadrado 2004). Pueden ser clasificados como esteróles (C₂₇ o más), saponinas esteroidales (o sus agliconas sapogeninas), glicósidos cardíacos, esteroalcaloides y las llamadas hormonas esteroidales (Lock 1994).

Mediante la prueba de ácido tricloroacético se desarrolla un cambio de color naranja, rojo, rojo oscuro. Los triterpenos tetracíclicos y esteroides desarrollan color a 60°C, mientras que los triterpenos pentacíclicos a 110°C (Lock 1994).

10.3.2. SAPONINAS

Las saponinas se originan por la ruta de la acetilCoenzima vía ácido mevalónico y escualeno (Martínez 2001). Estructuralmente las saponinas o glúcidos son compuestos orgánicos que contienen uno o varios azúcares. Se clasifican como esteroidales o triterpénicos, dependiendo de la naturaleza de la aglicona. Las saponinas por hidrólisis ácida o enzimática dan origen a una sustancia libre de los azúcares, formando así la sapogenina (Figura 11). Las saponinas al agitarse en agua producen abundante espuma. Debido a esta propiedad, a las plantas que las contienen se les usa como jabón (Romo de Vivar 2006).

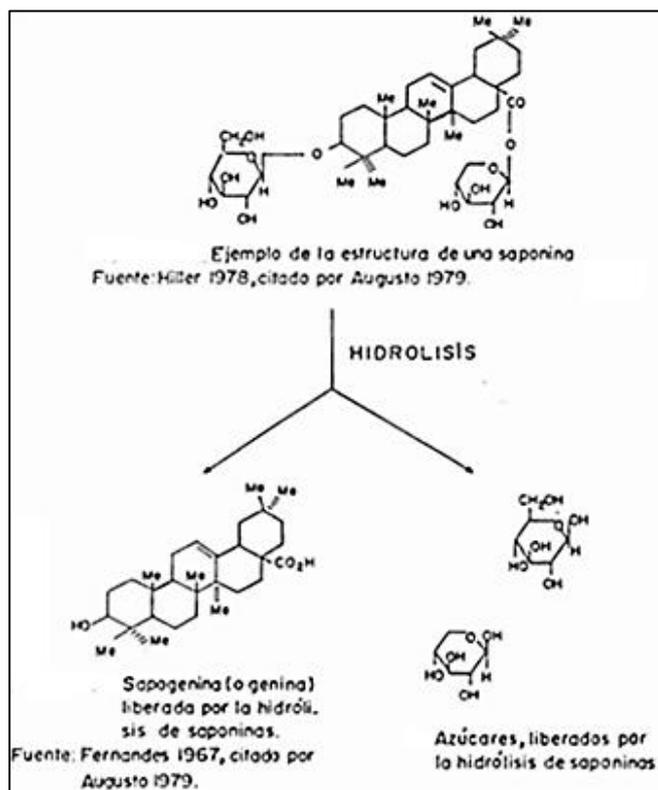


Figura 11: Hidrólisis de las saponinas

FUENTE: Elías (1990)

Las saponinas se hallan ampliamente distribuidas en el reino vegetal, especialmente entre las legumbres (Cuadrado 2004). Las saponinas esteroidales se encuentran especialmente en las familias Discoraceae, Liliaceae y Amarilidaceae. También se encuentran en Solanaceae, Simarubaceae y Esmilacaceae (Romo de Vivar 2006). Mientras que las saponinas triterpénicas abundan en especialmente en familias Caryophyllaceae, Sapindaceae, Polygalaceae y Sapotaceae (Machaca *et al.* 2007).

Las saponinas esteroidales tienen propiedades biológicas similares a las triterpénicas, pero son menos abundantes en la naturaleza (Romo de Vivar 2006). Las saponinas en un principio se consideraron nocivas para la salud por su capacidad para producir la hemólisis de los glóbulos rojos (eritrocitos) si se inyecta directamente en la sangre, sin embargo la ingestión de las saponinas apenas tiene toxicidad, debido a que solo son absorbidas en cantidades ínfimas por el intestino y actúan especialmente en la luz del tracto gastrointestinal. Se les atribuye un efecto protector contra el cáncer de estómago e intestinos, tienen un efecto inhibitorio sobre ciertos microorganismos, reducen la colesterolemia y son antiinflamatorias. Las saponinas esteroidales son útiles como materia prima para la producción de medicamentos (Cuadrado 2004).

Al agitar una solución acuosa de una muestra que sea o contenga saponinas, se forma una espuma estable como la obtenida al agitar la solución acuosa de un jabón. Puesto que existen otras sustancias que pueden formar también espuma, se debe asumir este ensayo como una prueba presuntiva de la presencia de saponinas esteroideas (Palacios 2013).

Según Tapia (2012), para el reactivo de *Rosenthaler*, es considerado positivo cuando se forma una coloración en gama de rosada a violeta o parda.

10.4. GRUPOS FUNCIONALES DE CADENA ABIERTA

Los alquenos, los alquinos y los arenos (compuestos aromáticos) contienen enlaces múltiples carbono-carbono; los alquenos tienen un enlace doble; los alquinos tienen un enlace triple y los arenos tienen enlaces sencillos y dobles alternados en un anillo de seis átomos de carbono. Estos compuestos también tienen similitudes químicas debido a sus semejanzas estructurales (Mc Murry 2008). Una solución diluida de KMnO₄ (permanganato de potasio), en medio alcalino o neutro en frío, reacciona con los dobles enlaces, produciendo dialcoholes llamados glicoles, observándose un cambio a color café. Esta prueba también reacciona con alquinos, aldehídos, cetonas, ácidos carboxílicos, amidas y ésteres (Figura 12) (Villarreal *et al.* 1995).

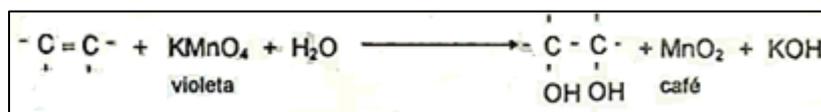


Figura 12: Formación de glicol. Reacción de *Baeyer*

FUENTE: Villarreal *et al.* (1995)

11. ANTECEDENTES DE LA FITOQUÍMICA DEL GÉNERO CAESALPINIA:

Núñez *et al.* (2015), evaluó el extracto hidroalcohólico de la vaina de *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze “tara”, encontrando en el tamizaje fitoquímico de los extractos metabolitos primarios como carbohidratos; y metabolitos secundarios como compuestos fenólicos (flavonoides y taninos hidrolizables), antraquinonas y alcaloides.

Viglierchio *et al.* (2000), en su estudio sobre *Caesalpinia gilliesii* (Hook.) Benth. “Barba de chivo”, presenta metabolitos secundarios como taninos hidrolizables en la vaina; alcaloides, saponinas, compuestos fenólicos (flavonoides) en hojas; y aminoácidos y carbohidratos en semillas. Gomes *et al.* (2011), hizo la fitoquímica preliminar del extracto etanólico de las

flores de *Caesalpinia echinata* Lam., detectó la presencia de flavonoides, núcleos triterpénicos y azúcares reductores.

En un estudio fitoquímico realizado sobre la biomasa comestible (hojas y frutos) del ganado bovino y caprino en los bosques deciduos tropicales de los Llanos Centrales de Venezuela. Los metabolitos secundarios que se detectaron en *Caesalpinia coriaria* (Jacq. 1763) Willd. y en *Caesalpinia granadillo* Pittier fueron compuestos fenólicos, saponinas, cianógenos y alcaloides (Baldizán *et al.* 2006).

En un estudio acerca del screening fitoquímico y la actividad antimicrobial de *Caesalpinia sappan* L., se detectó mediante una extracción Soxhlet con metanol en las hojas, que presentaba metabolitos primarios como azúcares reductores y proteínas; además de metabolitos secundarios como compuestos fenólicos (flavonoides y taninos), saponinas y terpenoides (Kaur *et al.* 2016).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

1. MATERIALES

1.1. MATERIALES DE CAMPO

- GPS Garmin Etrex
- Tijera de podar
- Rafia
- Costales
- Balanza digital portátil 40 kg
- Cinta de embalaje
- Papel periódico
- Lapicero
- Plumón indeleble
- Libreta de campo
- Cámara
- Etanol 96°

1.2. MATERIALES DE LABORATORIO

- Guantes quirúrgicos
- Desecador
- Crisol
- Pinzas para crisol
- Espátula
- Cristalizador
- Capsulas de porcelana 30 mL
- Vaso de precipitados de 50 y 100 mL
- Matraces 50, 100 y 250 mL
- Pipetas de 5 y 10 mL
- Tubos de ensayo
- Varillas de vidrio
- Gradillas
- Pesa sustancia
- Papel filtro rápido
- Mascarilla de gases orgánicos.
- Bolsas (Ziploc)
- Cuchilla y tijera

- Probetas de 50 y 100 mL
- Tamiz 50 mesh
- Polietileno
- Papel aluminio

1.3. EQUIPOS DE LABORATORIO

- Balanza analítica OHAUS de 0.1 mg de precisión
- Balanza de 0.01 g de precisión
- Estufa Karl Kolb Heraeus de 0° - 115° C.
- Hornilla eléctrica Thermoscientific Cimarec
- Molino de martillo Arthur Thomas Co.
- Mufla Thermolyne, modelo Furnace 48000 de 0° - 1200°C.
- Refractómetro Abbe Schmidt-Haensch

1.4. REACTIVOS E INSUMOS DE LABORATORIO

- Agua destilada
- Etanol 96° (C₂H₅O₄)
- Ácido sulfúrico concentrado (H₂SO₄)
- Cinta de magnesio
- Hidróxido de sodio (NaOH)
- Ioduro de Mercurio (HgI)
- Ioduro de Potasio (KI)
- Ácido nítrico (HNO₃)
- Aldehído fórmico 40 % (CH₂O)
- Ácido acético glacial puro (CH₃COOH)
- Ácido pícrico (C₆H₃N₃O₇)
- Hidróxido de sodio (NaOH)
- Reactivo *Sudan III*
- Reactivo de *Fehling A*
- Reactivo de *Fehling B*
- Reactivo de *Millon*
- Tricloruro de hierro (FeCl₃)
- Gelatina salada
- Ácido clorhídrico concentrado (HCl)
- Carbonato de sodio (Na₂CO₃)
- Vainillina
- Hidróxido de Potasio (KOH)
- Cloruro de sodio (NaCl)
- Ácido perclórico (HClO₄)

- Tricloruro de antimonio (SbCl_3)
- Benceno (C_6H_6)
- Cloroformo (CHCl_3)

2. LUGAR DE COLECCIÓN

El área de muestreo forma parte del Sistema Agroecológico Manejo Comunal de la Costa Norte del Perú, correspondiente al bosque seco de la comunidad Campesina de Tongorrape, sector “El Cardo”, ubicado en el distrito de Motupe, provincia de Lambayeque, departamento de Lambayeque.

2.1. DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE MUESTREO

El área de manejo presenta un área total de 857 ha. Localizado geográficamente entre las siguientes coordenadas del sistema UTM: Este: 632000 m y 657000 m; Norte: 9367000 m y 9334000 m (Figura 13). La principal vía de acceso es por carretera, por la Antigua Panamericana Norte, desde Motupe hasta la comunidad de Tongorrape. El área de manejo presenta un paisaje compuesto de áreas agrícolas, matorrales, bosques secos ralos de llanura y bosques secos de colina baja. Las principales especies forestales dentro de estos paisajes son: algarrobos, faique, sapote, palo verde, palo santo, hualtaco, overo y charán (Yachi 2013). Entre los años 1986 y 1990 de las estaciones de Motupe y Olmos, la temperatura media anual oscila entre 23°C y 25°C y la precipitación total anual está entre los 40 y 100 mm, la humedad relativa promedio es de 72 por ciento. En época de Fenómeno de El Niño varían estos promedios, dando origen a precipitaciones abundantes que incrementan la cobertura vegetal (O'Brien 2015).

El área de estudio está flanqueada por dos ríos. Al norte del río Yocape se origina la quebrada Palacio, de cauce angosto y sólo trae agua en avenidas fuertes; al sur discurre el río Chiniama, que nace de la unión de las quebradas Potrerillos y Largas Lomas en el punto Bornas, este es de caudal variable pero permanente. Los bosques secos de colina baja están ubicados en áreas escarpadas con pendientes mayores a 30 por ciento, los suelos son de textura arcillosa, muy pedregosa (O'Brien 2015).

3. OBTENCIÓN DEL MATERIAL BOTÁNICO

El material botánico se colectó en el mes de Abril del 2015. Los individuos de esta especie únicamente se encontraron dentro del área de Colina baja del Bosque Seco de la comunidad Campesina de Tongorrape, debido a su escasa distribución y a factores antrópicos.

Se colectaron los frutos de 5 árboles de charán elegidos al azar, de un total de 14 individuos presentes en el área, de esta manera podemos asegurar la comparación entre los frutos de los individuos (Figura 14). Las coordenadas de ubicación de los árboles son: 1°) Este: 651075 m y Norte: 9328307 m; 2°) Este: 651052 m y Norte: 9328302 m; 3°) Este: 651028 m y Norte: 9328304 m; 4°) Este: 650966 m y Norte: 9328252 m; 5°) Este: 650912 m y Norte: 9328203 m; además se midieron sus características como diámetro, altura y ancho de copa (Anexo 1). Los frutos se colectaron tanto en la copa como en el suelo alrededor de los árboles. Se consideró que los árboles estén distanciados y que las copas no se entrelazaran para asegurar la recolección de frutos de cada individuo por separado. Para la colección se tomó en cuenta que los frutos estén maduros, enteros, sin ataque de insectos y que no se encuentren en estado de descomposición. Se recolectaron como mínimo 1 kg de frutos por cada individuo para la realización de los ensayos correspondientes.



Figura 14: Recolección de frutos en los árboles muestreados provenientes de la comunidad Campesina de Tongorrape, distrito de Motupe, provincia de Lambayeque

FUENTE: Elaboración propia

4. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Los frutos se dejaron secando por aproximadamente dos semanas, bajo sombra a temperatura ambiente, hasta que alcanzaran un porcentaje de humedad ambiental promedio de 12-13 por ciento (Figura 15). Luego se dividieron manualmente los frutos de cada árbol y se separaron en epicarpio y mesocarpio (incluyendo el endocarpio). Posteriormente, se molieron las muestras para aumentar la superficie de contacto con un molino de martillo. Haciendo uso de un tamiz se obtuvo un polvo fino de un tamaño menor a 50 mesh (0.297 mm), almacenadas en bolsas (ziploc) a temperatura ambiente (Figura 16).



Figura 15: Muestras secadas al aire libre separadas por árboles

FUENTE: Elaboración propia



Figura 16: Molino de martillo *Thomas* y bolsas con las muestras de epicarpio y mesocarpio del árbol 1.

FUENTE: Elaboración propia

5. RENDIMIENTO Y DIMENSIÓN DEL FRUTO

Con los frutos secos al aire, se realizaron mediciones de 30 frutos al azar de cada árbol. Se midieron las dimensiones longitud (l), ancho (a) y espesor (e), mediante un Vernier. Luego se separaron manualmente el epicarpio, mesocarpio y las semillas, estableciendo el rendimiento de los componentes del fruto en relación a su masa (Figura 17) (Anexo 7-A).

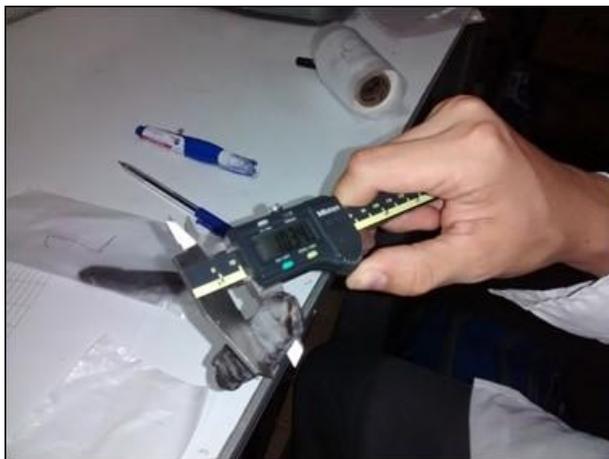


Figura 17: Toma de medidas de las dimensiones del fruto de charán (*Caesalpinia paipai* Ruiz & Pavón)

FUENTE: Elaboración propia

6. ENSAYOS QUE SE REALIZARON EN LAS CAPAS DE LA VAINA

6.1. ENSAYO DE HUMEDAD

Para la realización del ensayo de humedad se aplicó el procedimiento descrito en la norma Association of Official Analytical Chemists A.O.A.C: N°930.15, modificada por el Ministerio de Salud Pública de Cuba (1998) a través de la NRSP 309°, correspondiente a los métodos de ensayo para medicamentos de origen vegetal (Anexo 2).

6.2. ENSAYO DE CENIZAS TOTALES

Se utilizó el método de ensayo en droga cruda para medicamentos de origen vegetal NRSP 309° (Anexo 3).

6.3. ENSAYO DE SOLUBILIDAD

Consiste en determinar el grado de alcohol al cual los diferentes metabolitos secundarios son más solubles, y el procedimiento está descrito en la norma NRSP 309° (Anexo 5). Se realizaron tres repeticiones de este ensayo por cada extracto obtenido del epicarpio y mesocarpio de cada árbol, con cinco proporciones diferentes de solvente. (Agua: Etanol) a 30 por ciento, 50 por ciento, 70 por ciento, 96 por ciento y Agua. Lo cual indica los diferentes grados de polaridad del solvente (Anexo 4).

Para cada repetición se utilizaron 3 g de muestra molida por debajo del tamaño de malla de 50 mesh de epicarpio y mesocarpio; a las que se les añadió 30 mL del solvente respectivo. Luego deben ser agitados manualmente durante 3 minutos cada media hora durante el día; y se dejó macerar durante 24 horas. Se filtraron en matraces previamente codificados y tarados para su posterior almacenamiento, se toma una alícuota de 2 mL y se deseca a 105 °C en una estufa. Luego se enfría en un desecador y se pesa el residuo (Figura 18).



Figura 18: Filtrado en matraces de los extractos hidroetanólicos y residuo luego de secado de la alícuota en la estufa de una repetición.

FUENTE: Elaboración propia

6.4. ENSAYO DE SÓLIDOS SOLUBLES TOTALES

Los grados Brix miden la cantidad de sólidos solubles totales en los extractos. Fueron determinados según la norma A.O.A.C (1980): N° 932.12 empleando un refractómetro (Anexo 5).

6.5. ENSAYO DE SÓLIDOS TOTALES

El ensayo para determinar el porcentaje de sólidos totales en los extractos se realizó en función de la norma NTP (1975): 319.150 (Anexo 6).

6.6. PREPARACIÓN DEL EXTRACTO

Se preparó el extracto por maceración necesario para la prueba de la marcha fitoquímica. Se pesaron 5 g de la muestra molida con una balanza analítica de 0.1 mg de precisión, utilizando el solvente hidroetanólico que presentó mayor porcentaje en el ensayo de solubilidad. Se agitó manualmente el macerado durante 3 minutos cada media hora durante el día y se dejó reposar durante 24 horas. Lo mismo se hizo para los extractos bencénicos y clorofórmicos.

7. DISEÑO EXPERIMENTAL

Para el rendimiento de los frutos se analizó individualmente las muestras de los pesos del epicarpio y del mesocarpio de los 5 árboles evaluados. Mediante una prueba de hipótesis se comparó la igualdad de medias de las muestras de los árboles, haciendo uso de un análisis de varianza (ANVA) de un solo factor; además se verificó la normalidad de los datos y la homogeneidad de varianzas.

Para las dimensiones de largo (l), ancho (a) y espesor (e), se comparó la igualdad de medias de los tamaños mediante un análisis de varianza de un solo factor, además se verificó la normalidad de los datos y la homogeneidad de varianzas.

Para el ensayo de humedad se aplicó un ANVA de un solo factor donde se identificó el error en torno a la humedad.

Para los ensayos de solubilidad, sólidos solubles totales y sólidos totales, se aplicó un experimento de bloques completamente al azar con un arreglo factorial de (2 x 5), con 5 bloques. El arreglo factorial está compuesto por dos factores: capas del fruto con dos niveles (epicarpio y mesocarpio) y los tratamientos que son las concentraciones de etanol (H₂O, 30°, 50°, 70°, 96°), mientras que los bloques son cada uno de los árboles (5 individuos).

Modelo estadístico:

Se planteó un modelo estadístico lineal:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + \gamma_k + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

$$i = 1, 2 \text{ (capas del fruto)}$$

$$j = 1, 2, 3, 4, 5 \text{ (grados de alcohol)}$$

$$k = 1, 2, 3, 4, 5 \text{ (árboles)}$$

Y_{ijk} : Valor observado de la variable dependiente en estudio para la unidad experimental del bloque k sujeto al tratamiento j.

μ : efecto de la media general de la variable dependiente

α_i : efecto del nivel i

β_j : efecto del tratamiento j

γ_k : efecto del bloque k

$(\alpha\beta)_{ij}$: efecto de la interacción de los niveles i con los tratamientos j

ε_{ijk} : efecto del error experimental con el nivel i, el tratamiento j y el bloque k

Para el ensayo de cenizas, se aplicó un experimento de bloques completamente al azar con 2 tratamientos y 5 bloques. Los tratamientos son las dos capas del fruto (epicarpio y mesocarpio) y los bloques son cada uno de los árboles.

Modelo estadístico:

Se planteó un modelo estadístico lineal:

$$Y_{ij} = \mu + \tau_i + \beta_j + \varepsilon_{ijk}$$

$$i = 1, 2 \text{ (capas del fruto)}$$

$$j = 1, 2, 3, 4, 5 \text{ (árboles)}$$

Y_{ij} : Valor observado en el i -ésimo tratamiento y el j -ésimo bloque

μ : efecto de la media general

τ_i : es el efecto del i -ésimo tratamiento

β_j : es el efecto del j -ésimo bloque

ε_{ijk} : efecto del error experimental en el i -ésimo tratamiento y el j -ésimo bloque

7.1. ANÁLISIS FITOQUÍMICO

El análisis fitoquímico se llevó a cabo de acuerdo a la metodología propuesta por Lock (1994), modificada por el Laboratorio de Transformación Química de Productos Forestales de la UNALM.

7.1.1. METABOLITOS PRIMARIOS

a. Azúcares reductores

a.1. Ensayo de *Fehling*

Para este ensayo es necesario contar con un extracto acuoso disuelto de 1 mL, a cuya alícuota se le agrega 2 mL del reactivo de *Fehling*. Esta mezcla es introducida a un baño de agua caliente por 30 minutos. La coloración rojiza o aparición de un precipitado rojo ladrillo indicara la presencia de azúcares reductores.

b. Compuestos grasos

b.1. Ensayo de *Sudan III*

Permite reconocer en un extracto la presencia de los compuestos grasos. Para ello a una alícuota de 1 mL de extracto hidroetanólico se le añade 1 mL del reactivo de *Sudan III*. La presencia de compuestos grasos se identifica por la aparición de gotas oleosas de color rojo oscuro una vez que el solvente es evaporado totalmente mediante un baño de agua caliente.

c. Proteínas

c.1. Ensayo de *Millon*

Para este ensayo es necesario contar con una alícuota de 1 mL del extracto hidroetanólico evaporado, es decir que al extracto se le evapora el etanol dejando solo el solvente acuoso, a la cual se añade 1 mL del reactivo de *Millon*, La mezcla se calienta durante 5 minutos en baño de agua. Este ensayo se considera positivo si se forma un precipitado de coloración rosácea.

7.1.2. METABOLITOS SECUNDARIOS

a. Alcaloides

El resultado de 4 ensayos positivos afirmara si existe la presencia de alcaloides en las muestras.

a.1. Ensayo de *Wagner*

El extracto utilizado para la detección de alcaloides es el hidroetanólico evaporado. A 1 mL del extracto se le añade 1 mL de ácido clorhídrico 1 por ciento. Calentar suavemente durante 5 minutos y se deja enfriar. Luego se le añade 3 gotas del reactivo de *Wagner*: si se observa opalescencia (+), turbidez definida (++) o precipitado coposo (+++) de color marrón indica que la reacción es positiva.

a.2. Ensayo de *Mayer*

El extracto utilizado para la detección de alcaloides es el hidroetanólico evaporado. A 1 mL del extracto se le añade 1 mL de ácido clorhídrico 1 por ciento. Calentar suavemente durante 5 minutos y se deja enfriar, se le añade una pizca de NaCl y se agita. Se filtra en caso se forme un precipitado y luego se le añade 2 o 3 gotas del reactivo: si se observa opalescencia (+), turbidez definida (++) o precipitado coposo (+++) de color amarillento indica que la reacción es positiva.

a.3. Ensayo de *Erdmann*

El extracto utilizado para la detección de alcaloides es el hidroetanólico evaporado. A 1 mL del extracto se le añade 1 mL de ácido clorhídrico 1 por ciento. Calentar suavemente durante 5 minutos y se deja enfriar. Luego se le añade 3 gotas del reactivo de *Erdmann*.: si se observa opalescencia (+), turbidez definida (++) o precipitado coposo (+++) de color rojo oscuro indica que la reacción es positiva.

a.4. Ensayo de *Marquis*

El extracto utilizado para la detección de alcaloides es el hidroetanólico evaporado. A 1 mL del extracto se le añade de 3 a 4 gotas del reactivo de *Marquis*. El reactivo de *Marquis* da resultados negativos con una coloración débil. En la mayoría de los compuestos, los resultados son muy parecidos a los de la muestra de control con ácido sulfúrico. A efectos de comparación, el reactivo produce un intenso color rojo anaranjado con las anfetaminas.

b. Compuestos fenólicos:

b.1. Ensayo de Gelatina salada

El extracto utilizado para detectar la presencia de fenoles es el hidroetanólico evaporado. A 1 mL del extracto se le añade 3 gotas de gelatina salada y se agita. La presencia de fenoles es indicado por una turbidez en la solución.

b.2. Ensayo de Cloruro férrico

El extracto utilizado para detectar la presencia de fenoles es el hidroetanólico evaporado. A 1 mL del extracto se le añade 3 gotas de Cloruro férrico (FeCl_3) y se agita. La coloración verde intenso indica la presencia de taninos pirocatecólicos; y la coloración azul intenso indica la presencia de taninos pirogalotánicos.

b.3. Ensayo de *Shinoda*

El extracto utilizado para detectar la presencia de flavonoides es el hidroetanólico evaporado. A 1 mL del extracto se le añade 1 mL de HCl concentrado y un trocito de cinta de Mg. Luego de 5 minutos se le adiciona 1 mL de alcohol amílico, se agita y se deja reposar hasta que se separen. La coloración en la parte superior que contiene el alcohol amílico se colorea de para que resulte positivo.

Las siguientes coloraciones dan positivo para los siguientes flavonoides (Bonilla *et al.* 2014):

- Flavonas: amarillo, naranja o rojo.
- Flavonol o flavanonol: rojo magenta.
- Flavanonas: carmesí a rojo, violeta, azul.
- Isoflavonas: amarillo.
- Isoflavanonas, calconas y auronas: incoloras.

b.4. Ensayo de *Baljet*

El extracto utilizado para detectar la presencia de cumarinas es el hidroetanólico. A 1 mL del extracto se le añade 1 mL del reactivo de *Baljet*. Determina la presencia de agrupamientos lactónicos, especialmente cumarinas. El ensayo se considera positivo con la aparición de una coloración o precipitado rojo.

b.5. Ensayo de *Bornträger*

El extracto utilizado para detectar la presencia de quinonas es el clorofórmico. A 1 mL del extracto se le añade 1mL de hidróxido de sodio (NaOH) al 5 por ciento, agitando para mezclar las fases y su separación. Si la coloración de la fase superior se torna rojiza o rosada, se considera que existen quinonas presentes en las muestras evaluadas.

Para la detección de antraquinonas y/o naftoquinonas se utiliza un extracto bencénico. A 1 mL del extracto se le añade 1mL de hidróxido de sodio (NaOH) al 5 por ciento, agitándolo para mezclar las fases. La obtención de la coloración rosada en la fase acuosa indica la presencia de antraquinonas y/o naftoquinonas.

c. Terpenoides:

c.1. Ensayo de Ácido Tricloroacético

El extracto utilizado para detectar la presencia de núcleos triterpénicos y esteroidales es el hidroetanólico evaporado. A 1 mL del extracto se le añade 1mL de ácido tricloroacético para luego calentar la mezcla suavemente por 5 minutos. Los resultados serán positivos si la solución se torna de coloración rojo oscuro o naranja.

c.2. Ensayo de espuma

El extracto utilizado para detectar la presencia de saponinas es el hidroetanólico evaporado. A 1 mL del extracto se le añade agua destilada hasta la mitad del tubo de ensayo y se agita fuertemente durante dos minutos. Se confirmara la presencia de saponinas en las muestras al formarse espuma remanente durante 2 minutos.

c.3. Ensayo de *Rosenthaler*

El extracto utilizado para detectar la presencia de sapogeninas triterpénicas y esteroidales es el hidroetanólico evaporado. A 1 mL del extracto se le adiciona 1 gota de HCl concentrado y 1 mL de solución etanólica de vainillina al 1 por ciento. La presencia de sapogeninas esteroidales y triterpenoidales se detecta cuando la solución cambia a una coloración en gama de rosada a violeta o pardas.

c.4. Ensayo de $SbCl_3/ HClO_4$

El extracto utilizado para detectar la presencia de delta sapogeninas es el hidroetanólico evaporado. A 1 mL del extracto se le adiciona 1 mL de solución al 25 por ciento de $SbCl_3$, en $HClO_4$ al 60 por ciento. La presencia de delta sapogeninas será detectada si la solución toma un color rosado.

d. Grupos funcionales (Cadenas abiertas)

d.1. Ensayo de Baeyer

El extracto utilizado para detectar la presencia de insaturaciones causadas por enlaces dobles o triples entre carbonos adyacentes es el hidroetanólico evaporado. A 1 mL del extracto se le adiciona 3 gotas de KMnO_4 y 4 gotas de Na_2CO_2 . La presencia de grupos funcionales se detecta cuando la solución toma un color café. Los grupos funcionales identificados por este ensayo son los siguientes: alquenos, alquinos, aldehídos, cetonas, ácidos carboxílicos, ésteres, amidas.

e. Hidrocarburos aromáticos

e.1. Ensayo $\text{CH}_2\text{O}-\text{H}_2\text{SO}_4$

El extracto utilizado para detectar la presencia de hidrocarburos aromáticos es clorofórmico. A 1 mL del extracto se le adiciona 2 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4), luego agitar suavemente y añadir dos gotas de formaldehído (CH_2O). Los colores típicos observados en este test son: para benceno, tolueno y n-butilbenceno coloración roja, sec-butilbenceno coloración rosada, tert-butilbenceno y mesitileno color naranja, difenil- y trifenilbenceno color azul y verde azulado, haluros de arilo color rosado o púrpura, naftil éter color púrpura.

Los resultados del tamizaje fitoquímico se expresaran con los siguientes símbolos para las siguientes calificaciones, según la Tabla 1:

Tabla 1: Calificación para el análisis fitoquímico

Símbolo	Reacción
+++	Muy evidente
++	Evidente
+	Poco evidente, pero aceptable
-	Reacción negativa, no hubo reacción

FUENTE: Romero (2012)

Además de la calificación, la coloración obtenida en cada una de las pruebas será codificada de acuerdo a lo propuesto en la Tabla Munsell para Tejidos Vegetales revisada en 1977, correspondiente a la segunda edición.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. COMPOSICIÓN Y DIMENSIONES DEL FRUTO DE CHARÁN

a. Rendimiento promedio de los componentes del fruto de charán

El rendimiento promedio de los componentes del fruto de charán (*Caesalpinia paipai* Ruiz & Pavón) se muestran en el Anexo 7 – A.

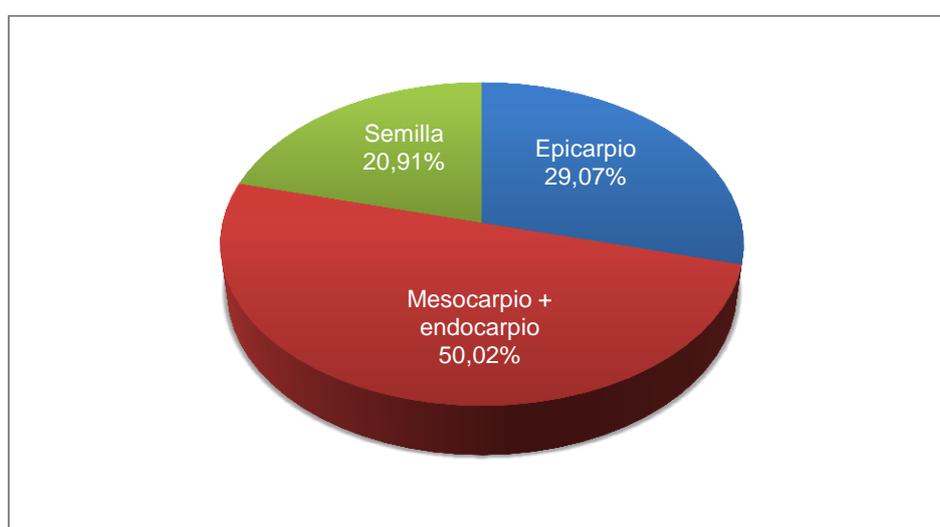


Figura 19: Composición promedio de los frutos de charán

En la Figura 19 se observó que el mayor rendimiento en relación a la masa del fruto lo presenta el mesocarpio más el endocarpio (50,02 por ciento), seguido por el epicarpio (29,07 por ciento) y por último las semillas (20,91 por ciento).

En los siguientes gráficos (Figura 20 y 21) se observó las diferencias que existen entre las medias de los pesos de epicarpio y mesocarpio para los frutos entre los diferentes árboles de charán.

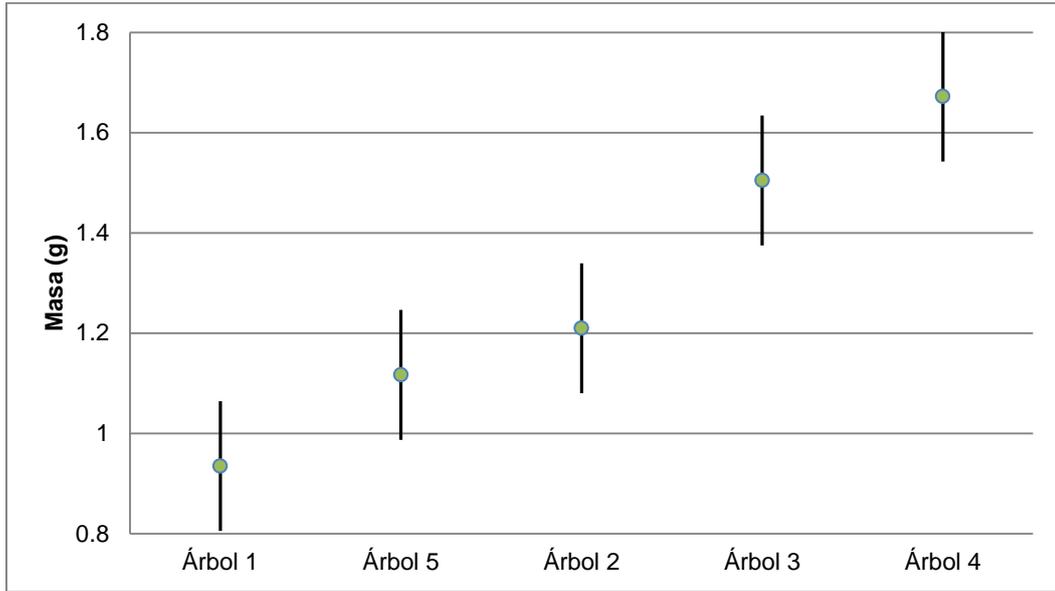


Figura 20: Gráfica de comparación de medias del peso de epicarpio de charán (*Caesalpinia paipai* Ruiz & Pavón)

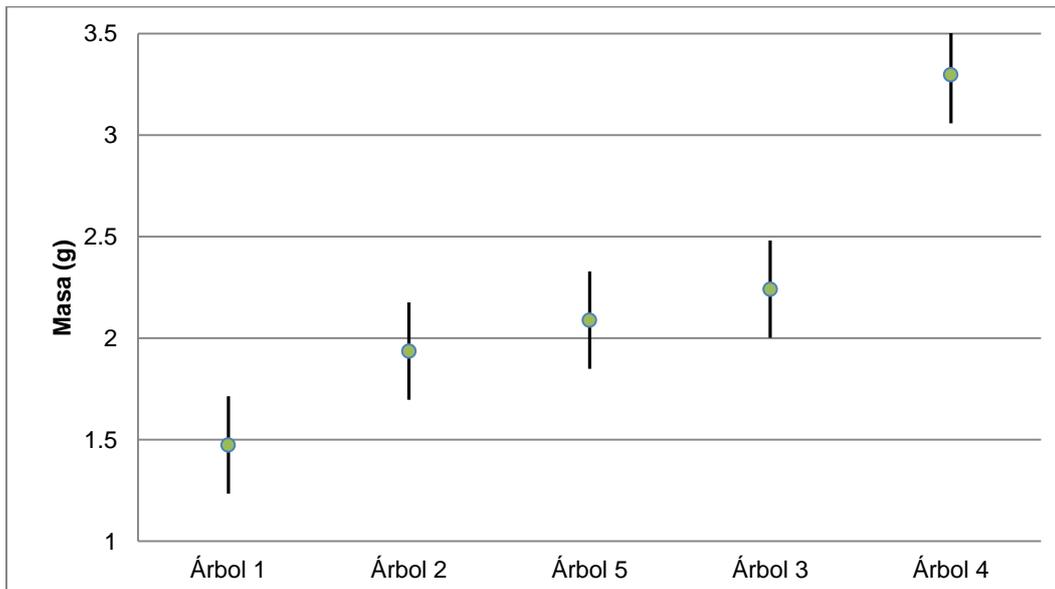


Figura 21: Gráfica de comparación de medias del peso de mesocarpio de charán (*Caesalpinia paipai* Ruiz & Pavón)

Se aplicó un análisis de varianza de un solo factor con un nivel de significancia de 0,05 (Anexos; 8 – A. 8 – C); donde se apreció que existen diferencias entre las medias de los pesos para la capa de epicarpio; lo mismo sucedió para la capa del mesocarpio entre los diferentes árboles. Podemos notar que las medias de los pesos para el epicarpio y

mesocarpio están representadas por un punto. Además podemos observar que los intervalos de confianza al 95 por ciento de confiabilidad que no se intersecten mostraran diferencias entre sus medias.

Siendo los frutos del cuarto árbol los que presentaron un mayor peso en promedio para el epicarpio y el mesocarpio de los frutos. Además se verificó la homogeneidad de varianzas mediante la prueba de Bartlett y se demostró que las varianzas no son homogéneas (Anexos; 8 – B, 8 – D).

b. Dimensiones promedio de los frutos de charán

Las dimensiones promedios de los frutos se encuentran en el Anexo 7 – B. En los siguientes gráficos (Figura 22, 23 y 24) se observó las diferencias que existen entre las medias de sus tres dimensiones (longitud, ancho y espesor) para los frutos de los diferentes árboles de charán.

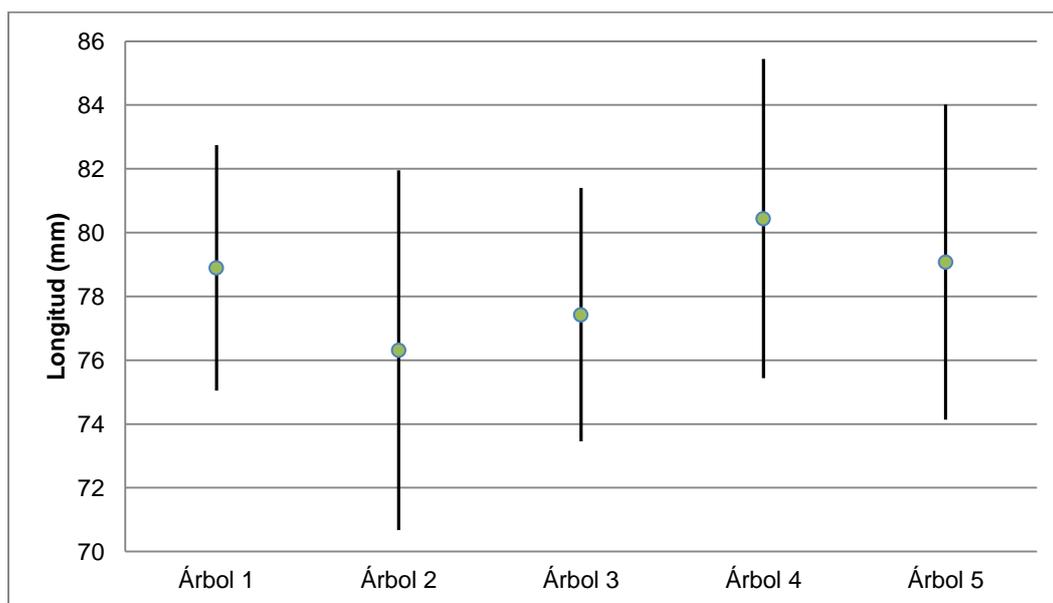


Figura 22: Gráfica de comparación de medias de la longitud de los frutos de charán (*Caesalpinia paipai* Ruiz & Pavón)

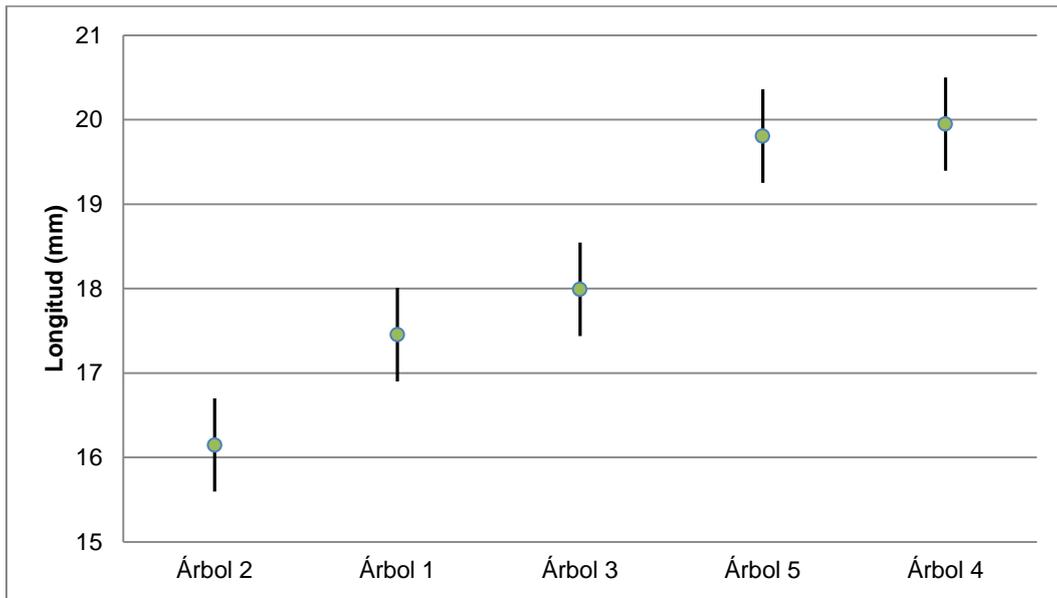


Figura 23: Gráfica de comparación de medias del ancho de los frutos de charán (*Caesalpinia paipai* Ruiz & Pavón)

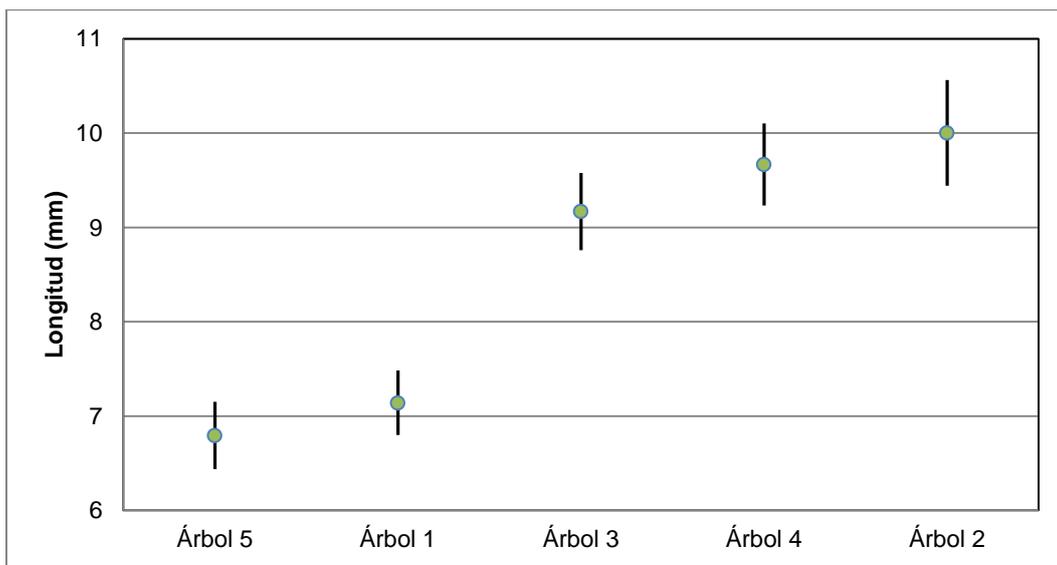


Figura 24: Gráfica de comparación de medias del espesor de los frutos de charán (*Caesalpinia paipai* Ruiz & Pavón)

Al aplicar el análisis de varianza (Anexos; 8 – E, 8 – F, 8 – G) de un solo factor con un nivel de significancia de 0,05, se compararon las medias para la longitud, el ancho y el espesor, se notó que las medias entre los diferentes árboles no son iguales para el ancho y espesor del fruto, pero si son iguales para la longitud de los mismos.

Pudimos notar que las medias de las diferentes dimensiones de los frutos están representadas por un punto. Además pudimos observar que los intervalos de confianza al 95 por ciento de

confiabilidad que no se intersecten mostraron diferencias entre sus medias. En el caso de la longitud de los frutos, los intervalos de confianza al 95 por ciento de los árboles se intersectan lo que refiere que hay igualdad de medias, mientras que para el ancho y espesor no, con lo que podemos notar que para estos existen diferencias entre las medias.

La procedencia de los árboles es la misma, bajo condiciones de suelos, humedad y precipitación similares, cuyos frutos estuvieron formados en la época húmeda. Se pudo notar que los árboles tienen alturas diferentes, por lo tanto los volúmenes de las copas varían, lo cual podría influir en la forma en que los árboles reciben la intensidad lumínica para realizar la fotosíntesis y de esta forma podría verse afectados el tamaño y el peso de los frutos (Deaquiz 2014). Además el factor hoja/ fruto, se debió tomar en consideración ya que es un condicionante en el tamaño y peso de los frutos.

2. ENSAYO DE HUMEDAD

Los valores promedio de humedad de los frutos de charán (*Caesalpinia paipai* Ruiz & Pavón) de los diferentes árboles varían como se muestra en la Tabla 2 (Anexo 7 – C).

Tabla 2: Contenido de humedad de los frutos de charán (*Caesalpinia paipai* Ruiz & Pavón)

Árbol	% Humedad Promedio	Desv. Standart
A1	10,768	0,3567
A2	10,303	0,2019
A3	10,858	0,2428
A4	10,987	0,1077
A5	11,217	0,5402
% Promedio de Humedad	10,827	

Aplicando el análisis de varianza (Anexo 8 – H) se observó que el p-valor presenta un error del 6 por ciento. Debido a que los frutos pudieron haber presentado diferencias en el proceso de secado o que algunos frutos pudieron haber perdido mayor humedad en el proceso de separación de los frutos. Los valores aceptados por la Farmacopea Europea para drogas vegetales tienen como límite superior 12 por ciento de humedad o que algunos frutos habrían perdido mayor humedad en el proceso de separación de los frutos. Por lo tanto las muestras se encuentran en una condición de humedad adecuada para los análisis.

3. ENSAYO DE CENIZAS

Los valores promedio de ceniza de las capas del pericarpio de los frutos de charán para los diferentes árboles se muestran en el Anexo 7 – D. La Figura 25 demuestra la comparación del porcentaje de ceniza obtenido de las capas del pericarpio en relación a los árboles muestreados.

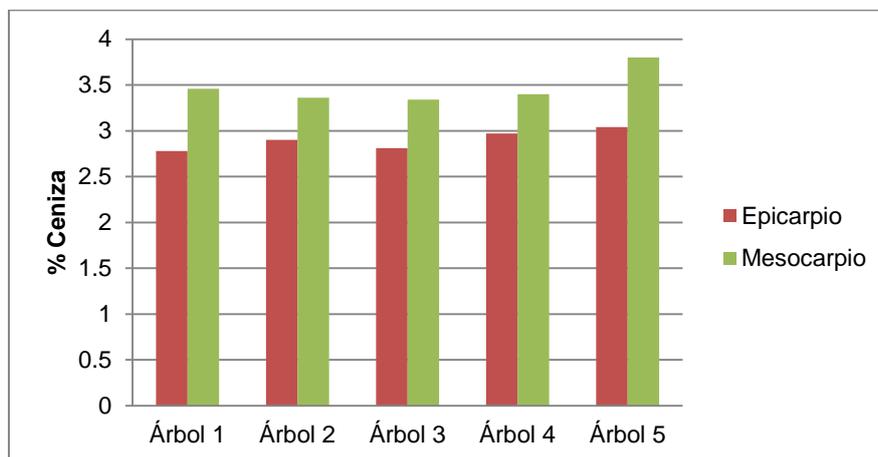


Figura 25: Histograma del porcentaje promedio de cenizas de las capas del pericarpio de los frutos de charán (*Caesalpinia paipai* Ruiz & Pavón)

Aplicando el análisis de varianza (Anexo 8 – I) se observó que la cantidad de cenizas varía entre las capas del pericarpio de esta especie, siendo la del mesocarpio mayor que el epicarpio del fruto. Ambas capas forman parte del fruto de charán pero estas cifras dan una idea del contenido de sales inorgánicas presentes (Vicet 2009). Mediante una prueba de Tukey, se pudo notar que existen diferencias entre las medias de las cenizas de las capas del pericarpio (Anexo 8 – J). Se obtuvo un promedio de cenizas para el epicarpio de 2,9 por ciento y para el mesocarpio de 3,47 por ciento.

Las cenizas están compuestas principalmente por óxidos inorgánicos de: calcio, potasio, magnesio, sulfatos, fosfatos, carbonatos y silicatos, éstas representan la cantidad de material inorgánico remanente, proveniente de tejidos de la planta. Por lo tanto, se puede decir que el contenido de cenizas en las plantas depende principalmente de la composición del suelo, ya que éste determina los procesos de nutrición mineral necesarios para el desarrollo vegetal (Romero 2012).

4. ENSAYO SOLUBILIDAD

Los promedios de solubilidad entre las capas del pericarpio y los grados de etanol se le encuentra en el Anexo 7 – E. En la Figura 26 se observa la variación de la solubilidad en relación a los grados de etanol.

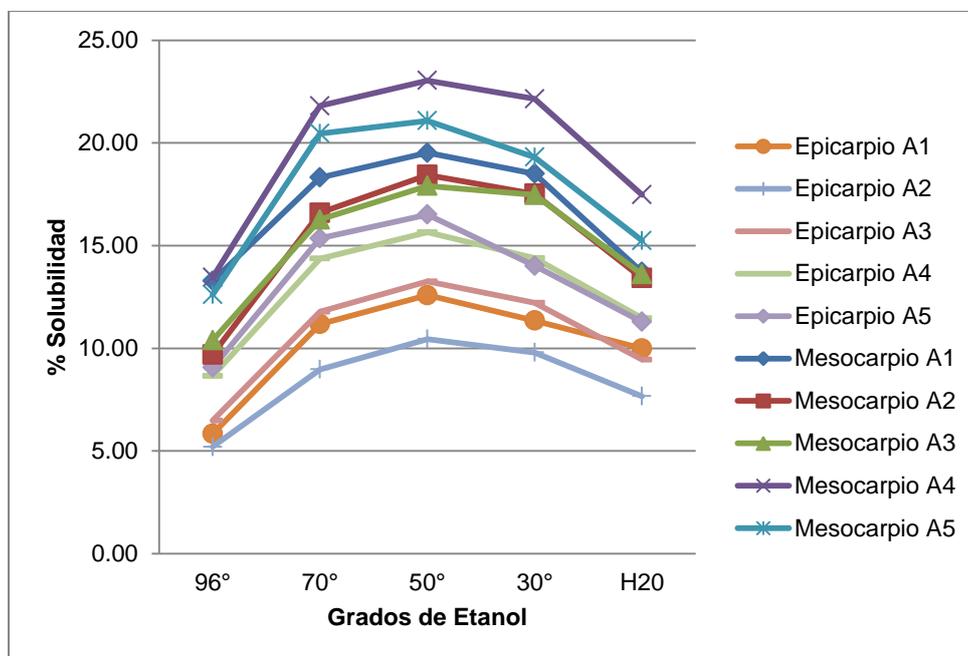


Figura 26: Solubilidad en etanol del Epicarpio y Mesocarpio de cada árbol

Se pudo observar que la solubilidad aumenta cuando disminuye el grado de etanol a 50°, luego de este punto la solubilidad disminuyó. La solubilidad de los compuestos que se están extrayendo son más hidrofílicos, (más polares) donde el etanol puro no fue tan efectivo, el punto óptimo de solubilidad fue a 50°, lo que indica que hay componentes del fruto que no se dejan extraer con solventes puros.

El análisis de varianza realizado señaló que para un nivel de significancia de 0,05, la interacción de las capas del pericarpio y los grados de etanol actúan en conjunto en la determinación del porcentaje de solubilidad (Anexo 8 – K).

Posteriormente se analizó con una prueba de Tukey las medias de los dos factores, las capas del pericarpio y los grados de etanol. En donde los promedios unidos por letras iguales indican que no existen diferencias entre sus promedios (Anexo 8 – L) (Figura 27).

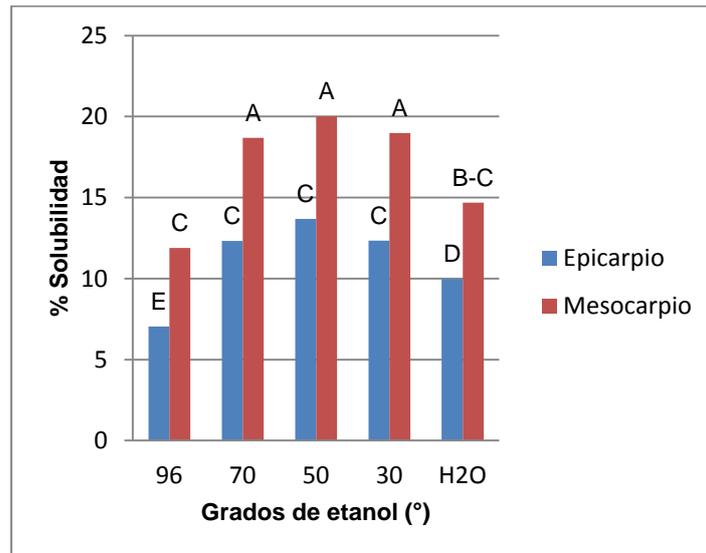


Figura 27: Gráfico de barras de la prueba de Tukey ($p > 0,05$) para los datos de solubilidad

Además, el extracto de mayor porcentaje de material extraído es el grado de etanol al cual se prepararon los extractos para realizar la marcha fitoquímica, ya que cuenta con una mejor extracción de metabolitos.

5. ENSAYO DE SÓLIDOS SOLUBLES TOTALES

Para poder caracterizar los extractos, se determinó el porcentaje de sólidos solubles totales, que están compuestos por los azúcares, ácidos, sales y demás compuestos solubles en los extractos. En el siguiente gráfico podemos observar la distribución de los sólidos solubles totales en relación a los grados de etanol (Figura 28) (Anexo 7 – F).

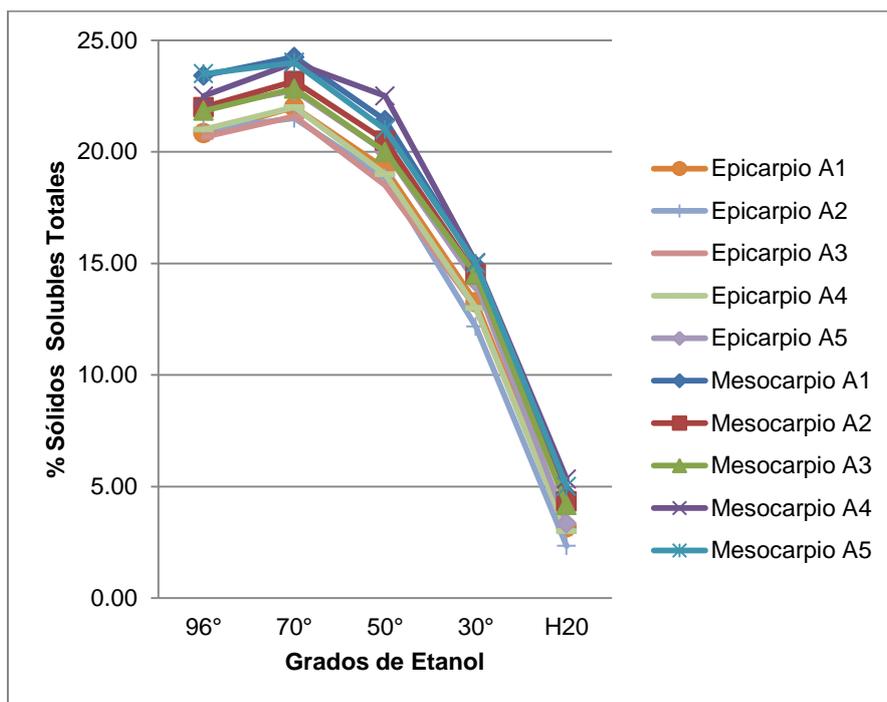


Figura 28: Sólidos Solubles Totales en etanol del Epicarpio y Mesocarpio de cada árbol

El análisis de varianza realizado señaló que para un nivel de significancia de 0,05 (Anexo 8 – N), no hay una interacción entre las capas del pericarpio y los grados de etanol, por lo que se tiene un efecto individual de los factores. Se analizaron los resultados con una prueba de Tukey para comparar las medias de los grados de etanol (Anexo 8 – O). Donde existieron diferencias entre los porcentajes de sólidos solubles totales para cada concentración de etanol. Se pudo observar que los sólidos solubles totales incrementaron cuando se disminuyó la concentración de etanol hasta 70°, luego de este punto los sólidos solubles totales disminuyen. Los mayores valores de sólidos solubles totales para los extractos de etanol a 70° fueron de 21,93 por ciento para el epicarpio y 23,65 por ciento para el mesocarpio.

6. ENSAYO DE SÓLIDOS TOTALES

Los promedios de sólidos totales entre las capas del pericarpio y los grados de etanol se encuentran en el Anexo 7 – G. En la Figura 29 se observa la variación de los sólidos totales en relación a los grados de etanol.

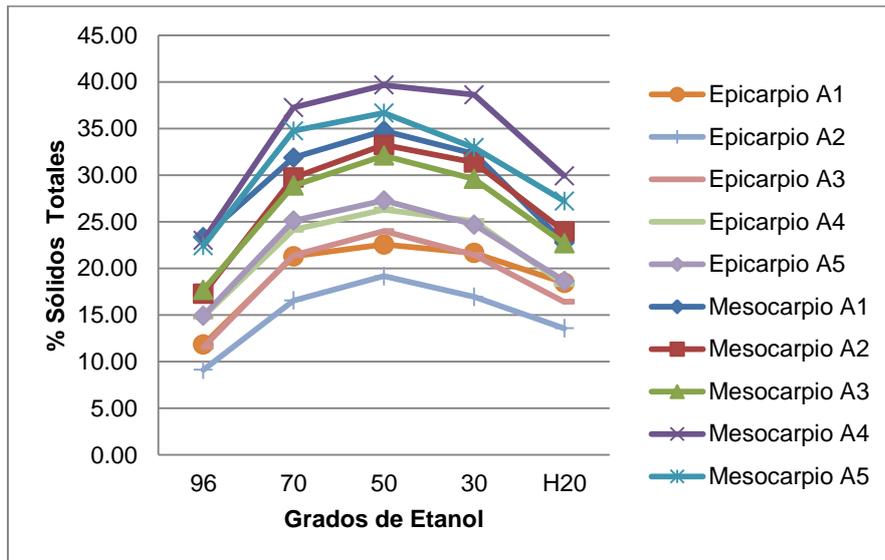


Figura 29: Sólidos Totales en etanol del Epicarpio y Mesocarpio de cada árbol

Se pudo observar en este gráfico que existe una tendencia al incremento de los sólidos totales cuando el etanol disminuye hasta 50°, luego se presentó un descenso de los sólidos totales contenidos dentro de los extractos.

El análisis de varianza señaló que para un nivel de significancia de 0,05 (Anexo 8 – P), existe una interacción entre las capas del pericarpio y los grados de etanol, es decir que las capas del pericarpio y grados de etanol actuaron en conjunto sobre los valores en la determinación del porcentaje de sólidos totales dentro de los extractos. Debido a que hubo interacción se analiza con una prueba de Tukey las medias de los dos factores, las capas del pericarpio y los grados de etanol (Anexo 8 – Q). Los promedios unidos por letras iguales indican que no existen diferencias entre sus promedios. Asimismo se realizó una comparación de medias con una prueba de Tukey para los sólidos totales (Anexo 8 – R) (Figura 30). Los mayores valores de sólidos totales para los extractos de etanol a 50° fueron de 21,93 por ciento para el epicarpio y 23, 65 por ciento para el mesocarpio.

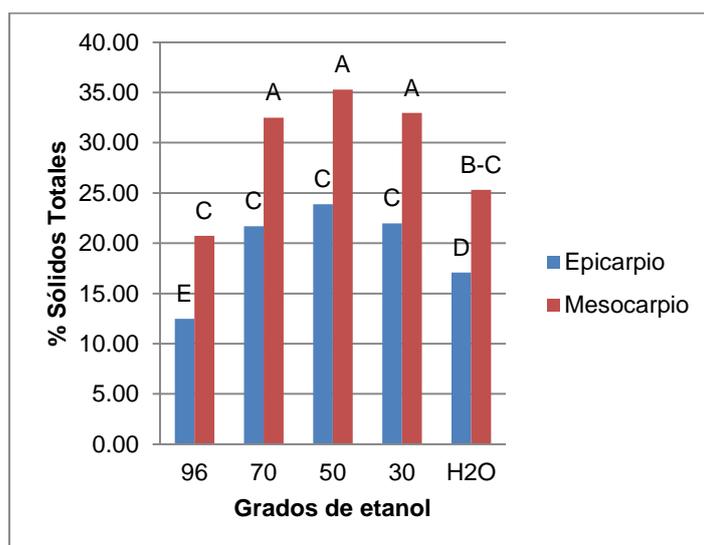


Figura 30: Gráfico de barras de la prueba de Tukey ($p > 0,05$) para los datos de sólidos totales

El extracto de mayor valor de porcentaje de contenido de sólidos para el epicarpio y el mesocarpio fue con la concentración de 50°, ésta resultó superior a los sólidos obtenidos en las demás concentraciones de etanol.

7. ANÁLISIS FITOQUÍMICO

Los resultados del tamizaje fitoquímico (Tabla 3) realizados en las capas del pericarpio de los frutos de charán determinan que los metabolitos primarios y secundarios presentes son: azúcares reductores, fenoles, flavonoides, cumarinas, núcleos esteroidales y triterpénicos y saponinas.

Existe una diferencia entre los resultados de acuerdo a las capas del pericarpio, que indica que por intensidad de la reacción podemos detectar mayor presencia de metabolitos en una capa que en otra. Las fotos de cada resultado se adjuntarán en el Anexo 9.

Tabla 3: Tamizaje Fitoquímico de los extractos de las capas de charán

Árboles	Árbol 1						Árbol 2						Árbol 3						Árbol 4						Árbol 5											
Capas de la vaina	Epicarpio			Mesocarpio			Epicarpio			Mesocarpio			Epicarpio			Mesocarpio			Epicarpio			Mesocarpio			Epicarpio			Mesocarpio								
Repeticiones	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3			
1. Metabolitos primarios																																				
1.1. Azúcares reductores																																				
Ensayo de Fehling	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++		
1.2. Compuestos grasos																																				
Ensayo de Sudan III	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
1.3. Proteínas																																				
Ensayo de Millon	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
2. Metabolitos secundarios																																				
2.1. Alcaloides																																				
Ensayo de Wagner	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+		
Ensayo de Mayer	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Ensayo de Erdmann	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Ensayo de Marquis	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
2.2. Compuestos Fenólicos																																				
2.2.1. Fenoles/taninos																																				
Ensayo de Gelatina Salada	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	
Ensayo de Cloruro Férrico	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
2.2.2. Flavonoides																																				
Ensayo de Shinoda	++	++	++++	++++	++++	++++	++	++	++++	++++	++++	++	++	++++	++++	++++	++	++	++++	++++	++++	++	++	++++	++++	++++	++	++	++++	++++	++++	++	++	++++	++++	

Árboles	Árbol 1		Árbol 2		Árbol 3		Árbol 4		Árbol 5											
	Epicarpio	Mesocarpio																		
2.2.3. Cumarinas																				
Ensayo de Baljet	++	++	++++	++++	++	++	++++	++++	++	++	++++	++++	++	++	++++	++++	++	++	++++	++++
2.2.4. Quinonas																				
Ensayo de Bornträger	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2.2.5. Antraquinonas y/o Naftoquinonas																				
Ensayo de Bornträger	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2.3. Terpenoides																				
2.3.1. Núcleos esteroidales y triterpénicos																				
Ensayo de Ácido Tricloroacético	++++	++++	+	+	++++	++++	+	+	++++	++++	+	+	++++	++++	+	+	++++	++++	+	+
2.3.2. Saponinas																				
Ensayo de Espuma	++++	++++	++++	++++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++
2.3.3. Sapogeninas esteroidales y triterpenoidales																				
Ensayo de Rosenthaler	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2.3.4. Delta sapogeninas																				
Ensayo de SbCl3/HClO4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2.4. Grupos funcionales																				
Ensayo de Baeyer	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++	++++
2.5. Hidrocarburos aromáticos																				
Ensayo CH2O-H2SO4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Muy evidente: +++; Evidente: ++; Aceptable: +; Nulo: -

7.1. METABOLITOS PRIMARIOS

7.1.1. AZÚCARES REDUCTORES

a. Ensayo de *Fehling*

Se observó durante la evaluación la presencia de azúcares reductores en el fruto de *Caesalpinia paipai*; se puede apreciar que el precipitado de color rojizo es muy evidente para todas las repeticiones en los extractos de las capas del pericarpio de todos los árboles muestreados.

Tabla 4: Color del precipitado para el ensayo de *Fehling*

<i>Ensayo de Fehling</i>																
<i>Muestra</i>	<i>Árbol 1</i>			<i>Árbol 2</i>			<i>Árbol 3</i>			<i>Árbol 4</i>			<i>Árbol 5</i>			
	R1	R2	R3													
Epicarpio	10 R 3/4	10 R 4/6	10 R 4/6	10 R 4/6	10 R 4/6	10 R 4/6	10 R 4/6	10 R 4/6	10 R 4/6	10 R 4/6	10 R 4/6	10 R 4/6	10 R 4/6	10 R 4/6	10 R 4/6	10 R 4/6
Mesocarpio	10 R 3/3	10 R 3/4	10 R 3/4	10 R 3/4	10 R 3/4	10 R 3/4	10 R 3/4	10 R 3/4	10 R 3/4	10 R 3/4	10 R 3/4	10 R 3/4	10 R 3/4	10 R 3/4	10 R 3/4	10 R 3/4

7.1.2. COMPUESTOS GRASOS

a. Ensayo de *Sudan III*

Los compuestos grasos son detectados mediante la aparición de gotas oleosas, pero en el ensayo hubo una ausencia de estas para las muestras en ambas capas, luego de aplicar el reactivo de *Sudan III*, por lo que se consideró nula la presencia de compuestos grasos en los frutos. Según López-Casamayor (2007), el contenido de compuestos grasos disminuye en el pericarpio con la maduración del fruto.

Tabla 5: Color de la reacción para el ensayo de *Sudan III*

<i>Ensayo de Sudan III</i>																
<i>Muestra</i>	<i>Árbol 1</i>			<i>Árbol 2</i>			<i>Árbol 3</i>			<i>Árbol 4</i>			<i>Árbol 5</i>			
	R1	R2	R3													
Epicarpio	10 R 3/6	10 R 4/3	10 R 4/3	10 R 4/3	10 R 4/3	10 R 4/3	10 R 4/3	10 R 4/3	10 R 4/3	10 R 4/3	10 R 4/3	10 R 4/3	10 R 4/3	10 R 4/3	10 R 4/3	10 R 4/3
Mesocarpio	10 R 4/6	10 R 4/3	10 R 4/3	10 R 4/3	10 R 4/3	10 R 4/3	10 R 4/3	10 R 4/3	10 R 4/3	10 R 4/3	10 R 4/3	10 R 4/3	10 R 4/3	10 R 4/3	10 R 4/3	10 R 4/3

7.1.3. PROTEÍNAS

a. Ensayo de *Millon*

En el ensayo de *Millon* la presencia de un precipitado color melón (2.5YR 7/8) o salmón (10R7/8) es el que reconoce a este aminoácido. Se observa que con respecto al color de referencia, se obtuvieron colores de diferente matiz, por lo que se considera una ausencia de Tirosina en las muestras de los extractos de ambas capas.

Tabla 6: Color de la reacción para el ensayo de *Millon*

<i>Ensayo de Millon</i>																
<i>Muestra</i>	<i>Árbol 1</i>			<i>Árbol 2</i>			<i>Árbol 3</i>			<i>Árbol 4</i>			<i>Árbol 5</i>			
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	
Epicarpio	10 R 3/4	10 YR 6/4														
Mesocarpio	10 R 3/3	10 YR 6/4														

7.2. METABOLITOS SECUNDARIOS

7.2.1. ALCALOIDES

a. Ensayo de *Wagner*

En este ensayo al igual que en el resto de ensayos, la turbidez y reducción de la saturación y del brillo es un indicador de la presencia de alcaloides. El ensayo de *Wagner* presentó un color rojizo y opalescencia por lo que se puede calificar con una baja presencia de alcaloides en las muestras de los extractos de ambas capas.

Tabla 7: Color de la reacción para el ensayo de *Wagner*

<i>Ensayo de Wagner</i>																
<i>Muestra</i>	<i>Árbol 1</i>			<i>Árbol 2</i>			<i>Árbol 3</i>			<i>Árbol 4</i>			<i>Árbol 5</i>			
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	
Epicarpio	10 R 3/4	7.5 YR 5/8														
Mesocarpio	10 R 3/3	7.5 YR 5/8														

b. Ensayo de Mayer

En el ensayo de *Mayer* se detectó alcaloides en general, tuvo un resultado parecido al de *Wagner* donde se presenciaba opalescencia y un color amarillento, por lo que se puede calificar con una baja presencia de alcaloides en las muestras de los extractos de ambas capas.

Tabla 8: Color de la reacción para el ensayo de Mayer

Ensayo de Mayer																
Muestra	Árbol 1			Árbol 2			Árbol 3			Árbol 4			Árbol 5			
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	
Epicarpio	10 R 3/4	7.5 YR 6/8														
Mesocarpio	10 R 3/3	7.5 YR 6/8														

c. Ensayo de Erdmann

En el ensayo de *Erdmann* para la detección de alcaloides específicos como codeína, morfina, narceína, narcotina y tebaína; se tuvo un resultado parecido a los dos anteriores donde se presenciaba opalescencia y un color amarillento, por lo que se puede calificar con una baja presencia de alcaloides.

Tabla 9: Color de la reacción para el ensayo de Erdmann

Ensayo de Erdmann																
Muestra	Árbol 1			Árbol 2			Árbol 3			Árbol 4			Árbol 5			
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	
Epicarpio	10 R 3/4	7.5 YR 6/8														
Mesocarpio	10 R 3/3	7.5 YR 6/8														

d. Ensayo de Marquis

Con este ensayo se pudo identificar alcaloides como heroína, morfina, codeína (color violeta – purpura) y anfetaminas y metanfetaminas (color naranja a pardo). El ensayo de *Marquis* para la detección de alcaloides tuvo un resultado negativo, debido a que presentó una coloración naranja débil.

Tabla 10: Color de la reacción para el ensayo de Marquis

<i>Ensayo de Marquis</i>																
Muestra	Árbol 1			Árbol 2			Árbol 3			Árbol 4			Árbol 5			
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	
Epicarpio	10 R 3/4	7.5 YR 5/6														
Mesocarpio	10 R 3/3	7.5 YR 5/6														

7.2.2. COMPUESTOS FENÓLICOS:

a. Ensayo de Gelatina salada

La turbidez de las reacciones de gelatina salada indica la presencia de fenoles, la cual resultó ser muy evidente para las muestras de los extractos de las capas de todos los árboles.

Tabla 11: Color de la reacción para el ensayo de Gelatina salada

<i>Ensayo de Gelatina Salada</i>																
Muestra	Árbol 1			Árbol 2			Árbol 3			Árbol 4			Árbol 5			
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	
Epicarpio	10 R 3/4	7.5 YR 5/6														
Mesocarpio	10 R 3/3	10 R 3/2														

b. Ensayo de Cloruro férrico

El ensayo de Cloruro férrico nos indica la presencia de taninos hidrolizables o pirogálicos, cuya reacción resultó muy evidente, debido a la obtención de una coloración azul- negruzco para las muestras de los extractos de las capas de todos los árboles.

Tabla 12: Color de la reacción para el ensayo de Cloruro férrico

<i>Ensayo de Cloruro Férrico</i>																
	<i>Muestra</i>	<i>Árbol 1</i>			<i>Árbol 2</i>			<i>Árbol 3</i>			<i>Árbol 4</i>			<i>Árbol 5</i>		
		R1	R2	R3												
Epicarpio	10 R 3/4	G 3/10	G 3/10	G 3/10												
Mesocarpio	10 R 3/3	G 3/10	G 3/10	G 3/10												

c. Ensayo de Shinoda

Mediante este ensayo se pudo detectar la presencia evidente de flavonoides en el epicarpio. Para el extracto de mesocarpio de los árboles, se presentaron reacciones muy evidentes, debido a que por la intensidad de la reacción mostraban una mayor saturación del color. El extracto de epicarpio reaccionaba más rápido al reactivo, mientras que el mesocarpio parecía contener una mayor presencia de flavonoides. El color rojo carmesí de la reacción podría indicar la presencia de flavanonas en el fruto de *Caesalpinia paipai*.

Tabla 13: Color de la reacción para el ensayo de Shinoda

<i>Ensayo de Shinoda</i>																
	<i>Muestra</i>	<i>Árbol 1</i>			<i>Árbol 2</i>			<i>Árbol 3</i>			<i>Árbol 4</i>			<i>Árbol 5</i>		
		R1	R2	R3												
Epicarpio	10R 3/4	10 R 4/6	10 R 4/6	10 R 4/6	10 R 4/6	10 R 4/6	10 R 4/6	10 R 4/6	10 R 4/6	10 R 4/6	10 R 4/6	10 R 4/6	10 R 4/6	10 R 4/6	10 R 4/6	10 R 4/6
Mesocarpio	10R 3/3	10 R 3/2	10 R 3/2	10 R 3/2	10 R 3/2	10 R 3/2	10 R 3/2	10 R 3/2	10 R 3/2	10 R 3/2	10 R 3/2	10 R 3/2	10 R 3/2	10 R 3/2	10 R 3/2	10 R 3/2

d. Ensayo de *Baljet*

En esta prueba se demuestra que se forma un precipitado color rojo, para los extractos de epicarpio y mesocarpio, en el caso del epicarpio formo más precipitado que para el mesocarpio, lo cual es posible encontrar en las especies de la familia Fabacea.

Según Prado (2009), las cumarinas simples han sido reportadas en más de 100 familias; sin embargo, su presencia se restringe mayoritariamente a las familias: Umbelliferae, Rutaceae, Asteraceae, Moraceae, Solanaceae y Fabaceae.

Tabla 14: Color de la reacción para el ensayo de *Baljet*

<i>Ensayo de Baljet</i>																
Muestra	Árbol 1			Árbol 2			Árbol 3			Árbol 4			Árbol 5			
	R1	R2	R3													
Epicarpio	10 R 2.5/2															
Mesocarpio	10 R 2.5/2															

e. Ensayo de *Bornträger*

El ensayo de *Bornträger* es aplicado para identificar la presencia de quinonas y antraquinonas. En ambos casos fue negativo debido a que la fase acuosa no presentaba una coloración rosada o rojiza para ninguna reacción. Además el extracto clorofórmico extrajo muy pocos metabolitos.

Tabla 15: Color de la reacción para el ensayo de *Bornträger* – Quinonas

<i>Ensayo de Bornträger - Quinonas</i>																
Muestra	Árbol 1			Árbol 2			Árbol 3			Árbol 4			Árbol 5			
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	
Epicarpio	2.5 Y 8/4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mesocarpio	2.5 Y 8/4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tabla 16: Color de la reacción para el ensayo de *Bornträger* – Antraquinonas y Naftoquinonas

<i>Ensayo de Bornträger - Antraquinonas y/o Naftoquinonas</i>																
<i>Muestra</i>	<i>Árbol 1</i>			<i>Árbol 2</i>			<i>Árbol 3</i>			<i>Árbol 4</i>			<i>Árbol 5</i>			
	R1	R2	R3													
Epicarpio	10 R 4/8	5 Y 6/4	5 Y 6/4	5 Y 6/4	5 Y 6/4	5 Y 6/4	5 Y 6/4	5 Y 6/4	5 Y 6/4	5 Y 6/4	5 Y 6/4	5 Y 6/4	5 Y 6/4	5 Y 6/4	5 Y 6/4	5 Y 6/4
Mesocarpio	10 R 4/8	5 Y 6/4	5 Y 6/4	5 Y 6/4	5 Y 6/4	5 Y 6/4	5 Y 6/4	5 Y 6/4	5 Y 6/4	5 Y 6/4	5 Y 6/4	5 Y 6/4	5 Y 6/4	5 Y 6/4	5 Y 6/4	5 Y 6/4

7.2.3. TERPENOIDES:

a. Ensayo de Ácido Tricloroacético

Lock (1994), señala que mediante la prueba de ácido tricloroacético se desarrolla un cambio de color naranja, rojo, rojo oscuro, esto determinara la presencia de triterpenos tetracíclicos y esteroides en caso desarrollen ese color a 60°C; en este caso se da la misma coloración para todas las muestras, siendo muy evidente para los extractos de epicarpio y tan solo evidente para los de mesocarpio.

Tabla 17: Color de la reacción para el ensayo de Ácido Tricloroacético

<i>Ensayo de Ácido Tricloroacético</i>																
<i>Muestra</i>	<i>Árbol 1</i>			<i>Árbol 2</i>			<i>Árbol 3</i>			<i>Árbol 4</i>			<i>Árbol 5</i>			
	R1	R2	R3													
Epicarpio	10 R 3/4	10 R 6/8	10 R 6/8	10 R 6/8	10 R 6/8	10 R 6/8	10 R 6/8	10 R 6/8	10 R 6/8	10 R 6/8	10 R 6/8	10 R 6/8	10 R 6/8	10 R 6/8	10 R 6/8	10 R 6/8
Mesocarpio	10 R 3/3	10 R 4/6	10 R 4/6	10 R 4/6	10 R 4/6	10 R 4/6	10 R 4/6	10 R 4/6	10 R 4/6	10 R 4/6	10 R 4/6	10 R 4/6	10 R 4/6	10 R 4/6	10 R 4/6	10 R 4/6

b. Ensayo de espuma

El contenido de saponinas fue variable para los árboles evaluados, se tuvo la misma intensidad de reacción entre epicarpio y mesocarpio entre cada árbol, los resultados para el árbol 1 fueron muy evidentes para los extractos de ambas capas, para los árboles 2, 3 y 5 resultaron solamente evidentes, pero para el árbol 4 fue poco evidente.

Tabla 18: Color de la reacción para el ensayo de espuma

<i>Ensayo de espuma</i>																
	<i>Muestra</i>	<i>Árbol 1</i>			<i>Árbol 2</i>			<i>Árbol 3</i>			<i>Árbol 4</i>			<i>Árbol 5</i>		
		R1	R2	R3												
Epicarpio	10 R 3/4	2.5 YR 5/8														
Mesocarpio	10 R 3/3	2.5 YR 5/8														

c. Ensayo de Rosenthaler

La reacción de las sapogeninas con el reactivo de *Rosenthaler* produce un cambio de coloración pardo a rojizo; en ambos casos para las capas, no se obtuvo el color violáceo, por lo que la reacción resulta poco evidente pero aceptable.

Tabla 19: Color de la reacción para el ensayo de Rosenthaler

<i>Ensayo de Rosenthaler</i>																
	<i>Muestra</i>	<i>Árbol 1</i>			<i>Árbol 2</i>			<i>Árbol 3</i>			<i>Árbol 4</i>			<i>Árbol 5</i>		
		R1	R2	R3												
Epicarpio	10 R 3/4	7.5 YR 6/8														
Mesocarpio	10 R 3/3	7.5 YR 6/8														

d. Ensayo de $SbCl_3/HClO_4$

Para el ensayo de $SbCl_3/HClO_4$ la presencia de delta sapogeninas se confirma cuando la reacción toma una coloración rosada, que es la reacción correspondiente a la diosgenina. En este caso para ambas capas se determinó que no había presencia de este metabolito. Aunque hay algunos autores como Velásquez *et al.* (2013), que indican que se podría clasificar como Digitonina o Hecogenina, por su tendencia al color amarillo, aunque estos componentes son exclusivos de las familias Asparagaceae y Plantaginaceae.

Tabla 20: Color de la reacción para el ensayo de $SbCl_3/HClO_4$

<i>Ensayo de $SbCl_3/HClO_4$</i>																
<i>Muestra</i>	<i>Árbol 1</i>			<i>Árbol 2</i>			<i>Árbol 3</i>			<i>Árbol 4</i>			<i>Árbol 5</i>			
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	
Epicarpio	10 R 3/4	10 YR 5/5														
Mesocarpio	10 R 3/3	10 YR 5/5														

7.2.4. GRUPOS FUNCIONALES (CADENAS ABIERTAS)

a. Ensayo de *Baeyer*

La presencia de grupos funcionales, mediante la prueba de *Baeyer* es positiva mediante la formación de una coloración marrón oscuro o café; todos los resultados obtuvieron la misma coloración café.

Tabla 21: Color de la reacción para el ensayo de *Baeyer*

<i>Ensayo de <i>Baeyer</i></i>																
<i>Muestra</i>	<i>Árbol 1</i>			<i>Árbol 2</i>			<i>Árbol 3</i>			<i>Árbol 4</i>			<i>Árbol 5</i>			
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3	
Epicarpio	10 R 3/4	10 YR 3/4														
Mesocarpio	10 R 3/3	10 YR 3/4														

7.2.5. HIDROCARBUROS AROMÁTICOS

a. Ensayo de $\text{CH}_2\text{O}-\text{H}_2\text{SO}_4$

Los resultados obtenidos mostraron que no existe presencia de hidrocarburos aromáticos; además el extracto clorofórmico extrajo muy pocos metabolitos.

Tabla 22: Color de la reacción para el ensayo de $\text{CH}_2\text{O}-\text{H}_2\text{SO}_4$

<i>Ensayo de CH2O-H2SO4</i>																
<i>Muestra</i>		<i>Árbol 1</i>			<i>Árbol 2</i>			<i>Árbol 3</i>			<i>Árbol 4</i>			<i>Árbol 5</i>		
		R1	R2	R3												
Epicarpio	2.5 Y 7/2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mesocarpio	2.5 Y 7/2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

V. CONCLUSIONES

- 1) El tamizaje fitoquímico realizado con las muestras de los frutos de *Caesalpinia paipai* permitió la detección de los siguientes metabolitos primarios y secundarios: azúcares reductores, fenoles, flavonoides, cumarinas, núcleos esteroidales y triterpénicos, y saponinas.
- 2) Se detectó una mayor presencia de cumarinas y flavonoides para el mesocarpio; y una mayor existencia de triterpénicos y esteroidales para el epicarpio.
- 3) Las cenizas dentro del fruto de *Caesalpinia paipai* muestran diferencias entre el epicarpio y el mesocarpio del fruto, con promedios de porcentaje de ceniza de 2.9 por ciento y 3.47 por ciento respectivamente.
- 4) En la determinación del porcentaje de solubilidad y de sólidos totales, se obtuvo una mayor extracción de compuestos solubles en el epicarpio y en el mesocarpio para el alcohol de 50°.
- 5) En la determinación del porcentaje de sólidos solubles totales, los valores llegan al mayor porcentaje de solubles totales para el etanol a 70°.

VI. RECOMENDACIONES

- Ampliar el estudio fitoquímico con frutos de otras procedencias y en diferentes partes botánicas del árbol.
- Ampliar estudios sobre los metabolitos primarios y secundarios presentes en esta especie considerando como factores la variación estacional y la edad de la planta.
- Ampliar el estudio de esta especie realizando ensayos de cuantificación de los metabolitos secundarios encontrados en las capas del pericarpio de este fruto. Sobre todo en los metabolitos que presenciaron una diferencia entre epicarpio y mesocarpio.
- Se recomienda hacer un estudio de los minerales existentes en el epicarpio y el mesocarpio, en diferentes condiciones de sitio y que distinga diferentes estados de maduración del fruto.
- Para mayor precisión del color se recomienda hacer uso de un colorímetro.
- Se recomienda realizar investigaciones que comprueben la posible acción antiinflamatoria, antioxidante, antienzimática, analgésica, antiséptica, antibacteriana, antimicótica y antitumoral que producen los extractos etanólicos de los metabolitos presentes en el fruto de charán.

VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ávalos, A; Pérez, E. 2009. Metabolismo secundario de las plantas. *Reduca (Biología)*, Serie Fisiología Vegetal 2(4): 119-145. Consultado 15 oct. 2016. Disponible en: http://eprints.ucm.es/9603/1/Metabolismo_secundario_de_plantas.pdf
- Arango, G. 2008. Alcaloides y compuestos nitrogenados. Universidad de Antioquia. Medellín, CO. 84p. Consultado 15 oct. 2016. Disponible en: <http://www.innovacion.gob.sv/inventa/attachments/article/856/alcaloides.pdf>
- Baldizán, A; Domínguez, C; García, D, Chacón, E; Aguilar, L. 2006. Metabolitos secundarios y patrón de selección de dietas en el bosque decíduo tropical de los llanos centrales venezolanos (en línea). *Zootecnia Tropical* 24(3):213-232. Consultado 08 set. 2016. Disponible en: <http://www.bioline.org.br/pdf?zt06019>
- Bonilla, N; Varón, F; Garzón, L. 2014. Extracción de pigmentos colorantes tipo flavonoides, Flor del pomo (*Syzygium jambos*). Zona verde del Iejar. Florencia Caquetá (en línea). *Revista Amazonia investiga* 3(5): 34-43. Consultado 31 may. 2017. Disponible en: <http://www.udla.edu.co/revistas/index.php/amazonia-investiga/article/view/55>
- Bruneton, J. 2001. Farmacognosia. Fitoquímica: Plantas Medicinales 2 ed. Zaragoza, ES. Editorial ACRIBIA, S.A. 1120 p. Consultado 24 de may. 2017. Disponible en: <http://propanona.blogspot.pe/2014/08/farmacognosia-fitoquimica-plantas.html>
- Covarrubias, A. 2009. Caracterización de la locomoción de ratas expuestas a semillas de *Dioon edule* Lindl. Tesis para optar el título de Químico Farmacobiólogo. San Luis de Potosí, MX. Universidad Autónoma de San Luis de Potosí. 62p. Consultado 31 de may. 2017. Disponible en: <http://www.cycad.org/grants/2007/TESIS-ALEJANDRA-COVARRUBIAS.pdf>

- Cuadrado, L. 2004. Estudio Bromatológico y Fitoquímico de la Jicama (*Smilax tuberosa*) para determinar el tiempo óptimo de cosecha. Tesis para optar al título de Doctor en Bioquímica y Farmacia. Riobamba, EC. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo. Consultado 6 de jun. 2017. 210p. Disponible en: https://books.google.com.pe/books?id=R7kbAgAAQBAJ&pg=PA146&lpg=PA146&dq=ensayo+de+baljet+precipitado+rojo&source=bl&ots=_bo5Dx2ILg&sig=Nhicm480HLiEPvjR6oMGJVjxmFk&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwiss7u11fDMAhWG4CYKHWCBDDdwQ6AEIJTAC#v=onepage&q&f=true
- Deaquiz, Y. 2014. Los frutos y su fotosíntesis. Conexión Agropecuaria JDC 4(1): 39-47. Consultado 6 jun. 2017. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/305000679_Los_frutos_y_su_fotosintesis
- Ege, S. 2000. Química Orgánica. Estructura y Reactividad. 3 ed, tomo 2. University of Michigan. USA. Editorial Reverté. 1367 p. Consultado 6 jun. 2017. Disponible en: <http://www.quimicaorganica.org/google-books/572-seyhan-ege-volumen-2.html>
- Elías, C. 1990. Desarrollo de un Método Espectrofotométrico para la determinación de Ácido Oleanólico en Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.). Tesis para optar el título de Ingeniero en Industrias Alimentarias. Lima, PE. Universidad Nacional Agraria La Molina. 139p. Consultado 6 jun. 2017. Disponible en: <http://repositorio.lamolina.edu.pe/bitstream/handle/UNALM/1731/TX558.Q8.E4-T.pdf?sequence=1>
- Espinal, N. 2009. Extracción y caracterización fisicoquímica del contenido tánico en la corteza de cinco especies forestales procedentes del Departamento de Petén, aprovechando el subproducto de la industria de aserradero. Tesis para optar el título de Ingeniero Químico. Guatemala, GTM. Universidad de San Carlos de Guatemala. 265p. Consultado 15 oct. 2016. Disponible en: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08_1114_Q.pdf
- Espinoza, S; Narváez, F. 2007. Determinación de los costos de calidad en la industria de los jugos envasados. Tesis para la optar el título de Economista. Guayaquil, EC. Escuela Superior Politécnica del Litoral. 127p. Consultado 14 oct. 2016. Disponible en: <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/8673/1/D-39834.pdf>

- Estrada, D. 2011. Extracción y caracterización fitoquímica de los pigmentos vegetales presentes en el fruto del Palo de Arrayán (*Myrica cerifera* L.) proveniente del Departamento del Progreso. Tesis para la optar el título de Ingeniero Químico. Guatemala, GTM. Universidad de San Carlos de Guatemala. 154p. Consultado 08 set. 2016. Disponible en: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08_1217_Q.pdf
- Estrella, M; Troya, S. 2007. Estudio etnobotánico en la Reserva Ecológica Militar Arenillas, Provincia de el Oro. Tesis de grado para optar el título de Ingeniero en Manejo y Conservación del Medio Ambiente. Loja, EC. Universidad Nacional de Loja. 290p. Consultado 31 ag. 2016. Disponible en: <http://dspace.unl.edu.ec/jspui/bitstream/123456789/5041/1/ESTUDIO%20ETNOBOT%20EN%20LA%20RESERVA%20ECOL%20GICA%20MILITAR%20ARENILLAS.pdf>
- Fernández, A; Rodríguez, E. 2007. Etnobotánica del Perú Pre-Hispano. 1 ed. Trujillo, PE. Universidad Nacional de Trujillo Ediciones Herbarium Truxillense. 253p. Consultado 31 ag. 2016. Disponible en: https://issuu.com/lenriq/docs/etnobotanica_del_peru_prehispano_-_eric_rodriguez_
- FAO. 2004. Estudio de tendencias y perspectivas del sector forestal en América Latina (en línea). Lima, PE. Consultado 31 ag. 2016. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/007/j4024s/j4024s00.htm#TopOfPage>
- Gomes, I; Cordeiro, G; Ribeiro, G; Marques, C; Sátiro, H; Antonia, I. 2011. Estudio fitoquímico preliminar e avaliação da toxicidade aguda do extrato etanólico bruto de *Caesalpinia echinata* Lam. Revista Brasileira de Farmácia. 92(3): 219-222. Consultado 06 oct. 2016. Disponible en: <http://www.rbfarma.org.br/files/rbf-2011-92-3-23.pdf>

- Grandtner, M; Chevrette, J. 2014. Dictionary of Trees, Nomenclature, South America Taxonomy and Ecology. Laval University. Quebec, Canada. Elsevier. Vol 2. 1172 p. Consultado 08 set. 2016. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=XALR11qzcLMC&pg=PA348&lpg=PA348&dq=genero+licania++apacharama+perteneciente+a+peru&source=bl&ots=4yrioQn1e6&sig=0pArw0VvcuS6iBp9XI8s3MpYCGE&hl=es&sa=X&ei=-m0IVdP-IMO5ggSftYSwCw&ved=0CBsQ6AEwAA#v=onepage&q=genero%20licania%20%20apacharama%20perteneciente%20a%20peru&f=false>
- Guerra, A. 2005. Obtención, caracterización y evaluación de las propiedades físico – químicas de los extractos fluidos, blandos y secos así como de las tinturas del rizoma y de la fronda de Calahuala (*Phlendobium pseudoaureum*) a nivel de laboratorio. Tesis para la optar el título de Ingeniero Químico. Guatemala, GTM. Universidad de San Carlos de Guatemala. Consultado 08 set. 2016. Disponible en: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08_0951_Q.pdf
- Gunn, C. 1991. Fruits and Seeds of Genera in the Subfamily Caesaplinioideae (Fabaceae). United States Department of Agriculture. 118p. Consultado 08 set. 2016. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=VcRDAQAAMAAJ&pg=PA90&lpg=PA90&dq=vitriol+tissues+in+interstices&source=bl&ots=Wdf6rYgS-7&sig=IPHq0qh5xydC2yj6QaVdGFRr2B8&hl=es&sa=X&ved=0CBoQ6AEwAGoVChMI8Y7mhurhyAIVROomCh2ZJwmu#v=onepage&q=vitriol%20tissues%20in%20interstices&f=true>
- Goycochea, R. 2010. Evaluación de taninos y goma del fruto de la Tara *Caesalpinia spinosa* (Molina) Kuntze provenientes de las lomas de Atiquipa, Arequipa – Perú. Tesis para optar el Título de Ingeniero Forestal. Lima, PE. Universidad Nacional Agraria de la Molina. 106p.
- Groom, A. 2012. *Libidibia glabrata*. Red List of Threatened Species. International Union for Conservation of Nature and natural resources. 7p. Consultado 31 ag. 2016. Disponible en: <http://www.iucnredlist.org/pdf/link.20031656>

- Herrera, V. 2013. Estudio comparativo del contenido de compuestos volátiles, ácidos grasos, capsaicina y carotenos en *Capsicum annuum* var *annuum* sometido a un proceso de secado. Tesis para la optar el título de Ingeniero Químico. Veracruz, MX. Universidad Veracruzana. Consultado 16 oct. 2016. Disponible en: <http://cdigital.uv.mx/bitstream/123456789/33118/1/herreraarcosvianca.pdf>
- Jaramillo, F. 2014. Productos Naturales. Universidad Nacional Abierta y a Distancia. Dosquebradas, CO. Consultado 12 set. 2016. Disponible en: http://datateca.unad.edu.co/contenidos/401551/401551_Modulo_ProductosNaturales_Ajustes_Julio_18_2014.pdf
- Játiva, S. 2011. Determinación del contenido de tanino procedente del Guarango (*Caesalpinia spinosa*) y evaluación de uso como fungicida. Tesis para la optar el título de ingeniero agroindustrial. Quito, EC. Escuela Politecnica Nacional. 116p. Consultado 25 may. 2017. Disponible en: <http://bibdigital.epn.edu.ec/bitstream/15000/4372/1/CD-3971.pdf>
- Jeréz, L. 2008. Control de la inversión de la sacarosa en el proceso de elaboración de jarabe simple de bebidas carbonatadas. Tesis para la optar el título de Ingeniero Químico. Guatemala, GTM. Universidad de San Carlos de Guatemala. 82p. Consultado 25 may. 2017. Disponible en: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/08/08_1078_Q.pdf
- Kaur, H; Humayoon, M; Kumar, P; Singh, A; Suttee, A. 2016. Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity of *Caesalpinia sappan* L. Leaves. International Journal of Pharmacognozy and Phytochemical Research 8(6); 1040-1045. Consultado 14 set. 2017. Disponible en: <http://impactfactor.org/PDF/IJPPR/8/IJPPR,Vol8,Issue6,Article23.pdf>
- Leyva, E; Navarro, G; Loredó, S; Santos, M. 2011. Biosíntesis y actividad biológica de fitoestrógenos y fitoesteroides. Boletín de la Sociedad Química de México 5(2,3): 35-43. Consultado 17 may. 2017. Disponible en: <http://bsqm.org.mx/pdf-boletines/V5/N1-3/08.-%20Leyva.pdf>

- Lizcano, A; Vergara, J. 2008. Evaluación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólicos y/o aceites esenciales de las especies vegetales *Valeriana pilosa*, *Hesperomeles ferruginea*, *Myrcianthes rhopaloides* y *Passiflora manicata* frente a microorganismos patógenos y fitopatógenos. Trabajo de tesis para optar el título de Microbióloga Industrial. Bogotá, CO. Pontificia Universidad Javeriana. 131p. Consultado 17 may. 2017. Disponible en: <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis151.pdf>
- Lock de Ugaz, O. 1994. Investigación fitoquímica. Métodos en el estudio de productos naturales. Pontífice Universidad Católica del Perú, Fondo Editorial. Lima, PE. 213p.
- Lock de Ugaz, O. 1997. Colorantes Naturales. 1 ed. Pontífice Universidad Católica del Perú, Fondo Editorial. Lima, PE. 274p.
- Lock de Ugaz, O. 2001. Manual de fitoterapia. Capítulo IV Análisis fitoquímico y metabolitos secundarios. Lima, PE. 24p. Consultado 29 may. 2017. Disponible en: <https://es.scribd.com/document/59831807/Cap4-Analisis-Fitoquimico-y-Metabolitos-Secundarios>
- López-Casamayor, E. 2007. Estudio fitoquímico y aproximación genética en especies de la sección Plinthine del Género *Arenaria* (Caryophyllaceae). Tesis Doctoral. Granada, ES. Universidad de Granada. 186p. Consultado 29 may. 2017. Disponible en: <https://hera.ugr.es/tesisugr/16727216.pdf>
- Machaca, M; Luis, R. 2007. Estudio farmacognóstico y determinación de la actividad antituberculosa de *Spergularia media* (L.) Griseb. Choquetacarpo. Trabajo de tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. Lima, PE. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 73p. Consultado 20 set. 2016. Disponible en: <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/xmlui/handle/cybertesis/1500>

- Marcano, D; Hasegawa, M. 2002. Fitoquímica Orgánica. 2 ed. Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico. Universidad Central de Venezuela. Caracas, VZ. 593p. Consultado 20 oct. 2016. Disponible en: [https://books.google.com.pe/books?id=hPkjgPwXD-QC&pg=PA8&lpg=PA8&dq=Marcano+y+hasegawa+\(2002\).+Fitoquimia+organica+segunda+edici%C3%B3n+consejo+de+desarrollo+cient%C3%ADfico+y+human%C3%ADstico.&source=bl&ots=N8OclbZjkC&sig=pcipypFnUmE5UT0VUqRP-H0IsM4&hl=es&sa=X&ved=0CBsQ6AEwAGoVChMI7NWIlJ-LyQIVQzMmCh0qygnb#v=onepage&q=Marcano%20y%20hasegawa%20\(2002\).%20Fitoquimia%20organica%20segunda%20edici%C3%B3n%20consejo%20de%20desarrollo%20cient%C3%ADfico%20y%20human%C3%ADstico.&f=true](https://books.google.com.pe/books?id=hPkjgPwXD-QC&pg=PA8&lpg=PA8&dq=Marcano+y+hasegawa+(2002).+Fitoquimia+organica+segunda+edici%C3%B3n+consejo+de+desarrollo+cient%C3%ADfico+y+human%C3%ADstico.&source=bl&ots=N8OclbZjkC&sig=pcipypFnUmE5UT0VUqRP-H0IsM4&hl=es&sa=X&ved=0CBsQ6AEwAGoVChMI7NWIlJ-LyQIVQzMmCh0qygnb#v=onepage&q=Marcano%20y%20hasegawa%20(2002).%20Fitoquimia%20organica%20segunda%20edici%C3%B3n%20consejo%20de%20desarrollo%20cient%C3%ADfico%20y%20human%C3%ADstico.&f=true)
- Martínez, A. 2001. Saponinas Esteroides. Universidad de Antioquia. Medellin, CO. 22p. Consultado 09 may. 2017. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/283308863_Saponinas_esteroides
- Martínez, B. 2011. Análisis bromatológico del carambolo (*Alverrhoa carambola* L.) y determinación de su capacidad antioxidante. Trabajo de tesis para optar el título de Ingeniero Químico. Veracruz, MX. Universidad Veracruzana. 54p. Consultado 24 set. 2016. Disponible en: <https://es.scribd.com/doc/138973272/ANALISIS-BROMATOLOGICO-DEL-CARAMBOLO-Y-DETERMINACION-DE-SU-CAPACIDAD-ANTIOXIDANTE>
- Macbride, F. 1943. Flora of Perú. Field Museum of Natural History. Part III. 13(1):507. Consultado 18 may. 2017. Disponible en: <http://www.seabean.com/mucuna/Literature/MacBride.%201943.%20Leguminosa e,%20Flora%20of%20Peru.pdf>

- Mc Murry, J. 2012. Química Orgánica. 8 ed. New York, USA. Cengage Learning. 1258p. Consultado 18 may. 2017. Disponible en: [https://books.google.com.pe/books?id=okQZdnD_MvQC&pg=PA75&lpg=PA75&dq=Mc+murry+Los+alquenos,+los+alquinos+y+los+arenos+\(compuestos+arom%C3%A1ticos\)+contienen+enlaces+m%C3%BAltiples+carbono-carbono;+los+alquenos+tienen+un+enlace+doble;+los+alquinos+tienen+un+enlace+triple+y+los+arenos+tienen+enlaces+sencillos+y+dobles+alternados+en+un+anillo+de+seis+%C3%A1tomos+de+carbono.+Estos+compuestos+tambi%C3%A9n+tienen+similitudes+qu%C3%ADmicas+debido+a+sus+semejanzas+estructurales&source=bl&ots=Ybbx5RdSt8&sig=tMizRHOKA6GAbTt7VGSj4ppVfDo&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwiUmrP79LUAhWMJiYKHTNRAeYQ6AEIzAA#v=onepage&q&f=false](https://books.google.com.pe/books?id=okQZdnD_MvQC&pg=PA75&lpg=PA75&dq=Mc+murry+Los+alquenos,+los+alquinos+y+los+arenos+(compuestos+arom%C3%A1ticos)+contienen+enlaces+m%C3%BAltiples+carbono-carbono;+los+alquenos+tienen+un+enlace+doble;+los+alquinos+tienen+un+enlace+triple+y+los+arenos+tienen+enlaces+sencillos+y+dobles+alternados+en+un+anillo+de+seis+%C3%A1tomos+de+carbono.+Estos+compuestos+tambi%C3%A9n+tienen+similitudes+qu%C3%ADmicas+debido+a+sus+semejanzas+estructurales&source=bl&ots=Ybbx5RdSt8&sig=tMizRHOKA6GAbTt7VGSj4ppVfDo&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwiUmrP79LUAhWMJiYKHTNRAeYQ6AEIzAA#v=onepage&q&f=false)
- Millo, F; Loffredo, W. 1995. Qualitative testing for amino acids and proteins. REAC 448. Chemical Education Resources. Towson State University and East Stroudsburg University. Pennsylvania, USA. 12p. Consultado 09 may. 2017. Disponible en: <http://labopsilton.wikispaces.com/file/view/qualitative+testing+for+amino+acids+%26+proteins.pdf>
- Moreano, M. 2015 Determinación de azúcares reductores y su relación con carbohidratos no absorbidos en niños (a) del centro de educación inicial “María Montessori” del cantón Latacunga en el período 2014- 2015. Trabajo de tesis para optar el título de Licenciada en Laboratorio Químico. Ambato, EC. Universidad Técnica de Ambato. 83p. Consultado 24 oct. 2016. Disponible en: [http://repo.uta.edu.ec/bitstream/123456789/10569/1/TESIS%20MAYRA%20MOREANO%20\(1\).pdf](http://repo.uta.edu.ec/bitstream/123456789/10569/1/TESIS%20MAYRA%20MOREANO%20(1).pdf)
- Moyano, L. 2013. Comprobación del efecto laxante del extracto etanólico de raíces y hojas de Taraxaco (*Taraxacum officinale*) en ratones (*Mus musculus*). Trabajo de tesis para optar el título de Bioquímico Farmacéutico. Riobamba, EC. Escuela superior Politécnica de Chimborazo. 83p. Consultado 22 set. 2016. Disponible en: <http://dspace.espace.edu.ec/bitstream/123456789/2563/1/56T00330.pdf>

- Noboa, M. 2010. Comparación del efecto de riesgo con aguas residuales provenientes de las lagunas de oxidación de Santa Elena, sobre 4 especies forestales (*Loxopterygium huasango*, *Tabebuia* sp, *Pseudosamanea guachapele*, *Caesalpinia glabrata*) en etapa de vivero. Trabajo de tesis para optar el título de Ingeniero agrícola y biológica. Guayaquil, EC. Escuela Superior Politécnica del Litoral. 101p. Consultado 05 set. 2017. Disponible en: <https://www.dspace.espol.edu.ec/bitstream/123456789/14480/3/TESIS%20MARI A%20ELENA%20NOBOA.pdf>
- Núñez, W; Quispe, R. 2015. Evaluación antioxidante y antienzimática in vitro y antiinflamatoria in vivo del extracto hidroalcohólico de la *Caesalpinia spinosa* "tara". Trabajo de tesis para optar el título de Químico Farmacéutico. Lima, PE. 136p. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Consultado 28 set. 2016. Disponible en: <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/4484>
- O'Brien, E. 2015. Propuesta de análisis espacial para el manejo forestal en los bosques secos del norte. Estudio del caso: sector el Cardo, caserío el Choloque, Lambayeque, Perú. Tesis para optar el Título de Ingeniero Forestal. Lima, PE. Universidad Nacional Agraria de la Molina. 215p.
- Paca, N. 2013. Efecto estrogénico del extracto alcohólico de hojas de alfalfa (*Medicago sativa* L.) en ratas (*Rattus norvegicus*). Trabajo de tesis para optar el título de Bioquímico Farmacéutico. Riobamba, EC. Escuela superior Politécnica de Chimborazo. 123p. Consultado 20 set. 2016. Disponible en: <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/2565/1/56T00332.pdf>
- Paech, K; Tracey, M. 1980. Modern Methods of Plant Analysis. Volume IV. Springer – Verlag. Berlin, AL 765p. Consultado 20 set. 2016. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=Nu3xCAAQBAJ&pg=PA453&lpg=PA453&dq=erdmann+reaction+alkaloid+codeine&source=bl&ots=DetmZi9My6&sig=Wa85n0MCPc0sstPmPGgGQAu5Ifk&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwijnPSUrpTVAhVBPiYKHQNbBTAQ6AEIOzAD#v=onepage&q=erdmann%20reaction%20alkaloid%20codeine&f=true>
- Palacios, M. 2013. Texto digital Farmacognosia y Fitoquímica. Chimbote, PE. Universidad Católica los Ángeles de Chimbote. 172p. Consultado 31 may. 2017. Disponible en https://issuu.com/leono/docs/farmacognosia_y_fitoqu__mica_tf

- Pinzón, I; Fischer, G; Corredor, G. 2007. Determinación de los estados de madurez del fruto de la gulupa (*Passiflora edulis* Sims.). *Agronomía Colombiana*. 25(1):.83-95. Consultado 22 set. 2016. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=180316240010>
- Prado, M. 2009. Estudio fitoquímico de la corteza de capirona *Calycophyllum spruceanum* en la zona de Pucallpa. Tesis para optar el Título de Ingeniero Forestal. Lima, PE. Universidad Nacional Agraria de la Molina. 61p.
- Rasal, M; Troncos, J; Lizano, C; Parihuamán, O; Quevedo, D; Rojas, C; Delgado, G. 2011. Características edáficas y composición florística del bosque estacionalmente seco la Menta y Timbes, Región Piura, Perú. *Ecología Aplicada*, 10(2):61-74. Consultado 15 oct. 2016. Disponible en: http://www.lamolina.edu.pe/ecolapl/articulo_7_no2_vol_10.pdf
- Ringuelet, J; Viña, S. 2013. *Productos Naturales Vegetales*. 1 ed. Universidad Nacional de la Plata. La Plata, AR. Editorial de la Universidad de la Plata. 258p. Consultado 15 oct. 2016. Disponible en: <https://es.slideshare.net/marcovinicioroblesaguilar/productos-naturales-vegetales>
- Rodríguez, M. 2011. Obtención de derivados de ácido quillaico a partir de Quillaja saponaria. Evaluación de la actividad antiinflamatoria tópica y oral. Tesis para optar el título de Doctora en Química. Santiago de Chile, CHL. Universidad de Chile. 113p. Consultado 15 oct. 2016. Disponible en: http://repositorio.uchile.cl/bitstream/handle/2250/112116/rodriguez_d_m.pdf;sequence=1
- Romero, J; Orellana, V; Balseca, M. 2016. Morfología, imbibición y germinación de semillas de *Caesalpinia glabrata* Kunth (Fabaceae) distribuida en un bosque seco tropical. *Revista Chapingo; Serie Zonas Áridas* 15(2):89-101. Consultado 05 set. 2017. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=455549598001>
- Romero, R. 2012. Cuantificación de Polifenoles en hojas de Uña de gato *Uncaria tomentosa* (Willd, ex Schult) DC, proveniente de tres localidades en Ucayali. Tesis para optar el título de Ingeniero Forestal. Lima, PE. Universidad Nacional Agraria de la Molina. 106p.

- Romo de Vivar, A. 2006. Química de la Flora Mexicana, Investigaciones en el instituto de Química UNAM. Ciudad de México. MX. Universidad Nacional Autónoma de México. 224p. Consultado 09 may. 2017. Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=2rZKFmqYfSIC&pg=PA143&lpg=PA143&dq=saponinas+familias&source=bl&ots=nCHAq1c68Z&sig=uuKhHUrH04h2VqkIDwQ7cQEexeY&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjn24zzir7UAhWK7SYKHanTAI MQ6AEIPzAG#v=onepage&q=saponinas%20familias&f=true>
- Santizo, I. 2004. Identificación de familias de metabolitos secundarios en *Myrica cerífera*. Trabajo de tesis para optar el título de Químico Biólogo. Guatemala, GTM. Universidad de San Carlos de Guatemala. 134p. Consultado 09 may. 2017. Disponible en: http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2228.pdf
- Sepúlveda, J; Porta, H; Rocha, M.2003. La Participación de los Metabolitos Secundarios en la Defensa de las Plantas. Revista Mexicana de Fitopatología. 21(3):355-363. Consultado 14 oct. 2016. Disponible en: <http://www.redalyc.org/pdf/612/61221317.pdf>
- Servera, J. 2001. Identificación Físico – Química de drogas del trafico ilícito. Pamplona, ES. XX curso de actualización para postgraduados en farmacia organizada por la Facultad de Farmacia de la Universidad de Navarra. 385p. Consultado 14 oct. 2016. Disponible en: http://dadun.unav.edu/bitstream/10171/36219/1/Farma20_Reimpresion.pdf
- Sharapin, N. 2000. Fundamentos de tecnología de productos fitoterapéuticos. Editado por Pinzon, R. 1 ed. Bogotá, CO. Convenio Andrés Bello & red iberoamericana de productos fitofarmacéuticos. 251p. Consultado 08 set. 2016. Disponible en: https://books.google.com.pe/books?hl=es&lr=&id=XH2HzSIJPywC&oi=fnd&pg=PA13&dq=el+agua+en+la+extraccion+de+compuestos+activos+de+las+plantas&ots=iTurF_JIBl&sig=wMwtdSDxMWGFTJ3WSCaSf7A-WE8&redir_esc=y#v=onepage&q=el%20agua%20en%20la%20extraccion%20de%20compuestos%20activos%20de%20las%20plantas&f=true

- Tapia, J. 2012. Determinación de la actividad antimicrobiana de los extractos etanólico y subextractos clorofórmico y etéreo de *Senna multijuga*, *Tagetes zipaquirensis*, y *Coursetia dubia*. Tesis para optar el título de Bioquímico Farmacéutico. Riobamba, EC. Escuela Superior de Chimborazo. 116p. Consultado 31 may. 2017. Disponible en: <http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/2449/1/56T00318.pdf>
- Teresinha, S. 2008. Estudio de características físico-químicas y biológicas del polen de *Apis mellifera* L. de la region. Tesis para optar al título de doctor en Tecnología de Alimentos. Curitiba, BR. Universidad Federal de Paraná. 249p. Consultado 6 jun. 2017. Disponible en: <http://acervodigital.ufpr.br/bitstream/handle/1884/15144/Tese%20%20P%F3len%20-%20Solange%20Carpes.pdf;jsessionid=1CAB0A5A86AE793D384E3EBBEB8DA3A1?sequence=1>
- Torres, J. 2014. Evaluación de la actividad antimicrobiana de extractos de *Luma chequen* (Molina) A. Gray "Arrayán" frente a patógenos aislados de hemocultivos del Hospital Nacional Guillermo Almenara Irigoyen, Lima – Perú. Tesis para optar el título Profesional de Biólogo Microbiólogo Parasitólogo. Lima, PE. Universidad Nacional Mayor de San Marcos. 118p. Consultado 31 may. 2017. Disponible en: <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/3605>
- Velásquez, O.; Murillo, E.; Méndez, J.; Arango, W; Noreña, D. 2013. Cuantificación, caracterización química y biológica del contenido saponósido de *Sida cordifolia* L. (escobilla). Revista Cubana de Plantas Medicinales 18(2):298-314. Consultado 31 may. 2017. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1028-47962013000200013
- Vicet, L. 2009. Contribución a la farmacología antiinflamatoria de la especie *Capraria biflora*. Tesis para optar el grado de doctor en Ciencias de la Salud. La Habana, CU. Universidad Central Marta Abreu de las Villas. 129p. Consultado 25 set. 2016. Disponible en: http://tesis.repo.sld.cu/90/1/_liliana_Vicet.pdf

- Viglierchio, M; Toribio, M; Alonso, G; Bruni, M; Fernández, M; Toso, R. 2000. Relevamiento fitoquímicos de *Caesalpinia gilliesii* y de otras especies de Caesalpinias. Anuario 2000. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional de La Pampa. 1(2):35 - 47. Consultado 05 oct. 2016. Disponible en: <http://www.biblioteca.unlpam.edu.ar/pubpdf/anuavet/n2000a05viglierchio.pdf>
- Villarreal, B; Cantú, F; Treviño, M; Magda, S; Hinojoza, V. 1995. Selección de Lecturas y Guía del alumno, Química III. 1ed. Monterrey, MX. Universidad Autónoma de Nuevo León. 200p. Consultado 31 may. 2017. Disponible en: <http://cdigital.dgb.uanl.mx/la/1020124208/1020124208.PDF>
- Yachi, K. 2013. Estudio Socio – Económico, Línea base El Choloque. Vlrivos. Lima, PE. Universidad Nacional Agraria de la Molina. 86p.
- Zapata, L. 2014. Obtención de extracto de antocianinas a partir de arándanos para ser utilizado como antioxidante y colorante en la industria alimentaria. Trabajo de tesis doctoral del Departamento de Tecnología de Alimentos. Valencia, ES. Universidad Politécnica de València. 204p. Consultado 10 set. 2017. Disponible en: [https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/39105/Versi%C3%B3n%203%20Tesis%20Luz%20Marina%20Zapata.pdf%20\(1\).PDF?sequence=21](https://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/39105/Versi%C3%B3n%203%20Tesis%20Luz%20Marina%20Zapata.pdf%20(1).PDF?sequence=21)
- Zevallos, P. 1986. Caracterización dendrológica de 30 especies forestales de Lambayeque. Trabajo de tesis para optar el título de Ingeniero Forestal. Lima, PE. Universidad Nacional Agraria de la Molina. 116p.
- Zoroguastúa, P; Quiroz, R; Garatuza J. 2011. Evaluación de cambios en la cobertura y uso de la tierra con imágenes de satélite en Piura- Perú. Ecología Aplicada, 10(1): 13-22. Consultado 24 nov. 2015. Disponible en: <http://www.scielo.org.pe/pdf/ecol/v10n1/a02v10n1>

VIII. ANEXOS

ANEXO 1 UBICACIÓN Y CARACTERÍSTICAS DE LOS ÁRBOLES MUESTREADOS

	<i>Este</i>	<i>Norte</i>	<i>DAP (m)</i>	<i>ALTURA (m)</i>	<i>DIAMETRO DE COPA (m)</i>
Árbol 1	651075	9328307	0,32	6	8
Árbol 2	651052	9328302	0,29	3	6
Árbol 3	651028	9328304	0,20	4	6
Árbol 4	650966	9328252	0,27	5	6
Árbol 5	650912	9328203	0,20	3	4



ANEXO 2

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO DE HUMEDAD GRAVIMÉTRICA

De la muestra de ensayo, se pesan 2,0 g con un error máximo de 0,5 mg y se transfiere a un pesa filtro previamente tarado y se deseca a 105°C durante 3 h. El pesa filtro se pasa a una desecadora donde se deja enfriar a la temperatura ambiente y se pesa, colocándose nuevamente en la estufa durante 1 h; se repite esta operación hasta obtener una masa constante.

El contenido de humedad (H) de la muestra de ensayo expresada en porciento se calcula mediante la fórmula siguiente:

$$H_g = \frac{M2-M1}{M} \times 100 (\%) \text{ m/m}$$

Dónde:

M2: masa del pesa filtro con la muestra de ensayo (g)

M1: masa del pesa filtro con la muestra de ensayo desecada (g)

100 factor matemático para los cálculos

ANEXO 3

PROCEDIMIENTO PARA CONTENIDO DE CENIZAS TOTALES

Se pesa 1 g de muestra de las capas del pericarpio del fruto de *Caesalpinia paipai*, con un error máximo de 0,5 mg en un crisol de porcelana, previamente tarado. Se calienta suavemente la muestra de ensayo aumentando la temperatura hasta carbonizar y posteriormente se incinera en un horno mufla a una temperatura de 600 °C, durante 2 h. Se enfría el crisol en una desecadora y se pesa.

Se repite el proceso a partir de la incineración, hasta obtener masa constante, es decir, hasta que no difieran en más de 0,5 mg/g dos pesadas consecutivas. Para obtener la masa constante el tiempo de calentamiento y pesada se hace en intervalos de 30 min Si el residuo presenta trazas de carbón, se le añaden unas gotas de solución de peróxido de hidrógeno concentrado, ácido nítrico o solución de nitrato de amonio 10 g/100 mL y se calienta hasta evaporar los solventes. Al enfriar el crisol el residuo es de color blanco o casi blanco.

La cantidad de cenizas totales (Ct) en base anhidra se calcula por la fórmula siguiente:

- $C1 = \frac{M2 - M}{MI - M} \times 100 (\%)$

$$MI - M$$

- $Ct = \frac{C1 * 100}{100 - H}$

$$100 - H$$

Dónde:

C1: cenizas totales en base hidratada

M: masa del crisol vacío (g)

M1: masa del crisol con la muestra de ensayo (g)

M2: masa del crisol con la ceniza (g)

100 factor matemático para los cálculos

H: %humedad

ANEXO 4 PROCEDIMIENTO PARA EL ENSAYO DE SOLUBILIDAD

Por cada repetición se utilizaron 3 g de muestra de epicarpio y mesocarpio, muestras molidas por debajo de 50 mesh y se vierten 30 mL del solvente respectivo. Luego de ser agitados manualmente durante 3 minutos cada media hora durante el día, se dejó macerar por 24 horas. Se filtraron en matraces previamente codificados y tarados, para luego evaporar una alícuota de 2 mL, se deseca a $105\pm 2^{\circ}\text{C}$ en una estufa hasta sequedad, se enfría y se pesa.

El porcentaje de solubilidad en base anhidra (S_s) se calcula mediante la fórmula siguiente:

$$S_s = \frac{R * 500 * 100}{M * (100 - H)} (\%)$$

Dónde:

H: humedad de la muestra (%)

500 y 100 factores matemáticos para los cálculos

R: residuo de la muestra (g)

M: masa de la muestra (g)

ANEXO 5
PROCEDIMIENTO PARA EL ENSAYO DE SÓLIDOS SOLUBLES TOTALES

37.1.15

AOAC Official Method 932.12
Solids (Soluble)
in Fruits and Fruit Products
Refractometer Method
First Action 1932
Final Action 1980

(Insoluble matter present. Applicable to fresh and canned fruits, fruit jellies, marmalades, and preserves.)

Proceed as in **932.14C** (see 44.1.04). % Soluble solids = % solids determined by refractometer $\times (100 - b)/100$, where $b = \% \text{H}_2\text{O-insoluble solids}$.

(Note: U.S. Federal standards for frozen fruits, canned fruits, fruit jellies, and preserves make no correction for $\text{H}_2\text{O-insoluble solids}$, invert sugar, or other substances.)

Reference: *JAOAC* **15**, 384(1932).

ANEXO 6 PROCEDIMIENTO PARA EL ENSAYO DE SÓLIDOS TOTALES

Para determinar los sólidos totales en función de la norma NTP 319.150 (1975), que consiste en tomar una pipeta un volumen de 5 mL de solución analítica (extracto), mezclada y homogeneizada. Luego, se verterá sobre una capsula previamente pesada. La capsula con el residuo se someterá a la estufa a 105+/-2°C, por 24 horas. Se retirara la capsula para luego determinar su peso en una balanza analítica.

Cálculos:

$$\% \text{Sólidos} = \frac{V \text{ (mL)} * ps \text{ (g/mL)}}{ps \text{ (g)}}$$

Dónde:

V: volumen del extracto obtenido

ps: peso seco de muestra de materia prima

ANEXO 7
RESULTADOS DE LOS ENSAYOS

A. Rendimiento de los componentes del fruto de charán (*Caesalpinia paipai* Ruiz & Pavón) en porcentaje.

Partes del fruto	Árbol 1		Árbol 2		Árbol 3		Árbol 4		Árbol 5	
	Masa en Promedio (g)	Porcentaje (%)								
Epicarpio	0.9349	28.10	1.2095	28.76	1.5044	32.02	1.6718	28.34	1.1169	29.06
Mesocarpio + endocarpio	1.4741	44.27	1.9362	45.57	2.2423	47.91	3.2982	54.78	2.1225	55.42
Semilla	0.9338	27.64	0.9338	25.67	0.9533	20.07	1.0222	16.88	0.6204	15.51
Total	3.3428	100.00	4.0795	100.00	4.7000	100.00	5.9922	100.00	3.8598	100.00

	Árbol 1			Árbol 2			Árbol 3		
	%epicarpio	%mesocarpio + endocarpio	% semilla	%epicarpio	%mesocarpio + endocarpio	% semilla	%epicarpio	%mesocarpio + endocarpio	% semilla
Max	32.33	49.62	33.80	28.76	45.57	25.67	38.17	55.06	29.26
Min	24.76	36.07	21.05	21.82	38.07	17.57	25.14	40.24	10.98

	Árbol 4			Árbol 5		
	%epicarpio	%mesocarpio + endocarpio	% semilla	%epicarpio	%mesocarpio + endocarpio	% semilla
Max	34.75	60.19	22.17	40.14	76.49	31.00
Min	21.64	48.47	10.00	17.13	44.92	4.03

B. Dimensiones de los frutos de charán (*Caesalpinia paipai* Ruiz & Pavón)

Longitud de los frutos (mm)	N	Media	Desv.Est.	Mínimo	Máximo
Árbol 1	30	78.8960	10.1640	55.77	101.32
Árbol 2	30	76.3070	14.9740	40.09	103.55
Árbol 3	30	77.4220	10.5060	57.38	99.22
Árbol 4	30	80.4420	13.2700	45.24	100.21
Árbol 5	30	79.0780	13.0860	55.89	99.81

Ancho de los frutos (mm)	N	Media	Desv.Est.	Mínimo	Máximo
Árbol 1	30	17.4550	1.2000	15.17	19.39
Árbol 2	30	16.1480	1.0421	14.21	19.08
Árbol 3	30	17.9910	1.7170	14.02	21.75
Árbol 4	30	19.9480	1.7067	16.99	23.41
Árbol 5	30	19.8070	1.6005	16.26	23.03

Espesor de los frutos (mm)	N	Media	Desv.Est.	Mínimo	Máximo
Árbol 1	30	7.1403	0.8683	5.63	9.00
Árbol 2	30	10.0020	1.4545	5.59	12.50
Árbol 3	30	9.1687	1.0543	6.81	11.33
Árbol 4	30	9.6670	1.1181	7.92	12.57
Árbol 5	30	6.7953	0.9113	5.02	9.35

C. Contenido de humedad gravimétrica de los frutos de charán (*Caesalpinia paipai* Ruiz & Pavón)

Árbol	Muestra	%Humedad	% Humedad Promedio	Desv. Standart
A1	M1	11,180	10,768	0,3567
	M2	10,550		
	M3	10,575		
A2	M1	10,255	10,303	0,2019
	M2	10,130		
	M3	10,525		
A3	M1	10,650	10,858	0,2428
	M2	11,125		
	M3	10,800		
A4	M1	10,865	10,987	0,1077
	M2	11,070		
	M3	11,025		
A5	M1	11,840	11,217	0,5402
	M2	10,885		
	M3	10,925		

D. Porcentaje promedio de cenizas de las partes del pericarpio de los frutos de charán

Partes del Pericarpio	% Cenizas promedio					
	1	2	3	4	5	Promedio
Epicarpio	2.78	2.90	2.81	2.97	3.04	2.90
Mesocarpio	3.46	3.36	3.34	3.40	3.80	3.47

E. Porcentaje promedio de solubilidad de los extractos obtenidos entre dos factores; las capas del pericarpio de charán y los grados de etanol para cada árbol

Capas del pericarpio	Grados de Etanol	Porcentaje Promedio de Solubilidad (%)				
		1	2	3	4	5
Epicarpio	96°	5,8338	5,2027	6,4753	8,6504	9,0608
	70°	11,2192	8,9685	11,7790	14,4735	15,2994
	50°	12,6201	10,4488	13,2561	15,6468	16,5071
	30°	11,5181	9,7985	12,1654	14,3924	14,1293
	H2O	9,9865	7,6678	9,4419	11,4652	11,2884
Mesocarpio	96°	13,2800	9,6932	10,3892	13,4499	12,6087
	70°	18,3169	16,5930	16,2725	21,8007	20,4555
	50°	19,6119	18,4387	17,9116	23,0365	20,8122
	30°	18,5036	17,5220	17,4691	22,1440	19,0414
	H2O	13,7159	13,4156	13,6051	17,4755	15,2431

F. Porcentaje promedio de sólidos solubles totales de los extractos obtenidos entre dos factores; las capas del pericarpio de charán (Epicarpio y Mesocarpio) y los grados de etanol

		Porcentaje Promedio de Sólidos Solubles Totales (%)					
Capas del pericarpio	Grados de Etanol	1	2	3	4	5	Promedio
Epicarpio	96°	20.83	21.00	20.67	21.00	22.00	21.10
	70°	22.00	21.50	21.58	22.00	22.75	21.97
	50°	19.25	18.83	18.50	19.00	20.00	19.12
	30°	13.25	12.17	13.00	13.00	14.17	13.12
	H20	3.17	2.33	3.00	3.00	3.33	2.97
Mesocarpio	96°	23.42	22.00	21.83	22.50	23.50	22.65
	70°	24.25	23.17	22.83	24.00	24.00	23.65
	50°	21.42	20.50	20.00	22.50	21.00	21.08
	30°	14.92	14.50	14.50	15.03	15.00	14.79
	H20	4.67	4.33	4.17	5.33	5.00	4.70

G. Porcentaje promedio de sólidos totales de los extractos obtenidos entre dos factores ; las capas del pericarpio de charán (*Caesalpinia paipai* Ruiz & Pavón) y los grados de etanol para cada árbol

		Porcentaje Promedio de Sólidos Totales(%)				
Capas del pericarpio	Grados de Etanol	1	2	3	4	5
Epicarpio	96°	11.8346	9.1351	11.5527	14.8302	14.9353
	70°	21.2898	16.5550	21.4188	24.1326	25.1168
	50°	22.5654	19.1732	24.0036	26.3112	27.2811
	30°	21.6624	16.9563	21.4474	25.0833	24.6916
	H20	18.4566	13.5784	16.4117	18.3084	18.6668
Mesocarpio	96°	23.3251	17.2860	17.7099	23.0002	22.4269
	70°	31.8630	29.7369	28.8709	37.2523	34.7536
	50°	34.7679	33.2486	32.0886	39.6603	36.6647
	30°	32.3073	31.3566	29.5972	38.6140	32.9428
	H20	22.7661	23.9606	22.6878	29.9137	27.2190

ANEXO 8
ANÁLISIS ESTADÍSTICOS REALIZADOS A LOS RESULTADOS DE LOS ENSAYOS

A. Análisis de varianza para la comparación de medias del peso de epicarpio con un solo factor y un nivel de significancia de 0,05.

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Factor	4	10,63	2,6570	21,66	0,000
Error	145	17,79	0,1227		
Total	149	28,42			

B. Prueba de igualdad de varianzas para el peso de epicarpio.

Pruebas

Método	Estadística de prueba	Valor p
Bartlett	18,94	0,001

C. Análisis de varianza para la comparación de medias del peso de mesocarpio con un solo factor y un nivel de significancia de 0,05.

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Árbol	4	54,49	13,6226	32,98	0,000
Error	145	59,90	0,4131		
Total	149	114,39			

D. Prueba de igualdad de varianzas para el peso de mesocarpio.

Pruebas

Método	Estadística de prueba	Valor p
Bartlett	44,22	0,000

E. Análisis de varianza para la comparación de medias de la longitud del fruto con un solo factor y un nivel de significancia de 0,05.

Análisis de Varianza

Fuente	GL Num	GL Den	Valor F	Valor p
Factor (Longitud)	4	72,1083	0,41	0,798

F. Análisis de varianza para la comparación de medias del ancho del fruto con un solo factor y un nivel de significancia de 0,05.

Análisis de Varianza

Fuente	GL Num	GL Den	Valor F	Valor p
Factor (Ancho)	4	71,6625	41,98	0,000

G. Análisis de varianza para la comparación de medias del espesor del fruto con un solo factor y un nivel de significancia de 0,05.

Análisis de Varianza

Fuente	GL Num	GL Den	Valor F	Valor p
Factor	4	72,0331	58,07	0,000

H. Análisis de varianza del porcentaje promedio de humedad obtenido de los frutos de los árboles de charán (*Caesalpinia paipai*)

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	4	1,37	0,34	3,22	0,0607
Árboles	4	1,37	0,34	3,22	0,0607
Error	10	1,06	0,11		
Total	14	2,43			

I. Análisis de varianza del porcentaje promedio de ceniza entre carpelos

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	5	0,97	0,19	18,99	0,0069
Bloques	4	0,15	0,04	3,66	0,1183
Capas	1	0,82	0,82	80,31	0,0009
Error	4	0,04	0,01		
Total	9	1,01			

J. Prueba de Tukey – porcentaje promedio de cenizas entre los carpelos

Tukey alfa=0,05

Capas	Medias	n	E.E.	
Mesocarpio	3,47	5	0,05	A
Epicarpio	2,90	5	0,05	B

K. Análisis de varianza de la solubilidad entre dos factores; las capas del pericarpio de charán (*Caesalpinia paipai* Ruiz & Pavón) y los grados de etanol

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	13	927,78	71,37	95,02	<0,0001
Bloques	4	137,80	34,45	45,87	<0,0001
Capas	1	416,51	416,51	554,53	<0,0001
Grados de Etanol	4	365,09	91,27	121,52	<0,0001
Capas*Grados de Etanol	4	8,37	2,09	2,79	0,0409
Error	36	27,04	0,75		
Total	49	954,82			

L. Prueba de Tukey – solubilidad entre dos factores; las capas del pericarpio de charán (*Caesalpinia paipai* Ruiz & Pavón) y los grados de etanol

Tukey alfa=0,05

Capas	Grados de Etanol	Medias	n	E.E.	
Mesocarpio	50°	20,00	5	0,39	A
Mesocarpio	30°	18,99	5	0,39	A
Mesocarpio	70°	18,69	5	0,39	A
Mesocarpio	H2O	14,69	5	0,39	B
Epicarpio	50°	13,69	5	0,39	B-C
Epicarpio	30°	12,35	5	0,39	C
Epicarpio	70°	12,33	5	0,39	C
Mesocarpio	96°	11,88	5	0,39	C
Epicarpio	H2O	9,97	5	0,39	D
Epicarpio	96°	7,04	5	0,39	E

M. Prueba de Tukey – solubilidad de los grados de etanol

Tukey alfa=0,05

Grados de Etanol	Medias	n	E.E.	
50°	16,84	10	0,27	A
30°	15,67	10	0,27	B
70°	15,51	10	0,27	B
H2O	12,33	10	0,27	C
96°	9,46	10	0,27	D

N. Análisis de varianza de sólidos solubles totales entre dos factores; las capas del pericarpio de charán (*Caesalpinia paipai* Ruiz & Pavón) y los grados de etanol

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	13	2531,97	194,77	1204,62	<0,0001
Bloques	4	8,93	2,23	13,81	<0,0001
Capas	1	37,05	37,05	229,15	<0,0001
Grados de Etanol	4	2485,76	621,44	3843,57	<0,0001
Capas*Grados de Etanol	4	0,24	0,06	0,36	0,8325
Error	36	5,82	0,16		
Total	49	2537,79			

O. Prueba de Tukey – sólidos solubles totales de los grados de etanol

Tukey alfa=0,05

Grados de Etanol	Medias	n	E.E.	
70°	22,81	10	0,13	A
96°	21,88	10	0,13	B
50°	20,10	10	0,13	C
30°	13,95	10	0,13	D
H2O	3,83	10	0,13	E

P. Análisis de varianza del porcentaje promedio de sólidos totales entre dos factores; las capas del pericarpio de charán (*Caesalpinia paipai* Ruiz & Pavón) y los grados de etanol

Análisis de Varianza

Fuente	GL	SC Ajust.	MC Ajust.	Valor F	Valor p
Modelo	13	2701,29	207,79	91,31	<0,0001
Bloques	4	295,59	73,90	32,47	<0,0001
Capas	1	1236,25	1236,25	543,26	<0,0001
Grados de Etanol	4	1145,23	286,31	125,82	<0,0001
Capas*Grados de Etanol	4	24,21	6,05	2,66	0,0483
Error	36	81,92	2,28		
Total	49	2783,21			

Q. Prueba de Tukey – sólidos totales entre dos factores; las capas del pericarpio de charán (*Caesalpinia paipai* Ruiz & Pavón) y los grados de etanol

Tukey alfa=0,05

Capas	Grados de Etanol	Medias	n	E.E.	
Mesocarpio	50°	35,29	5	0,67	A
Mesocarpio	30°	32,96	5	0,67	A
Mesocarpio	70°	32,50	5	0,67	A
Mesocarpio	H2O	25,31	5	0,67	B
Epicarpio	50°	23,87	5	0,67	B-C
Epicarpio	30°	21,97	5	0,67	C
Epicarpio	70°	21,70	5	0,67	C
Mesocarpio	96°	20,75	5	0,67	C
Epicarpio	H2O	17,08	5	0,67	D
Epicarpio	96°	12,46	5	0,67	E

R. Prueba de Tukey – solubilidad de los grados de etanol

Tukey alfa=0,05

Grados de Etanol	Medias	n	E.E.	
50°	29,58	10	0,48	A
30°	27,47	10	0,48	B
70°	27,10	10	0,48	B
H2O	21,20	10	0,48	C
96°	16,60	10	0,48	D

ANEXO 9
IMÁGENES DE LOS RESULTADOS DE LA MARCHA FITOQUÍMICA

Ensayo de *Fehling* – Epicarpio



Ensayo de *Fehling* – Mesocarpio



Ensayo de *Sudan III* – Epicarpio



Ensayo de *Sudan III* – Mesocarpio



Ensayo de *Millon* – Epicarpio



Ensayo de *Millon* – Mesocarpio



Ensayo de *Wagner* – Epicarpio



Ensayo de *Wagner* – Mesocarpio



Ensayo de *Mayer* – Epicarpio



Ensayo de *Mayer* – Mesocarpio



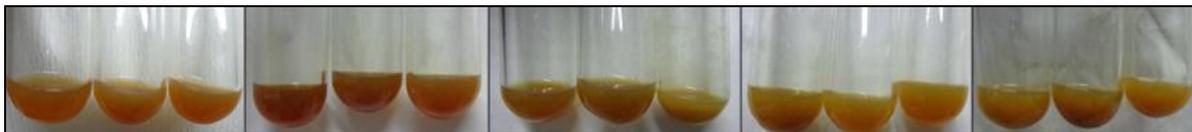
Ensayo de *Erdmann* – Epicarpio



Ensayo de *Erdmann* – Mesocarpio



Ensayo de *Marquis* – Epicarpio



Ensayo de *Marquis* – Mesocarpio



Ensayo de Gelatina salada – Epicarpio



Ensayo de Gelatina salada – Mesocarpio



Ensayo de Cloruro Férrico – Epicarpio



Ensayo de Cloruro Férrico – Mesocarpio



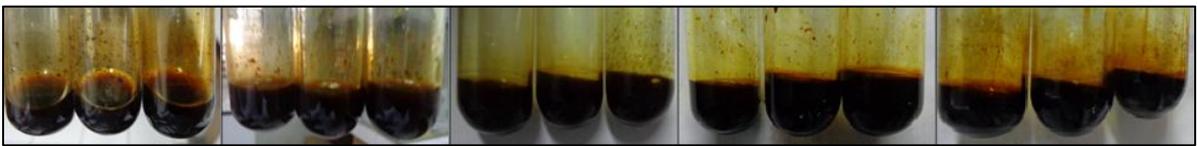
Ensayo de *Shinoda* – Epicarpio



Ensayo de *Shinoda* – Mesocarpio



Ensayo de *Baljet* – Epicarpio



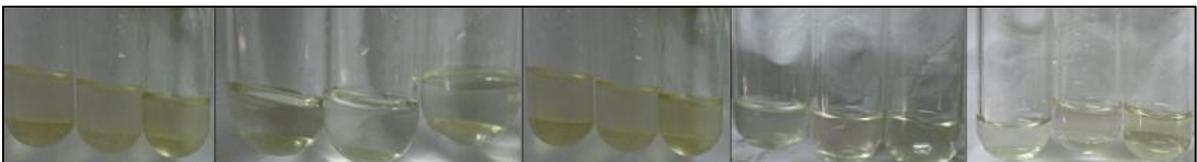
Ensayo de *Baljet* – Mesocarpio



Ensayo de *Bornträger* – Quinonas - Epicarpio



Ensayo de *Bornträger* – Quinonas – Mesocarpio



Ensayo de *Bornträger* – Antraquinonas - Epicarpio



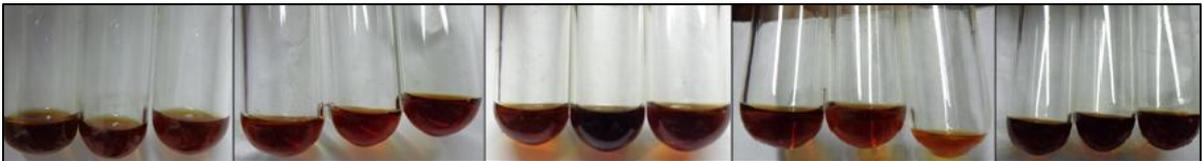
Ensayo de *Bornträger* – Antraquinonas – Mesocarpio



Ensayo de Ácido Tricloroacético - Epicarpio



Ensayo de Ácido Tricloroacético – Mesocarpio



Ensayo de Espuma - Epicarpio



Ensayo de Espuma – Mesocarpio



Ensayo de *Rosenthaler* - Epicarpio



Ensayo de *Rosenthaler* – Mesocarpio



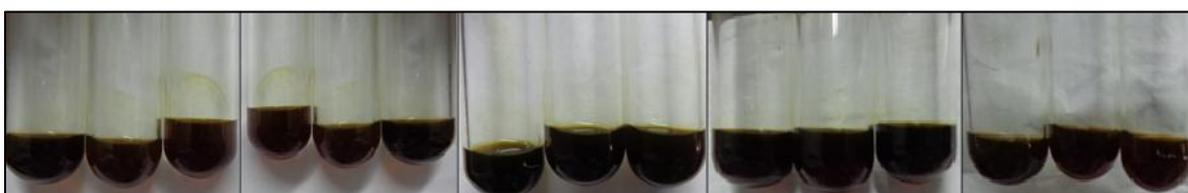
Ensayo de $\text{SbCl}_3/\text{HClO}_4$ - Epicarpio



Ensayo de $\text{SbCl}_3/\text{HClO}_4$ – Mesocarpio



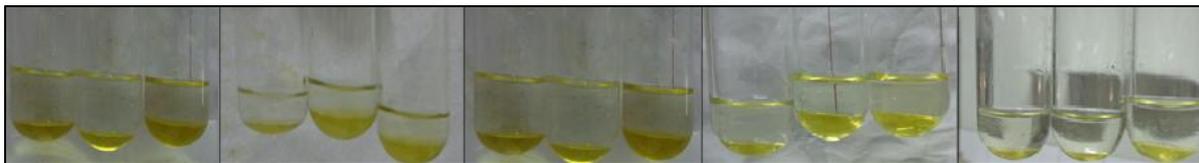
Ensayo de *Baeyer* - Epicarpio



Ensayo de *Baeyer* – Mesocarpio



Ensayo de $\text{CH}_2\text{O} - \text{H}_2\text{SO}_4$ - Epicarpio



Ensayo de $\text{CH}_2\text{O} - \text{H}_2\text{SO}_4$ - Mesocarpio

